



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“ESTABLECIMIENTO DE ENRIQUECIMIENTOS Y AISLAMIENTO DE
CULTIVOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD DE TOLERANCIA A
PRESENCIA DE ARSÉNICO A PARTIR DE CUERPOS DE AGUA DULCE
EN LA PARROQUIA DE TOACASO, CANTÓN LATACUNGA,
PROVINCIA DE COTOPAXI DURANTE EL AÑO 2022”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero en Medio
Ambiente

Autor:

Barriga Almachi Luis Miguel

Tutora:

Boada Cahueñas Ellana Amparito, Ing. Ph.D.

LATACUNGA - ECUADOR

Agosto 2022



DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Luis Miguel Barriga Almachi, con cédula de ciudadanía No. 0503783953, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Establecimiento de enriquecimientos y aislamiento de cultivos bacterianos con capacidad de tolerancia a presencia de arsénico a partir de cuerpos de agua dulce en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi durante el año 2022”, siendo la Ingeniera. Ellana Amparito Boada Cahueñas, Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 29 de agosto del 2022



Luis Miguel Barriga Almachi
Estudiante
CC: 0503783953



Ing. Ellana Boada Cahueñas, Ph.D.
Docente Tutor
CC: 1719312892

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 **BARRIGA ALMACHI LUIS MIGUEL**, identificado con cédula de ciudadanía **0503783953** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **ELCEDENTE**; 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. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Establecimiento de enriquecimientos y aislamiento de cultivos bacterianos con capacidad de tolerancia a presencia de arsénico a partir de cuerpos de agua dulce en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi durante el año 2022”, 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: Octubre 2017 - Marzo 2018

Finalización de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutor: Ing. Ellana Amparito Boada Cahueñas, Ph.D.

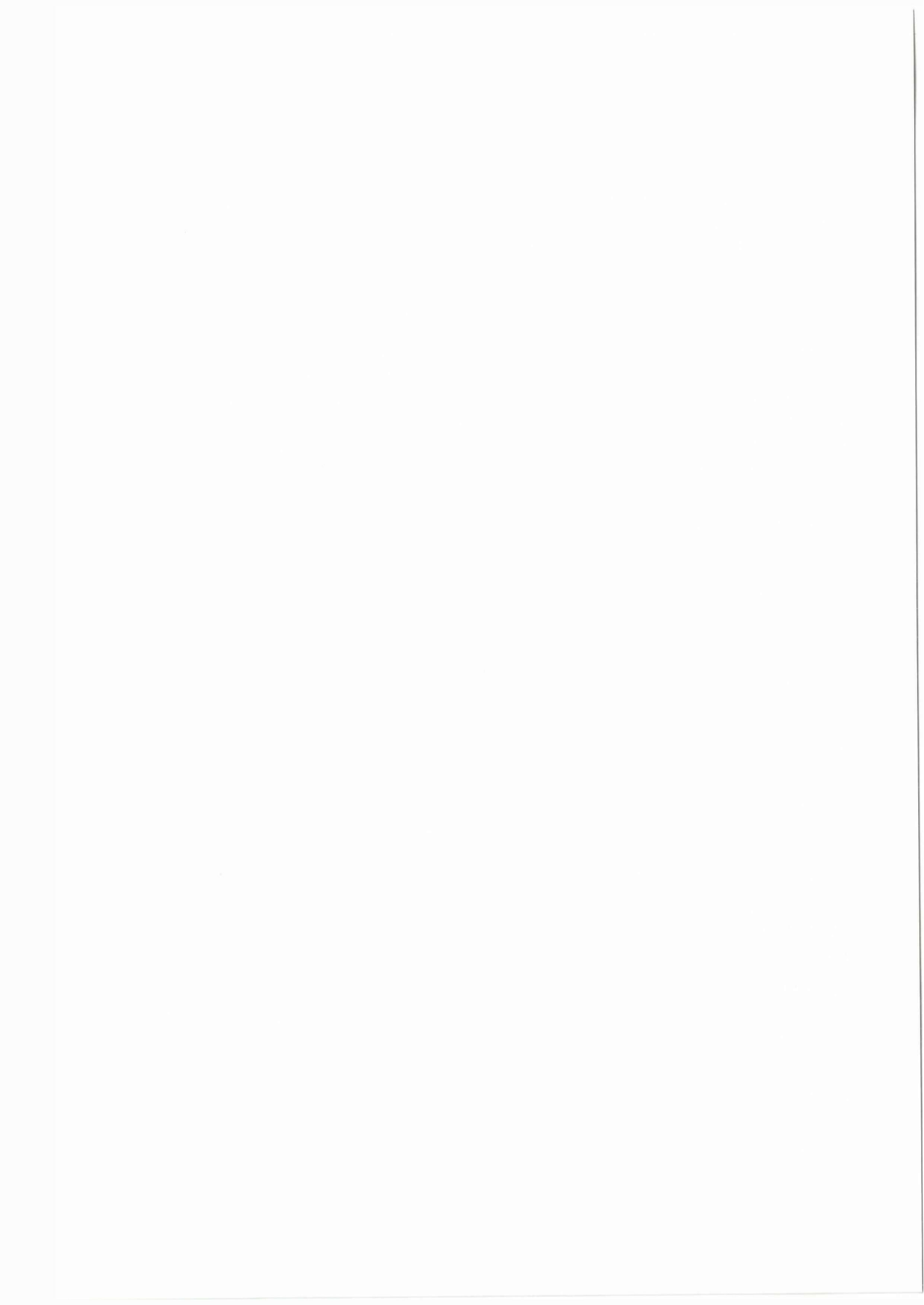
Tema: “Establecimiento de enriquecimientos y aislamiento de cultivos bacterianos con capacidad de tolerancia a presencia de arsénico a partir de cuerpos de agua dulce en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi durante el año 2022”.

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, **EL 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 **EL 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 **EL 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 **EL 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 **EL 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.

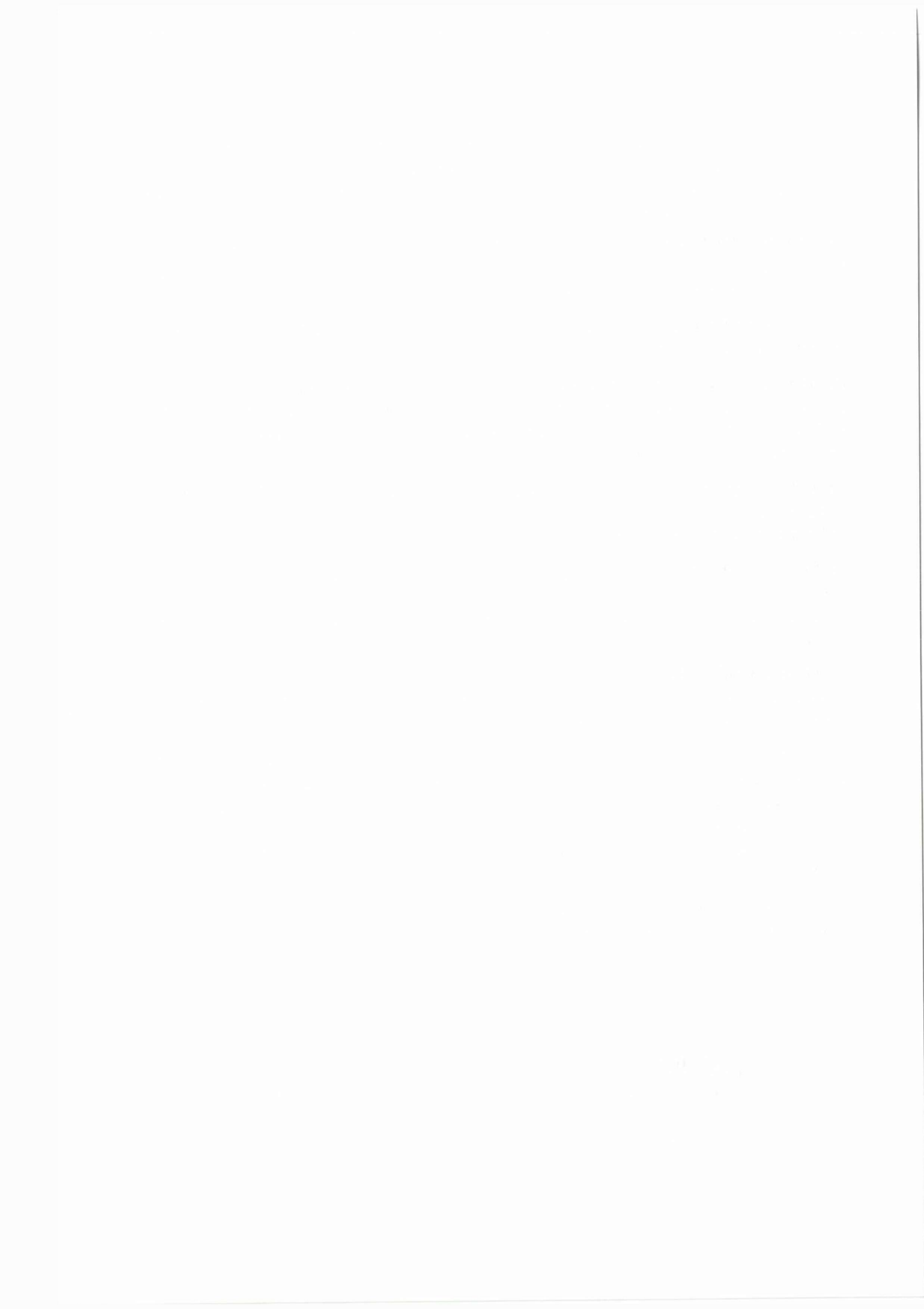
CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

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 29 días del mes de agosto del 2022.


Luis Miguel Barriga Almachi
EL CEDENTE

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, PhD.
LA CESIONARIA



AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“ESTABLECIMIENTO DE ENRIQUECIMIENTOS Y AISLAMIENTO DE CULTIVOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD DE TOLERANCIA A PRESENCIA DE ARSÉNICO A PARTIR DE CUERPOS DE AGUA DULCE EN LA PARROQUIA DE TOACASO, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI DURANTE EL AÑO 2022”, de Barriga Almachi Luis Miguel, de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 29 de agosto del 2022



Ing. Ellana Amparito Boda Cahueñas, Ph D.

DOCENTE TUTORA

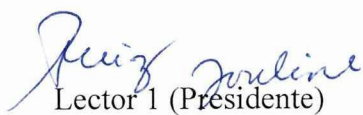
CC: 1719312892

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, el postulante: Barriga Almachi Luis Miguel, con el título del Proyecto de Investigación: “ESTABLECIMIENTO DE ENRIQUECIMIENTOS Y AISLAMIENTO DE CULTIVOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD DE TOLERANCIA A PRESENCIA DE ARSÉNICO A PARTIR DE CUERPOS DE AGUA DULCE EN LA PARROQUIA DE TOACASO, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI DURANTE EL AÑO 2022”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

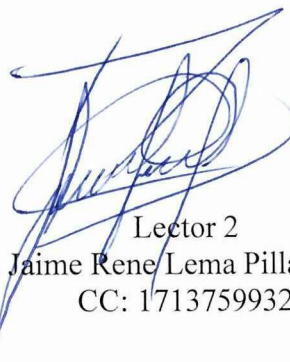
Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 29 de agosto del 2022



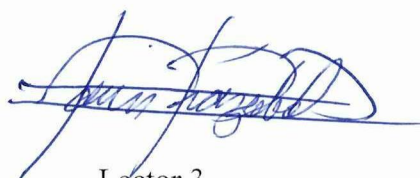
Lector 1 (Presidente)

Lic. Joseline Luisa Ruiz Depablos, M.Sc.
CC: 1758739062



Lector 2

Lic. Jaime Rene Lema Pillalaza, Mg.
CC: 1713759932



Lector 3

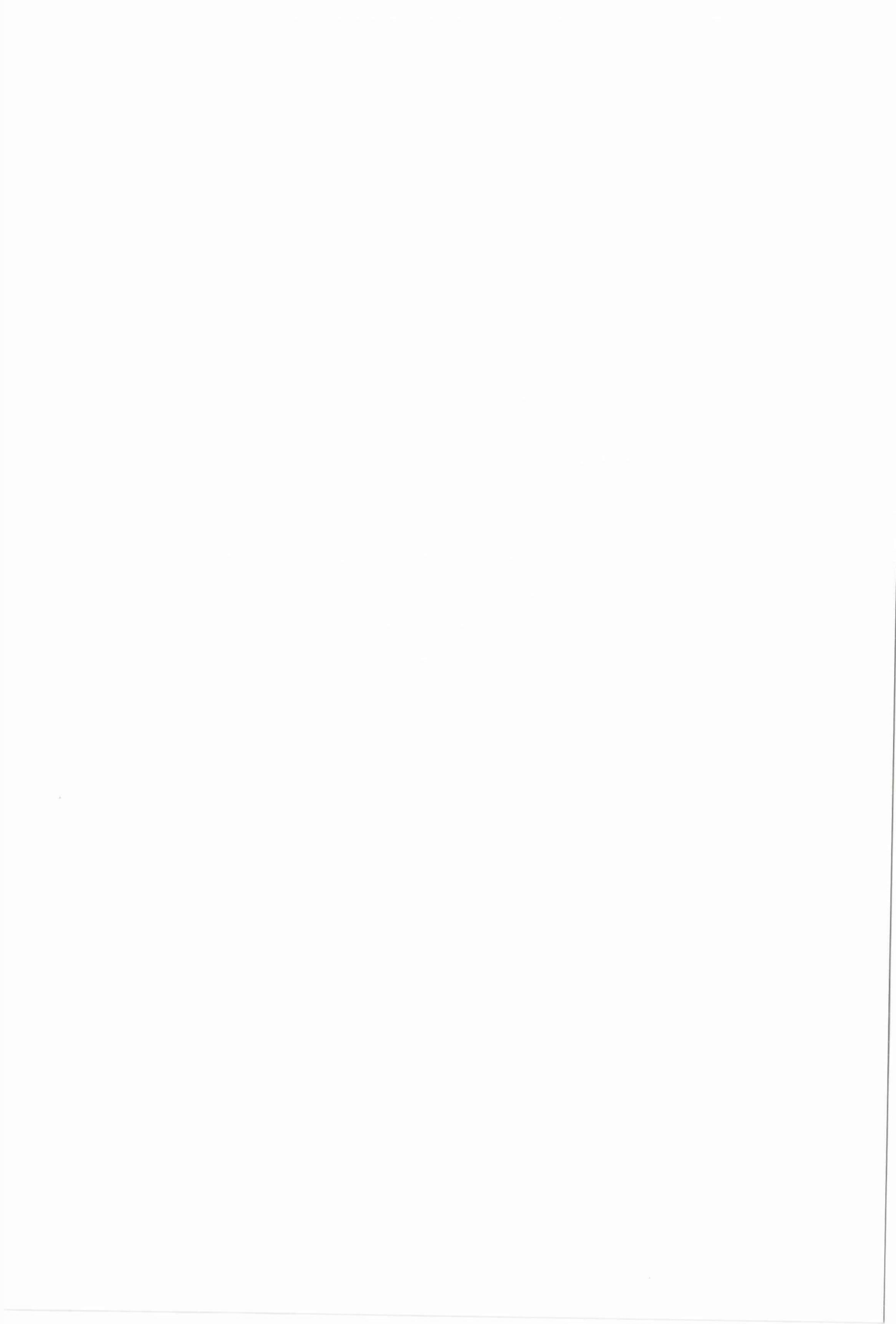
Lic. Roberto Javier Irazabal Morales, M.Sc.
CC: 1720071024



AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a mis padres por haberme otorgado la fortaleza para poder culminar mis estudios y ser mi pilar fundamental durante el trayecto. A mi tutora de tesis Ellana Boada por guiarme y brindarme sus conocimientos durante el desarrollo de mi proyecto de investigación y finalmente a la Universidad por brindarme la enseñanza necesaria y el privilegio de obtener los conocimientos necesarios en mi formación académica.

Luis Miguel Barriga Almachi



DEDICATORIA

Dedico todo el esfuerzo reflejado en este trabajo a mis padres y hermanas, por el apoyo constante que me brindan a diario. A mis compañeros que compartieron conmigo la amistad y sincero aprecio.

Luis

[The page contains extremely faint and illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the paper. No specific content can be transcribed.]

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “ESTABLECIMIENTO DE ENRIQUECIMIENTOS Y AISLAMIENTO DE CULTIVOS BACTERIANOS CON CAPACIDAD DE TOLERANCIA A PRESENCIA DE ARSÉNICO A PARTIR DE CUERPOS DE AGUA DULCE EN LA PARROQUIA DE TOACASO, CANTÓN LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI DURANTE EL AÑO 2022”

AUTOR: Barriga Almachi Luis Miguel

RESUMEN

El arsénico es un compuesto inorgánico altamente tóxico que puede ser fácilmente encontrado en fuentes de agua subterráneas y superficiales. En la actualidad los habitantes de la parroquia de Toacaso utilizan agua contaminada principalmente para consumo humano y agricultura. Esta investigación tiene como objetivo el enriquecimiento de microorganismos con capacidad de tolerancia a presencia de arsénico de 4 muestras proveniente del efluente hídrico de la Quebrada Talahuachana a una altitud de 3400 a 3700 msnm utilizando 3 diferentes fuentes de carbono. Los análisis de arsénico realizados en un laboratorio acreditado a las muestras de cuatro puntos diferentes del efluente hídrico muestran una cantidad trescientas veces mayor que la permitida por la normativa legal vigente de nuestro país. La aplicación de un índice internacional para evaluar la calidad del agua y las altas concentraciones de arsénico determinan que no es apta para ser consumida ni utilizada para la agricultura por ser un compuesto bioacumulador. El enriquecimiento parte de la determinación de un medio hábil de crecimiento aplicado muestras de agua con microorganismos que se han ido adaptando al medio acuático con contenido de arsénico durante muchos años. Los enriquecimientos fueron evaluados con diferentes fuentes de carbono como fructosa al 99.8%, maltosa al 97.6% y vitamina c al 99.9%, esta última fue poco eficiente en comparación con las demás fuentes, así como también otros compuestos inorgánicos que actuaron como fuente metabólica de electrones. Se realizó el cultivo de microorganismos en el que se obtuvo una cantidad óptima de colonias bacterianas reproducidas en agar nutritivo enriquecido con las mismas fuentes de carbono, esto con el fin de no cambiar su medio original antes propuesto, para posteriormente cuantificar las unidades formadoras de colonias en cada fuente de carbono y en cada punto de muestreo. Finalizado el proceso de enriquecimiento y siembra de microorganismos se debe aislar los cultivos bacterianos en forma de estrías con el objetivo de mantener apartadas las cepas más predominantes de la misma especie que servirán para futuras investigaciones donde serán usadas como agentes reductores de arsénico y puedan disminuir su concentración, aportando a nuevas estrategias de biorremediación.

Palabras clave: Arsénico, biorremediación, enriquecimiento bacteriano, metales pesados.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

THEME: "ESTABLISHMENT OF ENRICHMENTS AND ISOLATION OF BACTERIAL CULTURES WITH ARSENIC TOLERANCE CAPACITY FROM FRESH WATER BODIES IN THE PARISH OF TOACASO, CANTON LATACUNGA, PROVINCE OF COTOPAXI DURING THE YEAR 2022".

AUTHOR: Barriga Almachi Luis Miguel

ABSTRACT

Arsenic is a highly toxic inorganic compound that can be easily found in groundwater and surface water sources. At present, the inhabitants of Toacaso parish use contaminated water mainly for human consumption and agriculture. The objective of this research is the enrichment of microorganisms with arsenic tolerance capacity in 4 samples from the water effluent of the Quebrada Talahuachana at an altitude of 3400 to 3700 meters above sea level using 3 different carbon sources. The arsenic analysis carried out in an accredited laboratory on samples from four different points of the water effluent showed an amount three hundred times higher than that allowed by the current legal regulations in our country. The application of an international index to evaluate water quality and the high concentrations of arsenic determine that it is not suitable for consumption or agricultural use because it is a bio accumulative compound. Enrichment is based on the determination of a suitable growth medium applied to water samples with microorganisms that have been adapting to the arsenic-containing aquatic environment for many years. The enrichments were evaluated with different carbon sources such as fructose at 99.8%, maltose at 97.6% and vitamin C at 99.9%, the latter was not very efficient compared to the other sources, as well as other inorganic compounds that acted as a metabolic source of electrons. The culture of microorganisms was carried out in which an optimum number of bacterial colonies was obtained, reproduced in nutrient agar enriched with the same carbon sources, in order not to change the original medium previously proposed, to later quantify the colony-forming units in each carbon source and at each sampling point. Once the process of enrichment and seeding of microorganisms is finished, the bacterial cultures should be isolated in the form of streaks in order to keep apart the most predominant strains of the same species that will be used for future research where they will be used as arsenic reducing agents and can reduce its concentration, contributing to new bioremediation strategies.

KEYWORDS: Arsenic, bioremediation, Bacterial enrichment, Heavy metals.

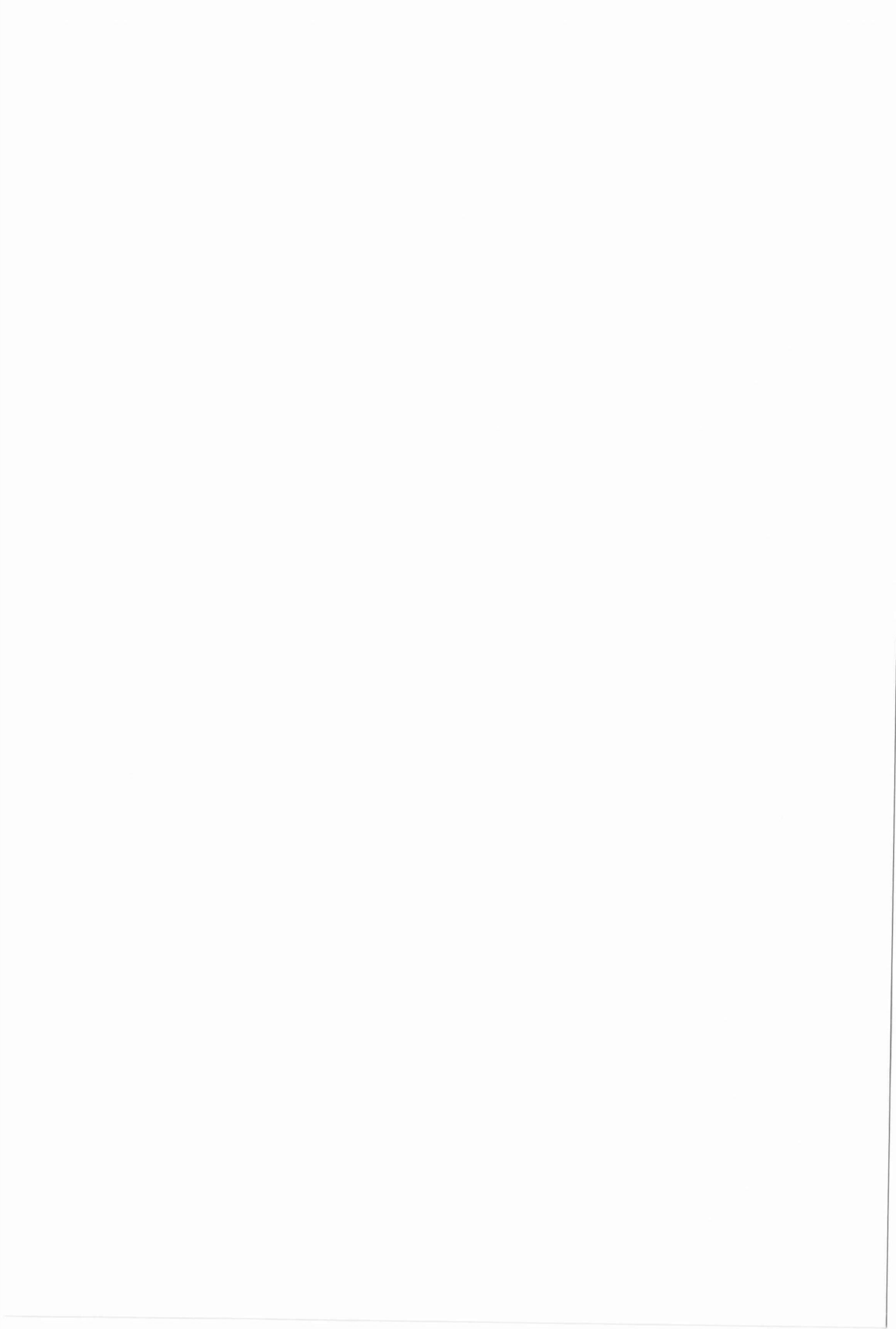


ÍNDICE

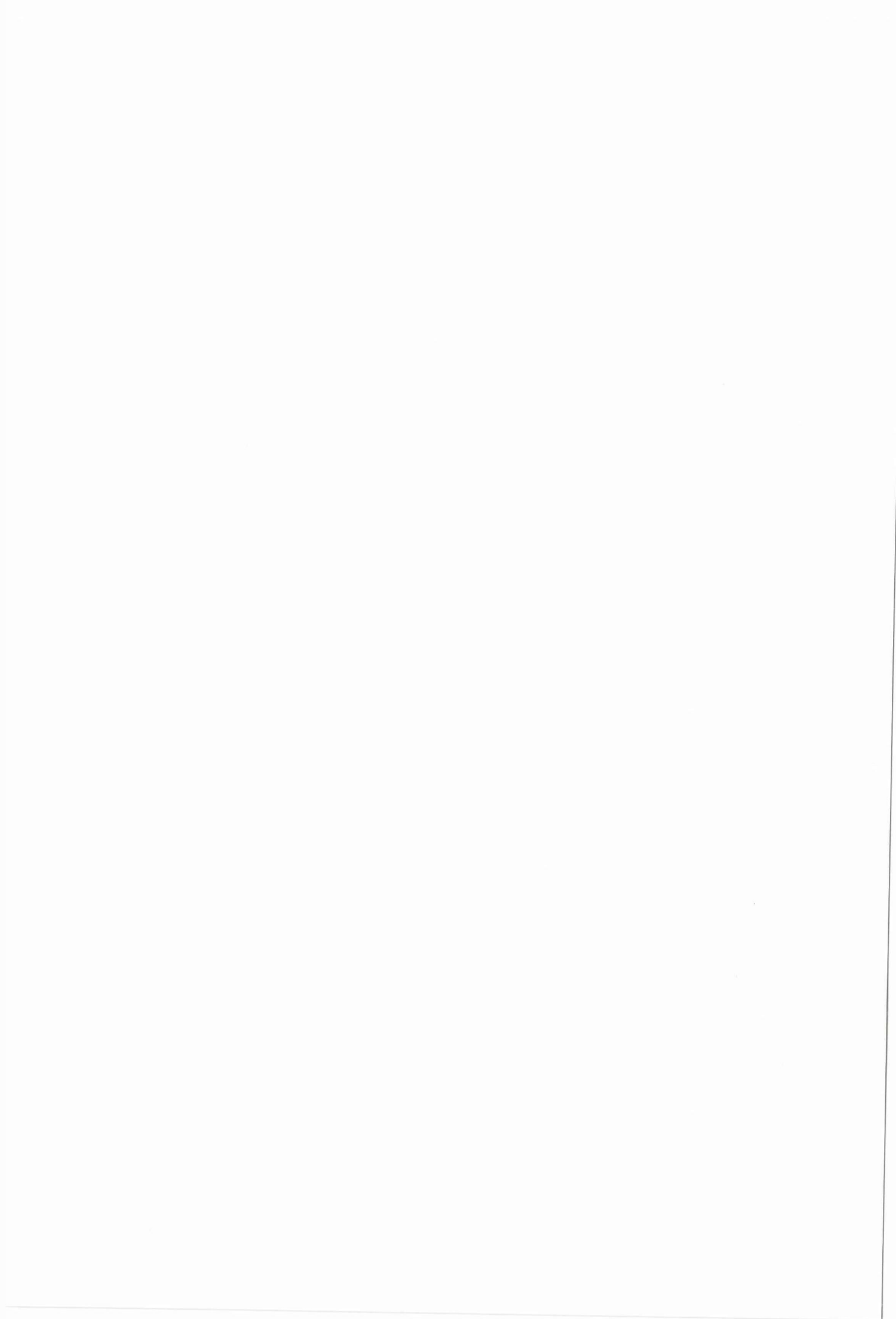
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
RESUMEN DEL PROYECTO	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	3
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS	4
5.1 Objetivo General	4
5.2 Objetivo Específico	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	4
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	6
7.1 Recurso hídrico	6
7.1.1 Importancia del agua	7
7.1.2 Calidad del agua	7
7.1.3 Parámetros físico-químicos	7
7.1.4 Parámetros microbiológicos	10
7.1.5 Contaminación del agua	10
7.2 Metales pesados como agentes antropogénicos de contaminación	11
7.2.1 Arsénico como contaminante natural y antropogénico	11
7.2.2 Toxico cinética del arsénico	12



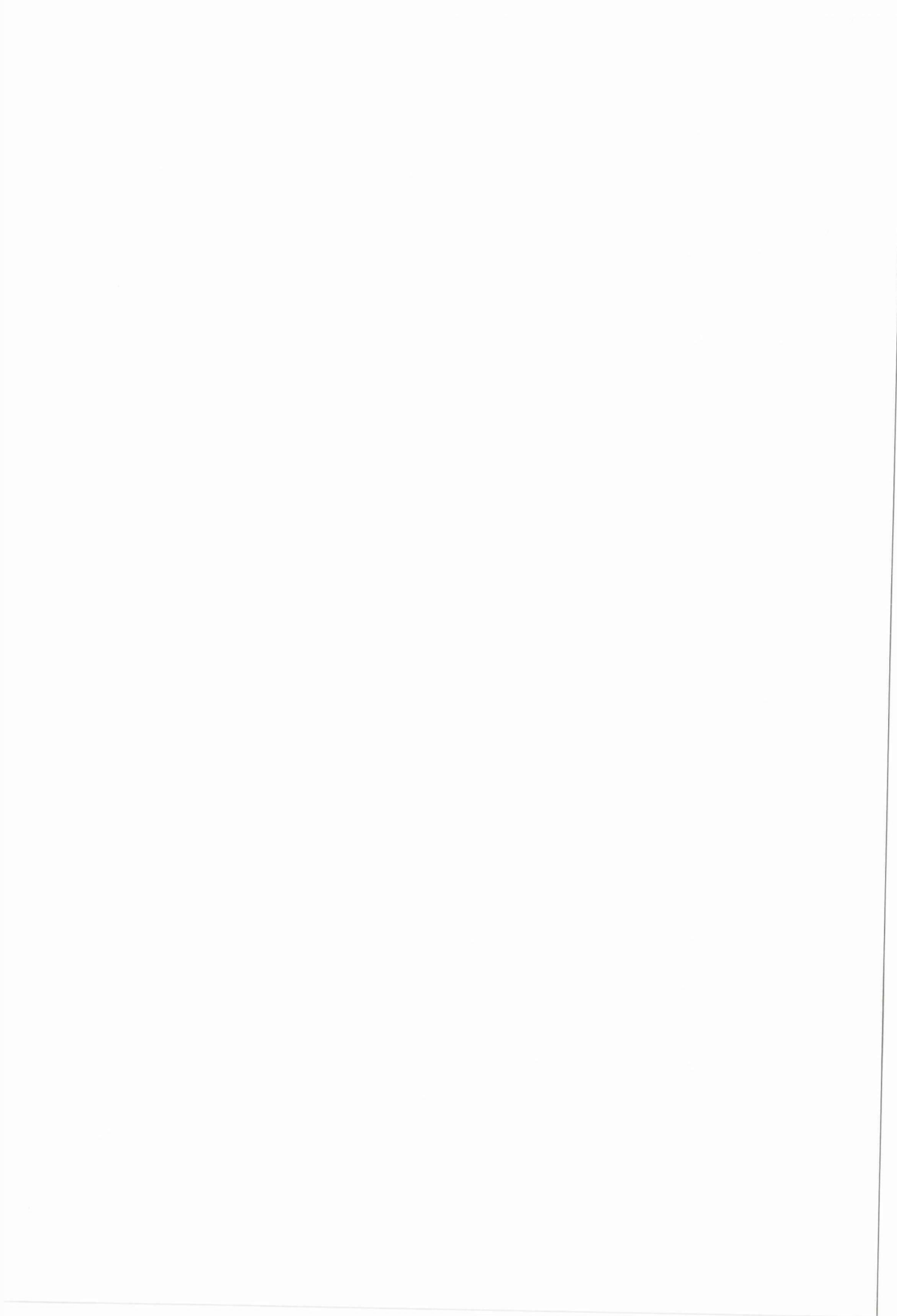
7.2.3	Bio acumulación del arsénico.....	13
7.3	Contaminación del agua por metales pesados	13
7.3.1	Contaminación de arsénico en el agua	13
7.4	Ecosistemas acuáticos de alta montaña contaminados por metales pesados	14
7.4.1	Caracterización de ecosistemas acuáticos de alta montaña.....	15
7.5	Ecología microbiana de ecosistemas acuáticos.....	15
7.5.1	Consortios Bacterianos asociados a la degradación de metales pesados.....	15
7.5.2	Técnicas microbiológicas de enriquecimiento y aislamiento de consorcios bacterianos.....	16
7.5.3	Estrategias de remediación ambiental <i>in situ</i> ligadas al uso de consorcios bacterianos.....	17
7.6	Marco legal	17
8.6.2.	Ley de gestión ambiental.....	18
8.6.3.1.	Ley de aguas	19
8.6.4.	Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua	20
8.6.5	Ley Orgánica de Salud	21
.....	21
8.6.6	Acuerdo Ministerial 097-A.....	22
7.6.1	8.6.6.1. Criterios de calidad para aguas de consumo humano y uso doméstico:	23
8.6.6.2.	Criterios para la calidad de aguas de uso agrícola o de riego:.....	24
8.6.7.	Ordenanza para la descontaminación, y protección de los ríos y afluentes hídricos del cantón Latacunga	26
8.	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.	27
9.	METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	27
9.1	Ubicación del área de estudio	27
9.2	Tipos de investigación	28
9.2.1	Investigación Bibliográfica	28
9.2.1	Investigación experimental.....	28



9.3	Técnicas	28
9.3.1	Técnica de muestreo puntual	28
9.4	Métodos	29
9.4.1	Método cuantitativo	29
9.4.2	Método cualitativo	29
9.4.3	Método analítico	29
9.4.4	Método de campo	29
9.5	Fase de campo	29
9.5.1	Materiales para toma de muestra	29
9.5.2	Muestreo	29
9.5.3	Materiales de laboratorio	30
9.6	Fase de laboratorio	31
9.6.1	Análisis físico-químico	31
9.6.2	Aplicación de índice internacional de calidad de agua	34
9.6.3	Determinación de medios de cultivo con diferentes fuentes de carbono	34
9.6.4	Masificación de enriquecimientos bacterianos	35
9.6.5	Tinción simple	36
9.6.6	Conteo celular	38
9.6.7	Medición celular por densidad óptica en espectrofotómetro y curva de crecimiento	39
9.6.8	Aislamiento bacteriano	40
9.6.9	Caracterización biofísica	42
11	Análisis y discusión de los resultados	43
11.1	Área de Estudio	43
11.2	Caracterización biofísica del piso altitudinal entre 3400 y 3700 msnm	44
11.2.1	Clima	44
11.2.2	Precipitación	44



11.2.3	Temperatura.....	45
11.2.4	Pendiente	46
11.2.5	Agroecología	47
11.2.6	Hidrogeología	48
11.2.7	Textura de suelos.....	49
11.2.8	Taxonomía de suelos	50
11.2.9	Erosión del suelo	50
11.2.10	Movimientos de masa	51
11.2.11	Aptitud agrícola	52
11.2.12	Cobertura Vegetal	53
11.3	Evaluación parámetros físico-químicos y concentración de arsénico de la Quebrada Talahuachana	54
11.3.1	Comparación de criterios de calidad de agua con la tabla 1 AM097 A	54
11.3.2	Comparación de arsénico (As)	54
11.3.3	Comparación de potencial de hidrogeno (pH).....	55
11.3.4	Comparación de color (Pt-Co).....	55
11.3.5	Comparación de sulfatos	55
11.3.6	Comparación de turbidez.....	56
11.4	Índice canadiense de calidad de agua (WQI Canadian).....	56
11.5	Estandarización de medios hábiles con diferentes fuentes de carbono.....	57
11.5.1	Estandarización con fuente de carbono Fructosa	57
11.5.2	Estandarización con fuente de carbono Maltosa	58
11.5.3	Estandarización con fuente de carbono Vitamina C.....	58
11.6	Masificación de enriquecimientos bacterianos.....	59
11.6.1	Masificación de enriquecimientos con fructosa	59
11.6.2	Masificación de enriquecimientos con Maltosa	60
11.6.3	Masificación de enriquecimientos Vitamina C	60



11.7	Identificación de células bacterianas con tinción simple y Gram	61
11.7.1	Tinción simple de bacterias enriquecidas con fructosa	61
11.7.2	Tinción simple de bacterias enriquecidas con maltosa.....	62
11.7.3	Tinción simple de bacterias enriquecidas con vitamina C	63
11.7.4	Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con fructosa.....	64
11.7.5	Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con maltosa	65
11.7.6	Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con vitamina c.....	66
11.8	Conteo por absorbancia con fuentes de carbono	67
11.8.1	Mediciones de crecimiento celular	67
11.8.2	Mediciones de crecimiento celular	67
11.8.3	Mediciones de crecimiento celular	68
11.9	Cuantificación de conteo de células en cámara de Neubauer	68
11.9.1	Cuantificación de células enriquecidas con fructosa.....	68
11.9.2	Cuantificación de células enriquecidas con fructosa.....	69
11.9.3	Cuantificación de células enriquecidas con fructosa.....	70
11.9.4	Cuantificación de células enriquecidas con fructosa.....	71
11.9.5	Cuantificación de células enriquecidas con maltosa	72
11.9.6	Cuantificación de células enriquecidas con maltosa	74
11.9.7	Cuantificación de células enriquecidas con maltosa	75
11.9.8	Cuantificación de células enriquecidas con maltosa	76
11.9.9	Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c	77
11.9.10	Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c	78
11.9.11	Cuantificación de células enriquecida con vitamina c	79
11.9.12	Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c	80
11.10	Cuantificación resultados de conteo de colonias.....	81
11.10.1	Cuantificación de colonias de medios con vitamina c	81
11.10.2	Cuantificación de colonias de medios con maltosa	82



11.10.3	Cuantificación de colonias de medios con fructosa.....	83
11.11	Resultados de aislamiento bacteriano	84
11.11.1	Aislamiento de bacterias enriquecidas con fructosa	84
11.11.2	Asilamiento de bacterias enriquecidas con maltosa	84
11.11.3	Asilamiento de bacterias enriquecidas con vitamina c	85
12	IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	85
12.1	Social.....	85
12.2	Ambiental	86
13	PRESUPUESTO.....	86
14	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	87
14.1	Conclusiones	87
	Recomendaciones	88
14.2	88
15	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
16	ANEXOS.....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Beneficiarios del Proyecto	3
Tabla 2:	Objetivos y actividades	5
Tabla 3:	Puntos de muestreo con características principales.....	30
Tabla 4:	Aforo de reactivos	31
Tabla 5:	Tabla de parámetros muestreados	33
Tabla 6:	Criterios para la clasificación de las aguas según CWQI.....	34
Tabla 7:	Establecimiento de medios en tubos Falcon.	35
Tabla 8:	División de la pendiente de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).	46
Tabla 9:	Criterios de calidad de agua para consumo humano y riego.....	54
Tabla 10:	Puntos y parámetros físico-químicos	56



Tabla 11: Lista de reactivos con fuente de carbono fructosa.	58
Tabla 12: Lista de reactivos con fuente de carbono maltosa.....	58
Tabla 13: Lista de reactivos con fuente de carbono Vitamina C.....	59
Tabla 14: Lista de reactivos con fuente de carbono fructosa.	59
Tabla 15: Lista de reactivos con fuente de carbono maltosa.....	60
Tabla 16: Lista de reactivos con fuente de carbono Vitamina C.....	60
Tabla 17: Identificación de bacterias con fructosa.....	61
Tabla 18: Identificación de bacterias con maltosa	62
Tabla 19: Identificación de bacterias medio vitamina C.....	63
Tabla 20: Identificación de bacterias medio fructosa.....	64
Tabla 21: Identificación de bacterias medio maltosa	65
Tabla 22: Identificación de bacterias medio vitamina c.....	66
Tabla 23: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 1	69
Tabla 24: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 2.....	70
Tabla 25: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 3	71
Tabla 26: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 4.....	72
Tabla 27: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 1	73
Tabla 28: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 2	74
Tabla 29: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 3	75
Tabla 30: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 4	76
Tabla 31: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 1	77
Tabla 32: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 2.....	78
Tabla 33: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 3	79
Tabla 34: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 4.....	80
Tabla 35: Colonias con vitamina c	81
Tabla 36: Colonias con maltosa	82
Tabla 37: Colonias con fructosa.....	83



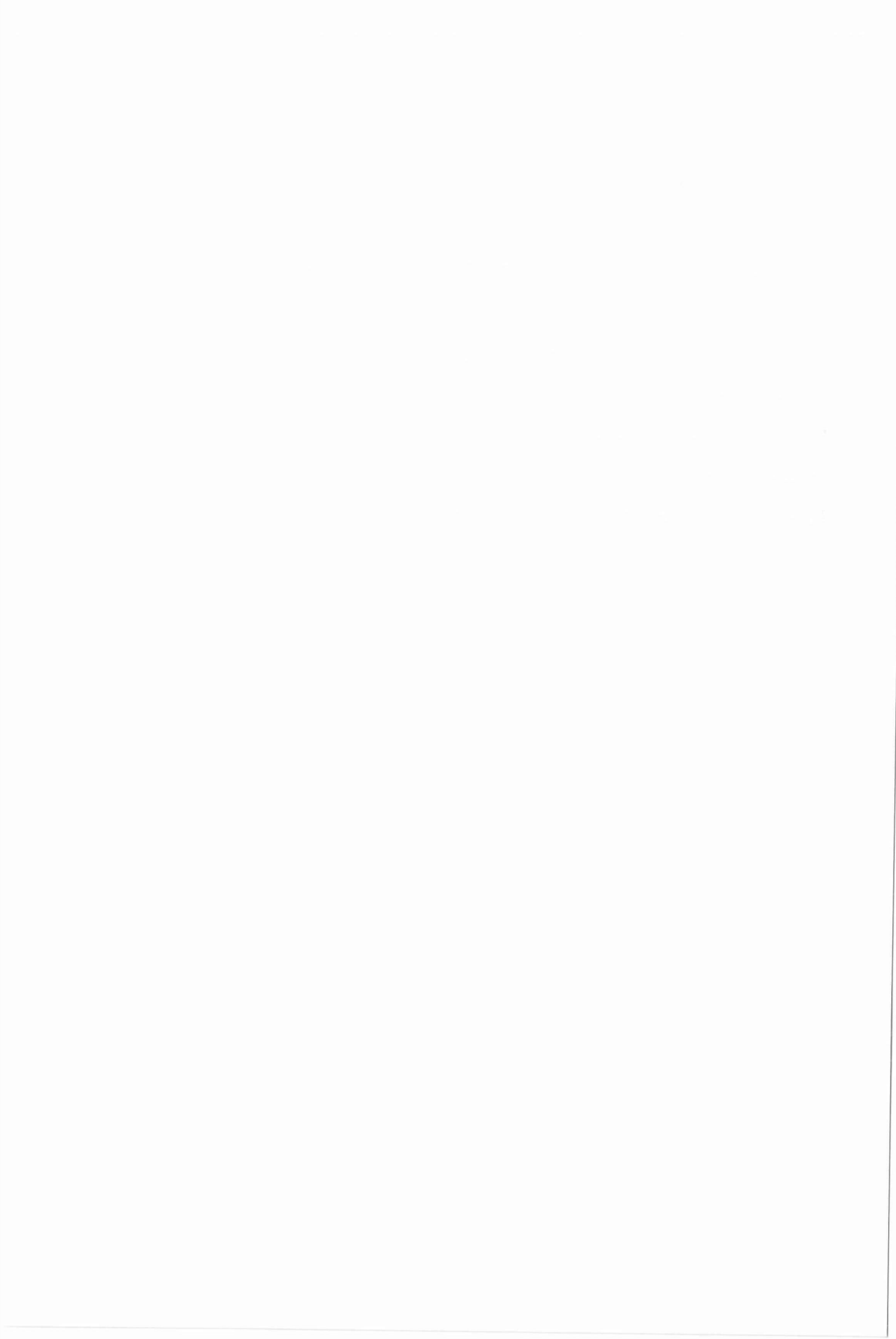
Tabla 38: Presupuesto para la elaboración del proyecto	86
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gestión del agua en América Latina.....	6
Figura 2: Usos principales del agua	6
Figura 3: Tabla de temperaturas según presión atmosférica	8
Figura 4: Toxico cinética del arsénico en el cuerpo humano	12
Figura 5: Contaminación por arsénico en el mundo	14
Figura 6: Columna de Winogradski	16
Figura 7: Puntos de muestreo en la Quebrada Talahuachana.....	28
Figura 8: Aforo de muestras por cada punto y fuente de carbono	36
Figura 9: Proceso para la realización de Tinción Gram.	37
Figura 10: Cámara de Neubauer llenada por efecto de capilaridad.....	38
Figura 11: Conteo de células.....	39
Figura 12: Siembra por vertido en placa	41
Figura 13: Conteo de colonias.....	41
Figura 14: Aislamiento de colonias por estrías de medios enriquecidos	42
Figura 15: Ubicación del área de estudio Quebrada Talahuachana.	43
Figura 16: Clasificación de los tipos de climas del río Blanco (3100 a 3300 msnm).	44
Figura 17: Precipitación de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	45
Figura 18: Temperatura del río Blanco (3100 a 3300 msnm).....	46
Figura 19: Porcentaje de pendientes de la Quebrada Talahuachana	47
Figura 20: Agroecología de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	48
Figura 21: Hidrogeología de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	49
Figura 22: Clasificación de la textura de los suelos de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm)	49
Figura 23: Clasificación de la taxonomía de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	50



Figura 24: Erosión del suelo de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	51
Figura 25: Movimientos de masa de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	52
Figura 26: Aptitud agrícola de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	53
Figura 27: Cobertura vegetal de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).....	53
Figura 28: Crecimiento bacteriano con fructosa-maltosa	67
Figura 29: Crecimiento bacteriano con fructosa-vitamina C	67
Figura 30: Crecimiento bacteriano con maltosa-vitamina C.....	68
Figura 31: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico	84
Figura 32: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico	84
Figura 33: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico	85



1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“Establecimiento de enriquecimientos y aislamiento de cultivos bacterianos con capacidad de tolerancia a presencia de Arsénico a partir de cuerpos de agua dulce en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi durante el año 2022”

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: Ing. Eliana Amparito Boada Cahueñas Ph D.

Estudiante: Sr. Luis Miguel Barriga Almachi

LECTOR 1: Lcdo. Joseline Ruiz.

LECTOR 2: Lcdo. Jaime Lema

LECTOR 3: Lcdo. Javier Irazábal

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.

[The page contains extremely faint and illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the paper. No specific content can be transcribed.]

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El recurso hídrico es fuente de vida e indispensable para el desarrollo de la sociedad actual, comprende el 70% de la superficie del planeta (Fernández, 2017). En un medio hídrico existen varias maneras de contaminar este recurso e influir negativamente en su regeneración tales como: el desarrollo industrial y el crecimiento población generando contaminación y escases (García, 2002). En la actualidad existe la contaminación de origen biogénico en el que actúan los procesos de meteorización y mineralización como agente contaminante de origen natural (K. Romero *et al.*, 2014).

En la Parroquia de Toacaso entre el piso altitudinal que va desde los 3400 a 3700 msnm se encuentra el efluente hídrico de la quebrada Talahuachana, el cual presenta contaminación por metales pesados de origen biogénico en especial Arsénico (As) (Toapanta, 2022). En la actualidad los habitantes tienen desconocimiento total sobre la alta concentración de dicho compuesto inorgánico que se encuentra presente en el agua que consumen y usan para regadío, representando así un alto nivel de riesgo de contaminación en la flora y fauna de su zona puesto que la mayoría de productos que cultivan en la zona son potenciales bio acumuladores que después distribuyen en plazas y mercados cercanos.(Pabón *et al.*, 2020). Por lo cual es indispensable crear nuevos métodos de remoción y tratamiento del agua potable con el fin de cumplir con los parámetros fijados por la autoridad competente ya que en la zona actualmente su valor sobrepasa por mucho el mínimo requerido (Alarcón *et al.*, 2013).

Para enriquecer y aislar microorganismos tolerantes al arsénico es necesaria la evaluación de tres fuentes de carbono diferente que aporten en el crecimiento y desarrollo de las bacterias presentes en las aguas provenientes de la Quebrada Talahuachana en la parroquia de Toacaso. Para lo cual se requiere estandarizar un medio hábil para que las bacterias se desarrollen y a futuro puedan mantenerse estables para formar grupos de colonias visibles aisladas. La presente investigación aporta a nuevos estudios basados en estrategias de bio remediación de aguas superficiales con el fin de disminuir, contrarrestar y restaurar los altos niveles de arsénico que son liberados al cauce producto de la mineralización de las rocas de origen natural. (Álvarez *et al.*, 2017).



3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Los principales beneficiarios del proyecto de investigación son la población aledaña a la Quebrada Talahuachana y los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Tabla 1: Beneficiarios del Proyecto

BENEFICIARIOS DIRECTOS		BENEFICIARIOS INDIRECTOS	
Población de la Parroquia de Toacaso		Estudiantes de Ing. En Medio Ambiental	
Hombres:	3738	Hombres:	201
Mujeres:	4057	Mujeres:	321
Total:	7685	Total:	522

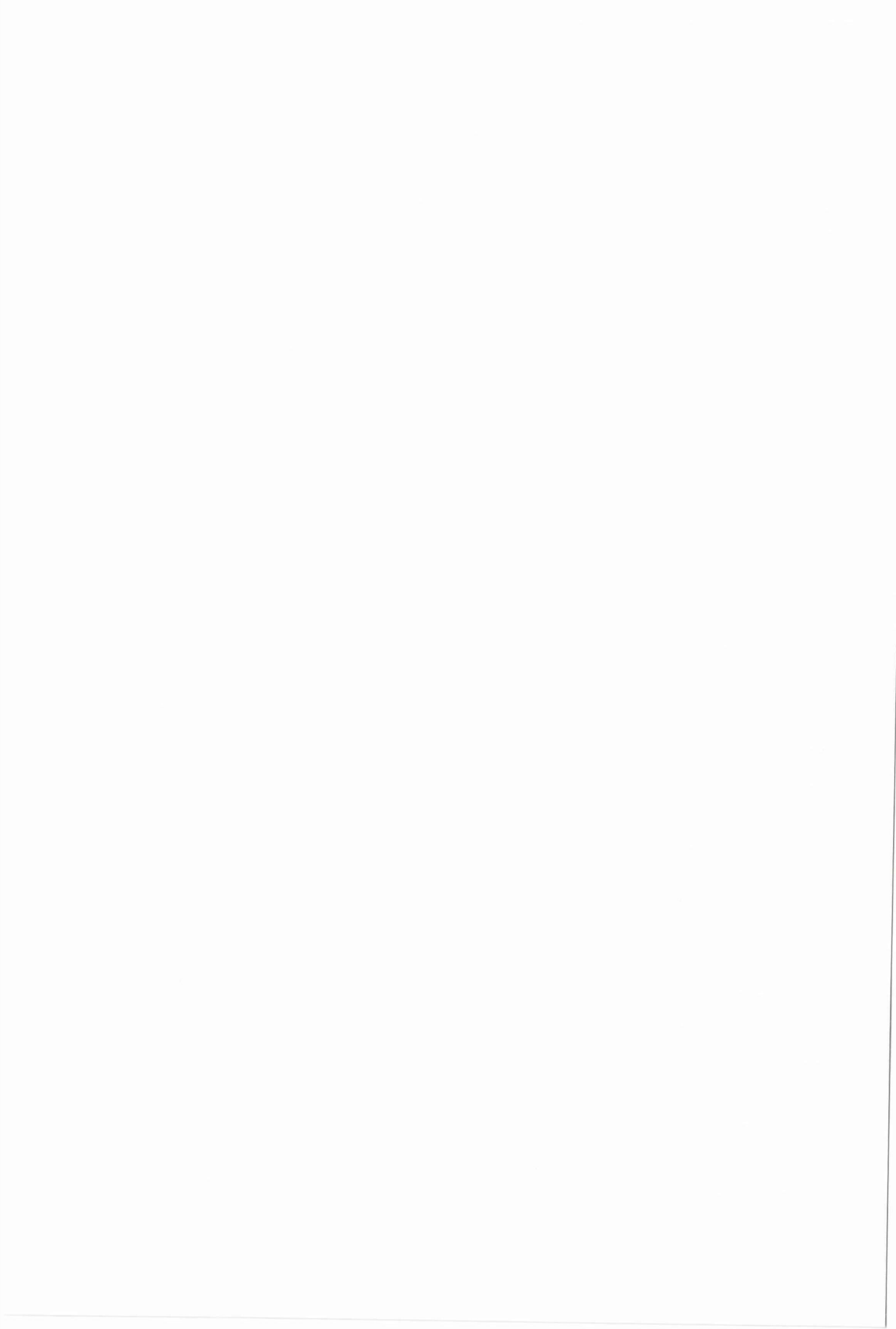
Población parroquia Toacaso y UTC

Fuente:(INEC, 2010) (Universidad Técnica de Cotopaxi , 2020)

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En la actualidad, en 20.7% de la población del Ecuador consume agua contaminada lo cual genera preocupación desde un punto de vista médico y de salud (INEC, 2018). Constituye un problema a nivel nacional que se va agravando con el paso del tiempo por la falta de atención por parte las autoridades (Naciones Unidas, 2019). Generalmente su procedencia es de un origen antropogénico y/o biogénico el cual termina con facilidad en el cauce de ríos y lagos. El grado de toxicidad del arsénico va a depender de su formación química, así como del nivel de concentración que contenga (Giaverini, 2015). En el mundo más de 140 millones de personas consumen agua con niveles de arsénico por encima lo valores mínimos de acuerdo a su ubicación geográfica y nivel de industrialización (Carabantes & Fernicola, 2003).

Los yacimientos más comunes de origen biogénico se derivan del volcanismo y la actividad hidrotermal, misma que se puede encontrar en la cordillera de los andes en el Ecuador. El arsénico de dicho origen se puede encontrar en estado de oxidación (III) y (V), con un pH con bajo contenido de alcalinidad (Sharma *et al.*, 2021). El consumo de este tipo de agua con niveles de arsénico elevados puede generar síntomas como: cáncer, alteraciones a la piel, neurosis, náuseas e hipertensión, es por eso que el agua necesita pasar por un proceso de filtración y saneamiento antes de ser distribuida a la población (Tapia *et al.*, 2019).



De acuerdo a Isch, (2011) se estima que el 65% de las aguas superficiales en el Ecuador que discurren por debajo de la cota de los 2000 msnm no son aptas para el consumo humano y por lo tanto se consideran como contaminadas. Dentro del control de calidad del agua para usos y/o aprovechamientos se requiere monitorear constantemente dicho recurso para cumplir con los criterios de calidad de acuerdo al uso. Al mantener estos controles se podría prevenir y contrarrestar problemas de contaminación en principales cultivos de la zona y evitando la ingesta de agua contaminada (INEN, 2013). En la actualidad los proyectos de bio remediación del agua han sido nulas por parte de las autoridades, es así que la implementación de nuevas técnicas de remoción de metales pesados beneficiaría a la población de la parroquia de Toacaso.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

- Establecer enriquecimientos y aislar cultivos bacterianos con capacidad de tolerancia a presencia de arsénico a partir de cuerpos de agua dulce en la parroquia de Toacaso.

5.2 Objetivo Específico

- Establecer enriquecimientos de microorganismos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones utilizando como fuentes de carbono fructosa y maltosa.
- Establecer enriquecimientos de microorganismos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones utilizando como fuente de carbono vitamina c.
- Aislar consorcios bacterianos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones y diversas fuentes de carbono y energía.

6. 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

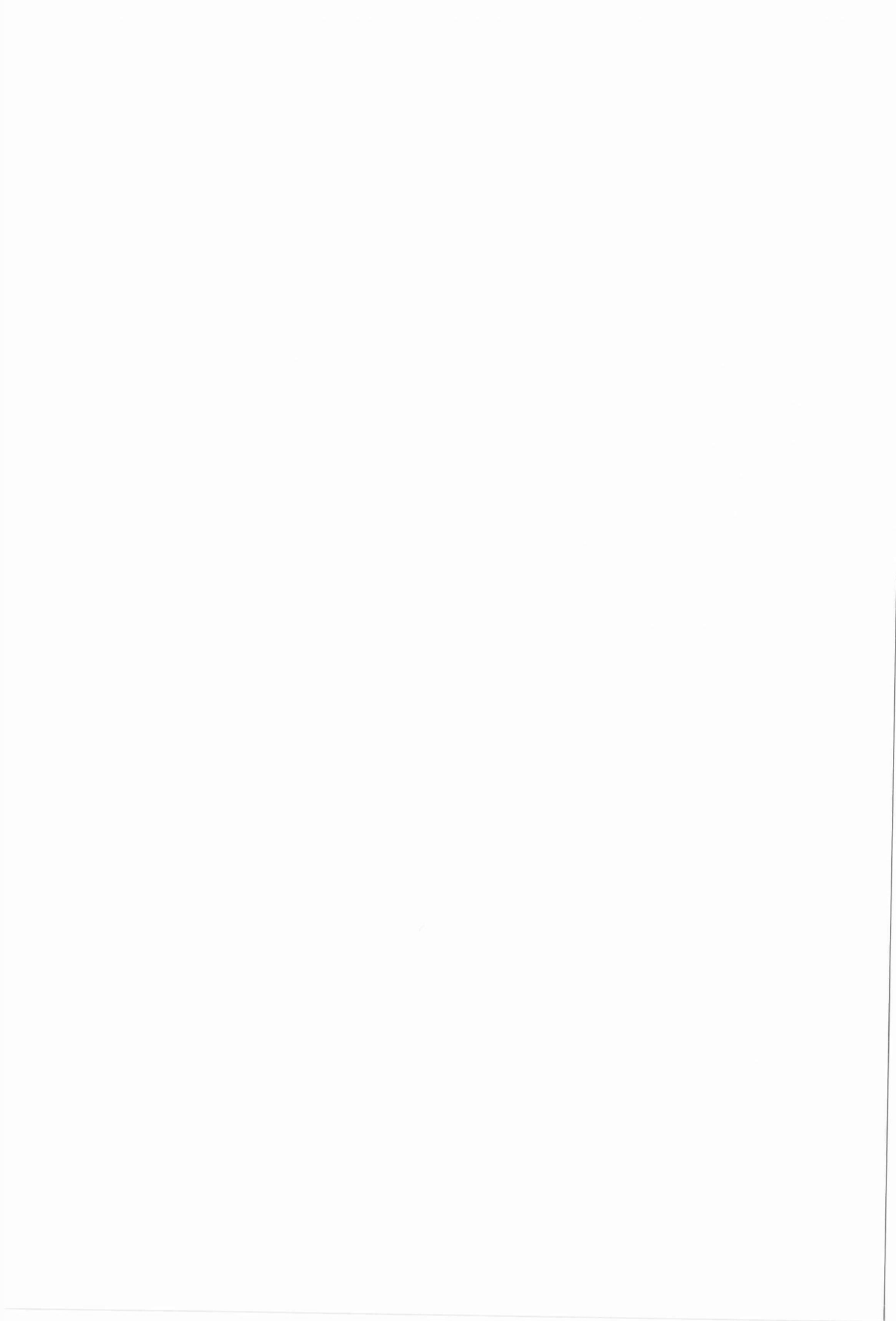
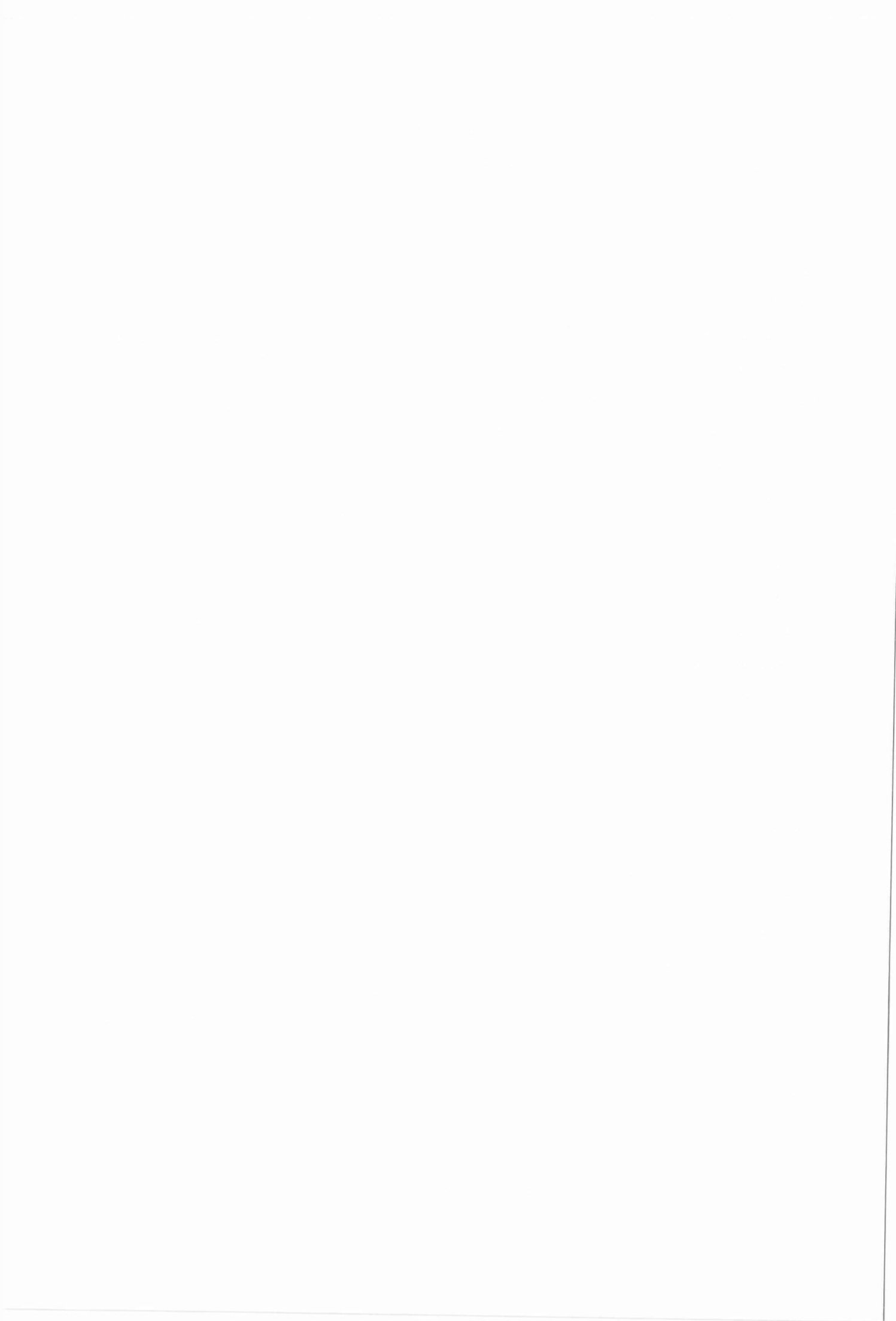


Tabla 2: Objetivos y actividades

Objetivos	Actividades	Metodología	Resultado
O1. • Establecer enriquecimientos de microorganismos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones utilizando como fuentes de carbono fructosa y maltosa.	Establecimiento de medio de enriquecimiento hábil con fuente de carbono fructosa y maltosa aptos para el desarrollo de microorganismos.	Determinación de enriquecimientos con fuentes de carbono fructosa y maltosa en laboratorio.	Obtención de un medio de enriquecimiento hábil para el crecimiento de microorganismos.
O2. • Establecer enriquecimientos de microorganismos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones utilizando como fuente de carbono vitamina c.	Establecimiento de medio de enriquecimiento hábil con fuente de carbono vitamina c aptos para el desarrollo de microorganismos.	Determinación de enriquecimientos con fuentes de carbono vitamina c en laboratorio.	Obtención de un medio de enriquecimiento hábil para el crecimiento de microorganismos.
O3. • Aislar consorcios bacterianos tolerantes a la presencia de arsénico como donador/aceptor de electrones y diversas fuentes de carbono y energía.	Separar consorcios bacterianos con capacidad de tolerancia a arsénico (As) en cultivos puros.	Aislamiento de consorcios bacterianos por estrías en el laboratorio.	Obtención de cultivos puros de bacterias tolerantes a la presencia de arsénico.

Elaborado por: Barriga Luis



7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Recurso hídrico

El recurso hídrico es parte del patrimonio natural de un país. Se le atribuye una gran importancia en la sociedad ya que es un derecho humano definido por las Naciones Unidas (Naciones Unidas , 2019). Convirtiendo este líquido en un recurso vital y necesario para la humanidad. El agua constituye el 70% de la superficie de la tierra, encontrándose en sus tres estados de la naturaleza: solido, líquido y gaseoso (Muñoz, 2019). Su gestión debe ser manejada con responsabilidad para que exista un correcto uso y asignación (Isch, 2011).

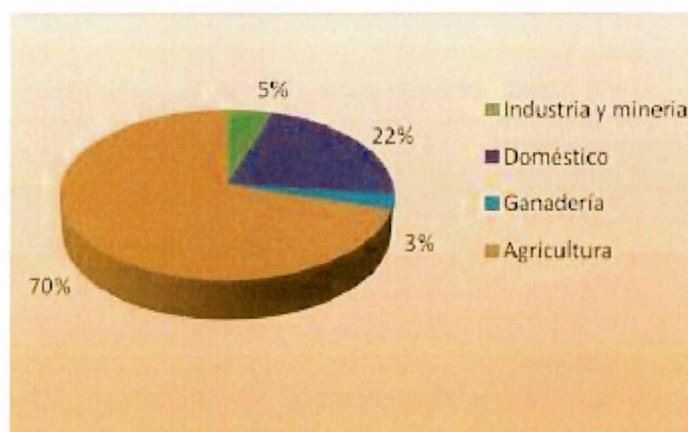
Figura 1: Gestión del agua en América Latina



Fuente: (Scidevnet, 2021)

Hoy en día, se utiliza para diferentes actividades biológicas e industriales es por ello que es muy demandada en sectores como: agrícolas, industriales, ganaderas, mineras, energéticas y de consumo humano. Además, este recurso se encuentra vulnerable ante la contaminación antropogénica y el poco interés en el saneamiento posterior a su liberación a los causes naturales (Martínez Valdés & Villalejo García, 2018).

Figura 2: Usos principales del agua



Fuente: (Scidevnet, 2021)



7.1.1 Importancia del agua

El agua es indispensable para la vida y se destaca por la importancia en la vida en cualquier región del mundo (ONU, 2018). El agua es primordial al ser un líquido que todo ser humano necesita es por ello que se debe resaltar la calidad y su cuidado para garantizar el bienestar de los seres vivos. Con su cuidado se pueden evitar enfermedades que cada vez son más frecuentes por la contaminación que recibe a diario debido a sustancias que provienen de diferentes orígenes (Pabón *et al.*, 2020). En las últimas décadas se evidenció la elevada contaminación que recibe y pueden llegar a esparcirse de manera directa a través del uso de contaminantes en el sector industrial que después terminan en depósitos de aguas subterráneas o indirectas por la mineralización de las rocas de origen volcánico (Bose & Chakraborty, 2016).

7.1.2 Calidad del agua

Es el conjunto de características físicas, químicas y biológicas que contiene el agua a partir de su origen y dependerá de las condiciones geográficas, así como también la incidencia antropogénica de industrias, ganadería y agricultura. La calidad depende del saneamiento y tratamiento que se le aplique antes del consumo por la población (Modiegi *et al.*, 2020). Durante todo el trayecto del agua de origen natural esta debe ser evaluada de acuerdo a la normativa de un país, y será verificada por un delegado del departamento. (SENAGUA, 2016). La demanda es un factor que sigue creciendo, es así que la gestión y el cuidado del recurso es importante para la distribución de un agua de calidad óptima que garantice el bienestar humano (UNESCO, 2019).

7.1.3 Parámetros físico-químicos

Son herramientas para el desarrollo de investigaciones que sirven para evaluar la calidad del agua, a través de la determinación de las propiedades físicas y químicas. Dichos parámetros pueden ser evaluados de forma individual o en forma grupal (García, 2013). Generalmente se usan para monitorear fuentes afectadas o para conocer de su información principal, misma que será utilizada para su estudio y posible remediación o estabilización según el nivel de afectación. De acuerdo a la metodología de aplicación se utilizan dos o más parámetros de valoración de calidad, esto con el fin de aportar con información importante del estado actual (Samboni *et al.*, 2007). Para el análisis es recomendable utilizar ambos tipos de parámetros puesto que en un inicio la información que aporta es mínima y muchas veces es cercana a un margen de error de los equipos (Londoño, 2013).



7.1.3.1 Temperatura

Es una medida de la energía cinética presente en las moléculas de agua y se miden en escala lineal de grados Centígrados o Fahrenheit. Es un parámetro fundamental en la determinación de la calidad del agua e influye en la velocidad de la fotosíntesis, cantidad de oxígeno, estivación de microorganismos acuáticos y la sensibilidad de organismos (De La Mora-Orozco *et al.*, 2020).

Figura 3: Tabla de temperaturas según presión atmosférica

Altitud sobre el Nivel Del Mar [m]	Presión Atmosférica [kPa]	Punto de ebullición a Presión Atmosférica [°C]
0	101	100
500	95	98
1000	89	96
1500	84	95
2000	79	93
2500	74	92
3000	69	90
3500	65	88
4000	61	86

Fuente: (Isch, 2011)

7.1.3.2 pH

Es una unidad de medida que hace referencia a una solución acida o alcalina, específicamente determina la cantidad de iones de hidrogeno en medida de logaritmo de base 10 (\log^{10}) de la actividad del ion. Las soluciones con pH menor a 7 se consideran acidas y mayores a 7 son alcalinas. (Vázquez & Rojas, 2016). En el agua de consumo humano se debe determinar el grado de acidez o alcalinidad para que pueda ser expendida, es por ello que este parámetro es el principal para determinar la calidad del agua (Pérez, 2016). En el agua de origen natural se destaca la importancia de mantener un pH óptimo en el agua natural por las múltiples reacciones físicas y químicas de los microorganismos acuáticos en relación a su proceso de metabolismo (Londoño, 2013).

7.1.3.3 Color

El color del agua representa la información cualitativa y cuantitativa sobre las sustancias disueltas. Para determinar el color del agua se utiliza un haz de luz monocromática que atraviesa el líquido y mide la intensidad de luz emergente. La coloración en el agua es debido a la presencia de metales pesados como el cobre, hierro y manganeso los cuales se encuentran en suspensión, así como también a la materia orgánica (Osorio Trujillo & Martínez Cajigas, 2018).



7.1.3.4 Sólidos suspendidos

Los sólidos suspendidos hacen referencia a pequeñas partículas de material en suspensión que encuentran en aguas superficiales o residuales debido al movimiento del agua. También actúan como indicador de calidad de agua principalmente para consumo humano (Jaya, 2017). Para disminuir la cantidad de sólidos se utiliza plantas de agua sedimentadores y filtros. El tamaño y densidad de las partículas destacan una gran importancia al momento de sedimentar el agua (L. Sánchez & Viáfara, 2014).

7.1.3.5 Alcalinidad

La alcalinidad en el agua es un parámetro que define el contenido de carbonato, bicarbonato e hidroxilo (Londoño, 2013). Actúa como indicador en el agua potable puesto que se muestra como sustancia coagulante y altera el nivel de pH haciendo que descienda, lo que implica que para mantener una calidad óptima este deberá ser ajustado acorde al nivel (Ceron *et al.*, 2005).

7.1.3.6 Turbidez

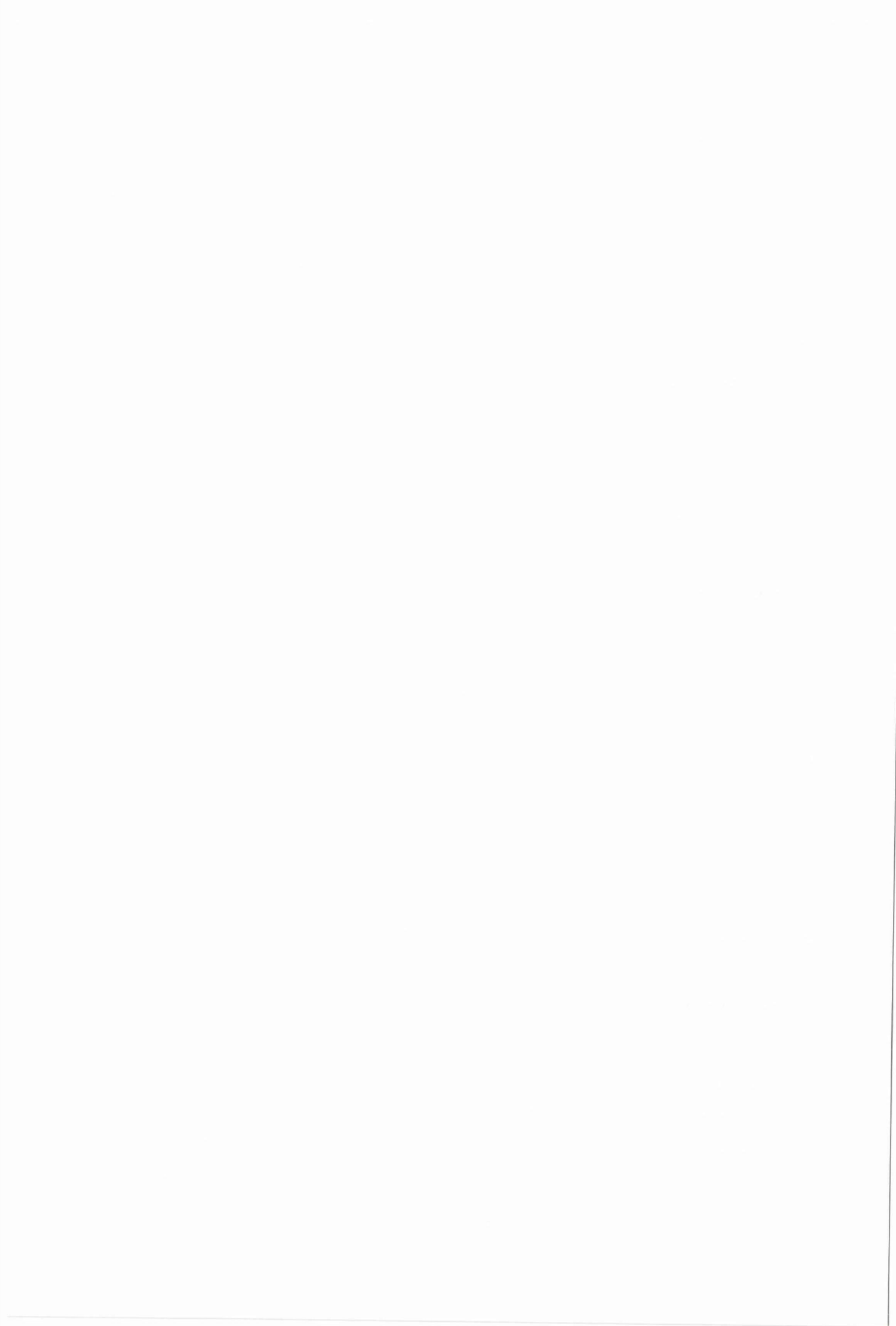
La turbidez en el agua es una medida que determina el grado de transparencia debido a la presencia de partículas en suspensión. Para determinar la claridad u opacidad del agua es necesario que una luz se disperse y absorba todo el reflejo y pueda ser transmitida. El consumo de agua con un nivel alto de turbidez provoca enfermedades intestinales e incluso hepatitis (Villanueva & Avila, 2019).

7.1.3.7 Dureza

Se definen como la concentración de compuestos minerales que existen en una determinada cantidad de agua como sales de Magnesio y Calcio. Proviene principalmente de formaciones geológicas que son atravesadas por el agua previa a su captación. Las aguas que contengan mayor cantidad de carbonatos de calcio y magnesio se denominan aguas duras y las que contengan menor cantidad son consideradas como aguas blandas. Su unidad de medida son los grados hidrométricos franceses y para su cálculo emplean la siguiente fórmula: $(\text{mg/l Ca} \times 2.5 + \text{mg/l Mg} \times 4.2) / 10$ (Soto, 2010).

7.1.3.8 Sulfatos

Los sulfatos (SO_4^{2-}) son aniones que se encuentran presentes en el agua y pueden presentarse de manera natural o antropogénica. Parcialmente se deriva de los compuestos que discurren de formaciones rocosas como el yeso y debido a su elevada solubilidad en común encontrarla en el agua superficial o subterránea. Su estabilidad termina es muy aceptable, su



mayor uso se da en la industria de fertilizantes, pesticidas, vidrio y fármacos entre otros, además sirve para controlar algas en las redes de agua (Rodríguez *et al.*, 2010).

7.1.4 Parámetros microbiológicos

Los microorganismos son conocidos por la eficacia que mantienen al momento de restaurar o mitigar cambios que se han dado en el agua. Diferentes actividades como los rellenos sanitarios y botaderos demandan de tratamientos microbiológicos que controlen los niveles de contaminación. En el agua poseen propiedades indicadoras de contaminación, interactuando con el medio y en el mejor de los casos ayudan por sí mismos a restaurar el balance biológico del área (T. Romero & Vargas, 2017).

7.1.5 Contaminación del agua

Las actividades humanas son la causa principal de la contaminación al recurso hídrico en el mundo y esta acción se han vuelto más visible y cotidiana con el pasar del tiempo. El contaminante de origen natural se ve influenciado por la presencia de depósitos volcánicos longevos que mantienen contacto con suministros de aguas subterráneas que intersectan el curso del mismo. La mineralización de las rocas libera metales pesados al agua convirtiendo en potenciales contaminantes de largo alcance a nivel trófico (Pabón *et al.*, 2020).

7.1.5.1 Fuentes de contaminación

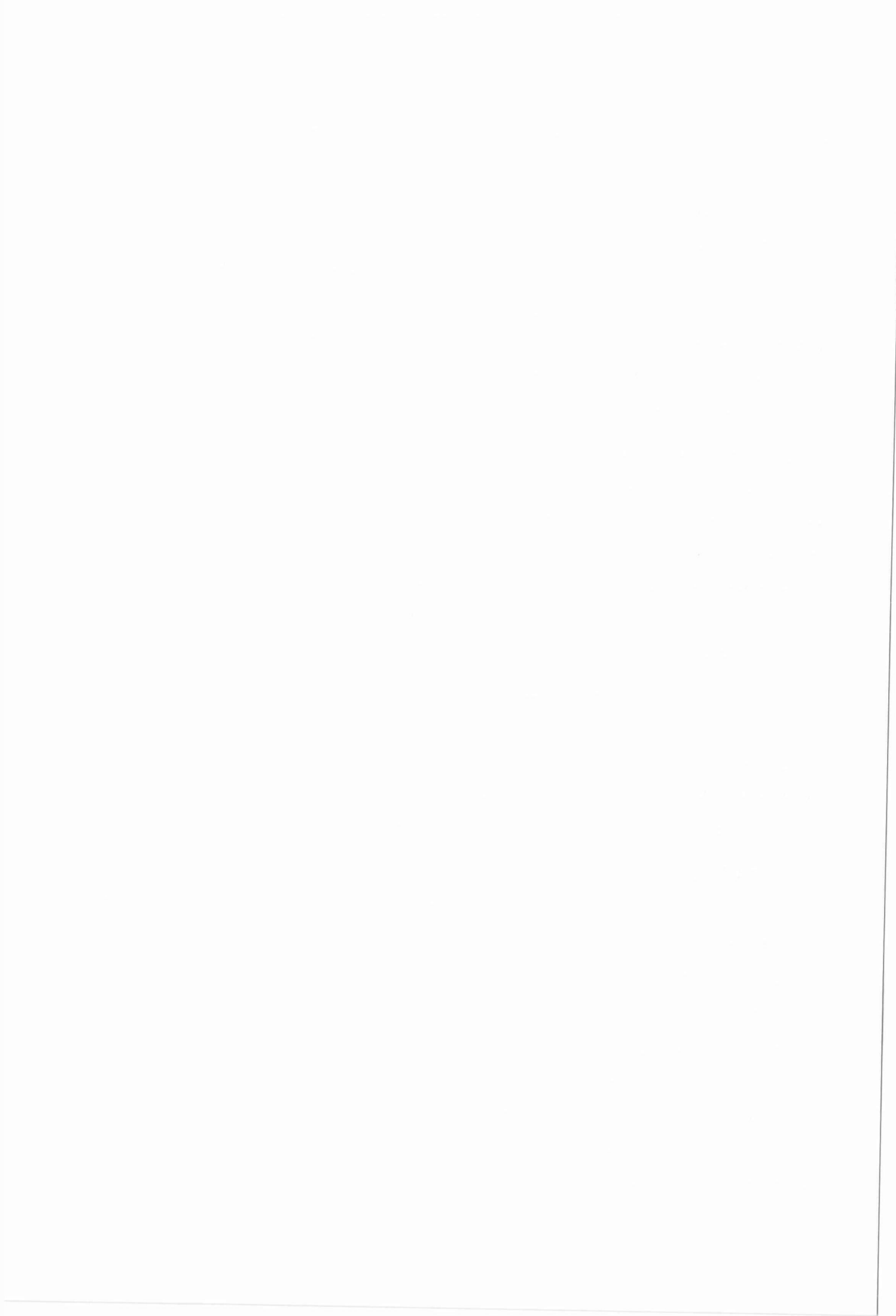
Las fuentes de contaminación del agua se deben principalmente a las actividades industriales y las aguas residuales urbanas que se vierten diariamente a los cauces y no son tratadas previamente, lo que lo convierte en un peligro potencial a largo y corto plazo para quienes le dan un segundo uso como en la agricultura y ganadería (Villasante, 2000).

7.1.5.1.1 Origen industrial

Los procesos de producción en las industrias demandan grandes cantidades de agua que muchas veces no son tratadas. La contaminación que se produce al momento de lavar o procesar los productos, libera sustancias tóxicas como metales pesados, ácidos y materiales en descomposición (Zhang *et al.*, 2021).

7.1.5.1.2 Origen doméstico

Se utilizan productos con cargas de contaminantes que al contacto con el agua forman membranas en las paredes de ríos y océanos, complicando su restauración y saneamiento por sí solas. Proviene de todo un sector urbano que deriva de la utilización de detergentes, aceite de cocina, shampoo y pintura (Tsuzuki, 2006).



7.1.5.1.3 Origen agrícola – ganadero

Las actividades desarrolladas en este medio presentan una grave amenaza por el vertido y uso de agroquímicos, materia orgánica, sedimentos y sales presentes en los cuerpos de agua. El gran uso de la tierra para la agricultura intensifica enormemente el uso de pesticidas sintéticos insumos y fertilizantes que intensifican la producción de contaminantes (Tokatlı & Varol, 2021).

7.1.5.1.4 Origen pluvial

Las aguas pluviales son el producto de las escorrentías, las cuales al tener contacto con contaminantes presentes en el suelo tienen la capacidad de arrastrar y traer consigo elementos como aceites, residuos de fertilizantes y sedimentos entre otros (Liang *et al.*, 2019).

7.1.5.1.5 Origen natural volcánico

Una erupción volcánica es un fenómeno de origen natural que desprende gran cantidad de contaminantes como metales pesados que son liberados al suelo, aire y agua. Los flujos provenientes del volcán alcanzan masas de agua superficial y subterránea llevando a cabo el aumento de la concentración de elementos que pueden ser tóxicos dependiendo de su grado (Naderi *et al.*, 2020). Los procesos geológicos liberan materiales como los minerales y metales pesados, en los que por acción de la precipitación, escorrentía y arrastre de materia suelen ser depositados en los cauces de ríos naturales (Pérez *et al.*, 2015).

7.2 Metales pesados como agentes antropogénicos de contaminación

Los metales pesados se encuentran presentes en todos los elementos de uso diario que conocemos, sin embargo la contaminación por parte del ser humano a través de los procesos industriales es muy significativo con el desarrollo de nuevos procesos y nuevas tecnologías (K. Romero *et al.*, 2014). Pueden contaminar diferentes medios con rapidez y en muchos casos son difíciles de remediar el daño ocasionado. De acuerdo a sus concentraciones son altamente tóxicos y si se encuentran en un medio acuático pueden llegar a bio acumularse en animales. Su medio de exposición es extenso y puede llegar a esparcirse hasta causar enfermedades principalmente en seres vivos (Bartzas *et al.*, 2021).

7.2.1 Arsénico como contaminante natural y antropogénico

De origen antropogénico provienen principalmente de procesos industriales como actividades mineras, fundición o producción de pesticidas e insecticidas y entran en contacto con la piel, al inhalar, beber o comer la sustancia. A través de escorrentía llega a alcanzar cauces de ríos naturales utilizados por pobladores y animales (Bécar & Arancibia, 2010). Al

[Faint, illegible text covering the majority of the page, possibly bleed-through from the reverse side.]

expandirse, altera el medio, contaminan el agua, los alimentos y los cultivos que son necesarios para el desarrollo social y económico. Otro efecto peligroso es el de bio-acumulación del arsénico en los seres vivos proveniente de los ciclos de cadenas tróficas que terminan comúnmente en el ser humano afectando su salud (OMS, 2018).

También se les atribuye el origen del arsénico a los procesos naturales tales como las actividades volcánicas, biológicas y la meteorización encontrándose principalmente en acuíferos y aguas superficiales como un compuesto inorgánico disuelto que, de ser ingeridas representan una gran amenaza para la salud (Lillo, 2008).

El arsénico es considerado una de las 10 sustancias químicas más preocupantes en el medio ambiente y que en su forma inorgánica es muy toxica. Se encuentra esparcido de forma natural y por procesos propios pueden causar la alteración del medio (Naderi *et al.*, 2020).

7.2.2 Toxico cinética del arsénico

En estado gaseoso su ruta de ingreso es inhalatoria y su absorción es inmediata, provoca síndromes graves si ingresa a los glóbulos rojos causando daños en la membrana celular. Al ingresar por medio de alimentos no se bio-transforman por sus bajas concentración y estado, pero si supera la concentración en un 80-90% puede alterar órganos vitales manteniéndose y bio acumulándose en los seres vivos principalmente, cabe mencionar que no suelen ser expulsados (Kenyon, 2021). Por la explosión dérmica causa irritaciones en la piel y son absorbidos rápidamente si se presenta heridas abiertas. La vida media del arsénico en humanos es de 10 hasta 30 horas después de haber sido absorbido por cualquier medio receptor (Giaverini, 2015).

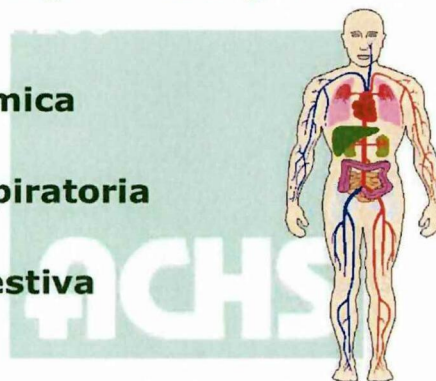
Figura 4: Toxico cinética del arsénico en el cuerpo humano

Vía de ingreso al organismo

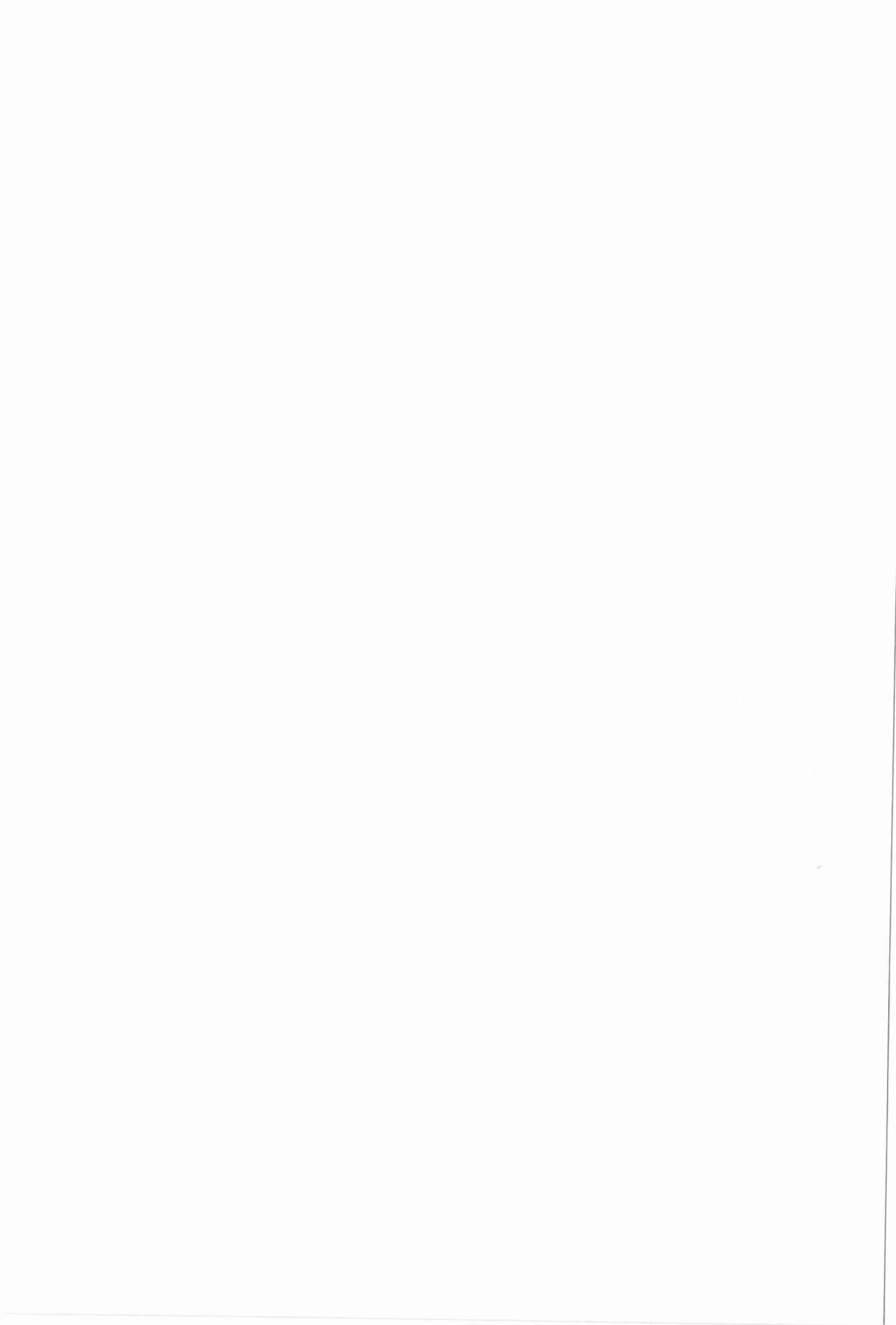
-Dérmica

-Respiratoria

-Digestiva



Fuente: ACHS 2021



7.2.3 Bio acumulación del arsénico

Se define como la acumulación de sustancias químicas o tóxicas presentes en organismos vivos como animales principalmente, cumpliendo su ciclo en la cadena alimenticia hasta alcanzar un nivel trófico en el que los seres vivos son capaces de absorber dichas sustancias (H. T. Wang *et al.*, 2021). En la actualidad la presencia de contaminantes persiste en el ambiente en sus diferentes tipos de estados, es así que afectan a los potenciales bio-acumuladores. El compuesto arsénico puede cambiar de estado de oxidación fácilmente al entrar en contacto con el oxígeno, agua, suelo o por la interferencia de microorganismos presentes (Rodríguez Martínez *et al.*, 2017). Los productos de consumo diario son los principales contaminantes directos en contra de los seres vivos. Hay que tener en cuenta que este tipo de contaminación hace referencia al desarrollo de diferentes tipos de cáncer, principalmente el de estómago. (Lobo *et al.*, 2021).

7.3 Contaminación del agua por metales pesados

Los metales pesados presentes en el agua a concentraciones superiores se deben a los desequilibrios naturales o antropogénicos que pueden llegar a ser letales para los seres vivos. Algunos pueden considerarse como fuente de nutrientes para algunas plantas y animales, pero si su concentración es superior pueden desencadenar enfermedades o producir la muerte por intoxicación, convirtiéndola así en una problemática ambiental importante (Caviedes Rubio *et al.*, 2015). La actividad industrial y minera son dos de las causas principales que acarrearán diariamente metales pesados por arrastre pluvial que son depositados en suelos, ríos y el mar. La afectación a la vida tiene consecuencias como las enfermedades y bio acumulación en todo ser vivo (Pabón *et al.*, 2020).

7.3.1 Contaminación de arsénico en el agua

Las personas pueden verse expuestas al arsénico a través de ingesta de agua contaminada con arsénico proveniente de las zonas en las que el agua está en contacto con minerales que contengan este elemento. En diferentes partes del mundo por su formación geológica en estas partes se puede encontrar con arsénico en mayores cantidades de lo habitual (J. Wang & Shraim, 2003).

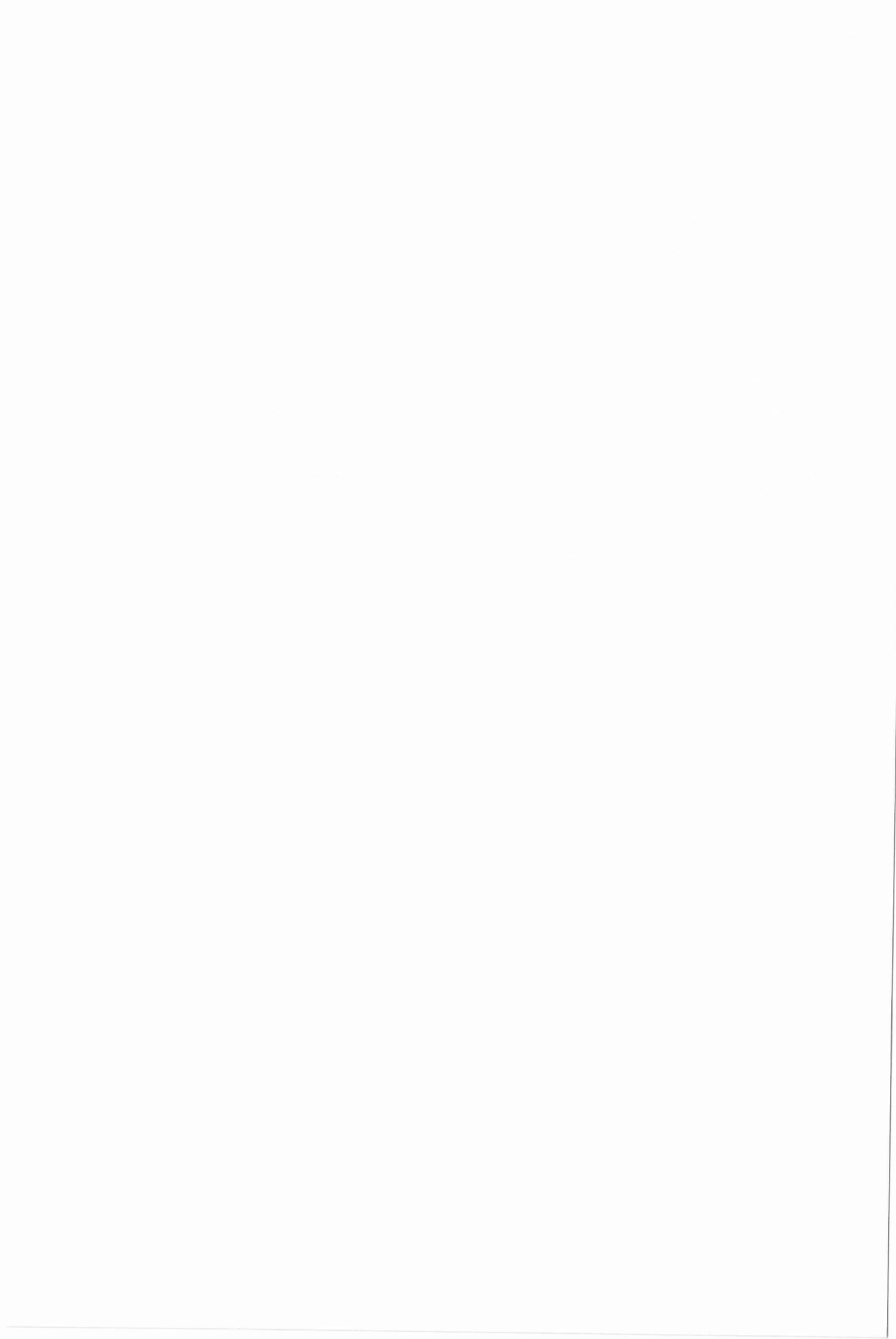


Figura 5: Contaminación por arsénico en el mundo

Arsenic contaminations in groundwater and coal and population at risk around the world					
Country or area	Population at risk	Groundwater concentration ($\mu\text{g As l}^{-1}$)	Guidelines ($\mu\text{g As l}^{-1}$)	Discovery date	References
Argentina	2 000 000	100–1000	50	1981	Sancha and Castro (2001)
Bangladesh	50 000 000	<1–4700	50	1980s	Ahmad (2001)
Bolivia	20 000		50	1997	Sancha and Castro (2001)
Chile	437 000	900–1040	50	1971	Sancha and Castro (2001)
China, Guizhou ^a	20 000	100–10 000 (mg kg^{-1})	8 mg kg^{-1}	1950s	An et al. (1997)
China, Inner Mongolia	600 000	1–2400	50	1990s	Guo et al. (2001)
China, Xinjiang Province	100 000	1–8000	50	1980s	Wang (1997)
Hungary	220 000	10–176	10	1974	Sancha and Castro (2001)
India, West Bengal	1 000 000	<10–3900	50	1980s	Chakraborti et al. (2001)
Mexico	400 000	10–4100	50	1983	Sancha and Castro (2001)
Nepal	Unknown	Up to 456	50	2002	Tandukar and Neku (2002)
Peru	250 000	500	50	1984	Sancha and Castro (2001)
Romania	36 000	10–176	10	2001	Gurzau and Gurzau (2001)
Taiwan	200 000	10–1820	10	1950s	Tseng (1977)
Thailand, Rongpibool	1000	1–5000	50	1980s	Choprapwon and Porapakkham (2001)
USA	Unknown	10–48 000	10	1988	Welch et al. (1988)
Vietnam	Millions	1–3050	10	2001	Berg et al. (2001)

^aGuizhou is the only known arsenicosis endemic area caused by arsenic contamination in coal.

Fuente:(J. Wang & Shraim, 2003).

El agua con arsénico de cualquier origen al no ser tratada puede desencadenar múltiples enfermedades e irritaciones en la piel (Alarcón *et al.*, 2013). De acuerdo a su composición y la cantidad puede llegar a ser altamente tóxicos y cancerígenos para el organismo del ser humano, así como también el estar expuestos por largos periodos a sus concentraciones. Según Chávez & Miglio (2011) “La escala de toxicidad del arsénico decrece en el siguiente orden: Arcina > As+ 3 inorgánico > As+ 3 orgánico > As+ 5 inorgánico > As+ 5 orgánico > compuestos arsenicales y arsénico elemental”.

7.4 Ecosistemas acuáticos de alta montaña contaminados por metales pesados

En un cuerpo de agua proveniente de deshielos, aguas superficiales y aguas subterráneas con incidencia volcánica se disuelven grandes cantidades de sales, sustancias y tóxicos en especial, que representan un problema para toda forma de vida cercana al sitio (Alarcón *et al.*, 2013). En general la prolongada exposición a altas concentraciones de estos metales o metaloides en ecosistemas acuáticos produce que desaparezcan algunos microorganismos, bacterias y peces, eso depende mucho de la concentración a la que se encuentren expuestos. La mayoría de veces muchos microorganismos se adaptan y utilizan dichos contaminantes como un medio evolutivo y nutritivo en beneficio de su desarrollo y proliferación (Yang *et al.*, 2002). De acuerdo a las diferentes propiedades de materiales y estructuras geológicas presentes existen

gran cantidad de iones y trazas en el caso de metales pesados, siendo algunos de ellos necesarios para el desarrollo de microorganismos que se adaptan al medio y prevalecen, así como otros animales y plantas (Arambourou *et al.*, 2020).

7.4.1 Caracterización de ecosistemas acuáticos de alta montaña

Es un ecosistema que se encuentra a bajas temperaturas y se forma de pendientes ligeramente inclinadas en el terreno generando caída y produciendo abundante oxigenación en el agua. Su característica más esencial es la de albergar vida para diferentes seres vivos que se adaptan a la altura y condiciones climáticas a las que se encuentran y se desarrollan preservando así la micro biota (Vega Falcon, 2009). En su entorno actúan como indicadores en el agua de acuerdo a ciertos factores que pueden alterar el medio como altas precipitaciones y su calidad (Camacho, 2014). Por último Vandenberg *et al.* (2011) afirma que “existen microorganismos denominados como (micro biota) que no son perceptibles al ojo humano. Además, que es natural encontrarse con bacterias como: *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Salmonella*, *Legionella pneumophila* y *Pseudomonas aeruginosa* entre otras”

7.5 Ecología microbiana de ecosistemas acuáticos

La mayoría de formas de vida microbiológicas toman en cuenta factores tanto bióticos como abióticos misma que se encuentra en un constante crecimiento se establece microorganismos cultivados y no cultivados con diferentes funciones entre las cuales se encuentra la capacidad de eliminar ciertos elementos de un medio aprovechando la energía y nutrientes provenientes del medio creando sus propias condiciones de crecimiento en su hábitat sin problema. Hay que tener en cuenta que debido a cambios en su medio pueden sufrir alteraciones en las comunidades microbianas produciendo la debilitación de su estructura (Ó. Sánchez, 2002). Algunos organismos como las bacterias actúan como un indicador, puesto que poseen un reactivo o sustancia química que al combinarse a algún producto del metabolismo origina coloración que representa una característica de indicador (Konopka, 2019).

7.5.1 Consorcios Bacterianos asociados a la degradación de metales pesados

Un consorcio bacteriano del tipo cianobacterias principalmente de género *Anabaena* puede adsorber muy fácil el arsénico y otros metales pesados pues dada su forma alargada es más fácil que pueda realizar el proceso de adsorción, además de su mayor exposición a la pared celular. La efectividad de remoción depende de la proliferación de bacterias dentro del consorcio, es por ello que debe ser abundante (Faccia *et al.*, 2021).

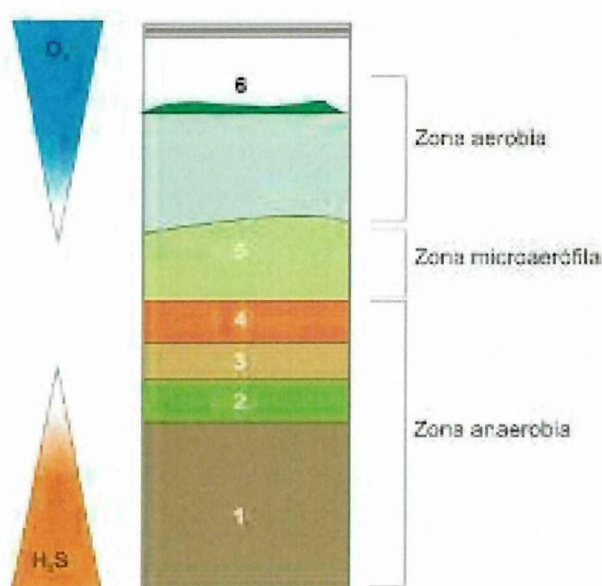


Al momento de implementar sistemas de remoción de metales pesados el arsénico se encuentra en estado de oxidación (III) y (V), en el que aislaron y caracterizaron un consorcio quimiolitotrofo de bacterias con una capacidad de remoción 95% de eficiencia. La bacteria *Rhodococcus equi* fue aislada del agua contaminada con arsénico e inmovilizada a una cama de celulosa para su tratamiento en agua utilizando sus dos concentraciones (Montoya *et al.*, 2015). Las estrategias de bio remediación se vuelven más complejas y es por ello que a través de modificaciones genéticas en las cepas de *Corynebacterium glutamicum* se pueden acumular 100 veces más el arsénico. La potenciación de esta bacteria es la de facilitar la entrada del contaminante y evitar su escape a través de la modificación de genes que codifican las permeasas con el gen encargado de su salida haciendo que actúe como un retenedor (Rodríguez Martínez *et al.*, 2017).

7.5.2 Técnicas microbiológicas de enriquecimiento y aislamiento de consorcios bacterianos

Las condiciones intrínsecas en un cultivo demuestran que no todos los microorganismos son cultivables, es así que existen procedimientos de enriquecimiento como lo es la columna de Winogradski Fig.6 que crea un microcosmos para enriquecer el número de ciertos tipos de microorganismos presentes en el medio que se encuentren y facilitando su aislamiento (Grijalba & Escobar, 2011).

Figura 6: Columna de Winogradski



Fuente: (Grijalba & Escobar, 2011)



Una de las técnicas utilizadas para enriquecer un medio de cultivo y después aislar el mismo parte de la adaptación y purificación de los microorganismos que contengan el potencial requerido para ser utilizados en la degradación del metal pesado del estudio. (Coley & Zapata, 2006):

7.5.3 Estrategias de remediación ambiental *in situ* ligadas al uso de consorcios bacterianos

Las estrategias de bio remediación *in situ* con microorganismos se desarrollaron con el fin de mitigar la contaminación de sustancias complejas como: hidrocarburos, pesticidas, disolventes y nitrotoluenos (J. López *et al.*, 2010). Hay técnicas *in situ* que permiten eliminar, transformar y atenuar los compuestos en las zonas afectadas directamente empleando toda la capacidad metabólica de los microorganismos como: bacterias, hongos y algas. El consorcio bacteriano asocia los espacios contaminados de manera autóctona a las características ecológicas y metabólicas de importancia presentes en medios naturales como ríos o lagos, convirtiéndose así en degradadores (Garzón *et al.*, 2017).

Las técnicas de bio remediación *in situ* tienen una mayor eficacia sobre las técnicas *ex situ* por su menor costo de inversión. Es la más aplicada ya que puede eliminar los residuos de la capa superficial y remover más de un 90% de contaminantes que se encuentran en máximas concentraciones (K. Romero *et al.*, 2014). La reintroducción de microorganismos aislados y modificados a un sitio contaminado controla los accesos puesto que al ser autóctonos los toleran de mejor manera. Según Suarez (2013) “*Los métodos más empleados de biorremediación son: Fitorremediación, Biofiltración, Bioventing, Biosparging, Biopilas, Bioestimulación, Bioaumentación*”.

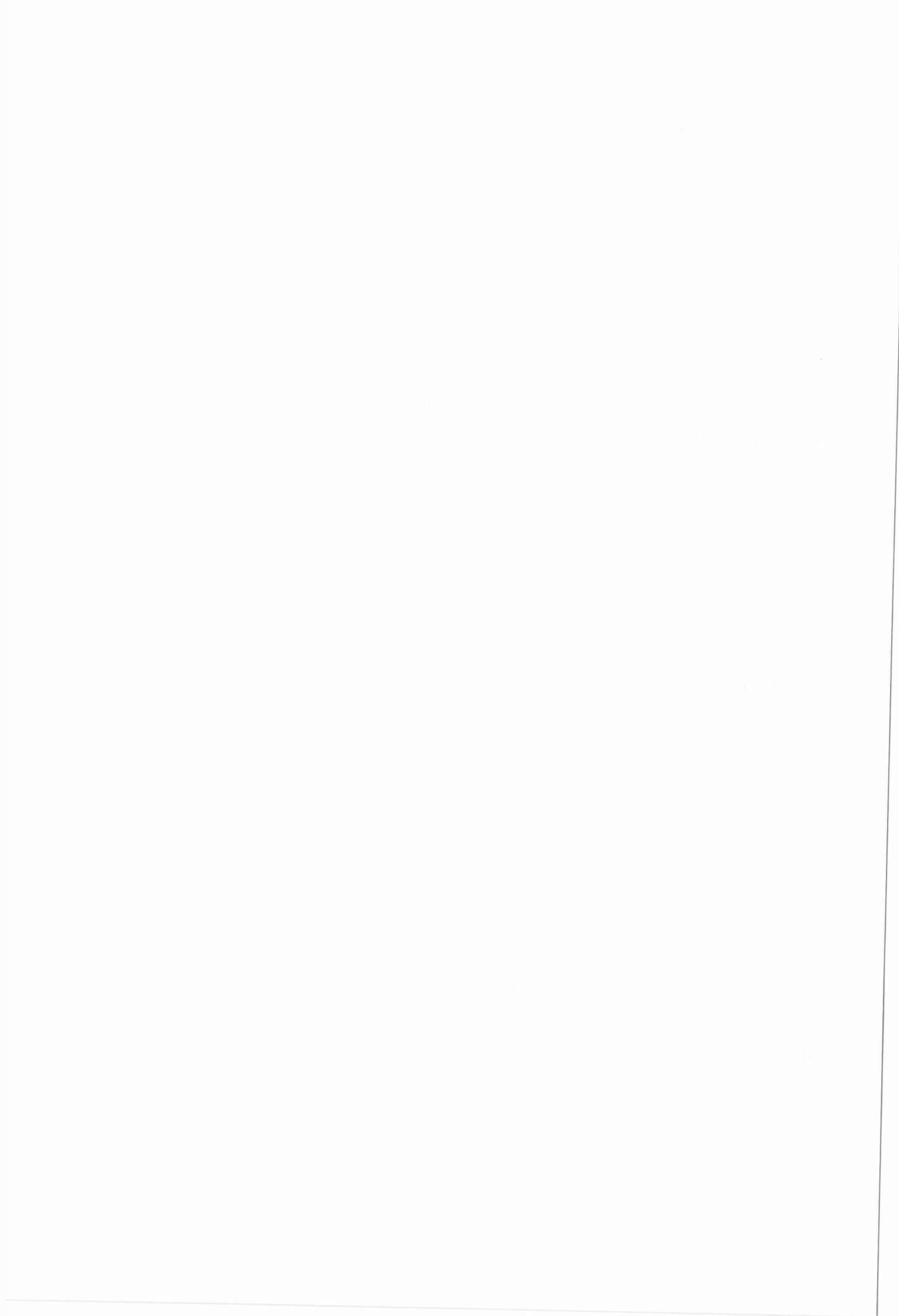
7.6 Marco legal

Para la presente investigación y desarrollo del tema presente se ha tomado en consideración la estructura en base a la pirámide de Kelsen para establecer su estructura legal como: Constitución de la República del Ecuador, Normativas, Leyes, Reglamentos, y Ordenanzas, permitiendo sustentar bajo la norma de la ley la presente investigación.

8.6.1. Constitución de la República del Ecuador de acuerdo al decreto Legislativo 0 del

Capítulo I

Principios fundamentales.



[...]Art. 3.- Son deberes primordiales del Estado. Por lo tanto, determinamos textualmente el literal 7 que dice: Proteger el patrimonio natural y cultural del país [...] (Asamblea Nacional, 2018).

Capítulo II

Derechos del buen vivir.

[...]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 [...] (Asamblea Nacional, 2018).

[...]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 [...] (Asamblea Nacional, 2018).

[...]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 [...] (Asamblea Nacional, 2018).

[...]Art. 264.- Los gobiernos municipales tendrán las siguientes competencias exclusivas sin perjuicio de otras que determine la ley: 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 [...] (Asamblea Nacional, 2018).

8.6.2. Ley de gestión ambiental

TITULO I

AMBITO Y PRINCIPIOS DE LA GESTION AMBIENTAL

[...]Art: 1.- La presente ley establece los principios y directrices de política ambiental; determina las obligaciones, responsabilidades, niveles de participación de los sectores público y privado en la gestión ambiental y señala los límites permisibles, controles y sanciones en esta materia [...] (Asamblea Nacional, 2004).

[...]Art 4.- Los reglamentos, instructivos, regulaciones y ordenanzas que, dentro del ámbito de su competencia, expidan las instituciones del Estado en materia ambiental, deberán observar



las siguientes etapas, según corresponda: Desarrollo de estudios técnicos sectoriales, económicos, de relaciones comunitarias, de capacidad institucional y consultas a organizaciones competentes e información a los sectores ciudadanos [...] (Asamblea Nacional, 2004).

TITULO V

INFORMACION Y VIGILANCIA AMBIENTAL

[...] **Art. 33.-** Establéense como instrumentos de aplicación de las normas ambientales los siguientes: parámetros de calidad ambiental, normas de efluentes y emisiones, normas técnicas de calidad de productos, régimen de permisos y licencias administrativas, evoluciones de impacto ambiental, listados de productos contaminantes y nocivos para la salud humana y el medio ambiente, certificaciones de calidad ambiental de productos y servicios y otros que serán regulados por el respectivo reglamento [...] (Asamblea Nacional, 2004).

[...] **Art. 39.-** Las instituciones encargadas de la administración de los recursos naturales, control de la contaminación ambiental y protección del medio ambiente, establecerán con participación social, programas de monitoreo del estado ambiental en las áreas de su competencia; esos datos serán remitidos al Ministerio del ramo para su sistematización; tal información será pública [...] (Asamblea Nacional, 2004).

8.6.3.1. Ley de aguas

TITULO I

DISPOCISIONES FUNDAMENTALES

[...] **Art 1.-** Las disposiciones de la presente ley regulan el aprovechamiento de las aguas marítimas, superficiales, subterráneas y atmosférica del territorio nacional, en todos sus estados físicos y formas [...] (Asamblea Nacional, 2004).

[...] **Art. 2.-** Las aguas de los ríos, lagos, lagunas, manantiales que nacen y mueren en una misma heredad, nevados, caídas naturales y otras fuentes, y las aguas subterráneas, aflorados o no, son bienes nacionales de uso público, están fuera del comercio y su dominio es inalienable e imprescriptible; no son susceptibles de posesión, accesión o cualquier otro modo de apropiación [...] (Asamblea Nacional, 2004).

TITULO IV

DE LOS USOS DE AGUAS Y PRELACION

[...] **Art. 35.-** Los aprovechamientos de agua están suspendidos a la existencia del recurso, a las necesidades de las poblaciones, del fundo o industria y a las prioridades señaladas en esta ley [...] (Asamblea Nacional, 2004)

[...] **Art. 36.-** Las concesiones del derecho de aprovechamiento de agua se efectuarán de acuerdo al siguiente orden de preferencia:

- a) Para el abastecimiento de poblaciones, para necesidades domésticas y abrevaderos de animales.
- b) Para agricultura y ganadería

Para usos energéticos, industriales y mineros; para otros usos [...] (Asamblea Nacional, 2004)

8.6.4. Ley orgánica de recursos hídricos usos y aprovechamiento del agua

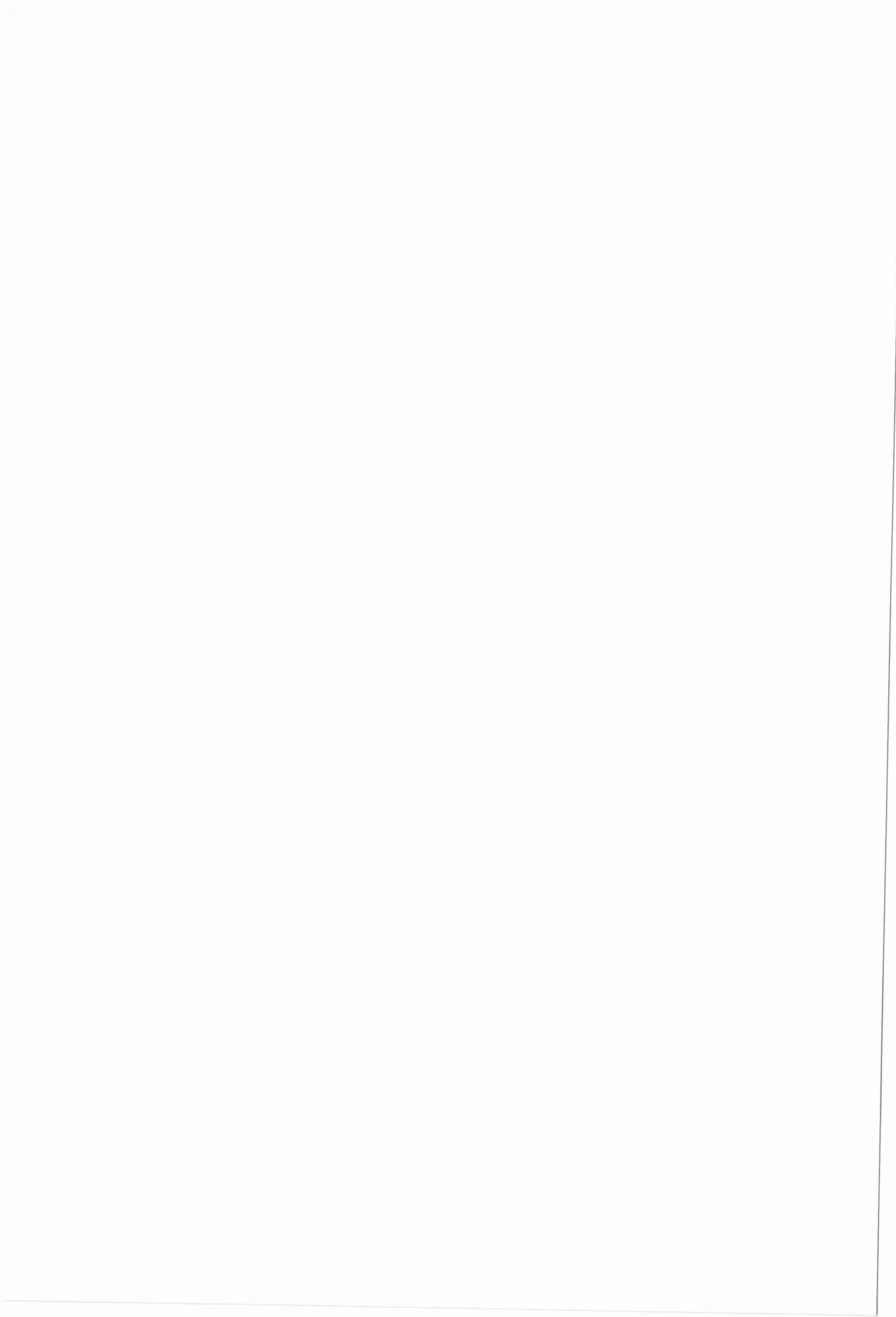
TITULO II

RECURSOS HIDRICOS

CAPITULO I

DEFINICION, INFRAESTRUCTURA Y CLASIFICACION DE LOS RECURSOS HIDRICOS

[...] **Art.13.-** Formas de conservación y de 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. Los terrenos que lindan con los cauces públicos están sujetos en toda su extensión longitudinal a una zona de servidumbre para uso público, que se regulará de conformidad con el Reglamento y la Ley. 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 delimitarán zonas de restricción en las que se condicionarán las actividades que puedan realizarse en ellas en la forma y con los efectos establecidos en el Reglamento a esta Ley [...] (Asamblea Nacional, 2014).



TITULO III

DERECHOS, GARANTIAS Y OBLIGACIONES

CAPITULO 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 el acceso al saneamiento ambiental que asegure la dignidad humana, la salud, evite la contaminación y garantice la calidad de las reservas de agua para consumo humano. El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable.

Ninguna persona puede ser privada y excluida o despojada de este derecho. El ejercicio del derecho humano al agua será sustentable, de manera que pueda ser ejercido por las futuras generaciones. La Autoridad Única del Agua definirá reservas de agua de calidad para el consumo humano de las presentes y futuras generaciones y será responsable de la ejecución de las políticas relacionadas con la efectividad del derecho humano al agua [...] (Asamblea Nacional, 2014).

8.6.5 Ley Orgánica de Salud.

CAPITULO III

Derechos y deberes de las personas y del Estado en relación con la salud.

[...] **Art. 7.-** Toda persona, sin discriminación por motivo alguno, tiene en relación a la salud, los siguientes derechos: se determina textualmente el literal C: Vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado y libre de contaminación [...] (Asamblea Nacional, 2015).

[...] **Art. 16.-** El Estado establecerá una política intersectorial de seguridad alimentaria y nutricional, que propenda a eliminar los malos hábitos alimenticios, respete y fomente los conocimientos y prácticas alimentarias tradicionales, así como el uso y consumo de productos y alimentos propios de cada región y garantizará a las personas, el acceso permanente a alimentos sanos, variados, nutritivos, inocuos y suficientes.

Esta política estará especialmente orientada a prevenir trastornos ocasionados por deficiencias de micro nutrientes o alteraciones provocadas por desórdenes alimentarios [...] (Asamblea Nacional, 2015).



[...] **Art. 96.-** Declárase 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. 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 de agua para consumo humano. 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 [...] (Asamblea Nacional, 2015).

8.6.6 Acuerdo Ministerial 097-A

Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua

Anexo 1 del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria Del Ministerio Del Ambiente. (TULSMA)

La presente norma técnica ambiental 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 éstos, es de aplicación obligatoria y rige en todo el territorio nacional.

De esta manera la norma permitirá establecer diferentes conceptos, criterios que a su vez ayudaran a salvaguardar la calidad del recurso hídrico en torno a sus diferentes usos. El Acuerdo Ministerial 097-A establece que la contaminación del agua es debido a cualquier tipo de alteración de las características físicas, químicas y biológicas, en concentraciones tales que la hacen no apta para el uso deseado, o que causa un efecto adverso en el ecosistema acuático, seres humanos o al ambiente en general. Y a su vez los criterios del agua se enfocan a la concentración numérica o enunciado descriptivo recomendado sobre parámetros físicos, químicos y biológicos para mantener determinado el uso benéfico del agua. Los criterios de calidad para los diversos usos del agua son la base para la determinación de los objetivos de 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.

La presente norma técnica determina o establece:

- a) Los principios básicos y enfoque general para el control de la contaminación del agua.
- b) Límites máximos permisibles, disposiciones y prohibiciones para las descargas en cuerpos de agua o sistemas de alcantarillado.
- c) Los distintos criterios de la calidad de aguas para sus distintos usos.
- d) Permisos de descargas.
- e) Métodos y procedimientos para determinar la presencia de contaminantes en el agua.

Clasificación

Criterios de calidad de las aguas para 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 vida acuática y silvestre en aguas dulces frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario.
3. Criterios de calidad para aguas de uso agrícola o de riego.
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.

La norma nos permite establecer seis criterios básicos para la calidad del agua, sin embargo, en la presente investigación se considerará los criterios para agua de consumo humano y uso doméstico, previo a su potabilización y para uso de riego agrícola (Acuerdo Ministerial 097-A, 2015).

7.6.1 8.6.6.1. Criterios de calidad para aguas de consumo humano y uso doméstico:

Es aquella que es obtenida de cuerpos de agua, superficiales o subterráneos, y que luego de ser tratada será empleada por individuos o comunidades en actividades como: a) bebida o preparación de alimentos para consumo humano, b) satisfacción de necesidades domésticas, individuales o colectivos, tales como higiene personal y limpieza de elementos, materiales o utensilios, c) Fabricación o procesamiento de alimentos en general.

Tabla 1: CRITERIOS DE CALIDAD DE FUENTES DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO Y DOMESTICO

PARÁMETRO	EXPRESADO COMO	UNIDAD	CRITERIO DE CALIDAD
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/L	0,3
Arsénico	As	mg/L	0,1
Coliformes Fecales	NMP	NMP/100 mL	1000
Bario	Ba	mg/L	1
Cadmio	Cd	mg/L	0,02
Cianuro	CN-	mg/L	0,1
Cobre	Cu	mg/L	2
Color	Color real	Unidades de Platino-Cobalto	75
Cromo hexavalente	Cr +6	mg/L	0,05
Fluoruro	F-	mg/L	1,5
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg/L	<4
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO5	mg/L	<2
Hierro Total	Fe	mg/L	1,0
Mercurio	Hg	mg/L	0,006
Nitratos	NO3	mg/L	50,0
Nitritos	No2-	mg/L	0,2
Potencial Hidrógeno	pH	Unidades de pH	69
Plomo	Pb	mg/L	0,0,
Selenio	Se	mg/L	0,01
Sulfatos	SO4-2	mg/L	500
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/L	0,2
Turbiedad	Unidades	UTN	100,0

Fuente: (Acuerdo Ministerial 097-A, 2015)

8.6.6.2. Criterios para la calidad de aguas de uso agrícola o de riego:

Es aquella empleada para la irrigación de cultivos y otras actividades conexas o complementarias que establezcan los organismos competentes. Se prohíbe el uso de aguas servidas para riego, exceptuándose las aguas servidas tratadas y que cumplan con los niveles de calidad establecidas en la Norma.

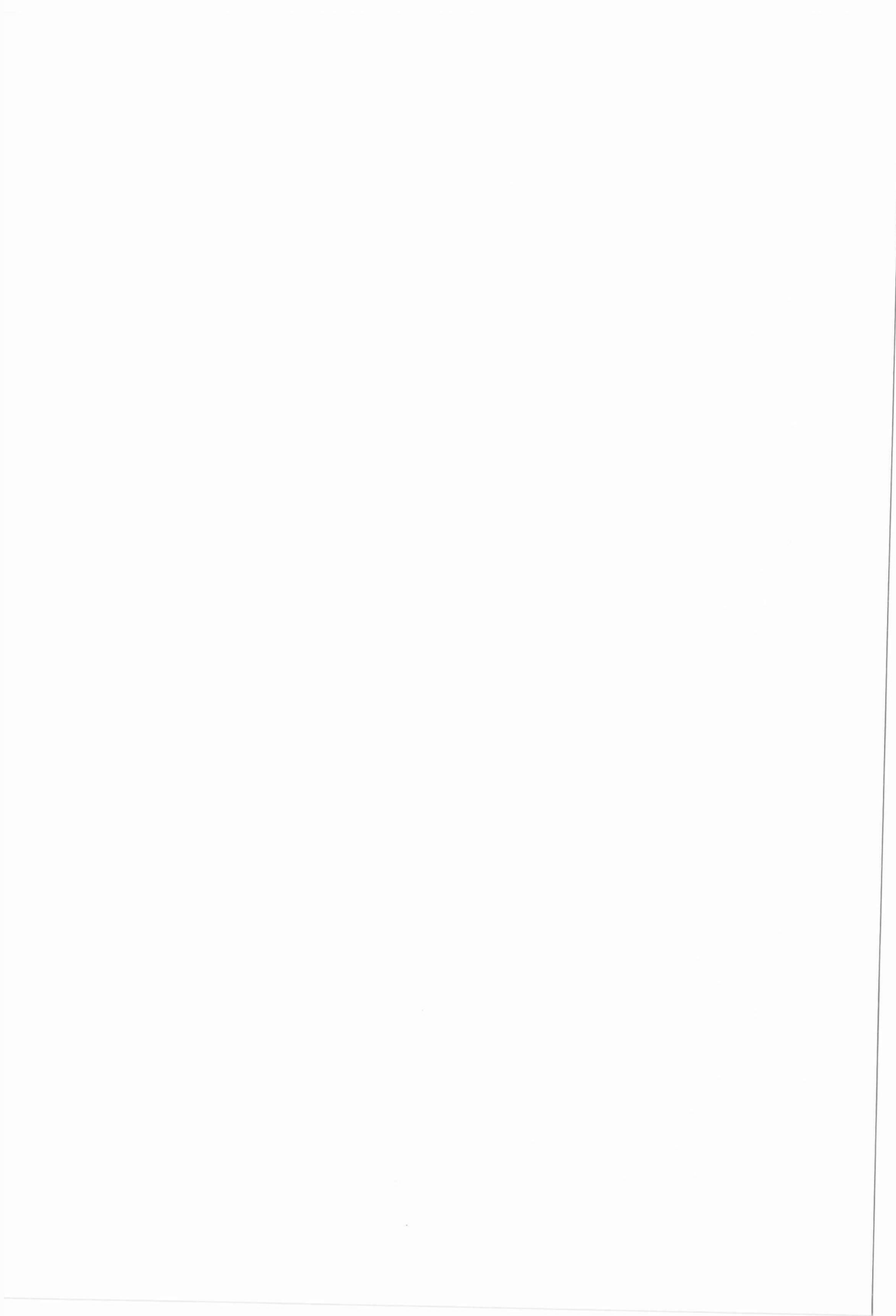
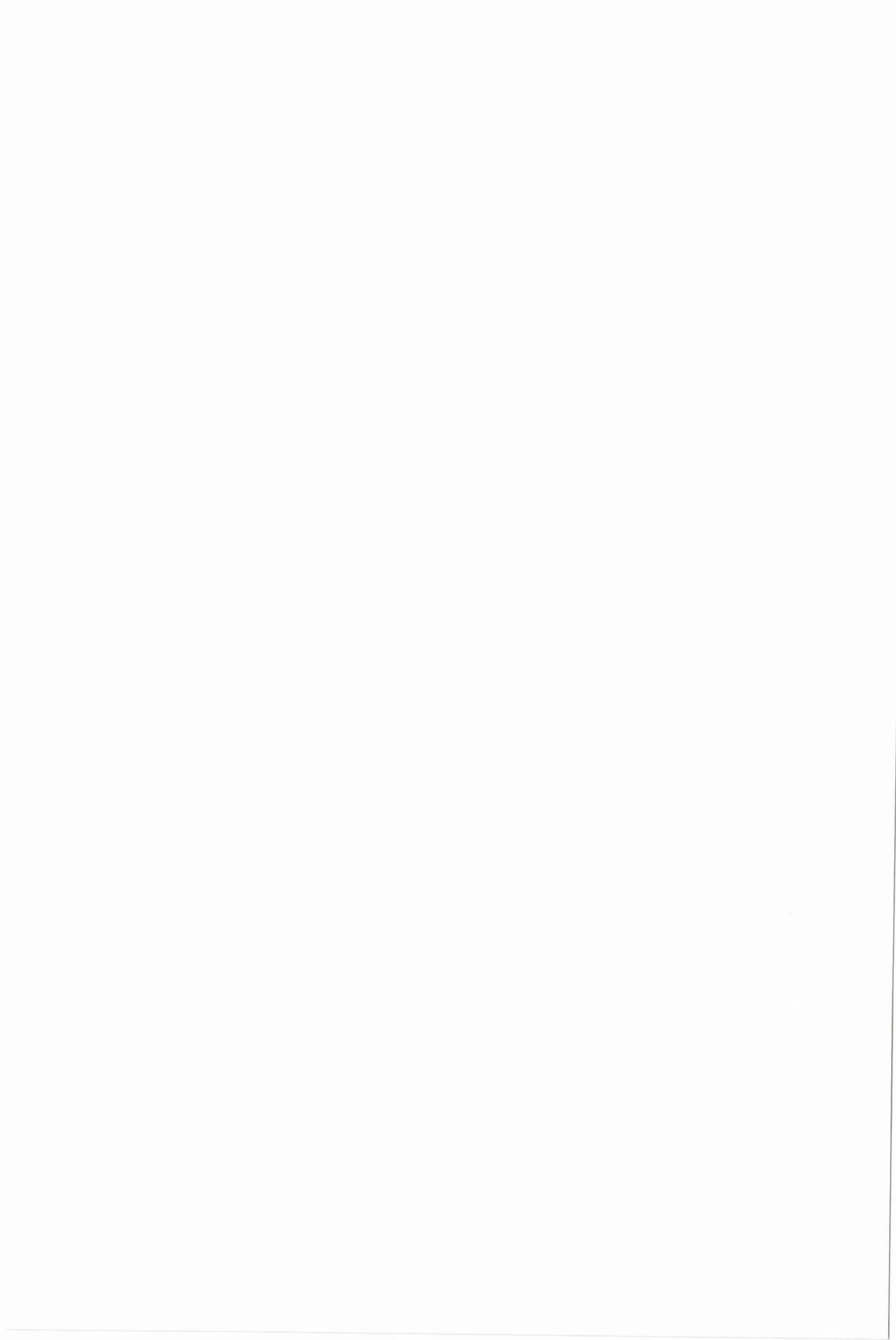


Tabla 3: CRITERIOS DE CALIDAD DE AGUAS PARA RIEGO AGRÍCOLA

PARÁMETRO	EXPRESADO COMO	UNIDAD	CRITERIOS DE CALIDAD
Aceites y grasas	Película Visible		Ausencia
Aluminio	Al	mg/L	5,0
Arsénico	As	mg/L	0,1
Berilio	Be	mg/L	0,1
Boro	B	mg/L	0,75
Cadmio	Cd	mg/L	0,05
Cinc	Zn	mg/L	2,0
Cobalto	Co	mg/L	0,01
Cobre	Cu	mg/L	0,2
Coliformes fecales	NMP	NMP/10 0mL	1000
Cromo	Cr +6	mg/L	0,1
Flúor	F	mg/L	1,0
Hierro	Fe	mg/L	5,0
Huevos de parásitos			Ausencia
Litio	Li	mg/L	2,5
Materia flotante	Visible		Ausencia
Mercurio	Hg	mg/L	0,001
Manganeso	Mn	mg/L	0,2
Molibdeno	Mo	mg/L	0,01
Níquel	Ni	mg/L	0,2
Nitritos	NO ₂	mg/L	0,5
Oxígeno Disuelto	OD	mg/L	3
pH	pH		6-9
Plomo	Pb	mg/L	5,0
Selenio	Se	mg/L	0,02
Sulfatos	SO ₄ -2	mg/L	250
Vanadio	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 (INEN, 2018).

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

[...] **Art. 1.** La presente ordenanza tiene por objeto la descontaminación, y protección del río Cutuchi, Pumacunchi, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes superficiales o subterráneos del cantón Latacunga [...] (Ordenanza Municipal Latacunga 2014).

[...] **Art. 2.** El ámbito de aplicación de la presente ordenanza será a nivel cantonal, y estarán sujetos de la misma los sectores, industrial, agroindustrial, agropecuario, forestal, minero, metalúrgico, papelerero, lácteo, florícola, brocolero, y de servicios (lubricadoras, lubrilavadoras, mecánicas, imprentas gráficas, gasolineras, y otros), asentados en el territorio cantonal de Latacunga [...] (Ordenanza Municipal Latacunga 2014).

[...] **Art. 4.** Con el fin de proteger los derechos ambientales individuales o colectivos, todas las obras, proyectos de tipo público y privado, a nivel de servicios e industrial deberán aplicar buenas prácticas ambientales e implementar plantas de tratamiento de aguas negras, residuales, descargas industriales, domésticas y otras que alteren las condiciones físico, químicas y biológicas del agua, y atenten la calidad del Río Cutuchí, los ríos, Pumacunchí, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes superficiales y subterráneos que son parte del sistema hidrográfico mayor de la cuenca del Río Pastaza y perjudique el bienestar colectivo y de los recursos hídricos del cantón Latacunga [...] (Ordenanza Municipal Latacunga 2014).

[...] **Art. 8.** Es obligación de todos los sectores productivos y de servicios públicos y privados, industrial, agroindustrial, agropecuario, forestal, minero, metalúrgico, papelerero, lácteo, florícola, brocolero, y de servicios (lubricadoras, lubrilavadoras, mecánicas, imprentas gráficas, gasolineras, y otros), asentados en el territorio cantonal de Latacunga, mantener un adecuado manejo y tratamiento de desechos sólidos de todo tipo, vertidos y descargas, que contaminen el agua y propendan procesos de bioacumulación [...] (Ordenanza Municipal Latacunga 2014).



[...] **Art. 10.** Prohíbese las descargas de aguas crudas (servidas), negras, de origen industrial, agrícola, de servicios tanto público como privado y otras contempladas en el artículo 9 sin su debido tratamiento, al Río Cutuchí, los ríos, Pumacunchí, Cunuyacu, Yanayacu y demás afluentes superficiales y subterráneos a nivel cantonal [...] (Ordenanza Municipal Latacunga 2014).

8. VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.

¿Es posible masificar y aislar como cultivo enriquecido a microorganismos tolerantes al arsénico a partir de agua superficial proveniente de fuentes naturales entre los 3400 a 3700 msnm en la parroquia de Toacaso?

Sí, es posible puesto que los microorganismos utilizan al compuesto inorgánico arsénico como fuente metabólica de electrones para adecuar sus condiciones de crecimiento en los que, al momento de realizar enriquecimientos con fuentes de carbono les proporcionan energía para su crecimiento, estos tendrán una respuesta de crecimiento favorable que se verá reflejada al momento de observar la formación de colonias.

9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1 Ubicación del área de estudio

El área de estudio es la Quebrada Talahuachana, la cual es el principal efluente hídrico que mantiene cercanía con el estratovolcán Iliniza Sur ubicada en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi. En este sitio se evidencia la presencia de agua superficial que durante su trayecto mantiene contacto con rocas en proceso de meteorización en las que liberan cantidades considerables de metales pesados directamente al efluente hídrico. La selección de puntos de muestreo se determinó mediante el análisis y recopilación de datos de estudios previos de la zona realizados por el grupo de investigación de recursos hídricos de la Universidad técnica de Cotopaxi, donde se determinó la presencia de arsénico en varias fuentes de agua (Caillagua & Sánchez, 2022). Los puntos de toma de muestra se ubicaron a través del programa *Google Earth Pro* ®.



Figura 7: Puntos de muestreo en la Quebrada Talahuachana



Elaborado por: Luis Barriga

9.2 Tipos de investigación

9.2.1 Investigación Bibliográfica

La investigación bibliográfica se utilizó para la recopilación de información necesaria de bases científicas como: *Scielo*, *ScienceDirect*, *Scholar Google* y tesis, puesto que permitió la identificación del problema y estableció conocimientos adicionales para la ejecución de la presente investigación.

9.2.1 Investigación experimental

Es un método de investigación cuantitativa en el que se llevó a cabo prácticas de laboratorio con el fin de comparar variables que diferentes muestras a analizar con el fin de determinar las causas y efectos que obtendrán nuestro fenómeno de estudio posterior a los resultados de las variables aplicadas para comprobar la efectividad de la investigación.

9.3 Técnicas

9.3.1 Técnica de muestreo puntual

La toma de muestra de tipo puntual permitió obtener las muestras de manera *in situ* en la quebrada con un efluente no uniforme. La técnica permite además recopilar información



adicional en relación a parámetros físico químicos del agua así como también las características que se puedan describir del sitio.

9.4 Métodos

9.4.1 Método cuantitativo

Permitió recopilar datos e información in situ del lugar el para conocer el grado de concentración de los parámetros evaluados y comparar con las normas de calidad de agua actuales. Recopilar datos obtenidos de las prácticas en laboratorio de todos los procesos destinados para la evaluación del proyecto.

9.4.2 Método cualitativo

Permitió analizar y procesar la información del método cuantitativo que ayuda a interpretar y comparar los resultados obtenidos en las evaluaciones realizadas a diferentes prácticas como conteos y cuantificaciones de células que permitan el análisis de cantidad en relación a la eficiencia de las diferentes fuentes de carbono.

9.4.3 Método analítico

Permitió el análisis de los resultados obtenidos sobre los enriquecimientos con 3 tipos de medios en los 4 puntos muestreados y posterior los consorcios bacterianos desarrollados a partir del aislamiento.

9.4.4 Método de campo

Es el proceso donde se lleva a cabo la recolección de muestras de un lugar para un propósito de estudio específico, también la identificación de características del sector que ayuden a profundizar la problemática existente.

9.5 Fase de campo

9.5.1 Materiales para toma de muestra

Durante la toma de muestras se empleó: 1 balde de 10L, 4 botellas de 2L, 4 envases de 100mL, libreta de campo, cámara, guantes de nitrilo, etiqueta de envases, rotulador, fundas de 30x20cm, ligas elásticas.

9.5.2 Muestreo

La recolección de muestras se realizó en la quebrada Talahuachana, en el piso altitudinal 3400 a 3700 msnm, donde se realizó un muestreo de tipo puntual con un balde de 10 L realizando un triple lavado a fin de evitar la integración de otros contaminantes que altere la recolección de muestras, se llenó 2 L adicional 100 mL de muestra en 4 puntos distintos. De los cuales se detallan las siguientes características:

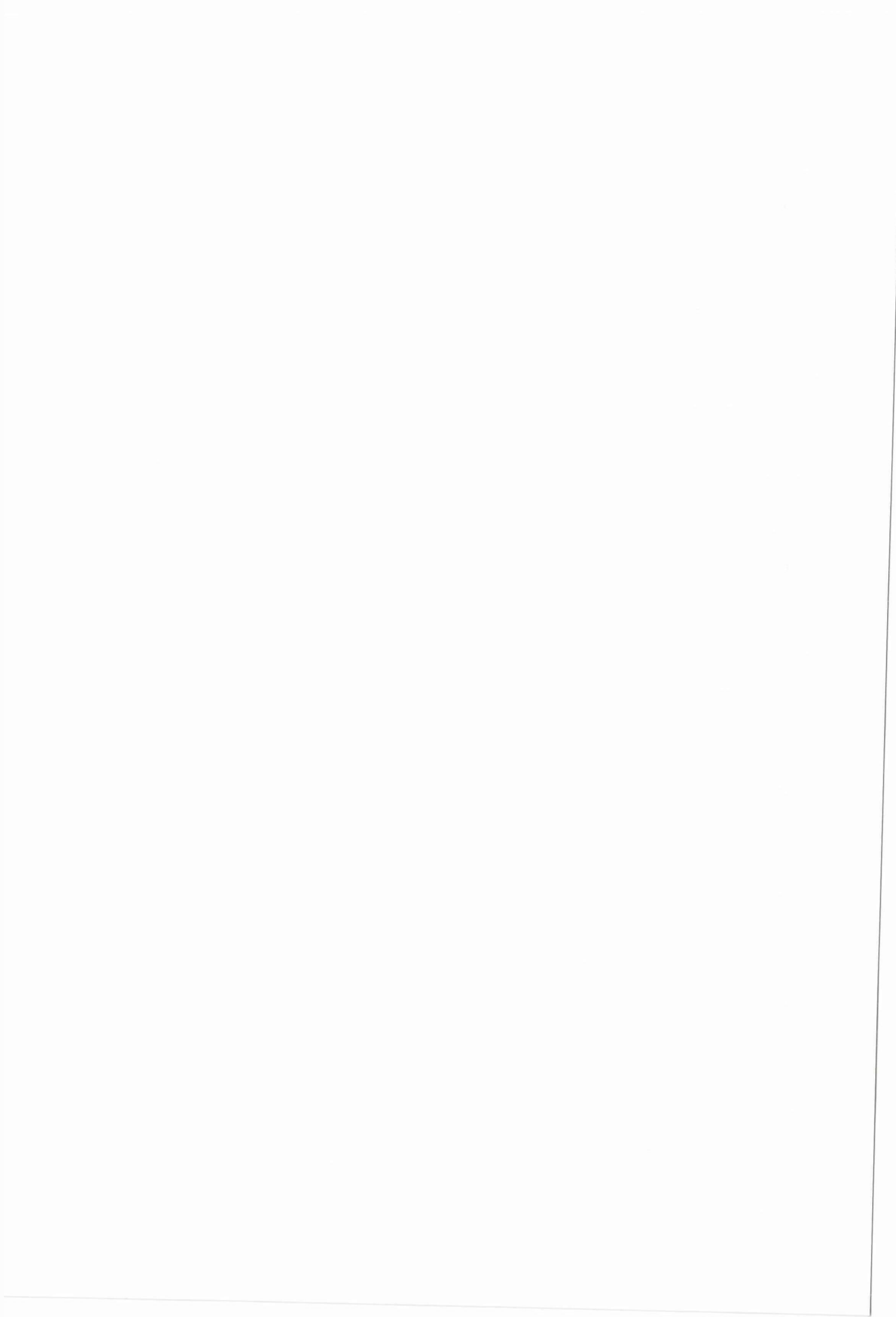


Tabla 3: Puntos de muestreo con características principales.

Punto	Fecha	Cantidad	Coordenadas		Altura	Lugar	Tipo de muestreo
			X	Y	Z		
P01	06/07/2022	2000mL	751587	9917486	3421	Quebrada Talahuachana	Puntual
P02	06/07/2022	2000mL	752071	9919950	3540	Quebrada Talahuachana	Puntual
P03	06/07/2022	2000mL	752107	9920220	3565	Quebrada Talahuachana	Puntual
P04	06/07/2022	2000mL	752662	9921824	3713	Quebrada Talahuachana	Puntual
Total		8000mL					

La toma de muestra se realizó según el método descrito en la Norma NTE INEN 2169. Correspondiente a Agua, calidad del agua, muestreo, técnicas de muestreo.

Después la muestra fue enfundada y sellada con ligas para no contaminar el exterior del envase. Posteriormente se trasladó hasta los laboratorios en una hielera manteniendo la muestra en condiciones estables. Para el protocolo de transporte se siguió la Norma NTE INEN 2176 Agua, calidad del agua, muestreo y conservación de muestras e ISO/IEC 17025:2006 (INEN, 2018).

9.5.3 Materiales de laboratorio

9.5.3.1 Material de vidrio o plástico

envases de polietileno 1000mL, tubos Falcon 100mL, motor aireador, manguera plástica 4m, 16 T plástica, 4 vasos de precipitación (1000mL), embudos, 4 matraces de (500 mL), 1 probeta de 100mL, cajas petri, matraz (250mL), varilla de vidrio, porta y cubreobjetos, cámaras de recuento, cámara Neubauer, balanza, espátula, guantes.

9.5.3.2 Material de siembra

Constituidos principalmente por asas en nicrom, pipeta pasteur, agua destilada (10 litros), alcohol antiséptico, mechero de Bunsen.

9.5.3.3 Materiales para la esterilización

Autoclave (calor húmedo), cabina de flujo laminar, mechero (esterilización por calentamiento directo), alcohol antiséptico.

9.5.3.4 Materiales para la incubación

Incubadora, papel Parafilm.



9.5.3.5 Material óptico

Microscopio: lente 100 x lente 10 x, aceite de inmersión.

9.5.3.6 Reactivos

Tabla 4: Aforo de reactivos

Medio mineral			
Solución A:	Cantidad	Unidad	Descripción
KH ₂ PO ₄	9,9	g	Fosfato mono potásico
NH ₄ Cl	6,6	g	Cloruro de amonio
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	1,32	g	Sulfato de magnesio heptahidratado
Trace element solution SL-6 (see medium 27)	0,3	mL	
Distilled wáter	750	mL	
Trace element solution SL-6:			
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	0,3	g	Sulfato de cinc heptahidratado
MnCl ₂ x 4 H ₂ O	0,09	g	Cloruro de manganeso tetrahidratado
H ₃ BO ₃	0,9	g	Ácido Bórico
CuCl ₂ x 2 H ₂ O	0,06	g	Cloruro de cobre
Solution B:			
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,06	g	Cloruro de calcio dihidratado
Distilled wáter	450	mL	
Solution C:			
Fructose	10	g	Fructosa
Distilled wáter	100	mL	
Maltosa	10	g	Maltosa
Distilled wáter	100	mL	
Vitamin C	10	mL	Vitamina C
Distilled wáter	100	mL	

Fuente: (DSMZ-GmbH, 2020)

10.5.3.7 Tinción Gram

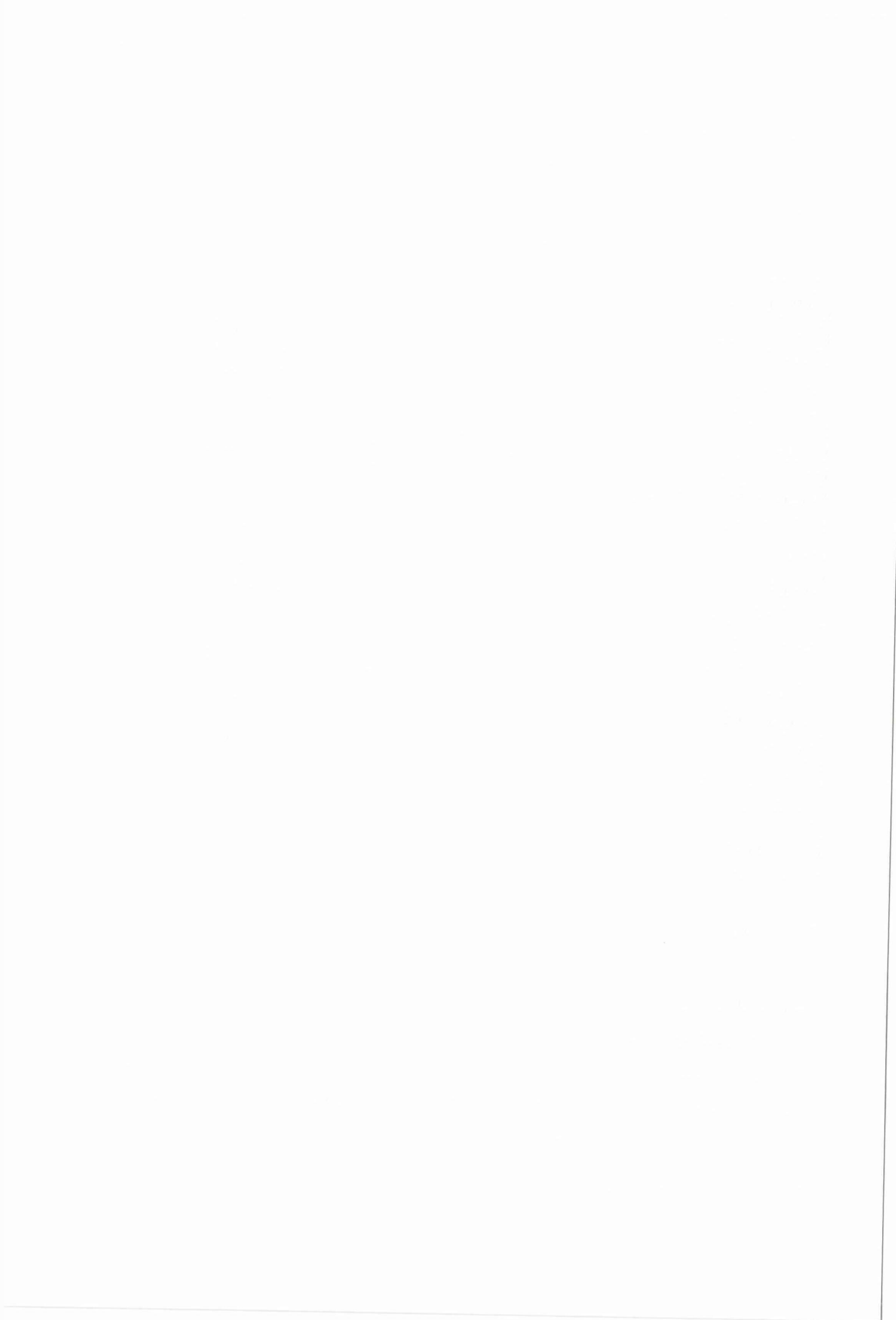
Agua destilada, azul de Metileno al 1%, safranina al 1%, aceite de inmersión.

9.6 Fase de laboratorio

9.6.1 Análisis físico-químico

En el análisis físico-químico se llevó a cabo la evaluación de los siguientes parámetros a fin de determinar el estado actual del agua de la Quebrada Talahuachana para poder comparar los resultados con las tablas del Acuerdo Ministerial 097-A

Equipo de medición utilizado:



9.6.1.1 Determinación de la temperatura

La determinar la temperatura *in situ* se utilizó un termómetro de mercurio, para lo cual se introdujo el termómetro en la orilla del cauce y se dejó actuar por 10 minutos para obtener un resultado medido en grados centígrados (°C).

9.6.1.2 Determinación de pH

Se utilizó el equipo colorímetro DR 890 Hach con códigos de lectura en el que se procedió a tomar 10mL de agua destilada para la función de muestra 0 con pH 7 a fin de calibrar el equipo. Una vez calibrado se procedió a tomar 10 mL de muestra de agua superficial y en el equipo se introdujo el código de lectura 75 con el que se determinó el nivel de pH medido en unidades de pH.

9.6.1.3 Color

Se utilizó el equipo denominado Alcalímetro HANNA checker HI775 en el que se procedió a tomar 10mL de muestra 0 (agua destilada) para poder realizar la primera intervención en el alcalímetro, una vez calibrado el equipo se procedió a tomar otro frasco de vidrio con 10mL de muestra de agua superficial y se introdujo el código de lectura 19 según el manual para posteriormente verificar el nivel de color expresado en miligramo/litro de Platino-Cobalto mg/L (Pt-Co).

9.6.1.4 Sólidos suspendidos

Se utilizó el equipo denominado Alcalímetro HANNA checker HI775 en el que se procedió a tomar 10mL de muestra 0 (agua destilada) para poder realizar la primera intervención en el alcalímetro, una vez calibrado con muestra 0 se procedió a tomar otro frasco de vidrio con 10mL de muestra de estudio y se introdujo el código de lectura 94 según el manual para posteriormente verificar la cantidad de sólidos suspendidos expresado en miligramo/litro (mg/L).

9.6.1.5 Dureza

Se utilizó el equipo denominado colorímetro DR 890 Hach en el que se procedió a tomar 100 mL de muestra de estudio en un balón fondo plano en el que se añadió 1mL de reactivo Hach 2241821 indicador de calcio, para posterior agitar por 10 minuto hasta que esté completamente disuelto en toda la muestra. Una vez agitado se añadió Hach 2241832 indicador de magnesio solución y se agito por 10 minutos hasta homogeneizar ambos reactivos.

Se dividió en 3 matrices de lectura 10mL de muestra con reactivo disuelto y se designó como muestra 0 al contenido de magnesio y de calcio. Para calibrar el equipo se añadió EGTA

Hach 2229726 y se agito durante 10 minutos. En la muestra de magnesio se añadió EDTA 42632 y se agito por 10 minutos hasta homogeneizar en toda la muestra. Una vez realizado el proceso se realizó la lectura en el que se introdujo el código de lectura 41 obtenido el resultado de la medición. Después se introdujo la otra matriz con solución en el colorímetro con el código de lectura 327 para obtener el resultado de la dureza de calcio.

Para obtener la dureza total que mantiene el agua se debe de suma la dureza de calcio y magnesio y dividir las cantidades para dos obteniendo el resultado final expresado en mg/L (CaCO_3).

9.6.1.6 Sulfatos

Se utilizó el equipo denominado Alcalímetro HANNA checker HI775 en el que se procedió a tomar 10mL de muestra 0 (agua destilada) para poder realizar la primera intervención en el alcalímetro, una vez calibrado con muestra 0 se procedió a tomar otro frasco de vidrio con 10mL de muestra de estudio y se introdujo el código de lectura 91 según el manual para posteriormente verificar la cantidad de sulfatos expresado en miligramos de sulfato/litro (mgSo/L).

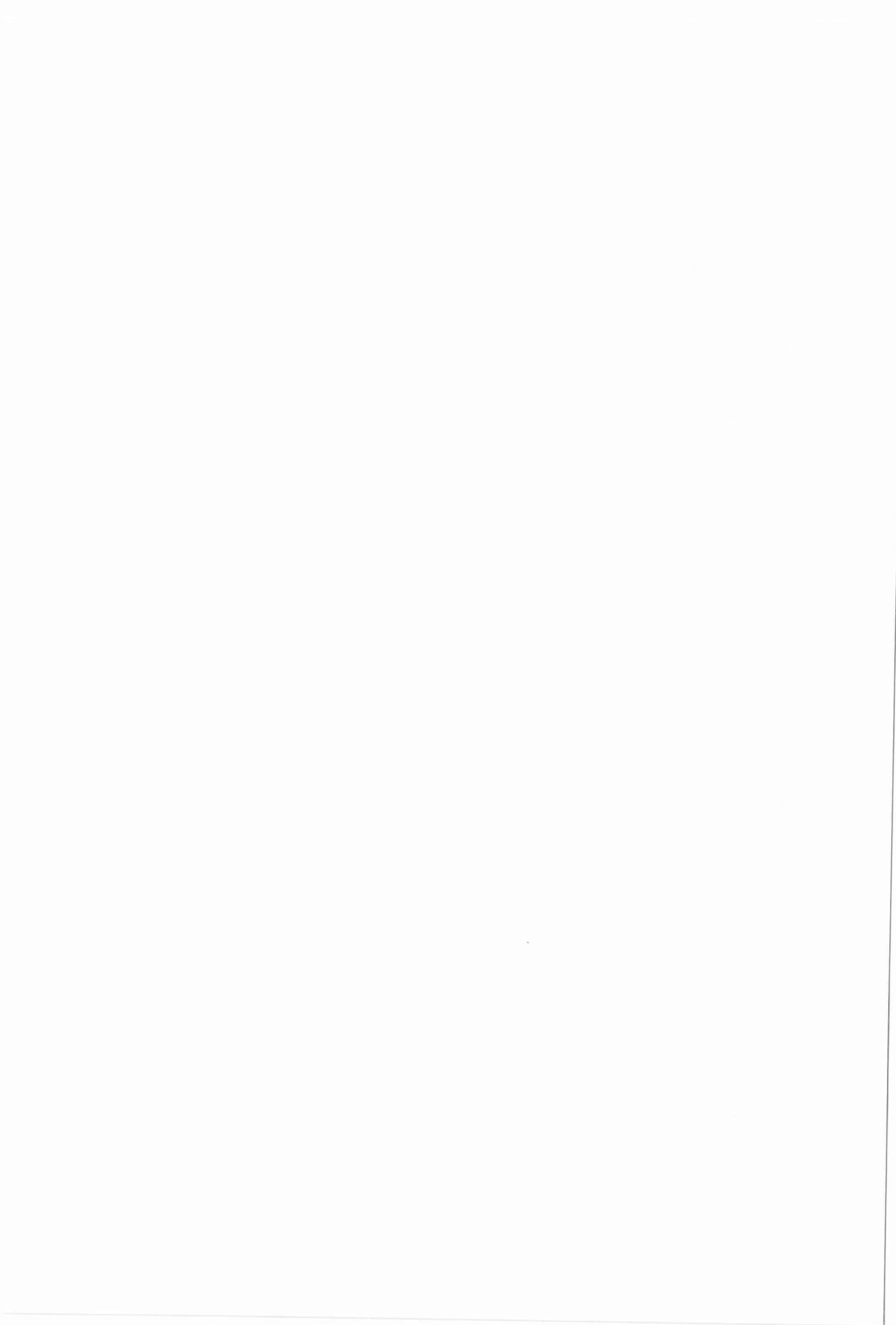
9.6.1.7 Determinación de alcalinidad

Se utilizó el equipo denominado Alcalímetro HANNA checker HI775 en el que se procedió a tomar 10mL de muestra 0 para poder realizar la primera intervención en el alcalímetro, una vez calibrado con muestra 0 se procedió a tomar otro frasco de vidrio con 10mL de muestra más 1mL de reactivo HANNA HI937751001 en el que se agito durante 1 minuto hasta observar su cambio de color y con ello se procedió a la verificación del nivel de alcalinidad expresado en partes por millón (ppm).

Tabla 5: Tabla de parámetros muestreados

Nº	PARAMETROS	EXPRESADOS COMO	UNIDAD
1	Temperatura	°C	°C
2	Potencial de hidrógeno	pH	UpH
3	Color	Pt/Co	U(Pt/Co)
4	Solidos Suspendidos	(mg/L)	(mg/L)
5	Dureza	mg/L (CaCO_3)	mg/L (CaCO_3)
6	Sulfatos	mgSo/L	(mgSo/L)
7	Alcalinidad	ppm	ppm
8	Turbidez	NTU	(NTU)
9	Arsénico	(mg/L)	(mg/L) As

Fuente: Barriga Luis



9.6.2 Aplicación de índice internacional de calidad de agua

La aplicación de un índice internacional tiene la capacidad de resumir y simplificar datos complejos en relación a los parámetros obtenidos al momento del muestreo. Dicha evaluación da a conocer de forma agrupada y aplicando una serie de ecuaciones las condiciones actuales del efluente hídrico para saber si es apta o no para el consumo (Caho-Rodríguez & López-Barrera, 2017).

9.6.2.1 Índice canadiense de calidad de agua

El índice de calidad de agua canadiense está conformado por tres factores mismos que determinan el alcance, la frecuencia y la amplitud para ello se establecen las siguientes ecuaciones:

$$\text{Alcance: } F1 = \frac{N \text{ de variables fuera de rango}}{\text{Total de variables}} \times 100$$

$$\text{Frecuencia: } F2 = \frac{N \text{ de datos fuera de rango}}{\text{Total de datos}} \times 100$$

$$\text{Amplitud: } NSE = \left(\frac{\sum \text{Excursión}}{\text{Total de datos}} \right) - 1 \qquad F3 = \left(\frac{NSE}{0,01(NSE)+0,01} \right) \times 100$$

$$CWQI: 100 - \left(\frac{\sqrt{F1+F2+F3}}{1,732} \right)$$

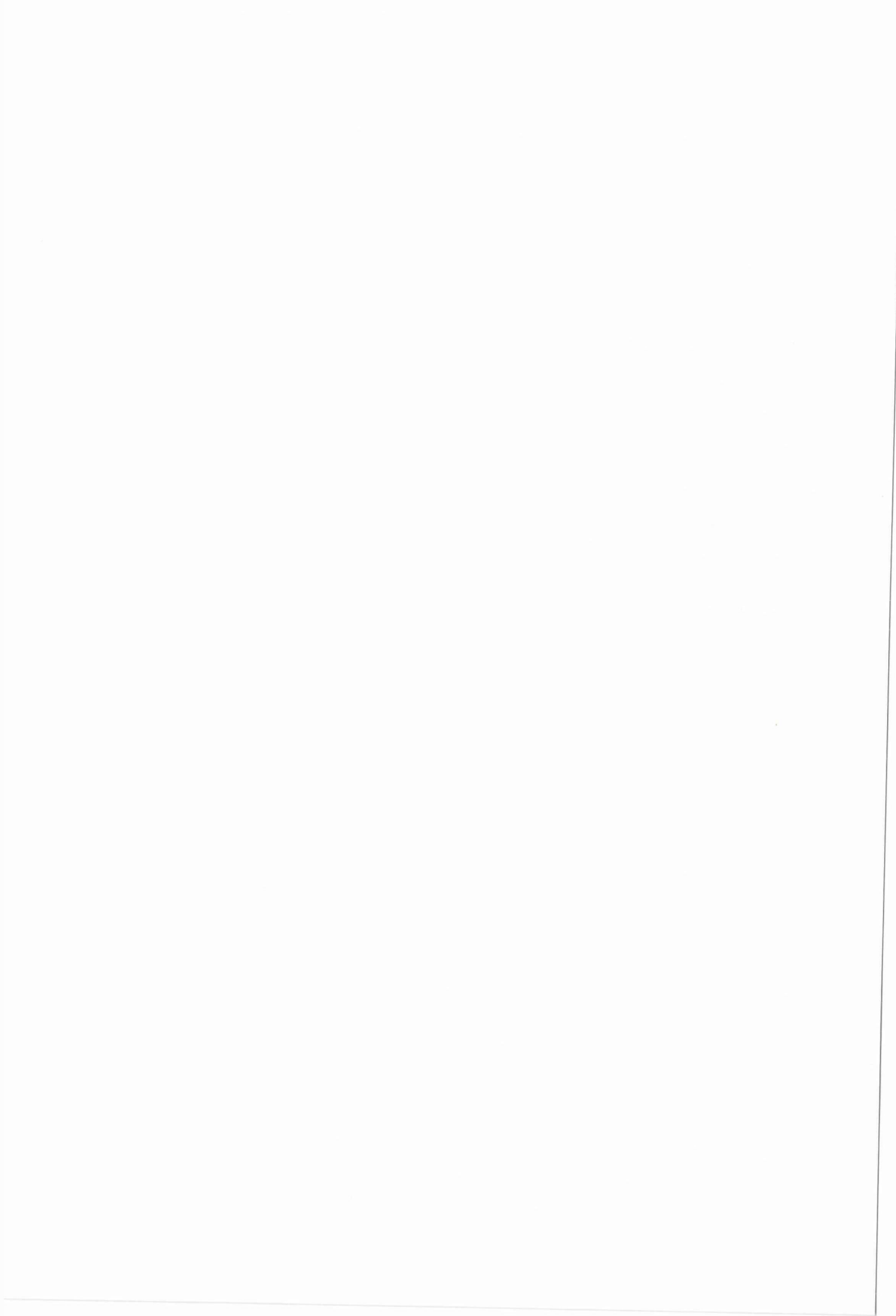
Tabla 6: Criterios para la clasificación de las aguas según CWQI

Criterios para la clasificación de agua según CWQI		
CCME_WQI	Clasificación	Descripción
95-100	Excelente	La calidad del agua está protegida con ausencia de amenazas o daños.
80-94	Buena	La calidad del agua está protegida con algunas amenazas o daños de poca magnitud.
65-79	Regular	La calidad del agua es usualmente protegida pero ocasionalmente es amenazada o dañadas
45-64	Marginal	La calidad del agua es frecuentemente amenazada o dañada.
0-44	Pobre	La calidad del agua está casi siempre amenazada o dañada.

Elaborado por: Barriga Luis

9.6.3 Determinación de medios de cultivo con diferentes fuentes de carbono

Para la determinación de medios de cultivo se evaluó diferentes fuentes de carbono tales como: fructuosa, maltosa y vitamina C. tomando en cuenta recientes estudios donde se indica su alta capacidad para masificación de cultivos en cultivos a nivel de laboratorio industrial. El establecimiento de medios de cultivo se utilizó 12 tubos cónicos (Falcon ®) con capacidad de 50mL, para cada fuente de carbono (fructosa, maltosa, vitamina C) se aforó 37.5mL de muestra



de agua superficial proveniente de la Quebrada Talahuachana y 12.5mL de medio compuesto en el laboratorio El total aforado fue de 50mL de contenido en una relación 75-25%. Cabe destacar que las 3 fuentes de carbono proporcionan una buena metabolización de los microorganismos haciendo favorable su enriquecimiento (Burbano, 2018).

Tabla 7: Establecimiento de medios en tubos Falcon.

Medio mineral			
Solución A:	Cantidad	Unidad	Descripción
KH ₂ PO ₄	0,9	g	Fosfato mono potásico
NH ₄ Cl	0,6	g	Cloruro de amonio
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,12	g	Sulfato de magnesio hepta hidratado
Trace element solution SL-6 (see medium 27)	0,3	mL	
Distilled water	75	mL	
Trace element solution SL-6:			
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	0,03	g	Sulfato de cinc heptahidratado
MnCl ₂ x 4 H ₂ O	0,009	g	Cloruro de manganeso tetrahidratado
H ₃ BO ₃	0,09	g	Ácido Bórico
CuCl ₂ x 2 H ₂ O	0,06	g	Cloruro de cobre
Solution B:			
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,006	g	Cloruro de calcio dihidratado
Distilled water	45	mL	
Solution C:			
Fructose	1	g	Fructosa
Distilled water	10	mL	
Maltosa	1	g	Maltosa
Distilled water	10	mL	
Vitamin C	1	mL	Vitamina C
Distilled water	10	mL	

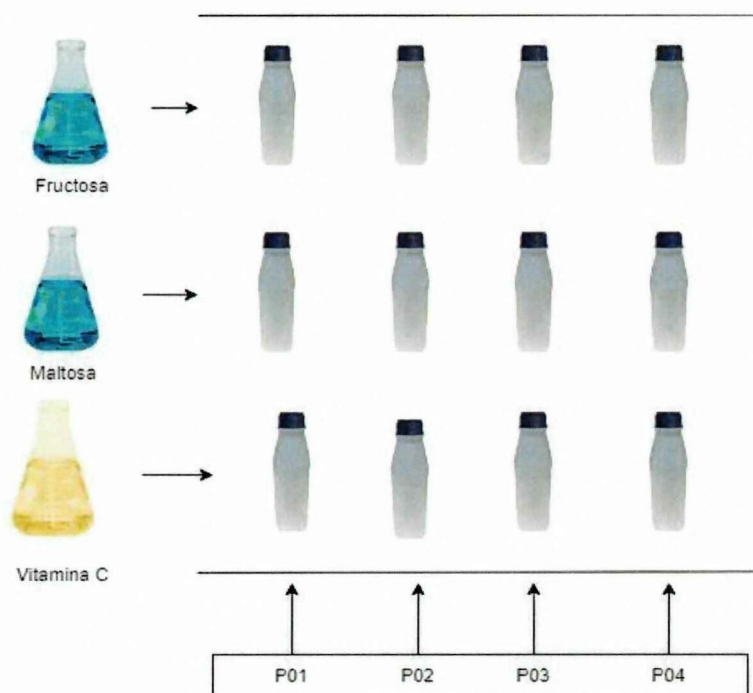
Elaborado por: Barriga Luis

9.6.4 Masificación de enriquecimientos bacterianos

Una vez establecido y determinada la idoneidad de los medios de cultivo en los ensayos de la sección anterior se aforó en 12 envases plásticos de 1000mL en el que por cada fuente de carbono (fructosa, maltosa, vitamina C) se masificó el aforó a 375mL de muestra de agua superficial proveniente de la Quebrada Talahuachana y 125mL de muestra compuesta en el laboratorio. Estableciendo envases con un total 500mL de mezcla en una relación 75-25%.

[Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page]

Figura 8: Aforo de muestras por cada punto y fuente de carbono



Elaborado por: Barriga Luis

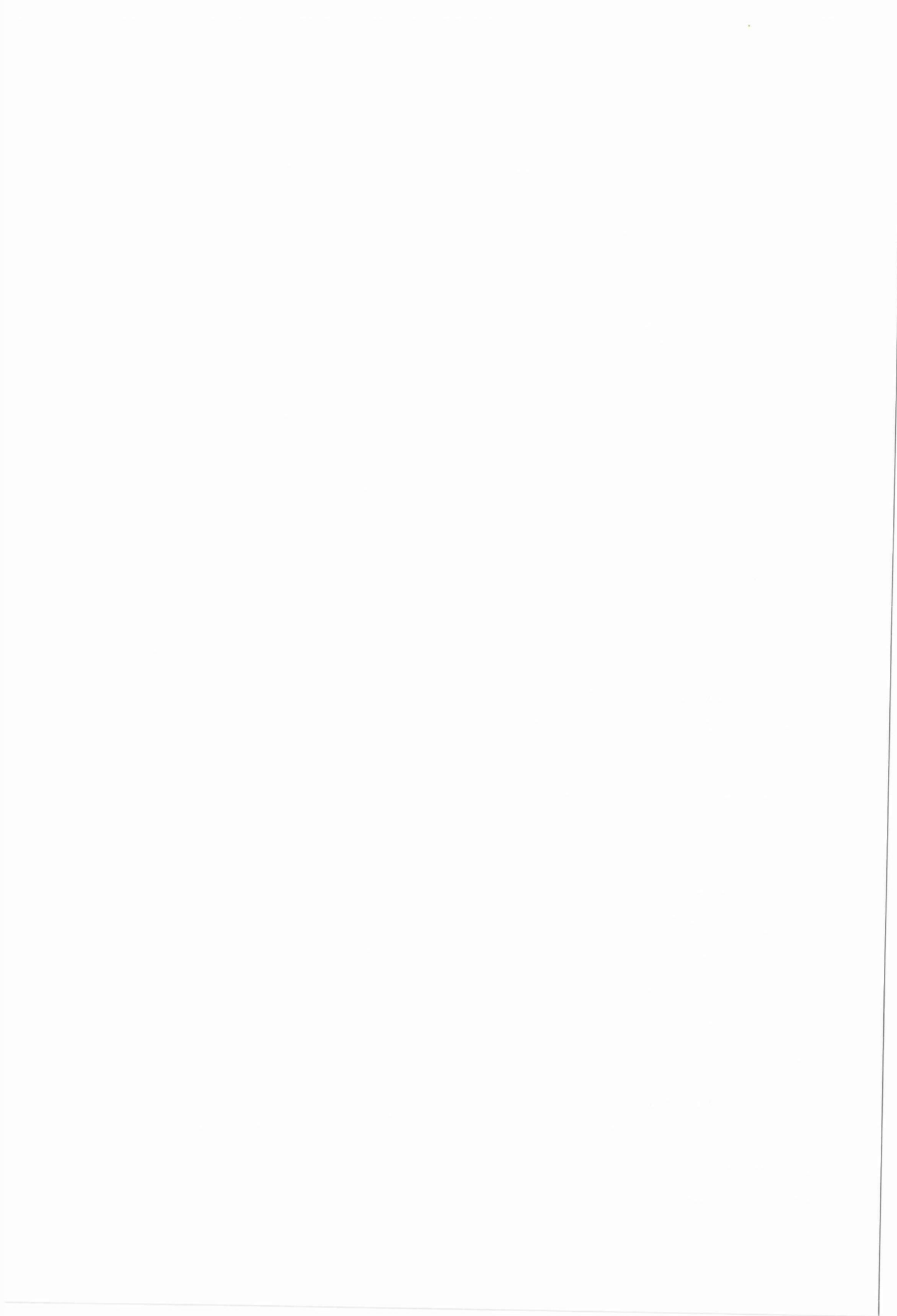
Una vez enriquecido el medio se colocó un motor aireador de 12 conexiones con mangueras y T plástica hasta llegar a cada botella. A través de las mangueras se suministró aire a al medio enriquecido para que mantenga un óptimo nivel de oxígeno disuelto (O.D) en los envases con el fin abastecer de oxígeno a los microorganismos y así crear un ambiente similar a donde originalmente se encontraban. Además, con este procedimiento se evitó que el enriquecimiento quede suspendido en la base.

9.6.5 Tinción simple

La tinción simple es el uso de colorante en las moléculas de bacterias que permiten el cambio de color de las células y poder realizar la observación en un microscopio óptico. El colorante empleado fue azul de metileno el cual sirvió para identificar la morfología de las células, tomando en cuenta sus características principales tales como: el tamaño, la forma, el arreglo y las estructura dado que las bacterias en estado natural son incoloras y por lo tanto no presentan contraste con el medio (Prescott, 2002).

9.6.5.1 Tinción de Gram

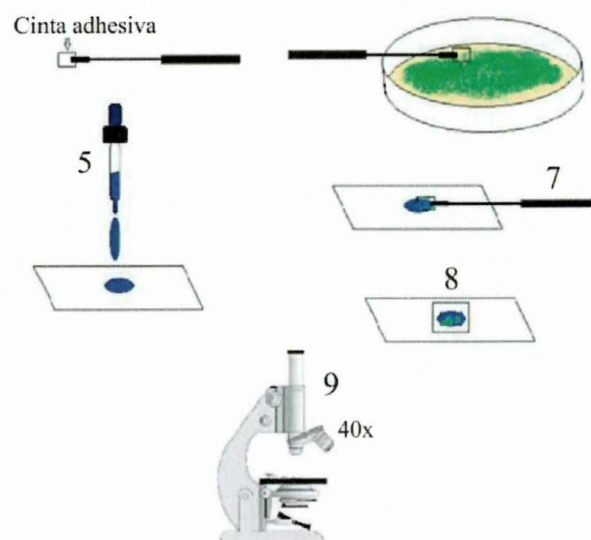
La Tinción de Gram es el procedimiento que permite visualizar las células de microorganismos de forma clara y transparente con la ayuda de un microscopio óptico, con el objetivo de presenciar su estructura interna y externa, cantidad y tamaño entre otras. A través



de esta tinción se pueden clasificar las bacterias Gram positivas y Gram negativas según la composición de la pared celular, además de poder observar los filamentos Gram positivos en color azul y los Gram negativos en color rosa (L. López *et al.*, 2014). Para la realización de Tinción Gram se detallan los siguientes pasos:

- 1 Seleccionar las colonias para realizar las improntas.
- 2 Añadir una gota en el portaobjetos con la ayuda de una pipeta Pasteur realizando una extensión.
- 3 Fijar la muestra térmicamente sobre un mechero de forma circular.
- 4 Aplicar safranina en la muestra previamente fijada durante un minuto y medio, luego lavar con agua destilada, agregar azul de metileno durante dos minutos y enjuagar nuevamente. Por último, agregar aceite de inmersión para obtener una mejor visualización en el microscopio.
- 5 Observar la muestra bajo el microscopio a 100x

Figura 9: Proceso para la realización de Tinción Gram.



Fuente: (L. López *et al.*, 2014).

9.6.5.2 Técnicas microscópicas

La principal técnica que se utilizó fue la microscopía de campo claro en el que se empleó aceite de inmersión, el cual es favorable para la visualización de microorganismos demostrando efectividad en la clasificación de bacterias. Para su visualización se utilizó el lente 100x que permite apreciar tamaños como $0,2 \mu\text{m}$ (L. López *et al.*, 2014).

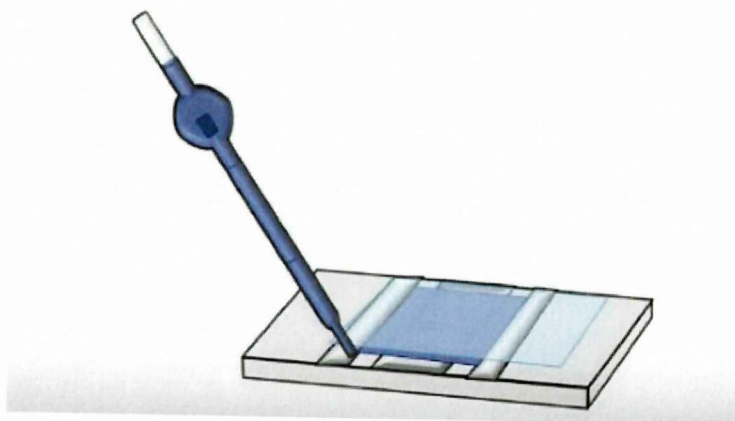


9.6.6 Conteo celular

9.6.6.1 Conteo celular por Neubauer

Para el conteo celular se utilizó la cámara de Neubauer previamente preparada y lista. Con la ayuda de una pipeta se tomó 1mL de muestra y se dejó caer las primeras 4 gotas para evitar contaminación exterior. Se colocó el portaobjetos en la cámara y con la pipeta se llenó por efecto de capilaridad hasta estar repleta de muestra. (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007). Se dejó la muestra dentro de una caja Petri durante 2 minutos en un ambiente húmedo antes de llevar al microscopio óptico en el que se realizó el conteo de células bacterianas de todas las muestras enriquecidas para establecer el número total de células por muestra.

Figura 10: Cámara de Neubauer llenada por efecto de capilaridad.



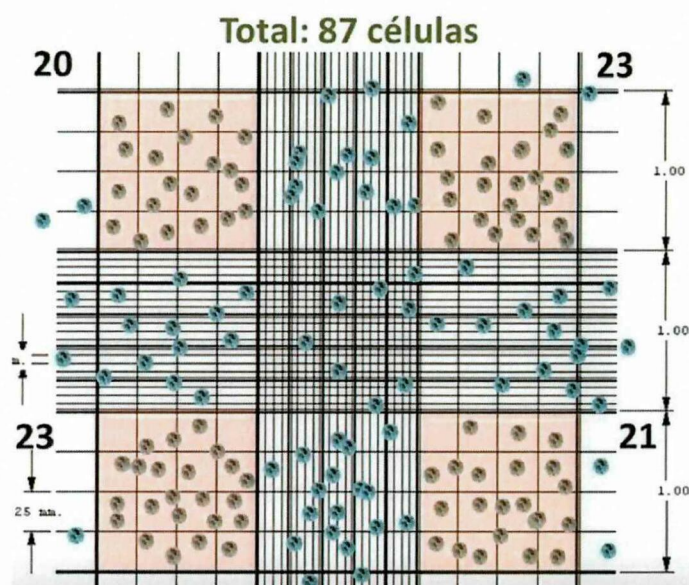
Fuente:(Bastidas, 2011).

9.6.6.2 Calculo celular

Para realizar el conteo se trabajó con un factor de descarte al momento de registrar cada cuadrante, para así obtener un resultado más homogéneo en la muestra. Es decir, cada cuadrante deberá tener una diferencia relativa no muy lejana de su cantidad referencial, si un cuadrante no cumple con lo establecido será descartado y se contabilizará el cuadrante central hasta cumplir con el requerimiento de conteo.



Figura 11: Conteo de células



Fuente: (Bastidas, 2011)

Para el cálculo de la concentración celular se aplicamos la siguiente formula:

$$\text{concentracion (cel/mL)} = \frac{\text{numero de células}}{\text{volumen en ml}} * (\text{factor de dilución})$$

Número de células: es el total de células contadas en todos los cuadros.

El volumen: es el volumen total de todos los cuadros en donde se realizó el conteo.

Obtenemos el volumen de 1 cuadro:

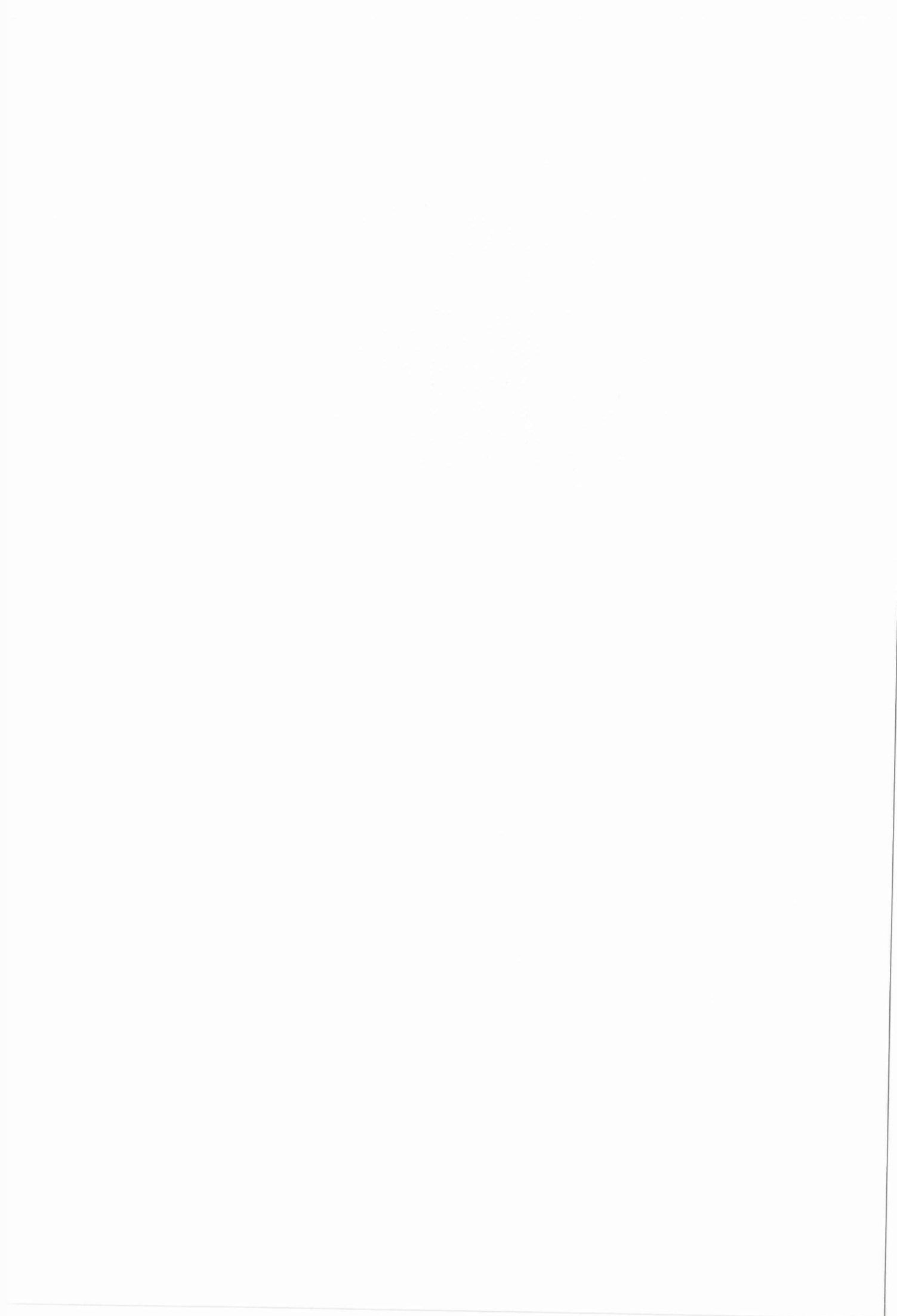
$$0,1 \text{ cm} \times 0,1 \text{ cm} = 0,01 \text{ cm}^2 \text{ de superficie}$$

$$0,01 \text{ cm}^2 \times 0,1 \text{ mm (profundidad)} = 0,01 \text{ cm}^2 \times 0,01 \text{ cm} = 0,0001 \text{ cm}^3 = 0,0001 \text{ mL.}$$

Según (Bastidas, 2011) para que los datos de una muestra sean fiables es recomendable contenga una cantidad optima de conteo mínima de 1 millón de celular * mL (10^6 células/ mL).

9.6.7 Medición celular por densidad óptica en espectrofotómetro y curva de crecimiento

Los ensayos de crecimiento bacteriano medidos por densidad óptica a 550 nm en presencia de Maltosa, Fructosa y Vitamina C como fuente de carbono y asumiendo Arsénico como fuente de energía y donador de electrones. Curvas de crecimientos seleccionados durante una evaluación de 12 horas con mediciones realizadas cada 15 minutos en los 4 puntos de muestreo.



Para lo cual se calibró el densímetro a una longitud de onda de 550 nanómetros, después se introdujo muestra 0 (agua destilada) en una celda y limpia sin obstrucciones para que no exista interferencia al momento de la lectura. Se colocó del lado correcto de la celda e introducir en el espectrofotómetro para medir la absorbancia de muestra 0.

El crecimiento del cultivo se estimó a partir de la densidad óptica, el recuento de células y la concentración de proteínas. La densidad óptica a 550 nm se midió utilizando un densímetro celular *Ultrospec 10*® (*Biochrom*, EE. UU).

9.6.8 Aislamiento bacteriano

9.6.8.1 Preparación de medios solidos enriquecidos

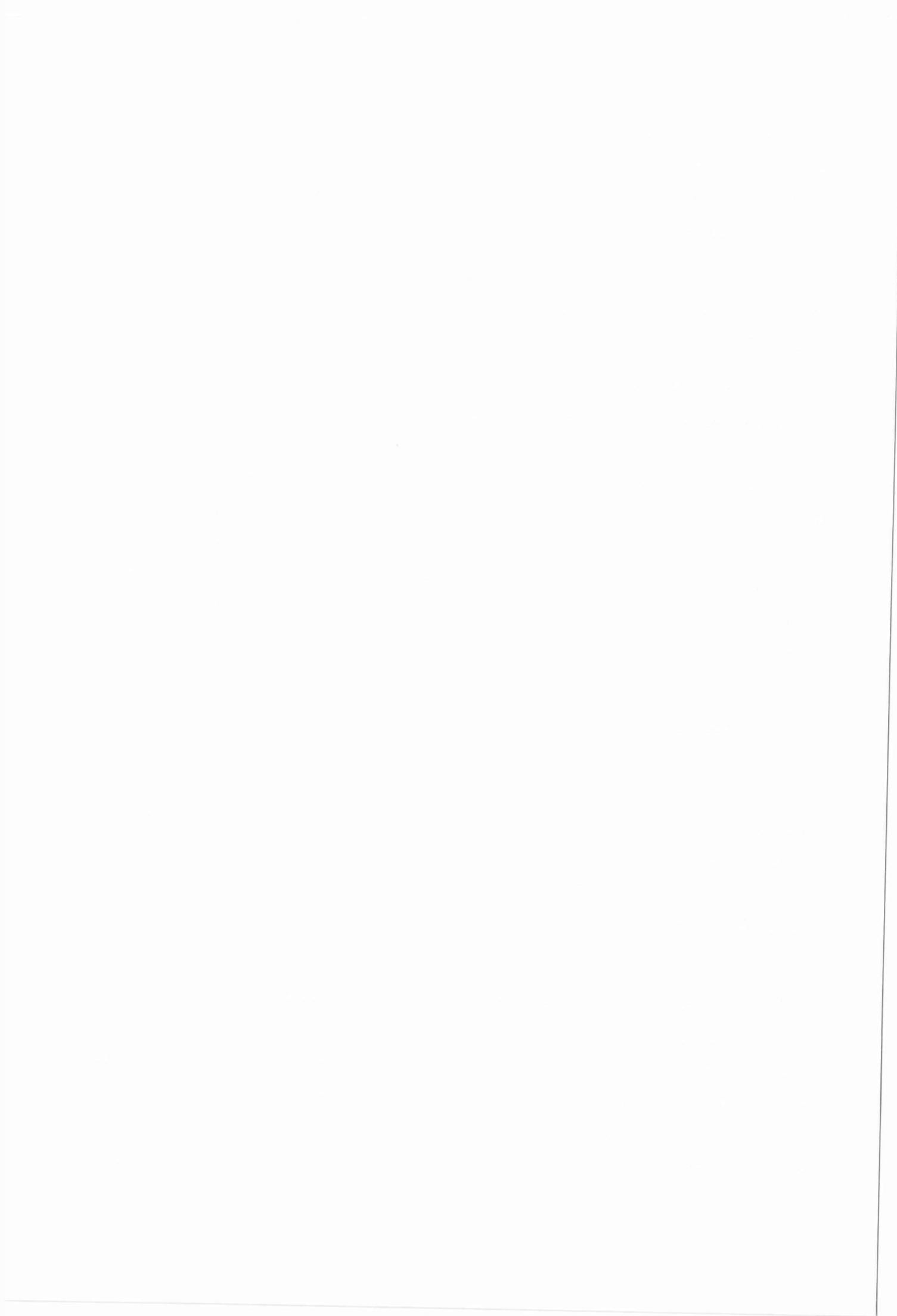
Se utilizó Agar Nutritivo debido a que es un medio de cultivo selectivo y diferencial que permite el crecimiento de bacterias de cualquier tipo. Se añadió 3 fuentes de carbono (fructosa, maltosa, vitamina C) para la obtención del medio de cultivo enriquecido se aforó 2,5 gramos de cada fuente de carbono y 5 gramos de Agar Nutritivo en 100mL de agua destilada realizando la mezcla en 3 matraz (uno por cada fuente de carbono) con el fin de que crear un medio de cultivo solido fortalecido, finalmente se realizó movimientos de vaivén y rotación hasta lograr una mezcla homogénea. Una vez disuelto el medio se procedió a colocar en la autoclave y se esterilizo a una temperatura de 121°C durante 15 minutos (Fernández, 2017).

9.6.8.2 Vertimiento del medio de cultivo en cajas Petri

Una vez disuelto el medio se llevó a la cabina de flujo laminar para evitar el crecimiento de contaminantes externos al momento de verter el medio en las cajas Petri, con la ayuda de una probeta se procedió a verter 15 mL de medio liquido con fructosa en tres cajas Petri de vidrio estériles, 15 mL de medio liquido con maltosa en tres cajas Petri de vidrio estériles, 15 mL de medio liquido con vitamina C en tres cajas Petri de vidrio estériles. Finalmente se añadió 1 separador de aluminio estéril dentro de la placa Petri a fin de evitar la interferencia de muestras de otros puntos al momento de la siembra con pipeta Pasteur (Sanz, 2011).

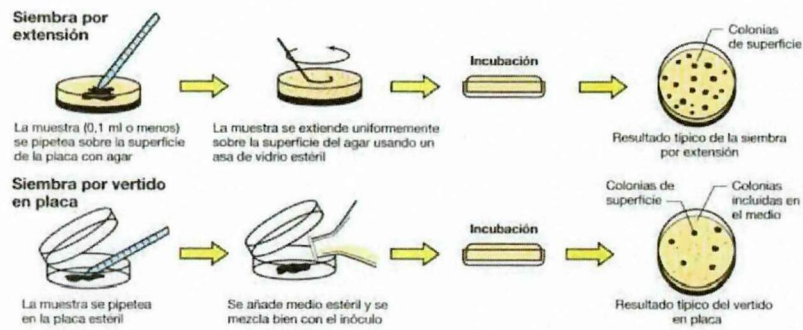
9.6.8.3 Técnica de siembra por vertido en placa con pipeta Pasteur

Una vez solidificado el medio de cultivo enriquecido en placas Petri se seleccionan las muestras en el que se utilizó el método de siembra por vertido placa para lo cual con la ayuda de una pipeta Pasteur se proceder a la toma de una cantidad aproximada de 0,05mL y se sembró una gota en la caja Petri, de acuerdo a las divisiones propuestas según la cantidad de muestras. Se sigue con el proceso de manera similar hasta completar el total de cajas Petri con cada medio



de carbono propuesto. Se deja reposar en la incubadora a una temperatura de 22°C por 3 días hasta su proliferación (Garibaldi *et al.*, 2009).

Figura 12: Siembra por vertido en placa



Fuente: (Garibaldi *et al.*, 2009).

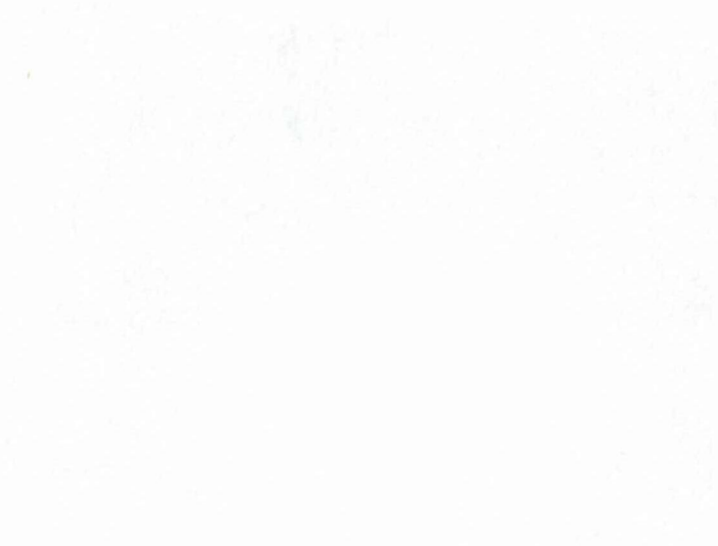
9.6.8.4 Conteo de colonias

En el conteo de colonias se utilizó un contador de colonias digital CP-600/1 en el que se introdujo la caja Petri de reverso para observar las colonias formadas en cuadrículas que ayudan a su diferenciación. Se identificó el número de colonias con la ayuda de un rotulador (marcador) se procedió a pulsar la caja Petri en orden descendente y de izquierda a derecha, a su vez el contador de colonias fue marcando cada pulsación hasta finalizar el conteo y obtener el resultado total de cada caja Petri (Corral *et al.*, 2012). El procedimiento se realizó por todos los puntos y por cada fuente de carbono propuesto y el número de cajas Petri.

Figura 13: Conteo de colonias



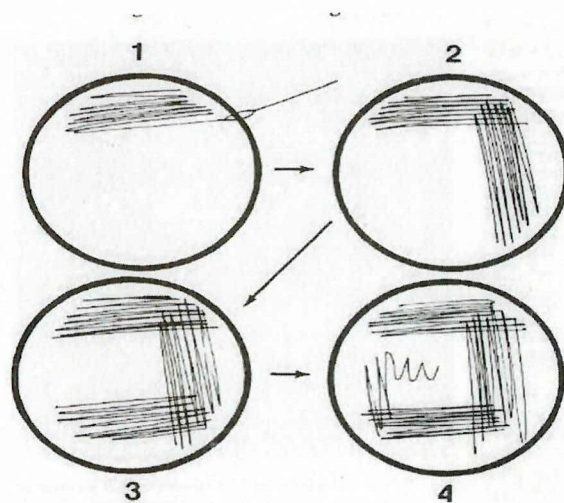
Fuente: (Sanz, 2011)



9.6.8.5 Aislamiento de colonias por estrías

Con un asa de siembra se tomó una pequeña cantidad de masa bacteriana de la colonia de la muestra madre de agar Nutritivo enriquecida con maltosa, fructosa, vitamina C. Con ello se inoculó en un nuevo medio de cultivo de agar nutritivo haciendo estrías muy juntas. La incubación en condiciones adecuadas proporcionara un cultivo puro. Se repitió el proceso con cada tipo de colonia de diferentes muestras enriquecidas (Sanz, 2011).

Figura 14: Aislamiento de colonias por estrías de medios enriquecidos



Fuente: (Sanz, 2011)

9.6.9 Caracterización biofísica

Para la caracterización biofísica de la zona de estudio se utilizó la herramienta Arcgis 10.4.1 para lo cual se tomó en cuenta los pisos altitudinales de 3400 a 3700 msnm considerando los sistemas montañosos del lado oriente y occidente de la quebrada Talahuachana. Para su corte, permitiéndonos identificar mediante el ingreso de las coordenadas el lugar específico de muestreo y mediante archivos shapefile (SHP) descargados del SNI, MAG y Sigagro en la que se determinó datos importantes como la temperatura, precipitación, pendiente, áreas de interés entre otros.

Para esto se procedió al ingreso de los archivos SHP de clima, precipitación, temperatura, pendiente, agroecología, hidrogeología, textura de suelos, taxonomía de suelos, erosión de suelo, movimiento de masas, aptitud agrícola y cobertura vegetal para luego realizar el respectivo corte de cada una de las características presentes en la zona, obteniendo la descripción respectiva de cada uno de los mapas. La aplicación *ArcGIS* 10.4.1 permite obtener el área de cada distribución, porcentajes específicos de la descripción presente en el mapa correspondiente, como también la distribución en toda el área de estudio.

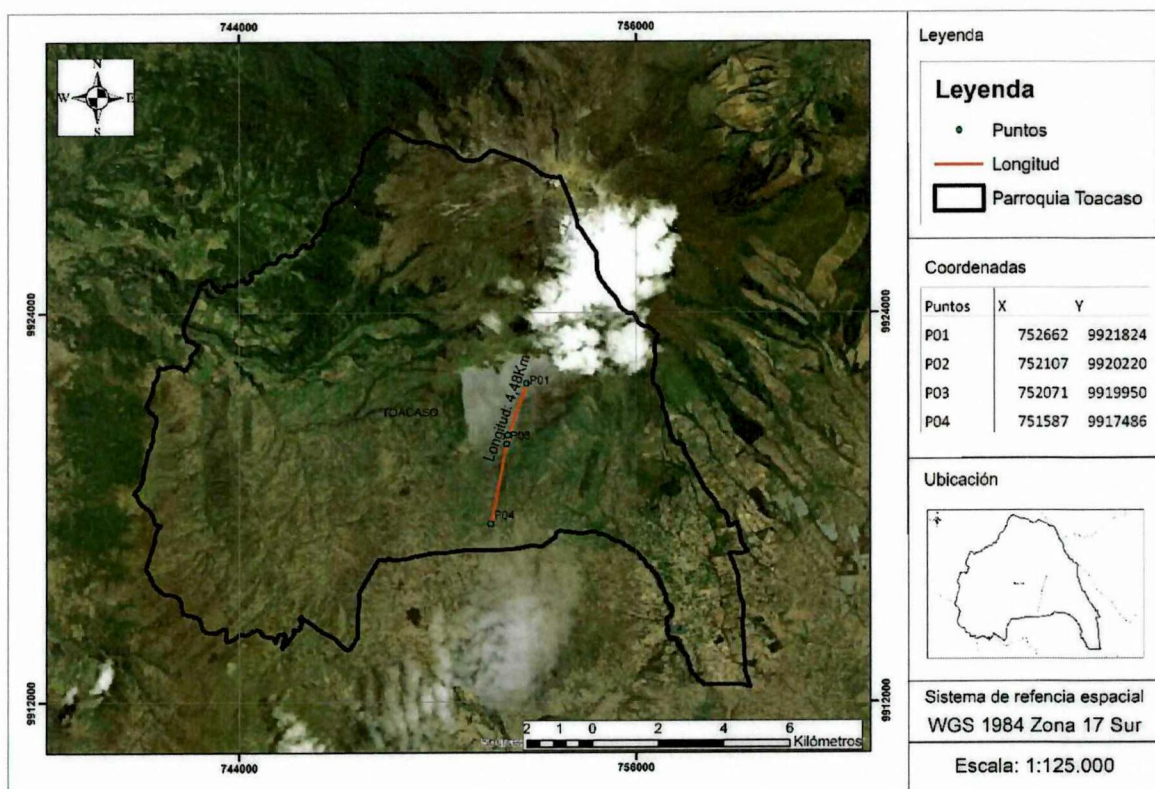


11 Análisis y discusión de los resultados

11.1 Área de Estudio

Se definió como área de estudio a la quebrada Talahuachana que nace desde las faldas del volcán 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, tiene estribaciones que dan origen a pequeños ríos que atraviesan la parroquia de Planchaloma (MAE, 2015). La delimitación se llevó a cabo específicamente en el sitio por la cercanía que mantiene con el estratovolcán Iliniza Sur del que nace agua subterránea y superficial, convirtiéndose en un área poco monitoreado por las autoridades de control. Con la herramienta *Arcgis* 10.4.1 se identificó oportunamente los 4 puntos para la posterior toma de muestra.

Figura 15: Ubicación del área de estudio Quebrada Talahuachana.



Elaborado por: Barriga Luis

Fuente: MAGAP 2011

Este sitio es conocido por su actividad volcánica que actualmente se mantiene inactiva y que dispersa naturalmente metales pesados producto de la meteorización, de los cuales más de 20000 habitantes consumen el agua de más de 15 fuentes (Toapanta, 2022).



La quebrada Talahuachana comprende una longitud de 8.38 km hasta la comunidad de Planchaloma, convirtiéndose en la primera fuente indispensable de agua utilizada mayormente para la agricultura y ganadería del lugar.

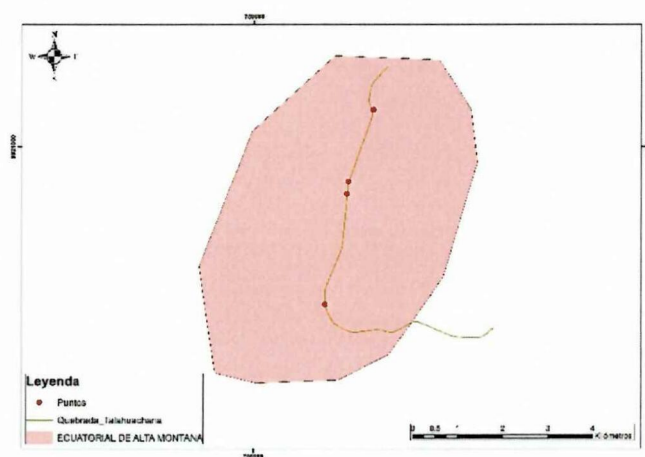
11.2 Caracterización biofísica del piso altitudinal entre 3400 y 3700 msnm

11.2.1 Clima

El área comprende en un 100% de clima de tipo (Ecuatorial de Alta montaña) en el que su precipitación oscila entre los 500 a 700mm de precipitación anual debido a su altitud es producto de la condensación de neblina. De acuerdo al (GAD Toacaso, 2020) al ser un clima de alta montaña como se observa en la Figura 16 su temperatura oscila entre los 6 °C a 12 °C.

La importancia del clima se destaca en los procesos de condensación, acidificación y precipitación en las que la temperatura es indispensable. Dentro del ámbito de contaminación de arsénico en el agua en aguas superficiales el proceso de evaporación no existe a lo cual responde con un aumento en la salinidad y pH de las aguas. Sin embargo, debido a los vientos cálidos que provienen del trópico pueden traer consigo polvo que son depositados directamente en el agua superficial.

Figura 16: Clasificación de los tipos de climas del río Blanco (3100 a 3300 msnm).

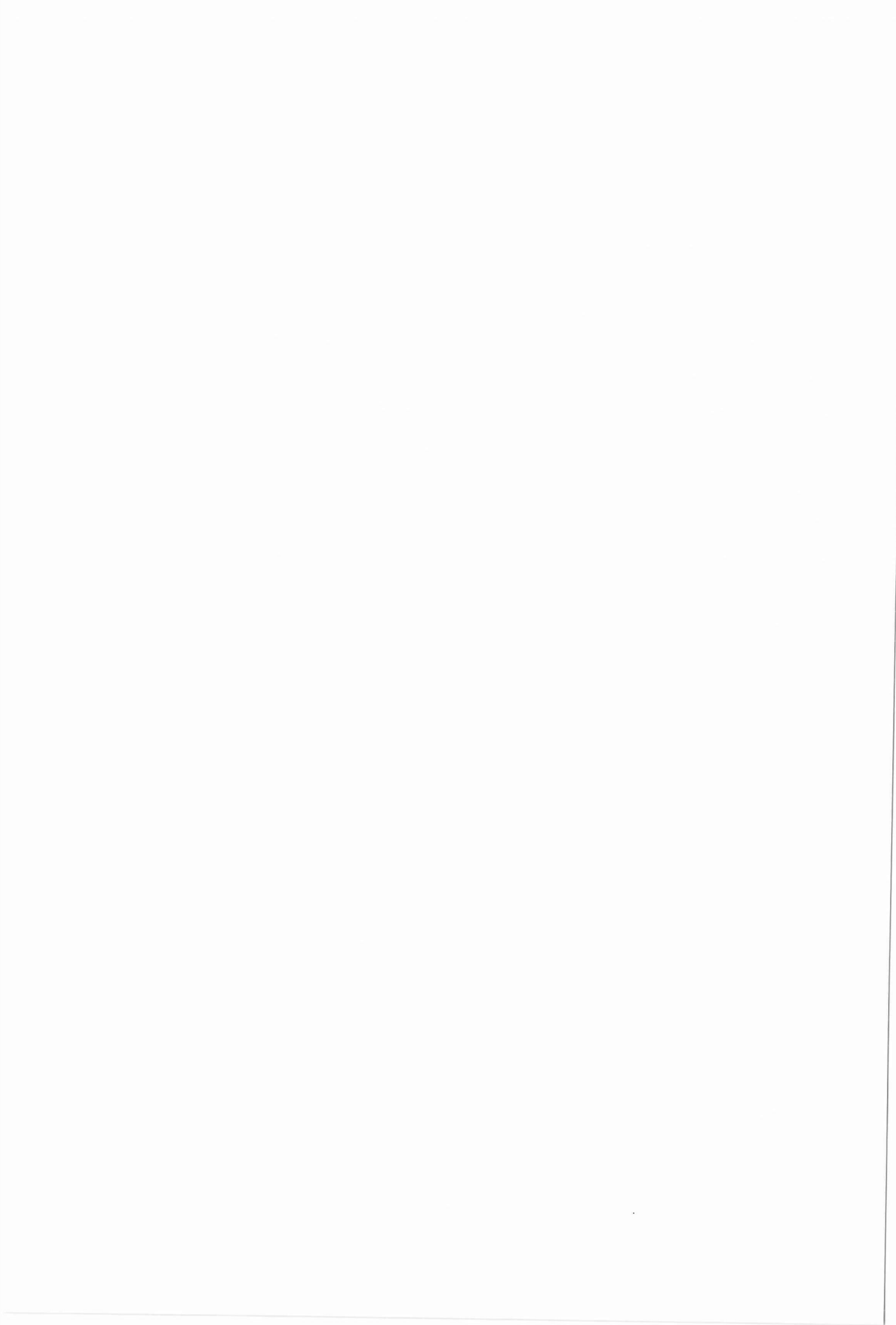


Elaborado por: Luis Barriga

Fuente: INAMHI 2008

11.2.2 Precipitación

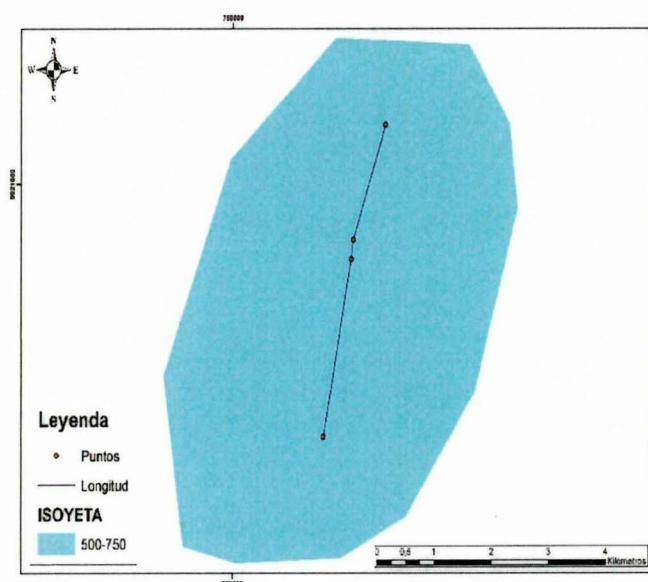
El 100% de la zona de estudio del piso altitudinal de 3400 y 3700 msnm presenta una precipitación que oscila entre los 500 a 750 mm anuales por lo cual es considerado como una zona moderadamente lluviosa como se observa en la Figura 17. El área de estudio se encuentra



en la parte montañosa del Ecuador en el que existe la presencia de los vientos cálidos provenientes del trópico y la presencia de neblina que se condensan para producir lluvia (Martínez Valdés & Villalejo García, 2018).

La principal contaminación por fuentes cercanas a depósitos volcánicos se da por efecto de la meteorización interna y por fenómenos naturales como la precipitación que trae consigo contaminantes de origen atmosférico que está relacionada al ciclo hidrológico. En el ambiente existen diversas partículas que provenientes de industrias que expulsan gases a cielo abierto y que posterior se depositan en sitios de mayor precipitación y terminando en los cauces por medio de escorrentía. Los metales pesados disueltos en el agua tienden a moverse y terminar en ríos y posterior usos que le da el ser humano (Pabón *et al.*, 2020).

Figura 17: Precipitación de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).



Elaborado por: Luis Barriga

Fuente: INAMHI 2008

11.2.3 Temperatura

El área de estudio cuenta con dos tipos de temperaturas en la cual predomina con el 82,3 % la temperatura de 8 °C a 10°C y segunda con el 17,7% corresponde a una temperatura de 6 °C a 8 °C. Dando a conocer que a mayor piso altitudinal la temperatura disminuye en un rango que generalmente poseen áreas de alta montaña como se observa en la Figura 18.

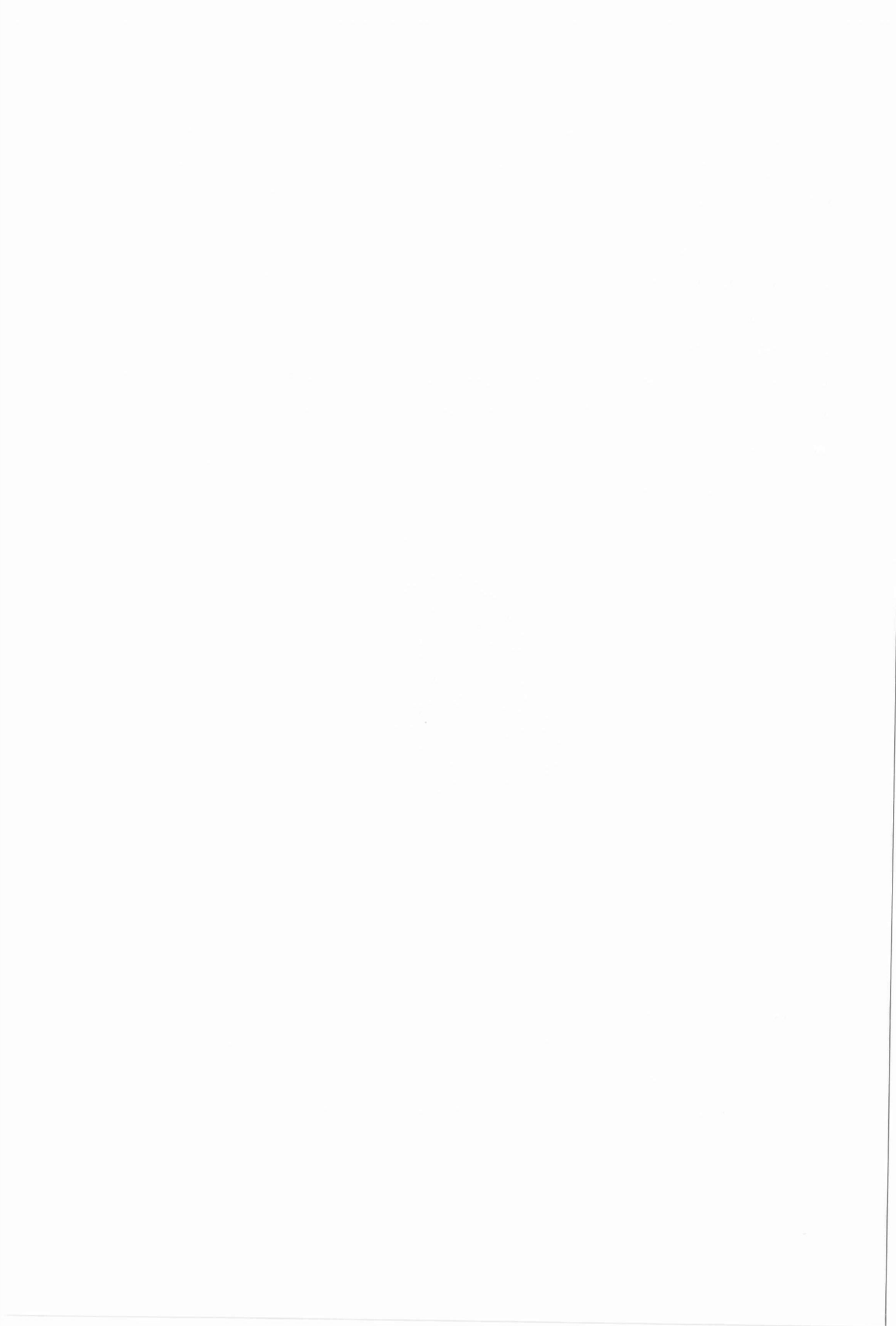


Figura 18: Temperatura del río Blanco (3100 a 3300 msnm).



Elaborado por: Luis Barriga

Fuente: INAMHI 2008

11.2.4 Pendiente

El área de estudio presenta el mayor área que predomina en el sitio con 45,79% pertenece a moderadamente ondulado, la pendiente colinado con un 18,15% de presencia que hace referencia a una pendiente muy empinada o muy fuerte, el 14,83% de superficie plano a casi plano con pendientes nulas o débiles, el 11,05% de la zona corresponde de suave a ligeramente inclinado con una pendiente no muy empinada o considerada como regular y finalmente el 10,18% pertenece el área ligeramente ondulado (Micro relieve) pendientes que poca existencia de relieve como se observa en la Figura 19.

En la cuenca media y alta de la Quebrada Talahuachana circula un cauce de curso medio en el que presenta una pendiente montañosa provocando escurrimiento natural y también propenso a desbordes e inundaciones.

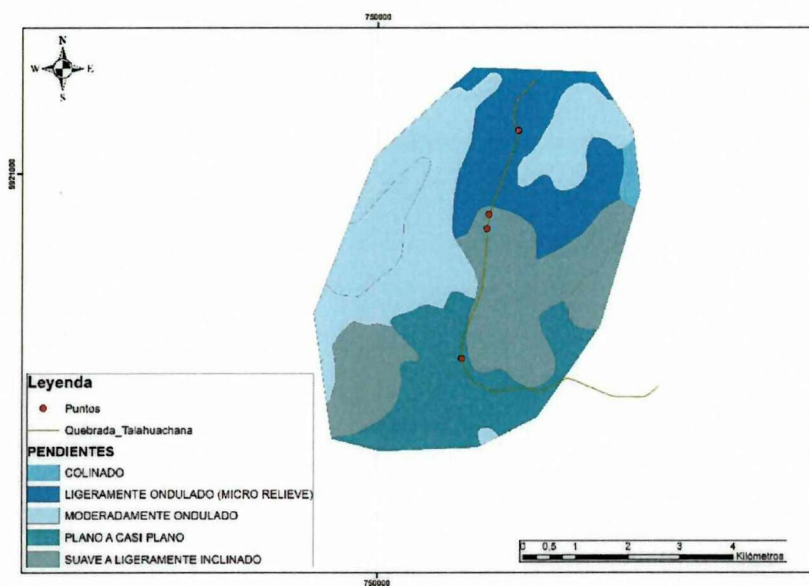
Tabla 8: División de la pendiente de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).

CLASE	CLASIFICACIÓN DE LA PENDIENTE	PORCENTAJE
1	Moderadamente ondulado	45,79%
2	Colinado	18,15%
3	Plano a casi plano	14,83%
4	Suave a ligeramente inclinado	11,05%
5	Ligeramente ondulado (Micro relieve)	10,18%
	TOTAL	100,00%

Elaborado por: Barriga Luis



Figura 19: Porcentaje de pendientes de la Quebrada Talahuachana



Elaborado por: Luis Barriga

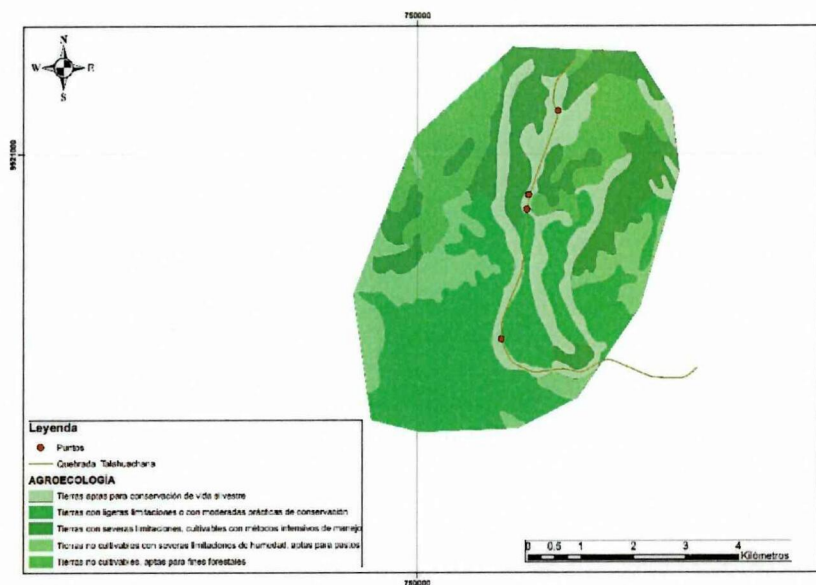
Fuente: Sigagro 2003

11.2.5 Agroecología

En el piso altitudinal de 3400 a 3700 msnm, presenta un área con cuatro tipos de suelos obteniendo su mayor área con un 33,7% de suelos de Tierras con ligeras limitaciones o con moderadas prácticas de conservación que se representa como suelo con poca o nada de erosión, contienen fertilidad media y alta y mantiene un drenaje bueno o moderado. El 20,5% de suelo corresponde a Tierras con severas limitaciones, se caracteriza principalmente por ser incipientes para el cultivo en el que se crean métodos intensivos de manejo para poder ser producidas con fines agropecuarios. Seguido de las Tierras no cultivables, aptas para fines forestales ocupa un 16,2% en el área que hace referencia a un suelo empinado con poco acceso en el que son destinadas para iniciativas forestales de especies propias o autóctonas. El 15,9% pertenece a Tierras aptas para conservación de vida silvestre, regularmente son terrenos que se encuentren en un estado natural en el medio ambiente, mantienen una conservación del ecosistema en especial prolifera la flora y fauna en el sitio dando lugar a un ambiente apto para el desarrollo de especies. Por último, con un área del 13,6% pertenece a un área de Tierras no cultivables con severas limitaciones de humedad, aptas para pastos, estos suelos por lo general no tienen declives y no son susceptibles a erosión, poseen características físicas de vegetación permanente que son apropiadas para el desarrollo de actividades no agrícolas enfocadas a actividades pecuarias, las 4 clasificaciones se pueden observar en la Figura 20.



Figura 20: Agroecología de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).



Elaborado por: Luis Barriga

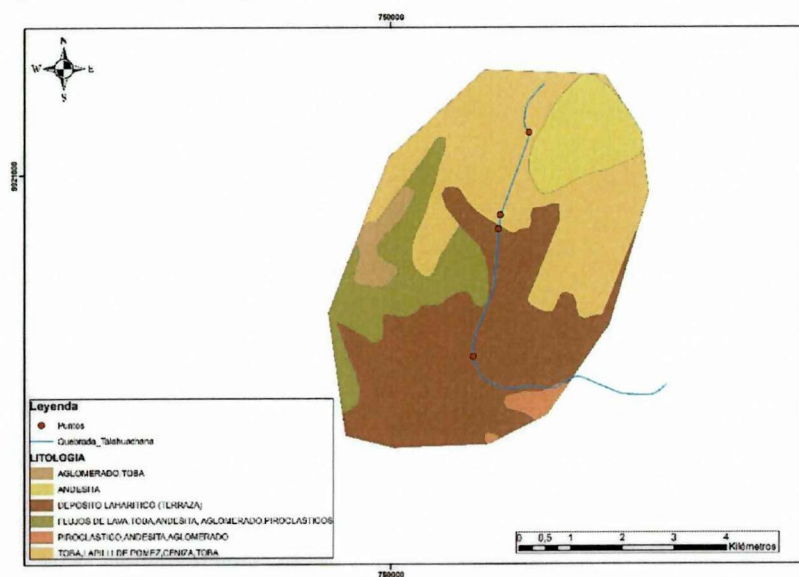
Fuente: MAGAP 2005

11.2.6 Hidrogeología

En el área de estudio se presenta 5 clasificaciones hidrogeológicas, el primero con el 38,6% pertenece al Depósito Laharítico (terrace) su origen se debe a la acumulación de material volcánico que han sido depositados o generados en una erupción, o a su vez han removidos o mezclados por los cuerpos de agua durante su recorrido natural se incorporan sedimentos, seguido del 34,2% que pertenece a Toba, Lapilli de pómez, Ceniza, Toba que hace referencia también a la acumulación de material volcánico de baja permeabilidad mezclado por pequeños cuerpos de agua, en consecuente con un 13,4% de Flujos de lava, Toba, Andesita, Aglomerado, Piro clástico que se encuentran a medida que disminuye la altura por efecto de actividad volcánica con depósitos situados en la lejanía del volcán que es de muy baja permeabilidad, seguido con el 9,5% un área menor de Andesita que contiene minerales y esta logada a el encaje de partículas producto de la erupción volcánica su composición es inmediata y su permeabilidad es media, también se encuentra con un 2,9% el Aglomerado, Toba de con permeabilidad media de origen magmático formada en la superficie al momento de una erupción que forma parte de los restos exteriores del área, y por ultimo Piro clástico, Andesita y Aglomerado que son fragmentos de roca ígnea volcánica solidificados, resultante de la suspensión de partículas de grano fino en el agua y aire que se realiza durante su recorrido aéreo como se observa en la Figura 21.



Figura 21: Hidrogeología de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).

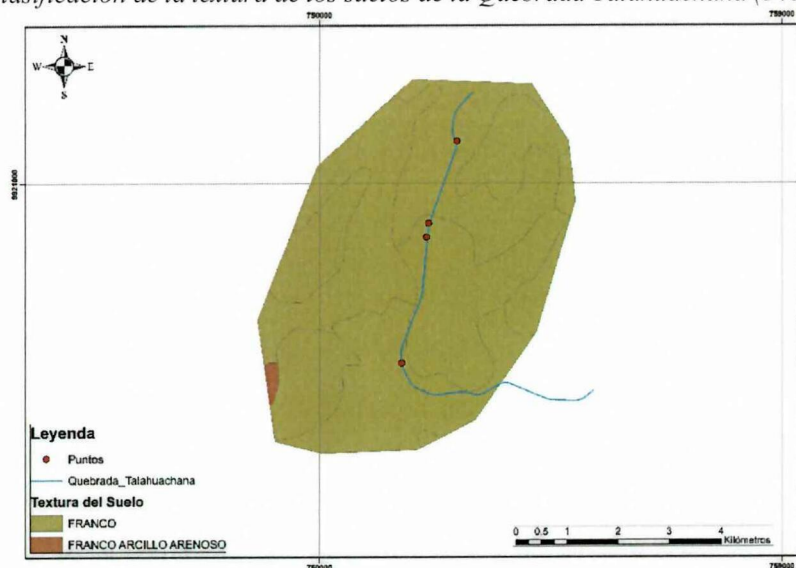


Elaborado por: Luis Barriga
Fuente: MAGAP 2005

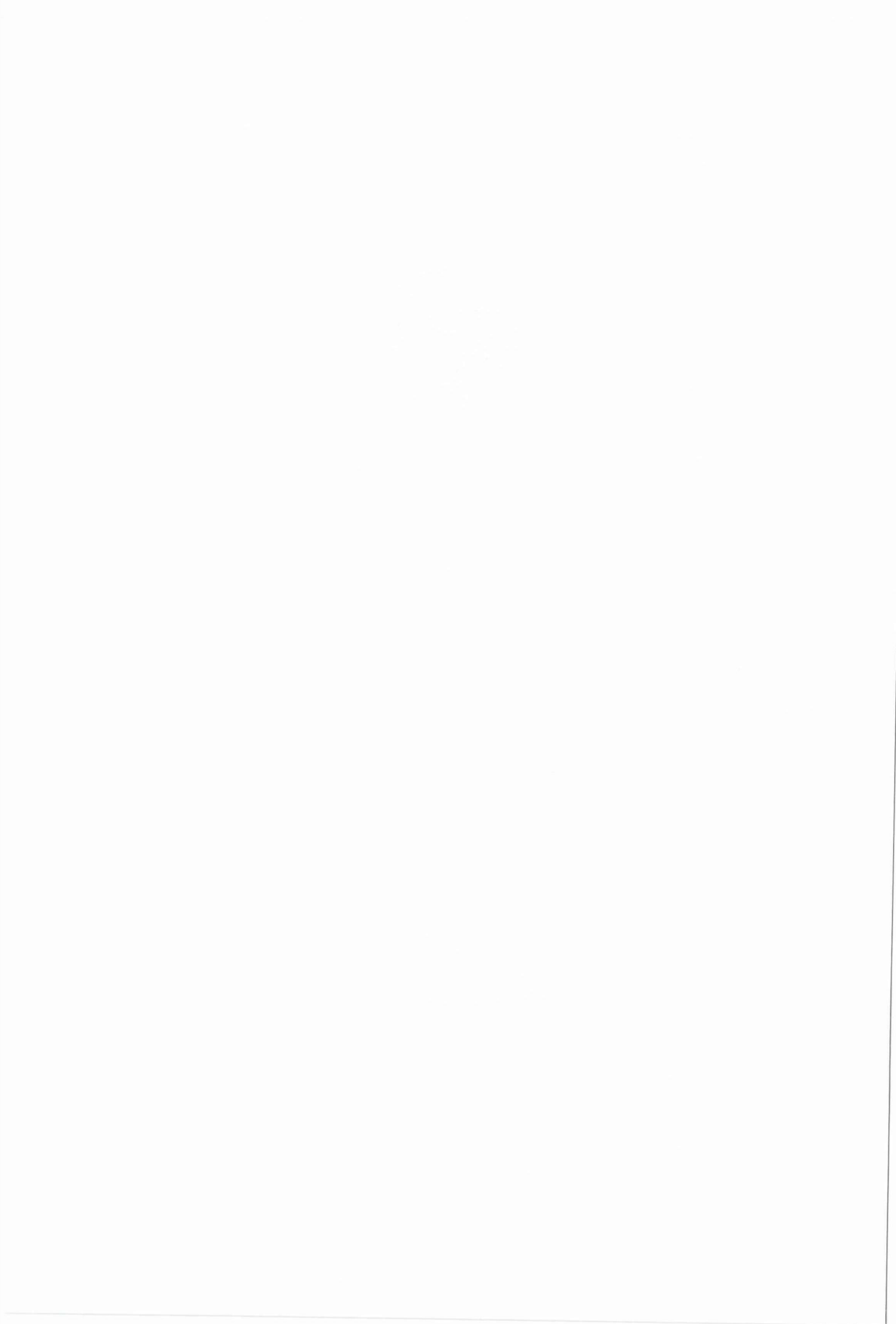
11.2.7 Textura de suelos

El área de estudio cuenta con 2 tipos de textura de suelo en el que se destaca con el 97,54% de tipo Franco que se puede caracterizar por ser un suelo de elevada productividad y equilibrados, catalogados aptos para producción agrícolas y generalmente se encuentra en sitios de alta montaña (paramo), seguido del 2,46% de suelo de tipo Franco, Arcillo, Arenoso contiene varios componentes en diferentes proporciones es por ello que se lo cataloga como algo desequilibradas, moderadamente desarrollados y poco aptos para la producción agrícola como se observa en la Figura 22.

Figura 22: Clasificación de la textura de los suelos de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm)



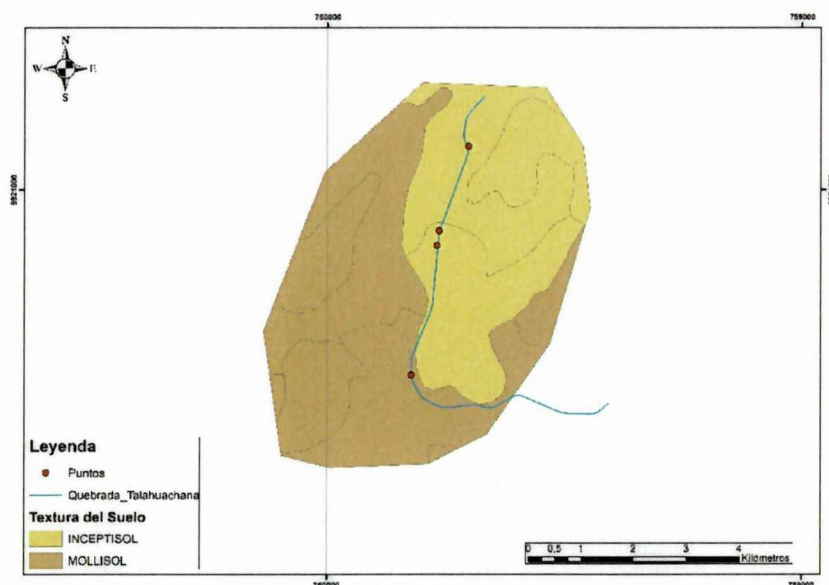
Elaborado por: Luis Barriga
Fuente: MAGAP 2005



11.2.8 Taxonomía de suelos

El área de estudio cuenta con dos tipos de taxonomía en que se encuentra con un 62.8% de tipo Molisol que son suelos de color oscuro y presenta altos contenidos de materia orgánica convirtiéndolos en fértiles y aptos para la producción agrícola, se encuentra en zonas semiáridas o semihúmedas con cobertura vegetal, seguido del tipo Inceptisol con un 37,2% formado por material lítico de origen volcánico son suelos que nacen de las cenizas volcánicas y que en zonas de alta montaña se presenta de color negro como se observa en la Figura 23.

Figura 23: Clasificación de la taxonomía de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).



Elaborado por: Luis Barriga

Fuente: MAGAP 2005

11.2.9 Erosión del suelo

En el área de estudio se presenta dos clasificaciones de erosión de suelo, en el que se identifica un nivel bajo con un 11,8% de Áreas Erosionadas en el que hace referencia a sitios en el que la erosión ha cumplido todo su proceso y son suelo inherentes que no son factibles para realizar actividades agropecuarias o de regadío, seguido del 88,2 de Áreas en proceso de erosión que implica en el movimiento y transporte de material existente en el área que están en procesos de erosión como se observa en la Figura 24.

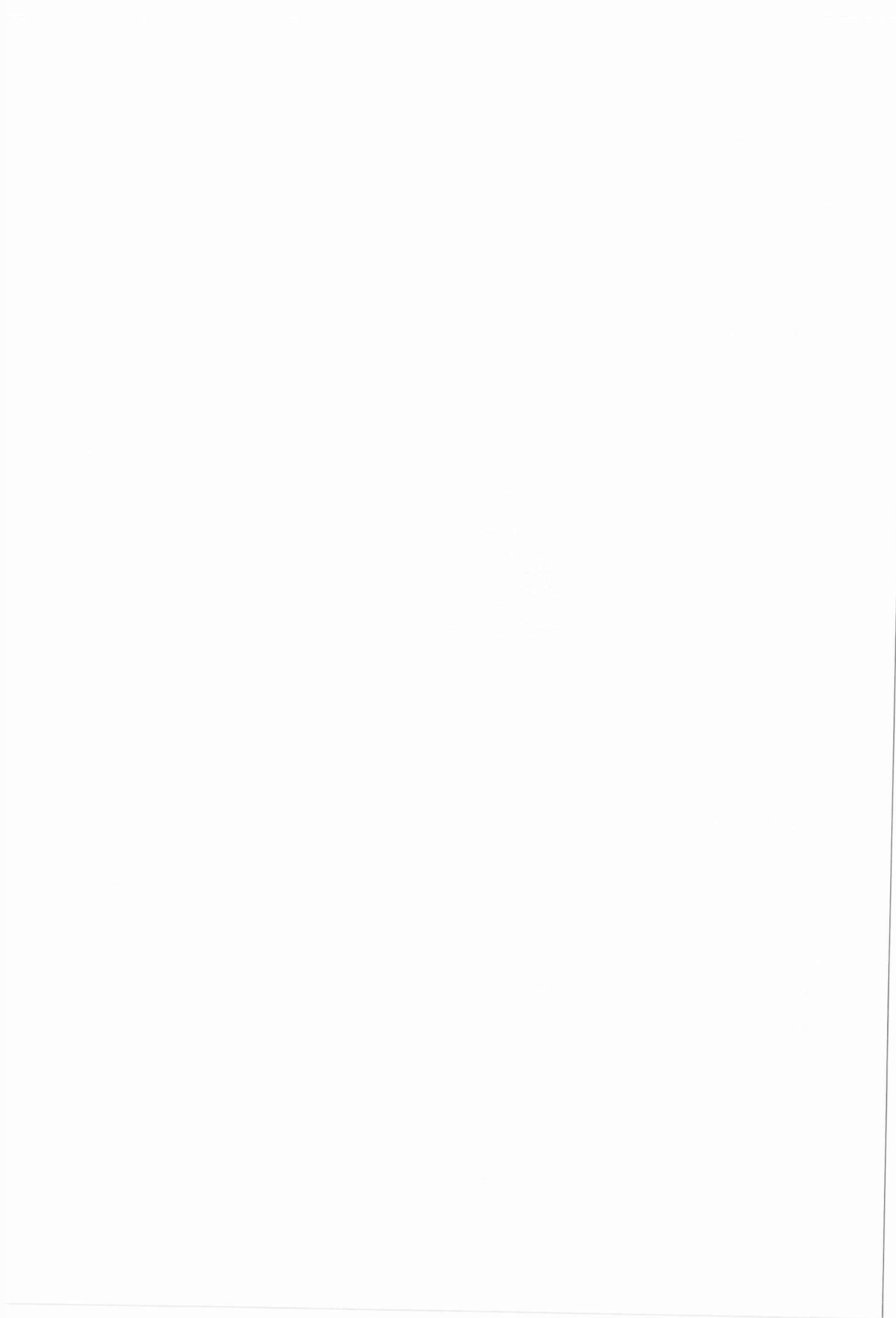
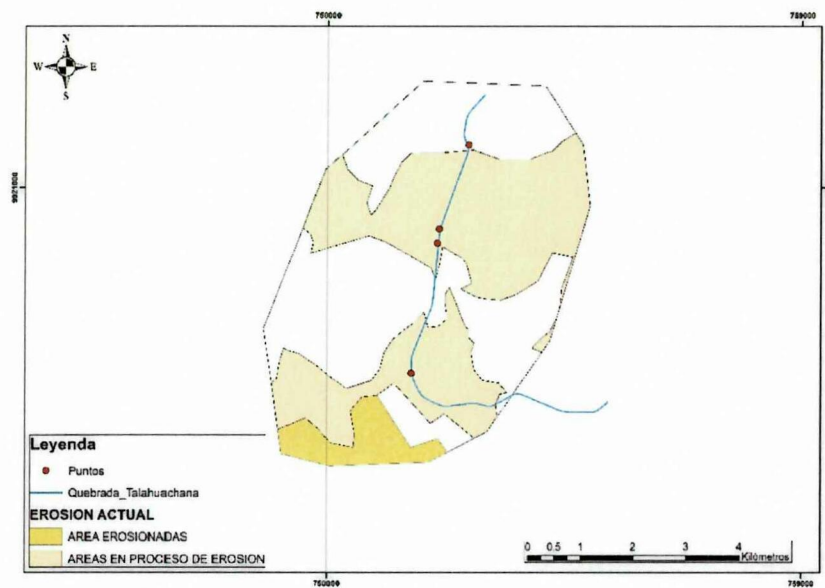


Figura 24: Erosión del suelo de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm)



Elaborado por: Luis Barriga
Fuente: MAGAP 2003

11.2.10 Movimientos de masa

El área de estudio posee el 1,1% de superficie con alta susceptibilidad a movimientos de masa que se determina como zonas con fallas producto de una meteorización moderada y también discontinuidades desfavorables en donde se ha registrado deslizamientos, seguido de 52,3% de áreas con mediana susceptibilidad a movimientos en masa, son zonas con pocas fallas, erosión intensa y materiales saturados en donde no se han registrado una menor cantidad de deslizamientos pero no hay completa seguridad de que ocurra, y por último el 46,6% de sitios de baja susceptibilidad de movimientos en masa son laderas que mantienen algunas fisuras, materiales erosionados no saturados en donde la probabilidad de deslizamientos es baja o nula como se observa en la Figura 25.

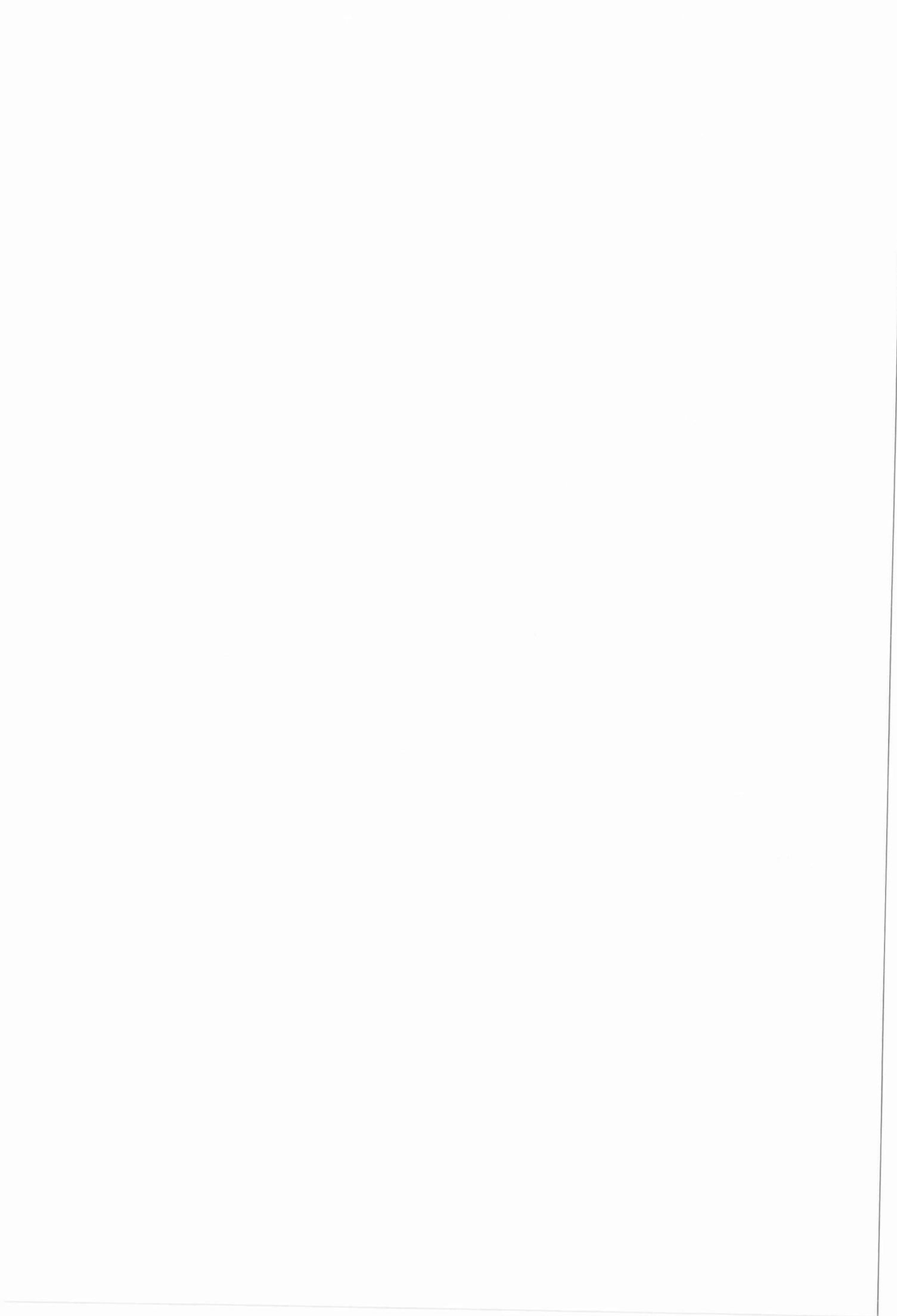
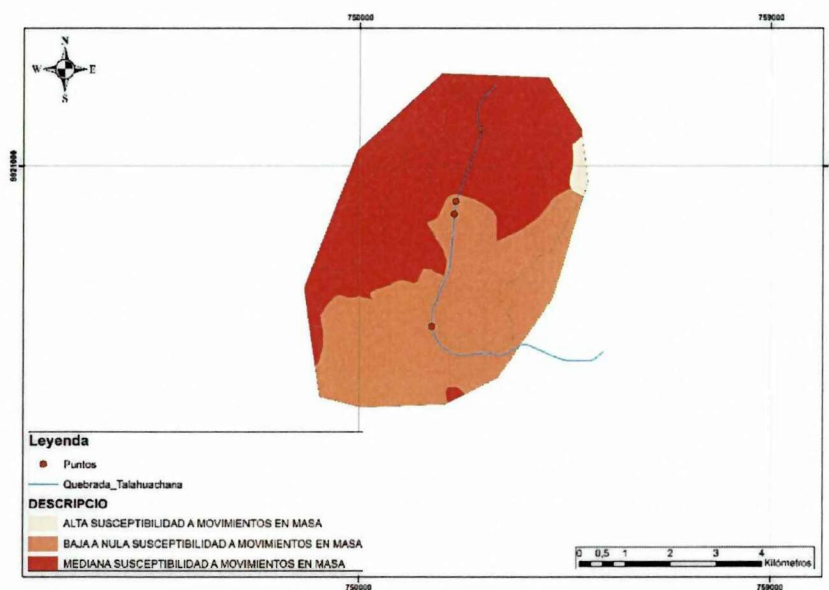


Figura 25: Movimientos de masa de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).



Elaborado por: Luis Barriga

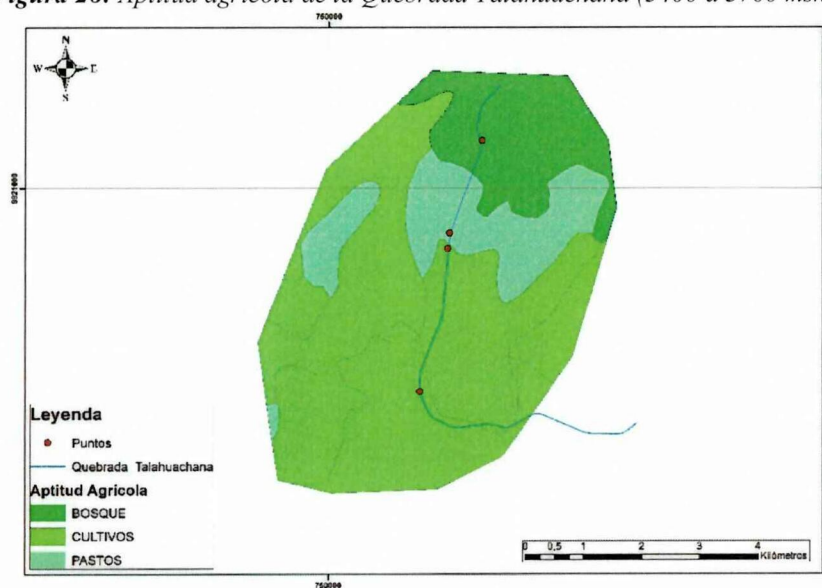
Fuente: MAGAP 2005

11.2.11 Aptitud agrícola

El área de estudio presenta tres tipos de aptitud de suelo, en el que se destaca el área de cultivos con un el 65,4%, son áreas en las que a través de personal y maquinarias dan origen a diversos tipos de cultivos de paramos o alta montaña, varios tipos de hortalizas y vegetales son sembrados en extensiones que están aptas ya que son de fácil acceso para las personas y la maquinaria además de aprovechar de buena manera el regadío. El 17,3% representa a los bosques, dentro de la zona se encuentran características importantes de forestación, reforestación y mantenimiento de la cobertura vegetal que ayuda a la conservación del recurso hídrico, estos suelos son importantes para preservar los ecosistemas en su forma natural y que no sufra alteraciones por diferentes tipos de intervenciones humanas. Por último, el 17,3% del área de Pastos representa una paridad con los bosques de la zona, se determinan como áreas marginales para la agricultura, mejoramiento de pastos naturales existentes y zonas marginales para la agricultura, mejoramiento de pastos naturales existentes, estos suelos en su totalidad están cubierto de pastos que se generan de manera natural y no sufren alteraciones, en su mayoría estas áreas están destinadas al uso pecuario como se observa en la Figura 26.

100

Figura 26: Aptitud agrícola de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm).

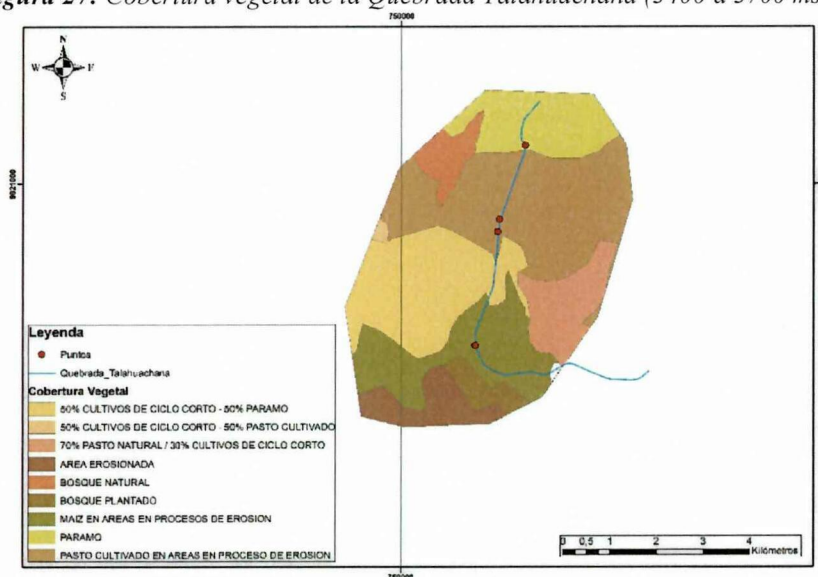


Elaborado por: Luis Barriga
Fuente: MAGAP 2005

11.2.12 Cobertura Vegetal

En el área de estudio se encontró nueve clasificaciones de cobertura vegetal, en la que se destaca el área de Pasto cultivado en áreas en procesos de erosión con un 30,4%, seguido de 50% cultivos de ciclo corto 50% paramo con un 20,6, Maíz en áreas en procesos de erosión con un 15,8 %, seguido de Paramo con un 11,8%, además de 70% de pasto natural/30% cultivo de ciclo corto con un 8,2% , Área erosionada con 6,2%, Bosque natural con 3,8%, Bosque plantado con 2,7%, y por ultimo 50% cultivos de ciclo corto/ 50% pasto cultivado con un 0,4% como se observa en la Figura 27.

Figura 27: Cobertura vegetal de la Quebrada Talahuachana (3400 a 3700 msnm)



Elaborado por: Luis Barriga
Fuente: MAGAP 2005



11.3 Evaluación parámetros físico-químicos y concentración de arsénico de la Quebrada Talahuachana

11.3.1 Comparación de criterios de calidad de agua con la tabla 1 AM097 A

En las muestras de los cuatro puntos de la Quebrada Talahuachana se realizó el análisis físico- químico *in situ*, con el equipo DR/890 *Colorimeter* de la marca HACH y *Alcalinity checker* de la marca HANNA. A fin de realizar el análisis de la calidad del agua *in situ* y obtener una mayor precisión en los resultados, así como también identificar los factores que alteran su calidad. Los resultados obtenidos se compararon con la tabla 1 y 3 del Acuerdo Ministerial 097-A con el objetivo de determinar si el efluente hídrico de la quebrada se encuentra dentro de los límites máximos permisibles de acuerdo a la legislación legal vigente.

Tabla 9: Criterios de calidad de agua para consumo humano y riego

Nº	PARAMETROS	UNIDAD	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	AM097-A	
							Tabla 1	Tabla 3
1	Arsénico	(mg/L) As	1,34	1,7	1,5	3,9	0,1	0,1
2	Temperatura	°C	10	10	10	10	Ausente	Ausente
3	Potencial de hidrógeno	UpH	6,7	6,6	6	6,1	6 - 9	6 - 9
4	Color	U(Pt/Co)	550	348	102	89	75	Ausente
5	Sólidos Suspendidos	(mg/L)	75	71	63	25	Ausente	Ausente
6	Dureza	mg/L (CaCo ₃)	8,2	5,7	4,3	0,28	Ausente	Ausente
7	Sulfatos	(mgSo/L)	65	58	51	21	500	250
8	Alcalinidad	ppm	218	181	130	131	Ausente	Ausente
9	Turbidez	(NTU)	91	76	73	16	100	Ausente

Elaborado por: Barriga Luis

11.3.2 Comparación de arsénico (As)

En los resultados obtenidos de los análisis de Arsénico (As) en los 4 puntos del efluente hídrico de la Quebrada Talahuachana se encontró una concentración de 1.34, 1,7, 1,5 y 3,9mg/L mismos que superan la cantidad de la tabla 1 y 3 del Acuerdo Ministerial 097-A, con un límite de calidad permitido de 0,1 mg/L, que quiere decir que dicho resultado excede el máximo permitido y que no debe ser usado para consumo ni riego. El área de estudio de acuerdo a su ubicación geográfica se ve altamente influenciado por el drenaje del agua en áreas en proceso



de meteorización y zonas mineralizadas en los que la concentración de arsénico en el agua superficial se ha incrementado. El compuesto inorgánico arsénico (As) en cantidades superiores a las recomendadas es letal y se relacionan con varios tipos de enfermedades como el cáncer de piel, pulmón e hígado (K. Romero et al., 2014).

11.3.3 Comparación de potencial de hidrogeno (pH)

En los resultados obtenidos de Potencial de Hidrogeno de los 4 puntos del agua de la Quebrada Talahuachana se encontró con un agua de 6,7-6,6-6 y 6,1 Unidades de pH (UpH). Comparando dichos criterios con la tabla 1 y 3 del AM097-A que tiene un rango de (6-9) UpH, se encontró que su nivel está dentro de los límites máximos permisibles. El valor de este parámetro podría verse afectado y variar de acuerdo a algunos factores como: el drenaje agrícola, el escurrimiento natural, drenaje ácido, así como también el vertimiento de contaminantes utilizados en fumigaciones. Estos factores influyen directamente puesto que de cierta manera todos terminan en el cauce del río (Isch, 2011).

11.3.4 Comparación de color (Pt-Co)

En los resultados obtenidos de la prueba de colorimetría de agua de los 4 puntos de la Quebrada Talahuachana se encontró cantidades de 550, 348, 102 y 89 unidades de platino cobalto (UPC). Comparando dichos criterios con la tabla 1 del AM097-A en el que mantiene una cantidad de 75 UPC, dicha cantidad sobrepasa el límite máximo permisible de acuerdo a la legislación legal vigente, la cual se convierte en un agua no apta para el consumo humano. La alteración en el color del agua se debe a la presencia de materia orgánica, sustancias químicas y naturales procedentes de la meteorización en las que se libera magnesio, cobre o hierro y se encuentran disueltos o suspendidos en el agua cambiando su coloración a simple vista (Villanueva & Avila, 2019).

11.3.5 Comparación de sulfatos

En los resultados obtenidos del análisis de sulfatos en el agua de los cuatro puntos de la Quebrada Talahuachana se encontró con cantidades de 65, 58, 51 y 21 mgSo/L. Comparando dichos criterios con la tabla 1 y 3 del AM097-A en el que mantiene una cantidad de 500 y 250 mgSo/L, se encontró que las cantidades no sobrepasan el límite máximo permisible de acuerdo a la legislación legal vigente. La presencia de un exceso en el nivel de sulfatos puede ser notable al momento de beber el agua, creando un efecto laxante en el consumidor (Bolaños-Alfaro et al., 2017).



11.3.6 Comparación de turbidez

En los resultados obtenidos del análisis de turbidez del agua en los cuatro puntos de la Quebrada Talahuachana se encontró con cantidades de 91, 76, 73 y 16 NTU. Comparando dichos criterios con la tabla 1 del AM097-A en el que mantiene una cantidad de 100 NTU, se encontró que las cantidades no sobrepasan el límite máximo permisible de acuerdo a la legislación legal vigente. La turbidez del agua es la medida en la cual pierde su transparencia debido a la existencia de partículas en suspensión, es decir debido a factores externos como las fuertes precipitaciones son causantes de ocasionar altos niveles de turbidez en el agua (Villanueva & Avila, 2019).

11.4 Índice canadiense de calidad de agua (WQI Canadian)

Para realizar el índice de calidad de agua canadiense se conformó una tabla con puntos de muestreo representativos en relación a mínimo cuatro parámetros con resultados positivos y negativos con los que se estableció una formula con ecuaciones significativas como: el alcance, la frecuencia y amplitud para finalmente obtener el resultado en relación a una escala propia de la metodología del índice.

Tabla 10: Puntos y parámetros físico-químicos

Parámetro	Arsénico	pH	Color	Sulfatos	Turbidez
Unidades	(mg/L) As	UpH	U(Pt/Co)	(mgSo/L)	(NTU)
LMP	0,1	6 a 9	75	500	100
Datos	>	>	>	>	>
P01	1,34	6,7	550	65	91
P02	1,7	6,6	348	58	76
P03	1,5	6	102	51	73
P04	3,9	6,1	89	21	16

Elaborado por: Barriga Luis

Valor del alcance

$$F1 = \frac{2}{5} \times 100 = 40$$

Valor de frecuencia

$$F2 = \left(\frac{8}{20}\right) \times 100 = 40$$



Valor de NSE

$$NSE = (1,34/0,10 - 1) + (1,70/0,10 - 1) + (1,50/0,10 - 1) + (3,9/0,10 - 1) + (550/75 - 1) + (348/75 - 1) + (102/75 - 1) + (89/75 - 1)/20 = 4,5$$

Valor de la amplitud

$$F3 = \frac{4,5}{0,01 \times 4,5 + 0,01} = \frac{4,5}{0,05} = 90$$

WQI

$$WQI = 100 - \left(\frac{\sqrt{40^2 + 40^2 + 90^2}}{1,732} \right) = 38,63$$

El resultado obtenido fue de 39,63 que se encuentra dentro del rango 0-44 de calidad pobre y se considera como un agua que está casi siempre amenazada o dañada, las condiciones usualmente se apartan de los niveles naturales o deseados (Caho-Rodríguez & López-Barrera, 2017).

11.5 Estandarización de medios hábiles con diferentes fuentes de carbono


La estandarización de medios se realizó en tubos Falcon de 100mL de contenido de solución y muestra para poder descartar fallos al momento de masificar el medio en botellas de mayor capacidad. Se estandarizó las condiciones de crecimiento hábiles en las cuatro muestras del agua procedente de la Quebrada Talahuachana en la que se obtuvo el enriquecimiento de forma favorable para posterior desarrollar el enriquecimiento, obteniendo mejor reproducción de bacterias tolerantes a arsénico.

11.5.1 Estandarización con fuente de carbono Fructosa

La estandarización se compone principalmente de la fuente de carbono fructosa y demás reactivos. La fructosa es un monosacárido que mejora la tasa de oxidación de glucosa y proporciona energía mejorada contribuyendo a la reproducción y enriquecimiento celular bacteriano, convirtiéndose en un medio hábil y eficiente (Pérez Cruz *et al.*, 2007).



Tabla 11: Lista de reactivos con fuente de carbono fructosa.


Reactivos	Fuente de carbono: Fructosa
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	

Elaborado por: Barriga Luis

11.5.2 Estandarización con fuente de carbono Maltosa

La estandarización se distinguió por tres diferentes fuentes de carbono maltosa. En el que la maltosa actúa como buena fuente de carbono, puesto que las células emplean de manera positiva la glucosa proveniente de este elemento y lo utiliza como fuente metabólica favoreciendo el crecimiento bacteriano (Azcona, 2016). Las otras dos fuentes por su parte son más restrictivas y requieren mayor adaptación del cultivo para un crecimiento masivo.

Tabla 12: Lista de reactivos con fuente de carbono maltosa.

Reactivos	Fuente de carbono: Maltosa
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	

Elaborado por: Barriga Luis

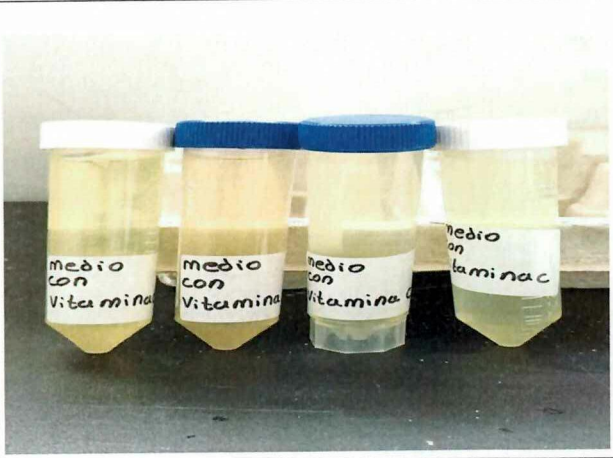
11.5.3 Estandarización con fuente de carbono Vitamina C

La estandarización se compone principalmente de fuente de carbono Vitamina C y demás reactivos. Actúa como nutriente hidrosoluble que ayuda a proteger y fortalecer las células de los microorganismos mejorando su enriquecimiento (Proaño Bastidas et al., 2017).

1900

1900

Tabla 13: Lista de reactivos con fuente de carbono Vitamina C.

Reactivos	Fuente de carbono: Vitamina C
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	

Elaborado por: Barriga Luis


11.6 Masificación de enriquecimientos bacterianos

La masificación se realizó a partir del establecimiento en tubos Falcon obteniendo un resultado de enriquecimiento favorable para su masificación en botellas de 1000mL. Para lo cual se utilizó las mismas fuentes de carbono (fructosa, maltosa, vitamina c) con los mismos compuestos inorgánicos, las cuales son apropiadas para establecer las condiciones de crecimiento adecuadas. Con la incorporación de fuentes de energía inorgánicas se estableció combinaciones de nutrientes para permitir el crecimiento y reproducción.

11.6.1 Masificación de enriquecimientos con fructosa

La masificación se compone principalmente de la fuente de carbono fructosa y demás reactivos. La fructosa es un monosacárido que mejora la tasa de oxidación de glucosa y proporciona energía mejorada contribuyendo a la reproducción y enriquecimiento celular bacteriano, convirtiéndose en un medio hábil y eficiente (Pérez Cruz *et al.*, 2007).

Tabla 14: Lista de reactivos con fuente de carbono fructosa.

Reactivos	Fuente de carbono: Fructosa
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	


Elaborado por: Barriga Luis



11.6.2 Masificación de enriquecimientos con Maltosa

La masificación se compone principalmente de fuente de carbono maltosa y demás reactivos. En el que la maltosa actúa como buena fuente de energía, puesto que las células aprovechan eficazmente la glucosa proveniente de este elemento y lo utiliza como fuente metabólica favoreciendo el crecimiento bacteriano (Azcona, 2016).

Tabla 15: Lista de reactivos con fuente de carbono maltosa.


Reactivos	Fuente de carbono: Maltosa
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	

Elaborado por: Barriga Luis

11.6.3 Masificación de enriquecimientos Vitamina C

La masificación se compone principalmente de fuente de carbono Vitamina C y demás reactivos. Actúa como nutriente hidrosoluble que ayuda a proteger y fortalecer las células de los microorganismos mejorando su enriquecimiento (Proaño Bastidas *et al.*, 2017)

Tabla 16: Lista de reactivos con fuente de carbono Vitamina C.

Reactivos	Fuente de carbono: Vitamina C
Fosfato mono potásico (KH_2PO_4)	
Cloruro de amonio (NH_4Cl)	
Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Solución de oligoelemento	
Sulfato de cinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	
Ácido bórico (H_3BO_3)	
Cloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	
Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	

Elaborado por: Barriga Luis

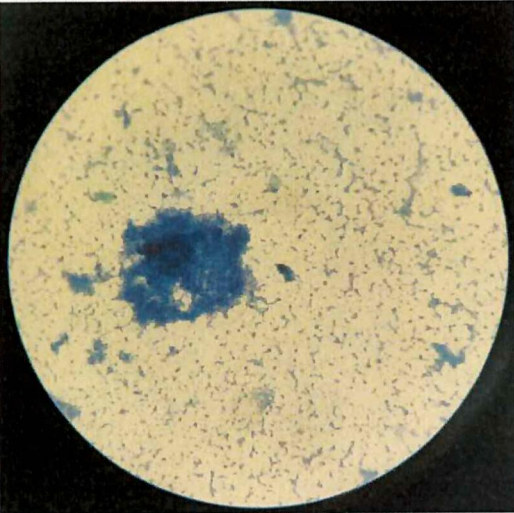
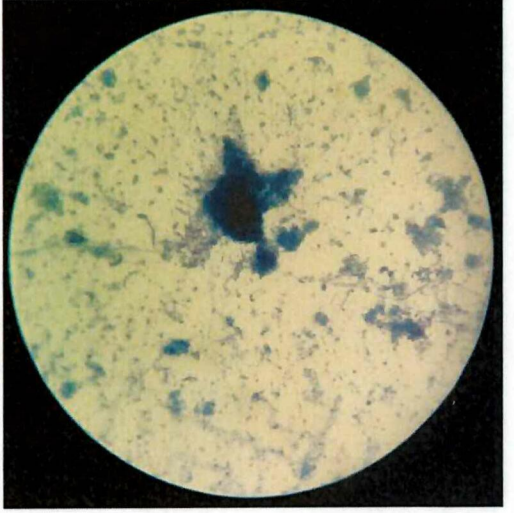
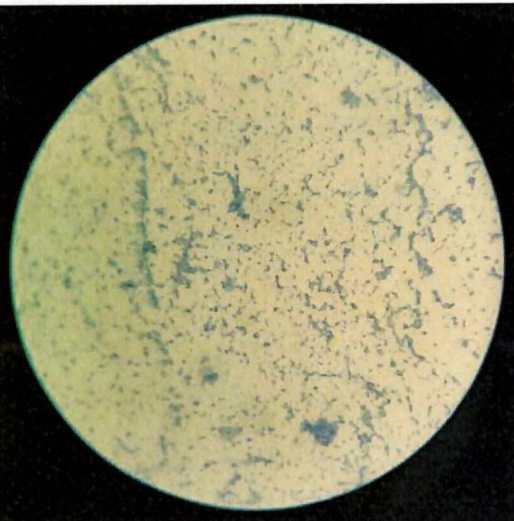
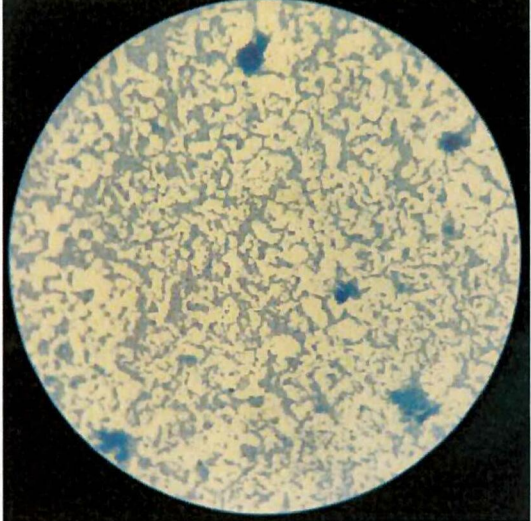


11.7 Identificación de células bacterianas con tinción simple y Gram

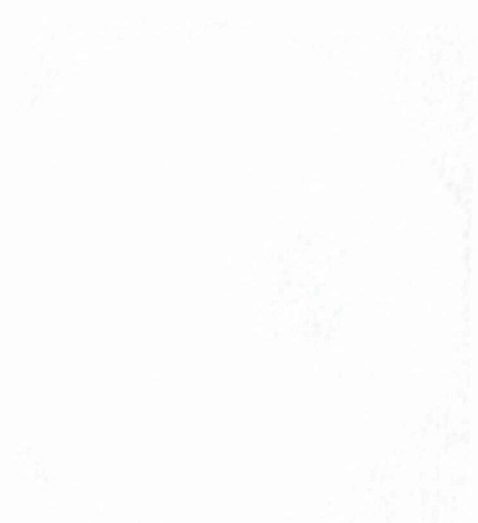
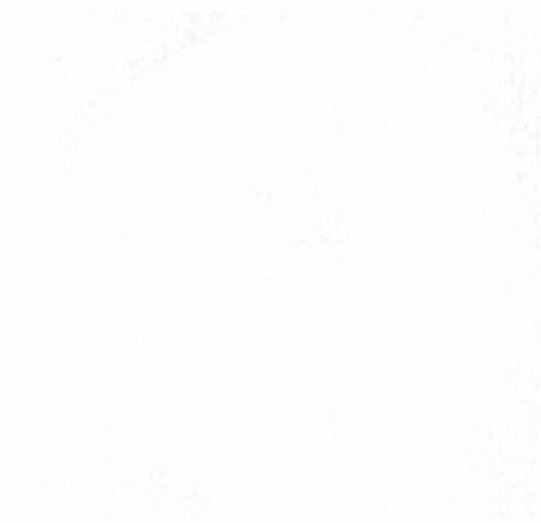
11.7.1 Tinción simple de bacterias enriquecidas con fructosa

En los resultados obtenidos de la tinción simple de muestras enriquecidas con fructosa se identificó grupos de bacterias Gram positivas (Estreptococos). De acuerdo al proceso de tinción se observó una moderada cantidad de bacterias de este tipo, siendo un excelente método en el enriquecimiento y reproducción celular.

Tabla 17: Identificación de bacterias con fructosa

Tinción de muestra 01 con fructosa	Tinción de muestra 02 con fructosa
	
Tinción de muestra 03 con fructosa	Tinción de muestra 04 con fructosa
	

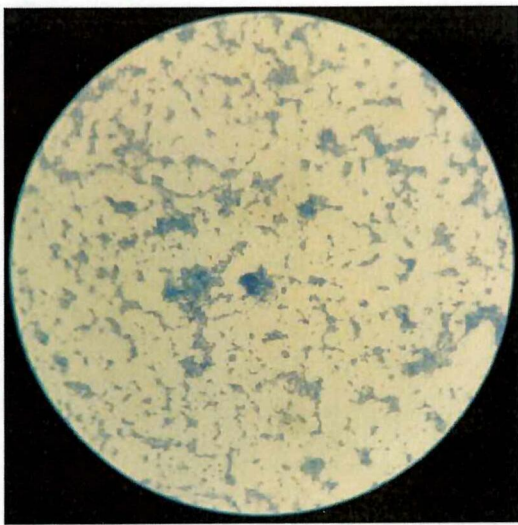
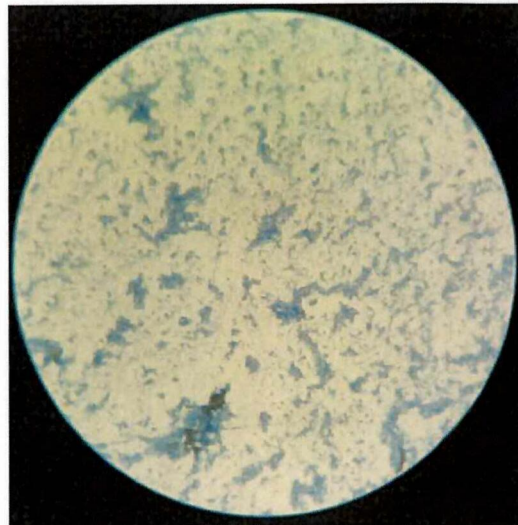
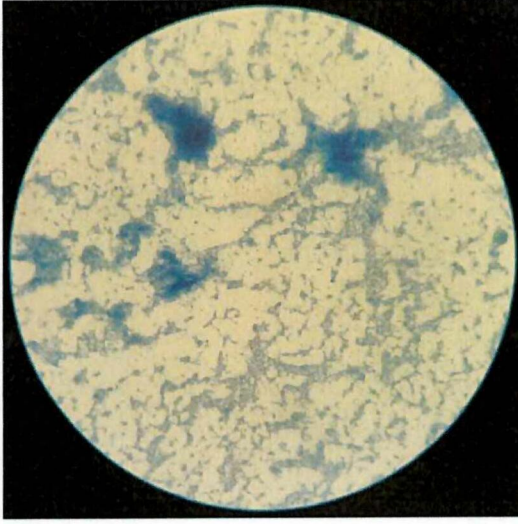
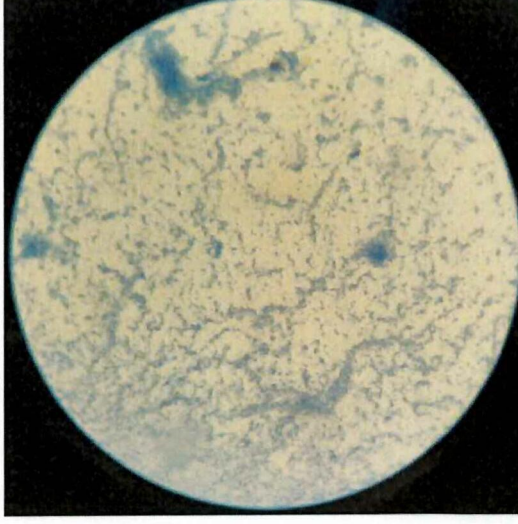
Elaborado por: Barriga Luis



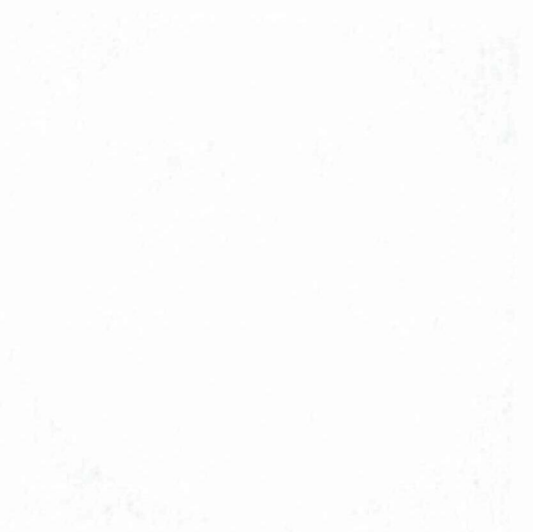
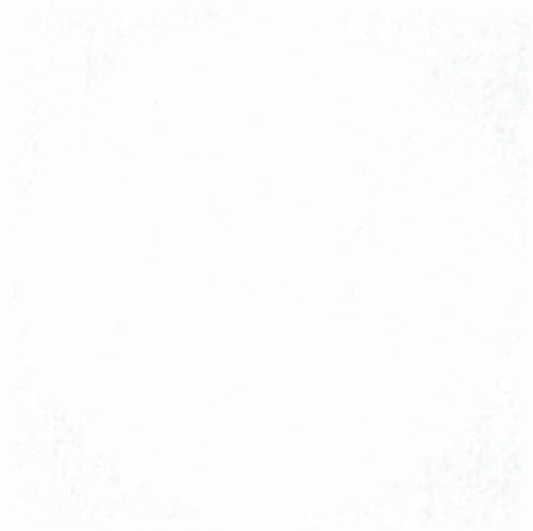
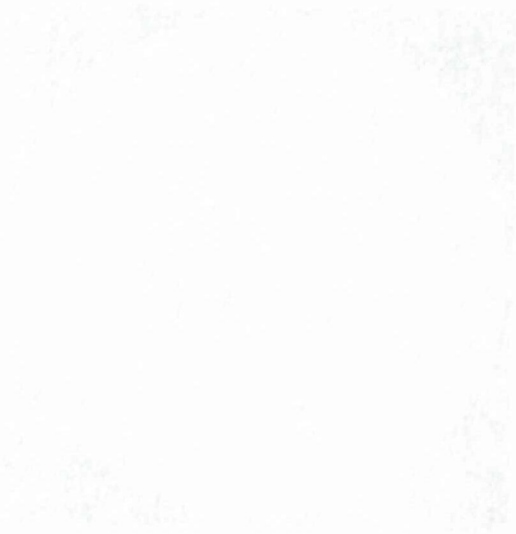
11.7.2 Tinción simple de bacterias enriquecidas con maltosa

En los resultados obtenidos de la tinción simple de muestras enriquecidas con maltosa se identificó grupos de bacterias Gram positivas (Estreptococos y Eatafilococos). De acuerdo al proceso de tinción se observó una gran cantidad de bacterias de este tipo, siendo un excelente método en el enriquecimiento y reproducción celular.

Tabla 18: Identificación de bacterias con maltosa

Tinción de muestra 01 con maltosa	Tinción de muestra 02 con maltosa
	
Tinción de muestra 03 con maltosa	Tinción de muestra 04 con maltosa
	

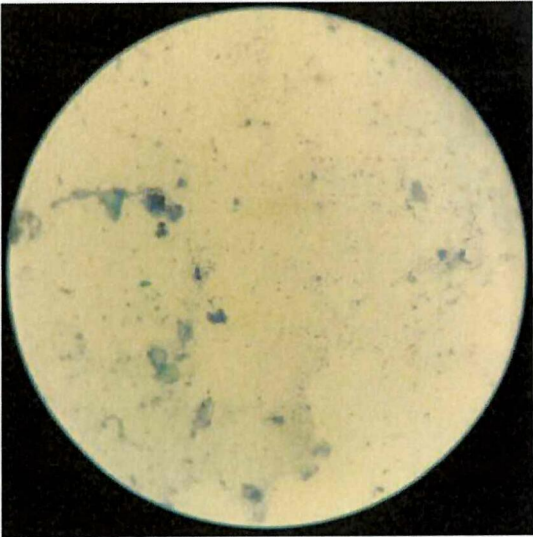
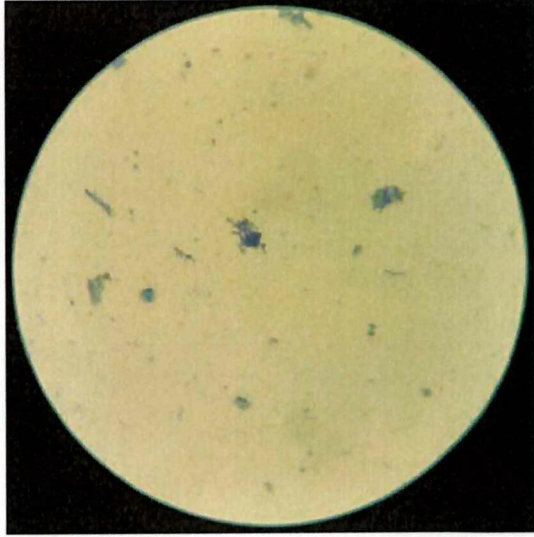
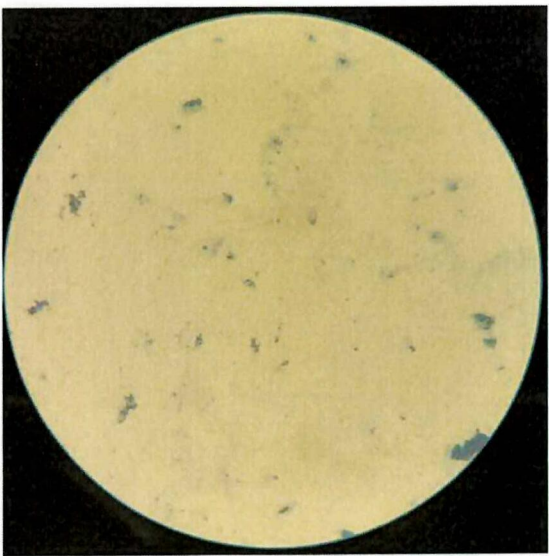
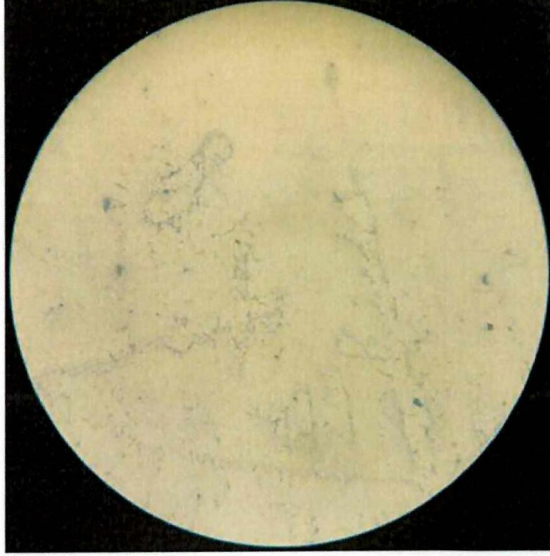
Elaborado por: Barriga Luis



11.7.3 Tinción simple de bacterias enriquecidas con vitamina C

En los resultados obtenidos en tinción simple de muestras enriquecidas con vitamina C, se evidenció una notable ausencia de microorganismos en respuesta al enriquecimiento. Dando a conocer que la Vitamina C empleada para este método no fue muy eficiente.

Tabla 19: Identificación de bacterias medio vitamina C

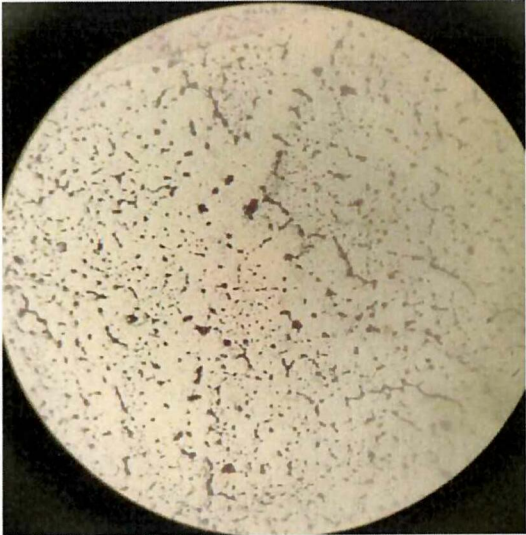
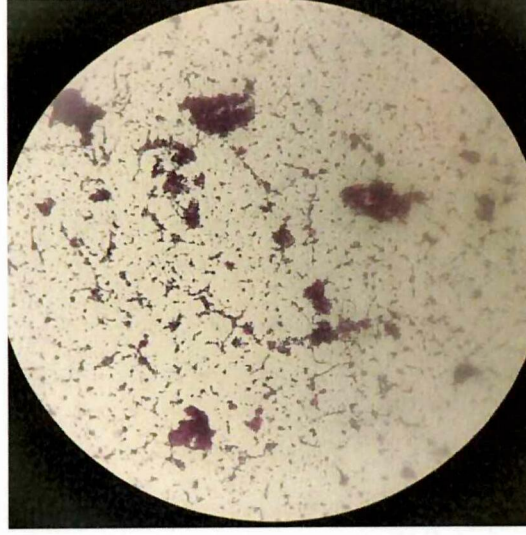
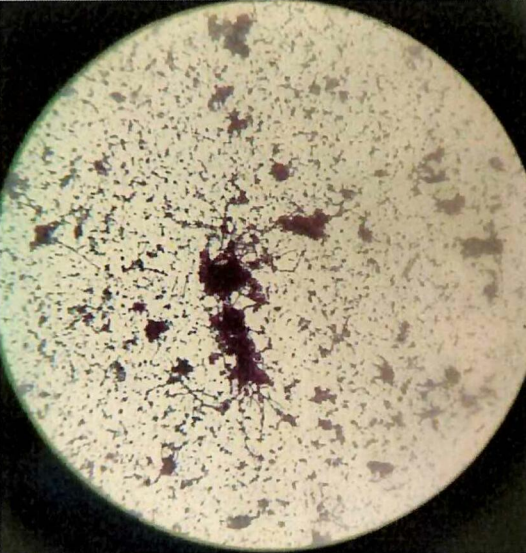
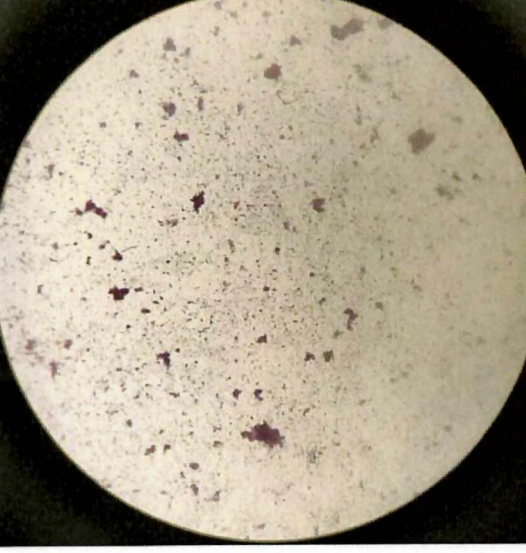
Tinción de muestra 01 con vitamina C	Tinción de muestra 02 con vitamina C
	
Tinción de muestra 03 con vitamina C	Tinción de muestra 04 con vitamina C
	

Elaborado por: Barriga Luis

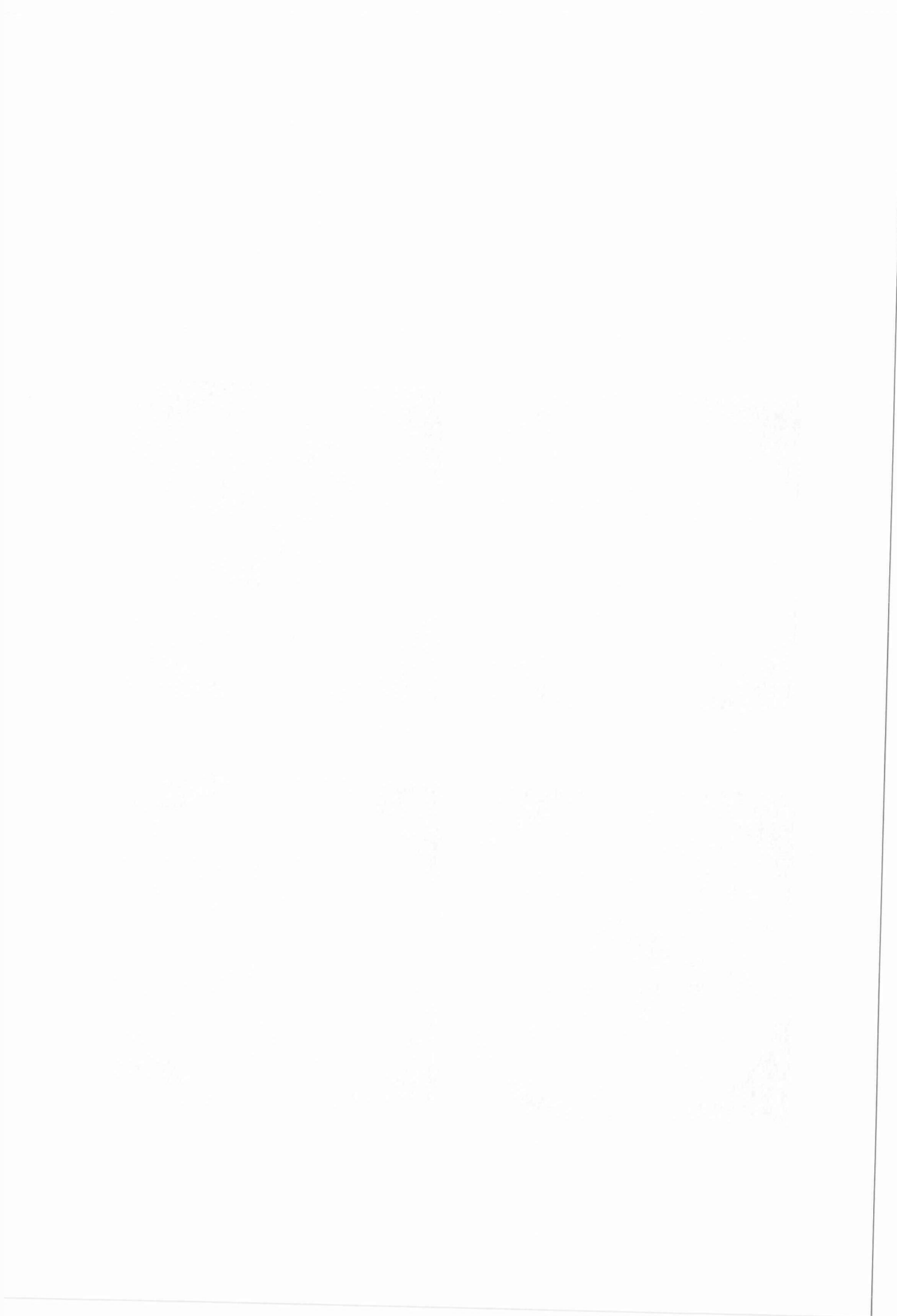
11.7.4 Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con fructosa

En los resultados obtenidos en tinción Gram de muestras enriquecidas con fructosa se identificó grupos de bacterias Gram Negativas (estafilococos). Que de acuerdo al proceso de tinción Gram se tiñen de color violeta en la que se puede observar una cantidad moderada de este tipo de bacterias, siendo un excelente método en el enriquecimiento y reproducción celular.

Tabla 20: Identificación de bacterias medio fructosa

Tinción Gram muestra 01 con fructosa	Tinción Gram muestra 02 con fructosa
	
Tinción Gram muestra 03 con fructosa	Tinción Gram muestra 04 con fructosa
	

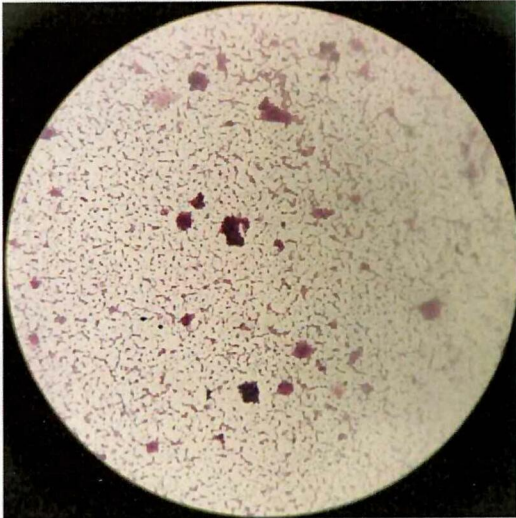
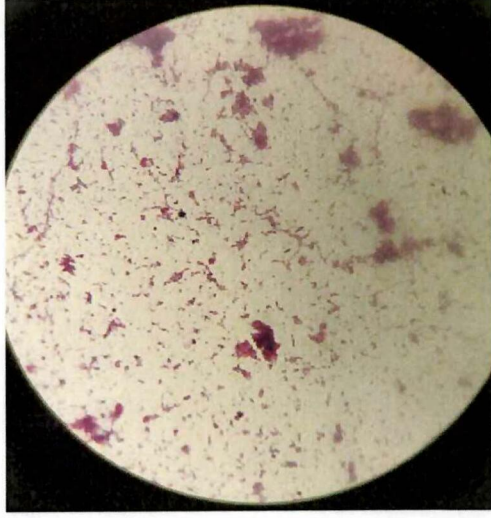
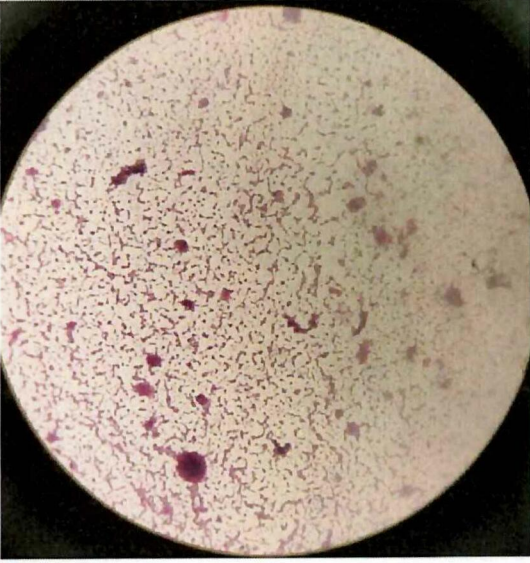
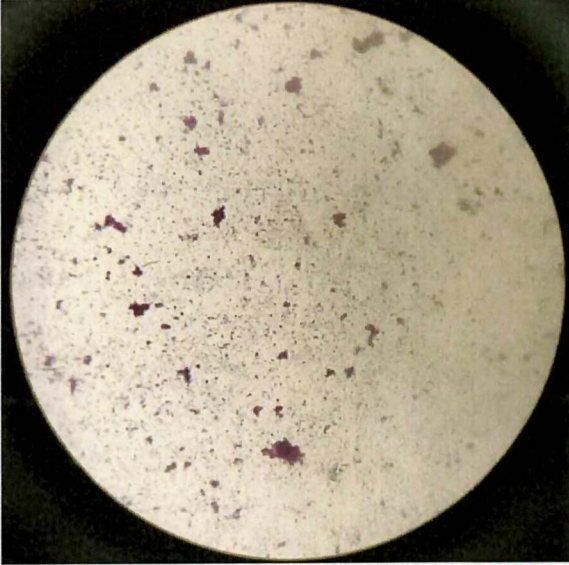
Elaborado por: Barriga Luis



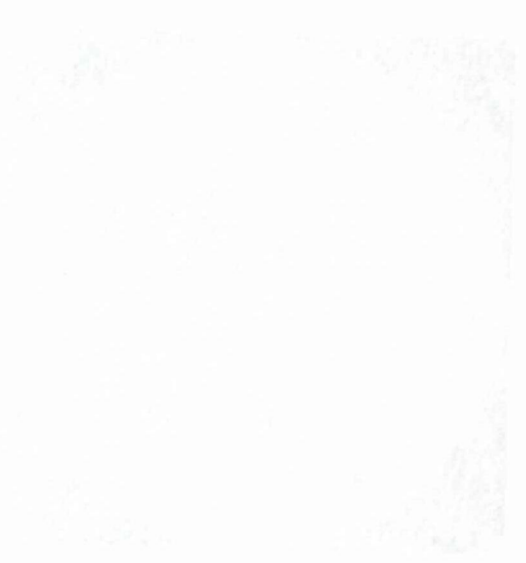
11.7.5 Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con maltosa

En los resultados obtenidos en tinción Gram de muestras enriquecidas con maltosa se identificó grupos de bacterias Gram Negativas (estafilococos). Que de acuerdo al proceso de tinción Gram se tiñen de color violeta en la que se puede observar una cantidad moderada de este tipo de bacterias, siendo un excelente método en el enriquecimiento y reproducción celular.

Tabla 21: Identificación de bacterias medio maltosa

Tinción Gram muestra 01 con maltosa	Tinción Gram muestra 02 con maltosa
	
Tinción Gram muestra 03 con maltosa	Tinción Gram muestra 04 con maltosa
	

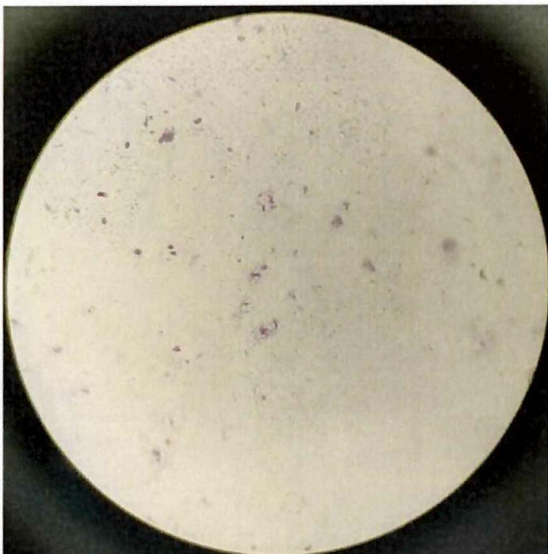



Elaborado por: Barriga Luis



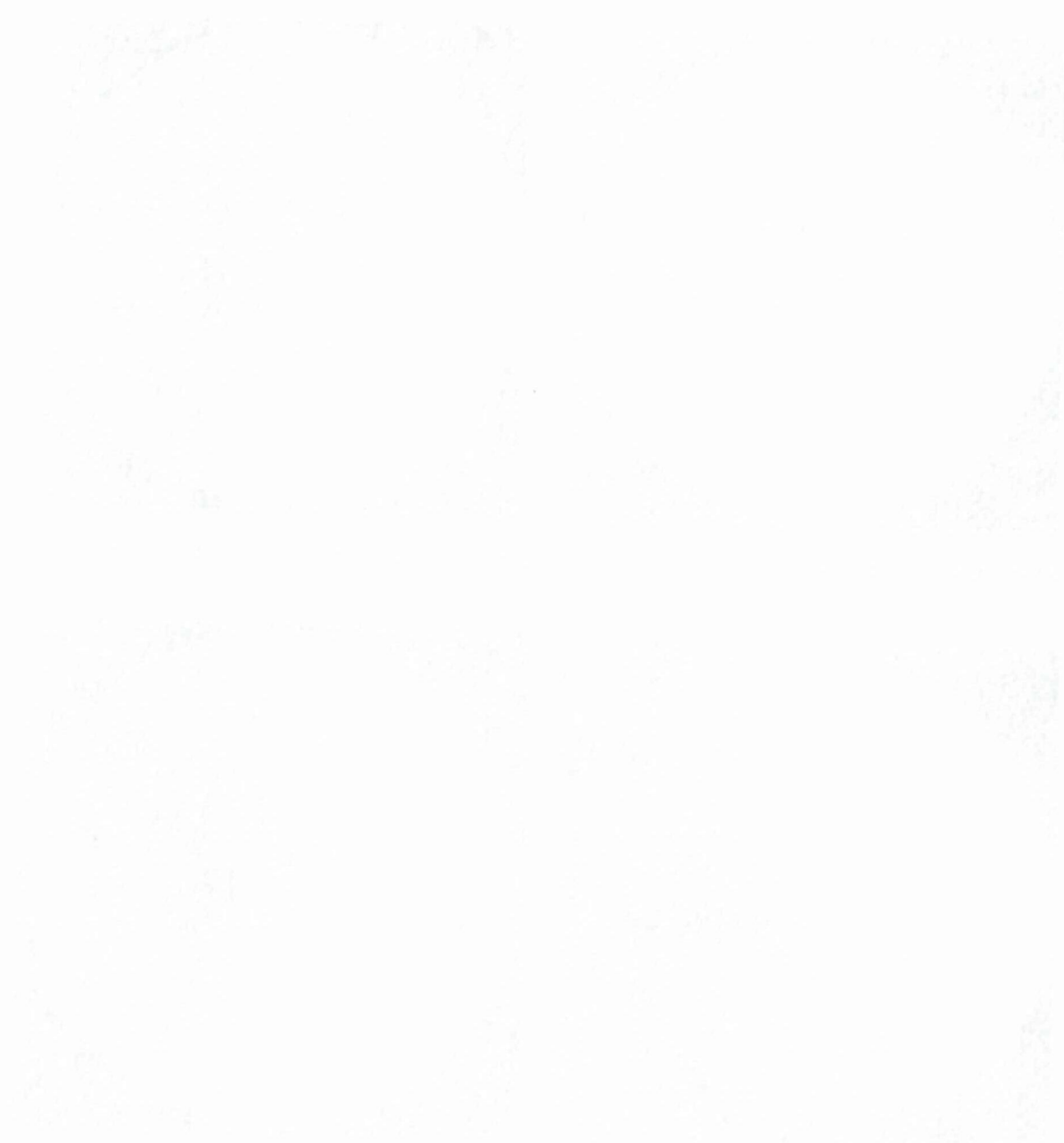
11.7.6 Resultados de tinción Gram de bacterias enriquecidas con vitamina c

En los resultados obtenidos en tinción Gram de muestras enriquecidas con vitamina c se identificó grupos de bacterias Gram Negativas (estafilococos). Que de acuerdo al proceso de tinción Gram se tiñen de color violeta en la que se puede observar una baja cantidad este tipo de bacterias, siendo un método poco eficiente en el enriquecimiento y reproducción celular.

Tabla 22: Identificación de bacterias medio vitamina c

Tinción Gram muestra 01 con vitamina c	Tinción Gram muestra 02 con vitamina c
	
Tinción Gram muestra 03 con vitamina c	Tinción Gram muestra 04 con vitamina c
	

Elaborado por: Barriga Luis

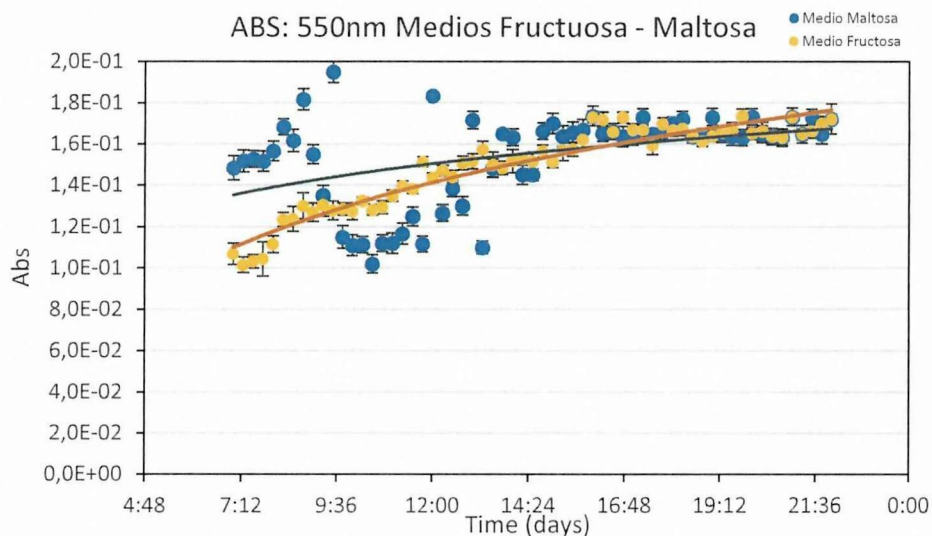


11.8 Conteo por absorbancia con fuentes de carbono

11.8.1 Mediciones de crecimiento celular

Los ensayos de crecimiento bacteriano en presencia de fructosa y maltosa a una densidad óptica de 550 nm en un periodo de 12 horas se obtuvieron valores altos de crecimiento como se observa en la Figura 28. Dichos valores representan la eficiencia de crecimiento de las muestras de bacterias tolerantes a arsénico.

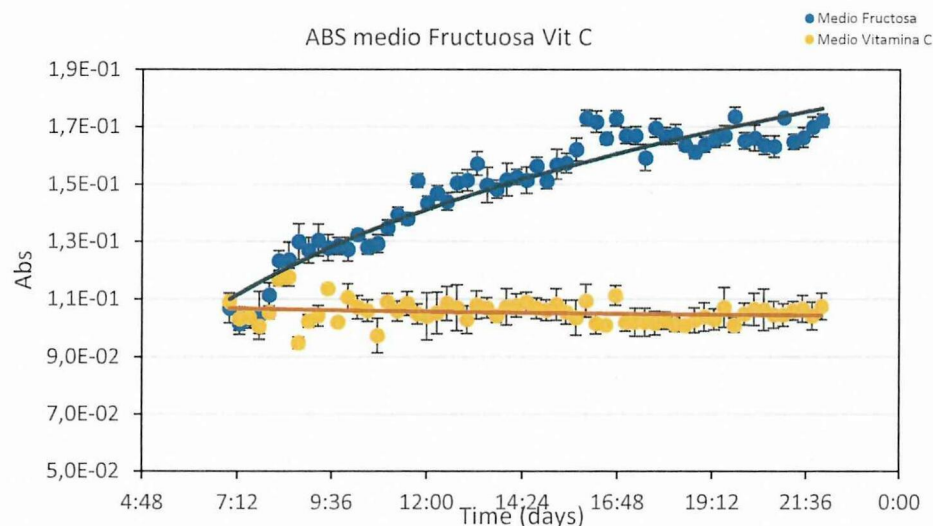
Figura 28: Crecimiento bacteriano con fructosa-maltosa

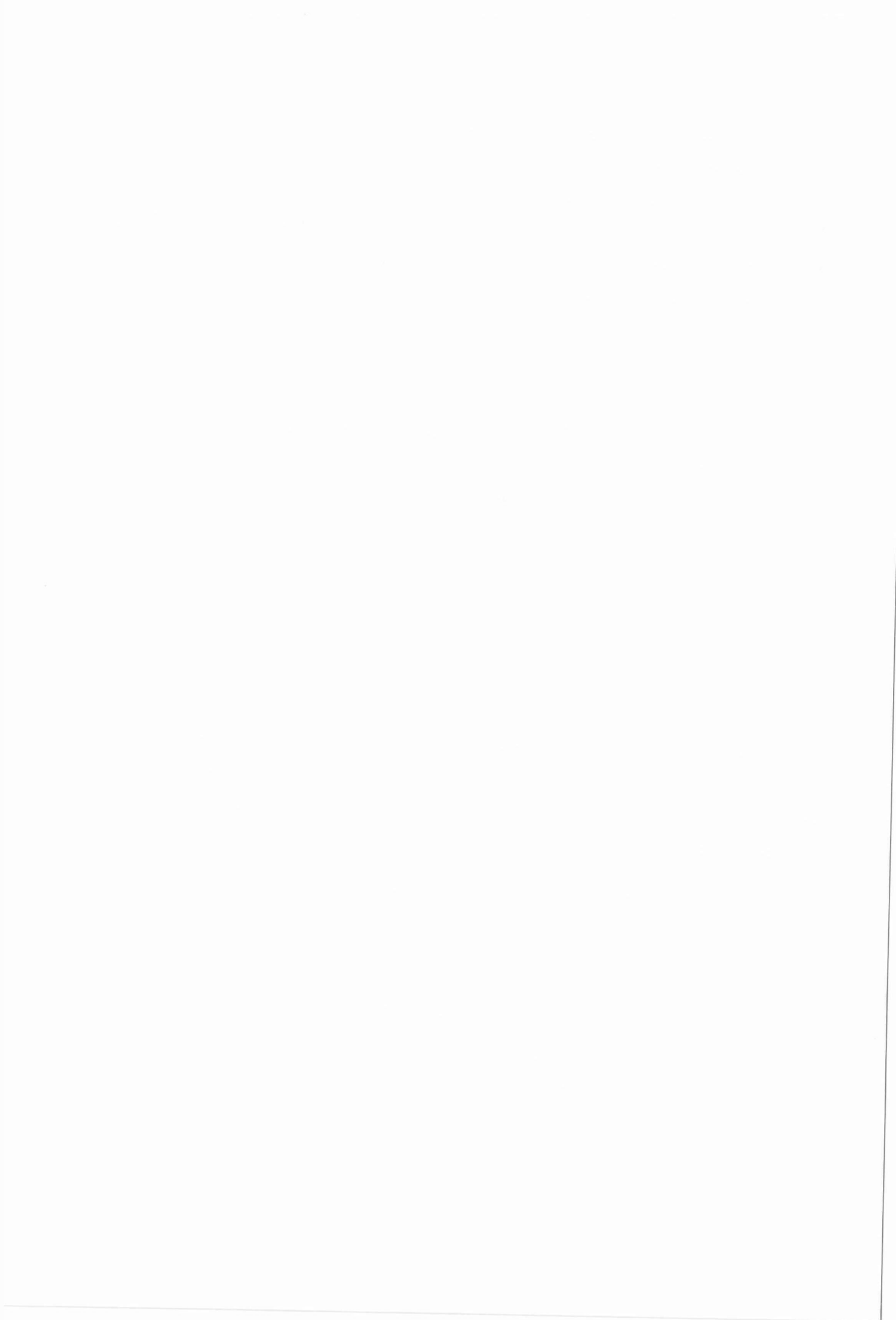


11.8.2 Mediciones de crecimiento celular

Los ensayos de crecimiento bacteriano en presencia de fructosa y vitamina C a una densidad óptica de 550 nm en un periodo de 12 horas se obtuvieron distintos valores de crecimiento como se observa en la Figura 29. Dichos valores representan la eficiencia de crecimiento con fructosa, en relación a la vitamina C que tiene un déficit notable.

Figura 29: Crecimiento bacteriano con fructosa-vitamina C

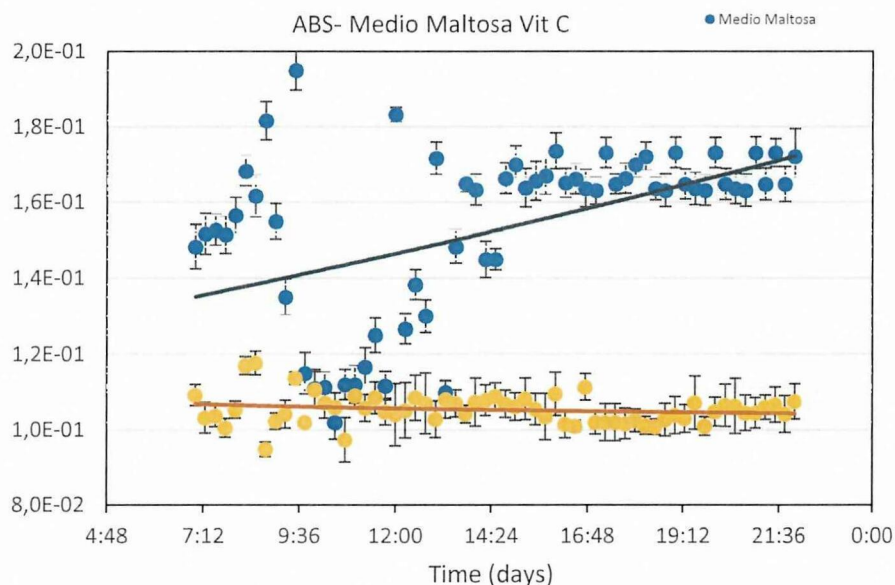




11.8.3 Mediciones de crecimiento celular

Los ensayos de crecimiento bacteriano en presencia de maltosa y vitamina C a una densidad óptica de 550 nm en un periodo de 12 horas se obtuvieron distintos valores de crecimiento como se observa en la Figura 30. Dichos valores representan la alta eficiencia de crecimiento con maltosa, en relación a la vitamina C que tiene un déficit notable.

Figura 30: Crecimiento bacteriano con maltosa-vitamina C



11.9 Cuantificación de conteo de células en cámara de Neubauer

11.9.1 Cuantificación de células enriquecidas con fructosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de fructosa del punto 1 se encontró los siguientes resultados:

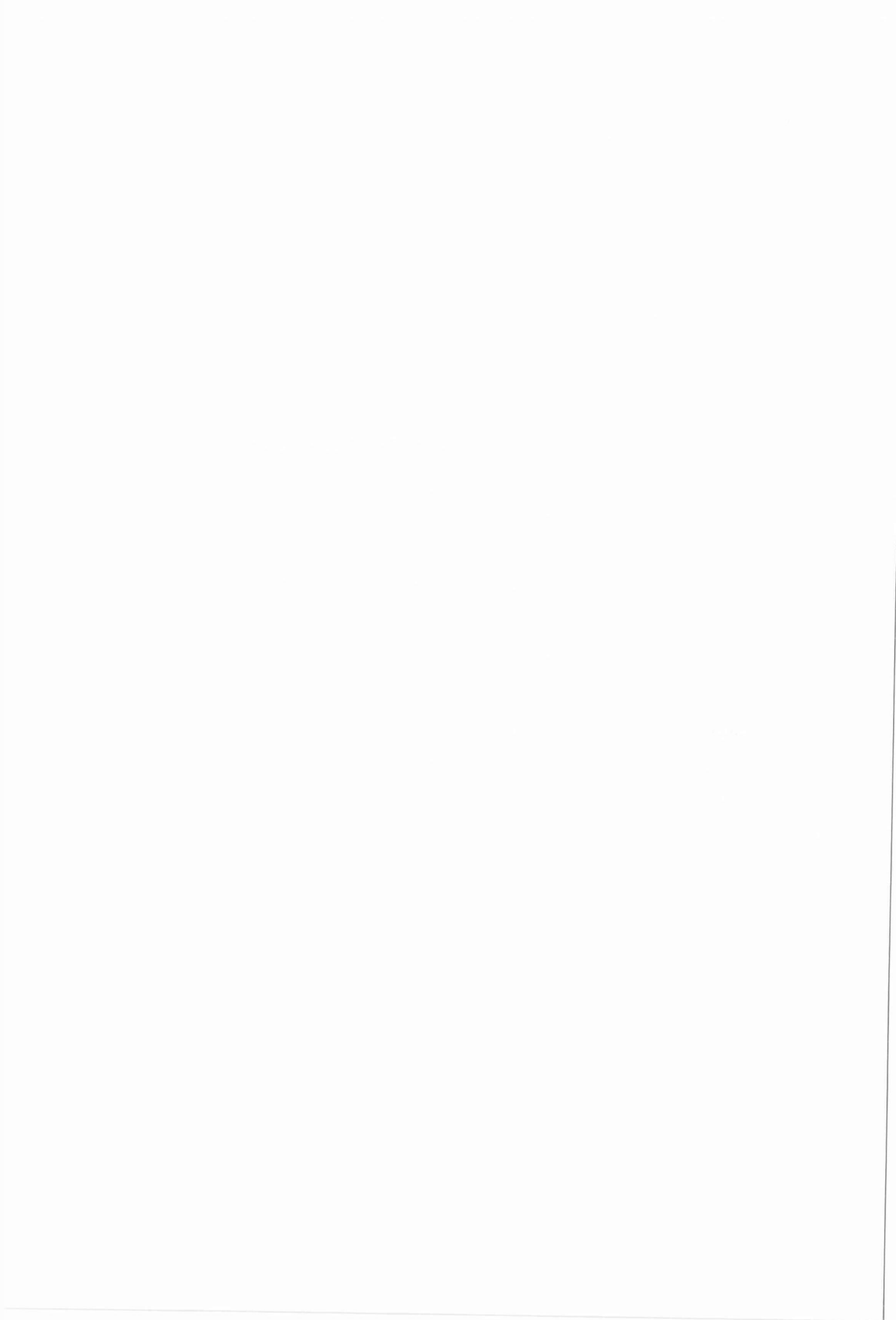
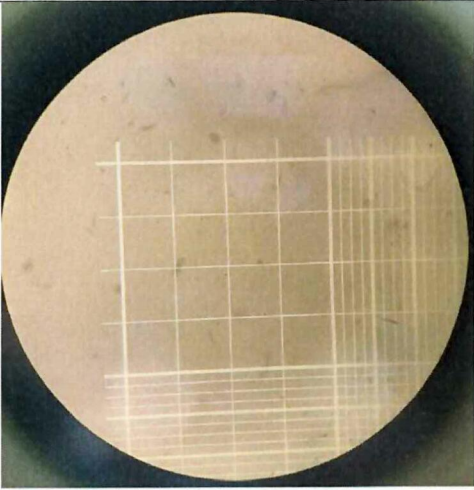


Tabla 23: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 1

Conteo de células de muestra con fructosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="818 423 1254 777"> <tr> <td>102</td> <td></td> <td>92</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>107</td> <td></td> <td>98</td> </tr> </table>	102		92				107		98
102		92								
107		98								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:102 cuadro 2:92 cuadro 3:107 cuadro 4:98 total :399</p> $\text{Promedio células} = \frac{399 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{99.8 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{99.8 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 9880000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

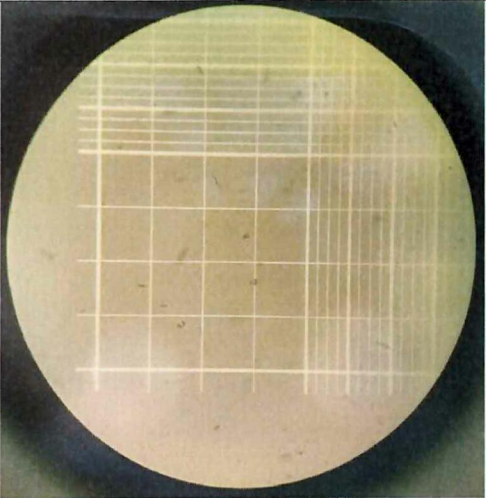
El resultado de 9880000 células/mL de la muestra del punto 1 enriquecida con fructosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.

11.9.2 Cuantificación de células enriquecidas con fructosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de fructosa del punto 2 se encontró los siguientes resultados:



Tabla 24: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 2

Conteo de células de muestra con fructosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="815 421 1251 775"> <tr> <td>51</td> <td></td> <td>48</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>39</td> <td></td> <td>36</td> </tr> </table>	51		48				39		36
51		48								
39		36								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:51 cuadro 2:48 cuadro 3:39 cuadro 4:36 Total :174</p> $\text{Promedio células} = \frac{174 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{43.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{43.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 4350000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

El resultado de 4350000 células/mL de la muestra del punto 2 enriquecida con fructosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.

11.9.3 Cuantificación de células enriquecidas con fructosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de fructosa del punto 3 se encontró los siguientes resultados:

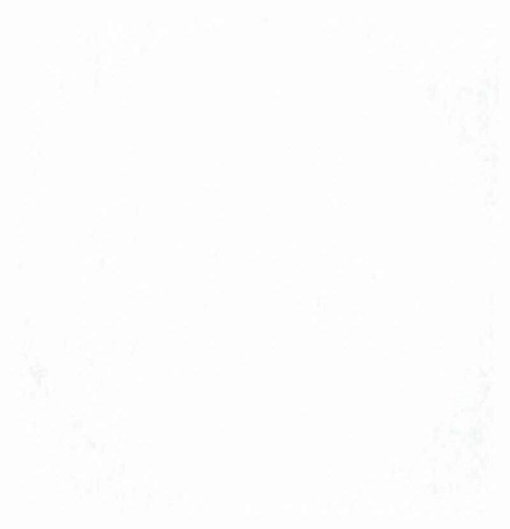
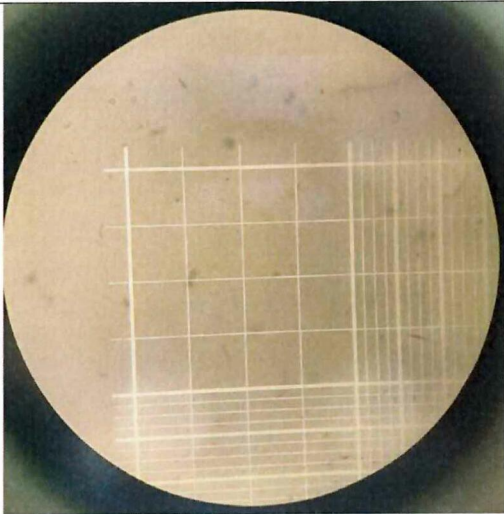


Tabla 25: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 3

Conteo de células de muestra con fructosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="813 421 1252 772"> <tr> <td>26</td> <td></td> <td>34</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>28</td> <td></td> <td>18</td> </tr> </table>	26		34				28		18
26		34								
28		18								
<p>dilución= 10/100μL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:26 cuadro 2:34 cuadro 3:28 cuadro 4:18 Total :106</p> $\text{Promedio células} = \frac{106 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{26.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{26.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 2650000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

El resultado de 2650000 células/mL de la muestra del punto 3 enriquecida con fructosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.

11.9.4 Cuantificación de células enriquecidas con fructosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de fructosa del punto 4 se encontró los siguientes resultados:

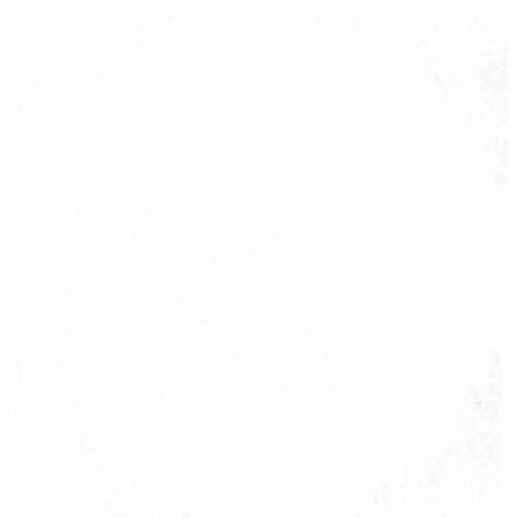
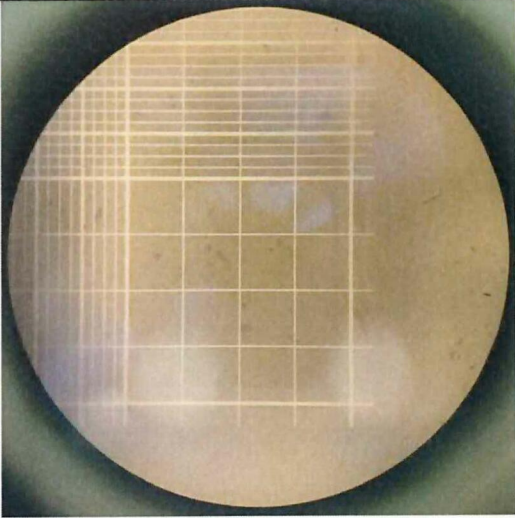


Tabla 26: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra fructosa punto 4

Conteo de células de muestra con fructosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="810 427 1246 779"> <tr> <td>116</td> <td></td> <td>119</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>121</td> <td></td> <td>108</td> </tr> </table>	116		119				121		108
116		119								
121		108								
<p>dilución= 10/100μL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:116 cuadro 2:119 cuadro 3:121 cuadro 4:108 Total :464</p> $\text{Promedio células} = \frac{464 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{116 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{116 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 11600000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

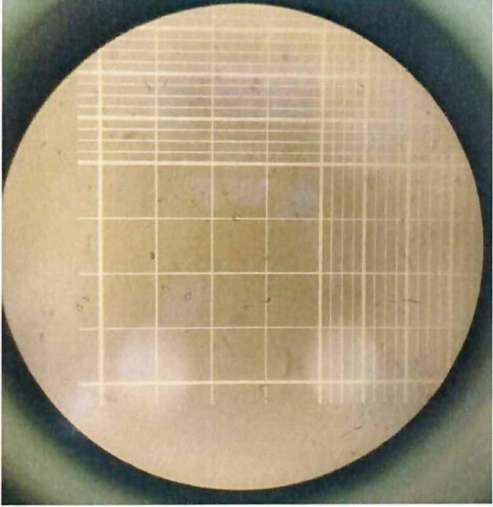
El resultado de 11600000 células/mL de la muestra del punto 4 enriquecida con fructosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.

11.9.5 Cuantificación de células enriquecidas con maltosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de maltosa del punto 1 se encontró los siguientes resultados:

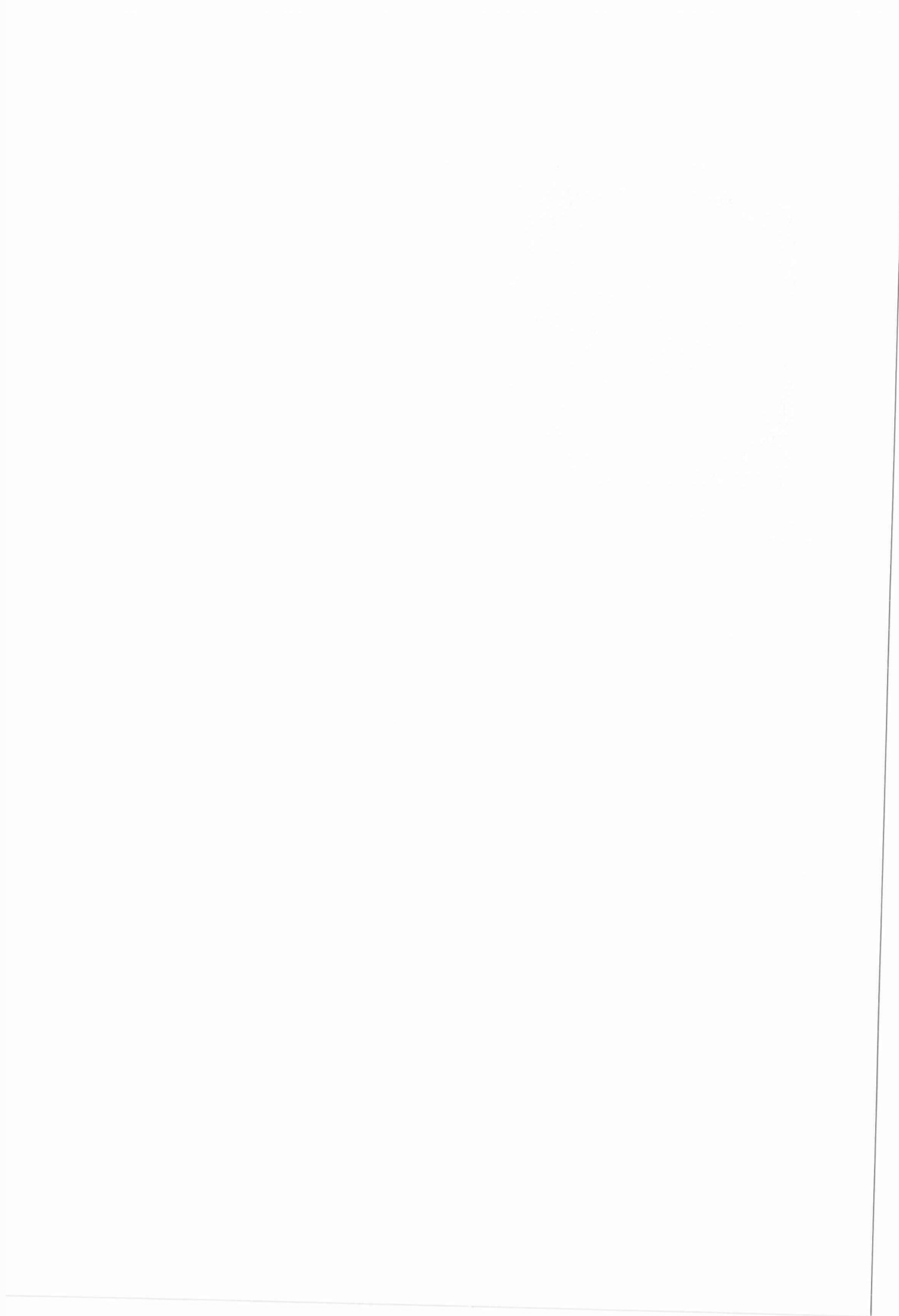


Tabla 27: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 1

Conteo de células de muestra con maltosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="823 421 1259 772"> <tr> <td>62</td> <td></td> <td>41</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>71</td> <td></td> <td>75</td> </tr> </table>	62		41				71		75
62		41								
71		75								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10</p> <p>cuadro 1:62 cuadro 2:41 cuadro 3:71 cuadro 4:75 Total :249</p> $\text{Promedio células} = \frac{249 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{62.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{62.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 6230000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

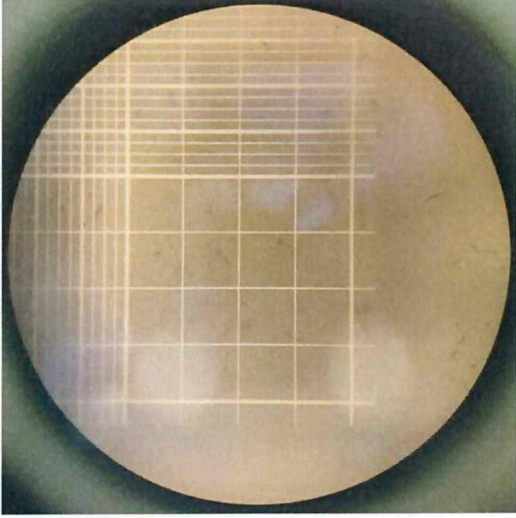
El resultado de 62300000 células/mL de la muestra del punto 1 enriquecida con maltosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.



11.9.6 Cuantificación de células enriquecidas con maltosa

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de maltosa del punto 2 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 28: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 2

Conteo de células de muestra con maltosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="820 667 1256 1019"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">18</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">15</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">14</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">14</td> </tr> </table>	18		15				14		14
18		15								
14		14								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:18 cuadro 2:15 cuadro 3:14 cuadro 4:14 Total :61</p> $\text{Promedio células} = \frac{61 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{15.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{15.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 1530000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

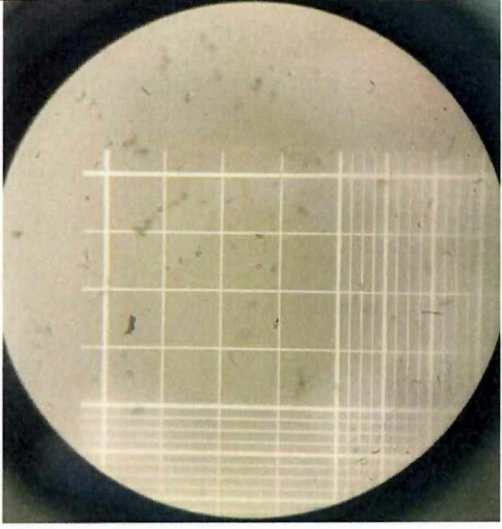
El resultado de 1530000 células/mL de la muestra del punto 2 enriquecida con maltosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.

[Faint, illegible text or markings, possibly bleed-through from the reverse side of the page.]

11.9.7 Cuantificación de células enriquecidas con maltosa

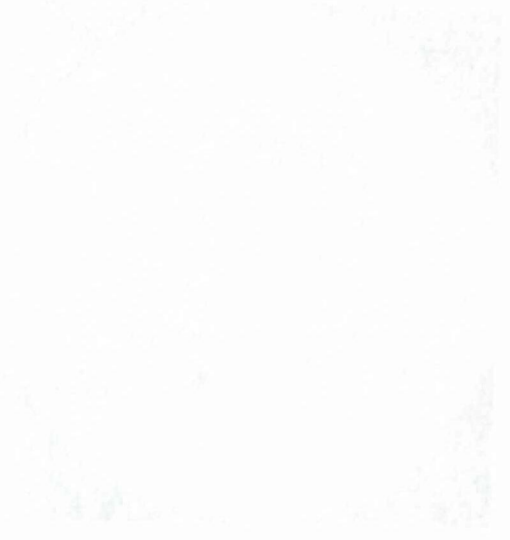
El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de maltosa del punto 3 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 29: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 3

Conteo de células de muestra con maltosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="821 660 1257 1019"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">61</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">52</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">64</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">67</td> </tr> </table>	61		52				64		67
61		52								
64		67								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:61 cuadro 2:52 cuadro 3:64 cuadro 4:67 Total :244</p> $\text{Promedio células} = \frac{244 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{61 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{61 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 6100000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

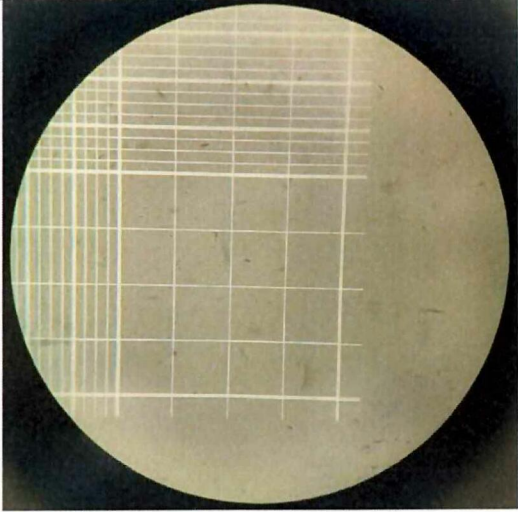
El resultado de 6100000 células/mL de la muestra del punto 3 enriquecida con maltosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.



11.9.8 Cuantificación de células enriquecidas con maltosa

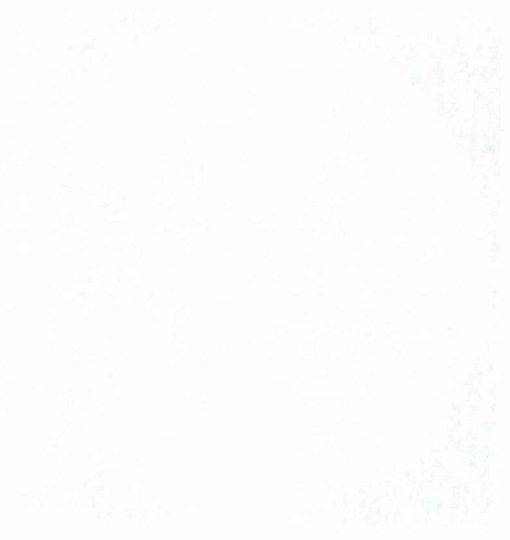
El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de maltosa del punto 4 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 30: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra maltosa punto 4

Conteo de células de muestra con maltosa	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="815 663 1252 1014"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">97</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">87</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">77</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">92</td> </tr> </table>	97		87				77		92
97		87								
77		92								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:97 cuadro 2:87 cuadro 3:77 cuadro 4:92 Total :353</p> $\text{Promedio células} = \frac{353 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{88.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{88.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1\text{mm}^3} * \frac{1000\text{mm}^3}{1\text{mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total}=8830000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

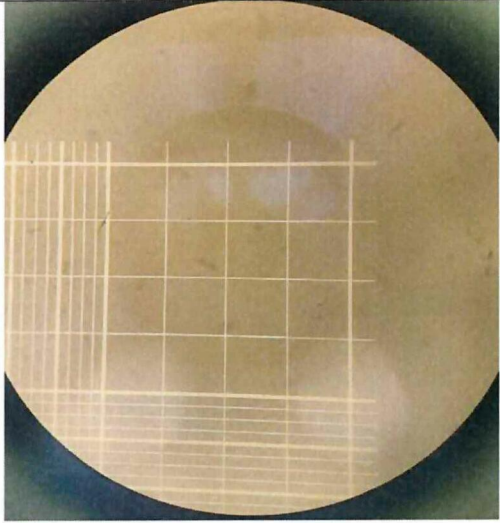
El resultado de 8830000 células/mL de la muestra del punto 4 enriquecida con maltosa indica que supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando el favorable enriquecimiento.



11.9.9 Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de vitamina c del punto 1 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 31: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 1

Conteo celular de muestra con vitamina c	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="815 663 1251 1016"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">2</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">3</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">4</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">4</td> </tr> </table>	2		3				4		4
2		3								
4		4								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:2 cuadro 2:3 cuadro 3:4 cuadro 4:4 Total :13</p> $\text{Promedio células} = \frac{13 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{3.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{3.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 330000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

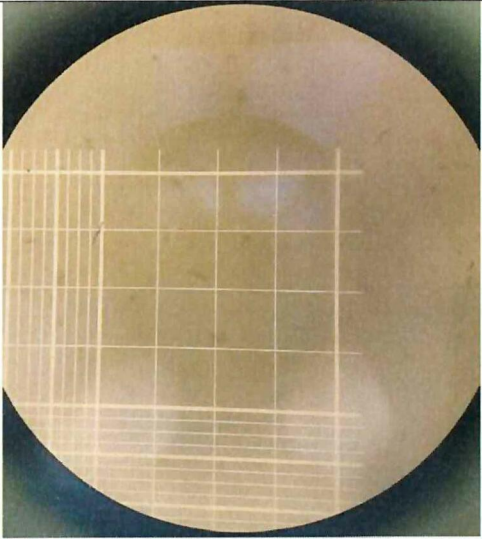
El resultado de 330000 células/mL de la muestra del punto 1 enriquecida con vitamina c indica que no supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando que el enriquecimiento con esta fuente de carbono fue deficiente.



11.9.10 Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de vitamina c del punto 2 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 32: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 2

Conteo celular de muestra con vitamina c	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="813 667 1251 1021"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">5</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">5</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">2</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">2</td> </tr> </table>	5		5				2		2
5		5								
2		2								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10</p> <p>cuadro 1:5 cuadro 2:5 cuadro 3:2 cuadro 4:2 Total :14</p> $\text{Promedio células} = \frac{14 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{3.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{3.5 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 350000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

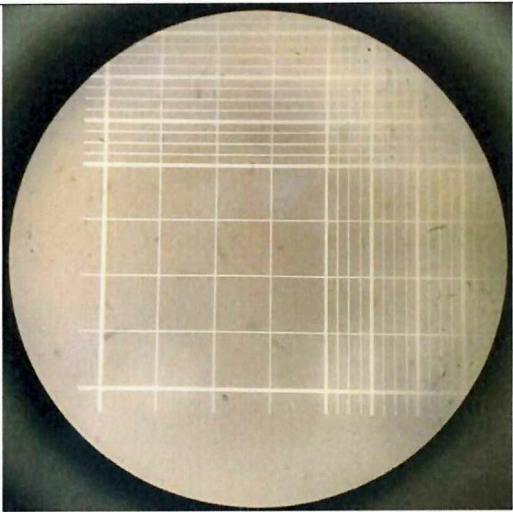
El resultado de 350000 células/mL de la muestra del punto 2 enriquecida con vitamina c indica que no supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando que el enriquecimiento con esta fuente de carbono fue deficiente.

[Faint, illegible text or markings, possibly bleed-through from the reverse side of the page.]

11.9.11 Cuantificación de células enriquecida con vitamina c

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de vitamina c del punto 3 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 33: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 3

Conteo celular de muestra con vitamina c	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="818 658 1256 1014"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">3</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">4</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">5</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">4</td> </tr> </table>	3		4				5		4
3		4								
5		4								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10</p> <p>cuadro 1:3 cuadro 2:4 cuadro 3:5 cuadro 4:4 Total :16</p> $\text{Promedio células} = \frac{16 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{4 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{4 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total}=400000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

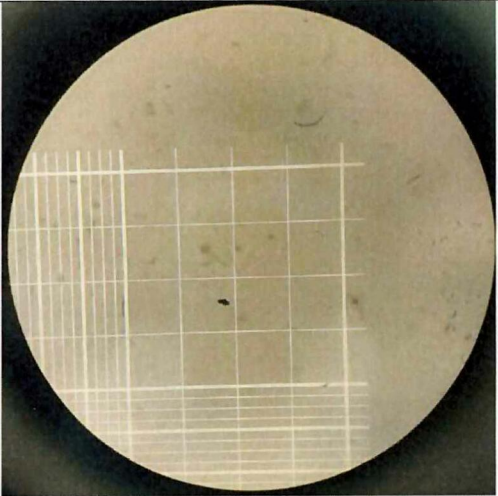
El resultado de 400000 células/mL de la muestra del punto 3 enriquecida con vitamina c indica que no supera el mínimo establecido de 1 millón según (Bastidas, 2011), mostrando que el enriquecimiento con esta fuente de carbono fue deficiente.

[Faint, illegible text covering the majority of the page, possibly bleed-through from the reverse side.]

11.9.12 Cuantificación de células enriquecidas con vitamina c

El resultado de conteo de células en cámara de Neubauer se realizó a fin de determinar el número de células reproducidas a partir del enriquecimiento. Es así que en el conteo realizado a la muestra de vitamina c del punto 4 se encontró los siguientes resultados:

Tabla 34: Cálculo de conteo celular en cámara de Neubauer muestra vitamina c punto 4

Conteo celular de muestra con vitamina c	Total, de conteo celular por cuadro									
	<table border="1" data-bbox="820 663 1257 1016"> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">3</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">3</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="background-color: #cccccc;">4</td> <td></td> <td style="background-color: #cccccc;">7</td> </tr> </table>	3		3				4		7
3		3								
4		7								
<p>dilución= 10/100µL=1/10; factor de dilución=10 cuadro 1:3 cuadro 2:3 cuadro 3:4 cuadro 4:7 Total :17</p> $\text{Promedio células} = \frac{17 \text{ células}}{4 \text{ cuadros}} = \frac{4.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}}$										
$\frac{4.3 \text{ células}}{1 \text{ cuadro}} * \frac{1 \text{ cuadro} * 1000 \text{ mm}^3}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1 \text{ mL}(\text{cm})^3}{1 \text{ mL}(\text{cm})^3} * 10 = \text{Total} = 430000 \text{ células/mL}$										

Elaborado por: Barriga Luis

El resultado de 430000 células/mL de la muestra del punto 4 enriquecida con vitamina c indica que no supera el mínimo establecido de 1 millón según Bastidas (2011), mostrando que el enriquecimiento con esta fuente de carbono fue deficiente.

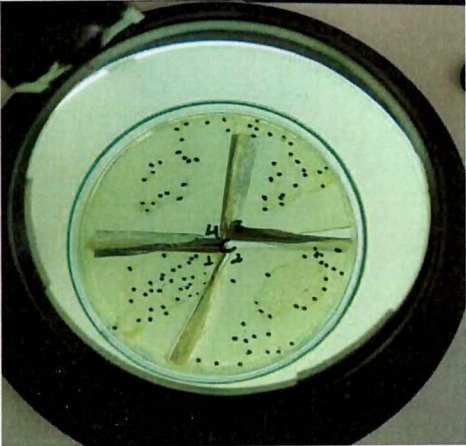
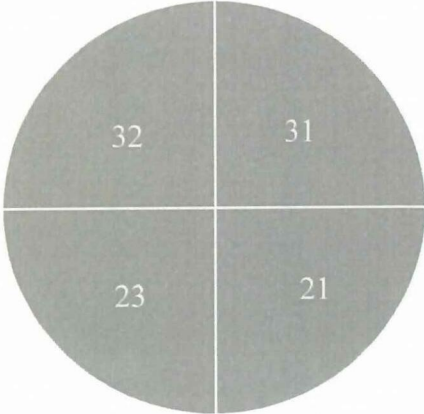


11.10 Cuantificación resultados de conteo de colonias

11.10.1 Cuantificación de colonias de medios con vitamina c

Los resultados obtenidos del conteo de colonias en muestras con vitamina c se evidenciaron pocas cantidades de colonias por punto de muestreo. Arana (2010) afirma que el número de colonias ideal de un cultivo es superior a los 10000 UFC/mL. Es así que la cuantificación de colonias muestra un resultado superior al mencionado para el conteo de colonias de muestras enriquecidas.

Tabla 35: Colonias con vitamina c

Formación de colonias con vitamina c	Total, de colonias por punto de muestreo
	
<p>Numero de colonias P01= 32</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{32 \times 1000}{1} = 32000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P02= 31</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{31 \times 1000}{1} = 31000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P03= 21</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{21 \times 1000}{1} = 21000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P04= 23</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{23 \times 1000}{1} = 23000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	

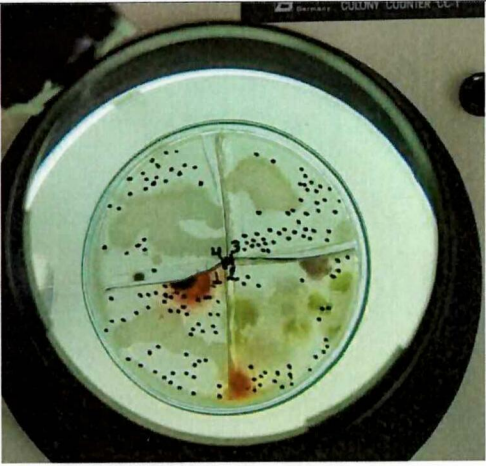
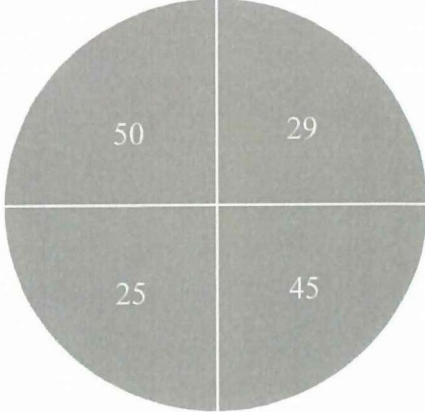
Elaborado por: Barriga Luis



11.10.2 Cuantificación de colonias de medios con maltosa

Los resultados obtenidos del conteo de colonias en muestras con maltosa se evidenciaron cantidades moderadas de colonias por punto de muestreo. Arana et al., (2010) afirma que el número de colonias ideal de un cultivo es superior a los 10000 UFC/mL. Es así que la cuantificación de colonias muestra un resultado superior al mencionado para el conteo de colonias de muestras enriquecidas.

Tabla 36: Colonias con maltosa

Formación de colonias con maltosa	Total, de colonias por punto de muestreo
	
<p>Numero de colonias P01= 50</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{50 \times 1000}{1} = 50000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P02= 29</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{29 \times 1000}{1} = 29000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P03= 45</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{45 \times 1000}{1} = 45000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P04= 25</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{25 \times 1000}{1} = 25000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	

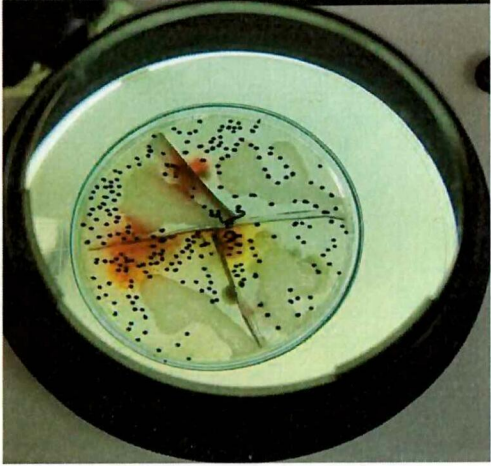
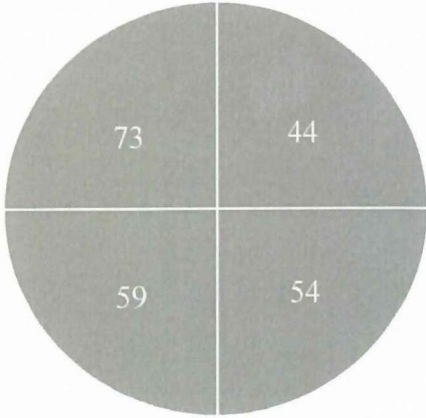
Elaborado por: Barriga Luis



11.10.3 Cuantificación de colonias de medios con fructosa

Los resultados obtenidos del conteo de colonias en muestras con fructosa se evidenciaron cantidades moderadas de colonias por punto de muestreo. Arana et al (2010) afirma que el número de colonias ideal de un cultivo es superior a los 10000 UFC/mL. Es así que la cuantificación de colonias muestra un resultado superior al mencionado para el conteo de colonias de las muestras enriquecidas con fructosa.

Tabla 37: Colonias con fructosa

Formación de colonias con fructosa	Total, de colonias por punto de muestreo
	
<p>Numero de colonias P01= 73</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{73 \times 1000}{1} = 73000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P02= 44</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{44 \times 1000}{1} = 40000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P03= 54</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{54 \times 1000}{1} = 54000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	
<p>Numero de colonias P04= 59</p> <p>Factor de dilución= $1000 \text{ UFC/mL} = \frac{59 \times 1000}{1} = 59000 \text{ UFC/mL}$</p> <p>Volumen de siembra= 1mL</p>	

Elaborado por: Barriga Luis

1



11.11 Resultados de aislamiento bacteriano

11.11.1 Aislamiento de bacterias enriquecidas con fructosa

El proceso de aislamiento de bacterias del cultivo madre enriquecidas con fuente de carbono fructosa de cuatro puntos de muestreo diferentes permitió crear un cultivo puro de bacterias tolerantes a arsénico. Se determinó el crecimiento moderado de bacterias a través de la metodología de aislamiento por estrías.

Figura 31: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico



Elaborado por: Barriga Luis

11.11.2 Aislamiento de bacterias enriquecidas con maltosa

El proceso de aislamiento de bacterias del cultivo madre enriquecidas con fuente de carbono maltosa de los cuatro puntos de muestreo diferentes permitió crear un cultivo puro de bacterias tolerantes a arsénico. Se determinó el crecimiento moderado de bacterias a través de la metodología de aislamiento por estrías.

Figura 32: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico



Elaborado por: Barriga Luis

1

11.11.3 Asilamiento de bacterias enriquecidas con vitamina c

El proceso de aislamiento de bacterias del cultivo madre enriquecidas con fuente de carbono vitamina c de los cuatro puntos de muestreo diferentes permitió crear un cultivo puro de bacterias tolerantes a arsénico. Se determinó un alto crecimiento de bacterias a través de la metodología de aislamiento por estrías.

Figura 33: Cultivo puro de bacterias tolerantes al arsénico



Elaborado por: Barriga Luis

Los resultados obtenidos en la aplicación de la metodología a enriquecimientos bacterianos, nos muestra una capacidad de asimilación de nutrientes y fuente de carbono muy eficiente puesto que todas las muestras mostraron resultados positivos que se pudieron determinar con la presencia de células y colonias que se visualizaron con la ayuda de microscopio y a momento de realizar el aislamiento, mostrando un precedente favorable en el enriquecimiento que cumple con los objetivos antes propuestos y con la expectativas del estudio.

12 IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

12.1 Social

En la parroquia de Toacaso, en el efluente hídrico de la Quebrada Talahuachana se realizó el presente estudio, el cual determinó el valor del compuesto inorgánico Arsénico (As) el cual sobrepasa los límites máximos permisibles según la legislación legal vigente de nuestro país. Los moradores de Toacaso podrán utilizar este documento con un fin informativo, además podrán poner en conocimiento al resto de la población y autoridades competentes de este aspecto negativo que mantiene actualmente el efluente hídrico y puedan realizar acciones

1

oportunas en beneficio de la comunidad para así evitar desencadenar drásticas enfermedades principalmente de estómago.

12.2 Ambiental

El presente estudio determina que, el área está influenciada por la presencia de Arsénico (As) de origen biogénico producto de la meteorización de las rocas, y de origen antropogénico por el uso de pesticidas puesto que en el área mantiene una alta producción agrícola y llegan al cauce por medio de escorrentía. Ambos orígenes generan un impacto negativo en el área ya que el principal uso del efluente hídrico es para riego agrícola y consumo humano. El análisis de arsénico determina una elevada concentración en el nivel que afectan los productos de la zona que después son expendidos a la población, así como también la afectación a animales y personas que consumen este recurso.

13 PRESUPUESTO

Tabla 38: Presupuesto para la elaboración del proyecto

RECURSOS	DESCRPCIÓN	UNIDADES	VALOR UNITARIO (USD)	VALOR TOTAL (USD)
HUMANO	Investigador	1		
MATERIALES DE OFICINA	Carpeta	3	\$0,75	2,25
	Rotulador	1	\$1,25	1,25
	Etiquetas	3	\$0,25	0,75
	Esferos	4	\$0,50	2
	Resma de papel	1	\$4,50	4,5
MATERIALES DE LABORATORIO	Guantes	5	\$0,30	\$1,50
	Jeringuilla	2	\$0,25	\$0,50
	Cajas Petri	9	\$0,60	\$5,40
	Papel aluminio	1	\$2,25	\$2,25
	Agua destilada	10	\$1,25	\$12,50
	Motor de pecera	1	\$22,50	\$22,50
	Botellas plásticas	15	\$1,25	\$18,75
	Manguera plástica	6	\$0,50	\$3,00
	Unión de T	10	\$1,25	\$12,50
	Fundas ziploc	1	\$1,75	\$1,75
	Envases de 100mL	16	\$0,20	\$3,20
	Porta objetos	12	\$0,10	\$1,20
	Pipetas pasteur	20	\$0,05	\$1,00
	Papel filtro	1	\$1,00	\$1,00
	Balde 10L	1	\$2,50	\$2,50

1

	Ligas	1	\$1,00	\$1,00
	Sulfato de Magnesio	1	\$1,75	\$1,75
	Sulfato de cinc	1	\$2,25	\$2,25
	Vitamina C	3	\$1,75	\$5,25
	Fructosa	1	\$4,50	\$4,50
TECNOLÓGICOS	Internet	2 horas diarias	\$0,80	\$160,00
OTROS	Transportes y salidas de campo	5	\$10,00	\$50,00
	Análisis de la concentración de arsénico (Laboratorio Acreditado INAMHI)	4	\$16,68	\$66,75
	Impresiones	320	\$0,15	\$48,00
	Anillados	3	\$20,00	\$60,00
	Empastado	1	\$15,00	\$15,00
SUBTOTAL				\$514,80
10 % DE IMPREVISTOS				\$51,48
TOTAL				\$566,28

14 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

14.1 Conclusiones

- El establecimiento de fuente de carbono maltosa al 97,6% y fructosa al 99,8% con otros compuestos inorgánicos resultaron eficientes en el proceso de masificación de enriquecimientos según autores superando los valores propuestos, en los cuales se pudo apreciar el incremento de células bacterianas. Así como también crecimiento de colonias en medios sólidos; convirtiéndose ambas en las fuentes de carbono y compuestos inorgánicos más eficientes para realizar el enriquecimiento bacteriano en el presente estudio.
- El establecimiento de fuente de carbono vitamina c al 99,9% con otros compuestos inorgánicos fue poco eficiente en el proceso de masificación enriquecimientos según autores manteniendo bajos valores en relación a los propuestos, en los cuales no se apreció ningún incremento en los análisis de conteo celular y crecimiento de

1

microorganismos en medios sólidos, los resultados fueron nulos en relación a las otras dos fuentes de carbono antes mencionadas.

- A partir del aislamiento de cultivos puros con microorganismos tolerantes a la presencia de arsénico se evidencia la presencia de microorganismos que se adaptan a las condiciones actuales del cauce utilizando al arsénico como fuente metabólica de electrones. Los medios sólidos adicionados con 3 fuentes de carbono crean condiciones de crecimiento adecuadas para su conservación y posterior uso en nuevas técnicas de biorremediación.

14.2 Recomendaciones

- Es importante llevar a cabo la determinación de medios de enriquecimiento hábiles con diferentes concentraciones y cantidades de fuentes de carbono en muestras para la obtención de distintos resultados respecto a la eficiencia de enriquecimientos, así como también la asimilación del medio mineral por parte de los microorganismos.
- Es necesario identificar el tipo de bacterias aisladas en cultivos puros con colonias de microorganismos tolerantes al arsénico para llevar a cabo la inserción de las mismas en aguas procedente de fuentes de contaminación antropogénica de efluentes provenientes principalmente de procesos industriales, puesto que se caracterizan por mantener niveles altos de contaminantes.

1

15 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuerdo Ministerial 097-A. (2015). *Edición especial*. 1–184.
- Alarcón, M., Leal, L., Martín, I., Miranda, S., & Benavides, A. (2013). Arsénico en Agua: presencia, cuantificación analítica y mitigación. In *Cimav* (Vol. 2). https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/1056/1/Libro_2013-Arsenico_en_el_Agua_con_ISBN.pdf
- Álvarez, M., Blandón, L., Ceballos, V., Mejía, M., & Buriticá, H. (2017). Aislamiento de microorganismos en diferentes ambientes. *Universidad Libre Pereira*, 0, 1–11. [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod_resource/content/1/2020 TP2 BIOQ Y LCTA.pdf#:~:text=B\) Práctica de Siembra y,o los microorganismos de interés.](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod_resource/content/1/2020_TP2_BIOQ_Y_LCTA.pdf#:~:text=B) Práctica de Siembra y,o los microorganismos de interés.)
- Arambourou, H., Llorente, L., Moreno-Ocio, I., Herrero, Ó., Barata, C., Fuertes, I., Delorme, N., Méndez-Fernández, L., & Planelló, R. (2020). Exposure to heavy metal-contaminated sediments disrupts gene expression, lipid profile, and life history traits in the midge *Chironomus riparius*. *Water Research*, 168(0), 13. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115165>
- Arana, I. (2010). 2. Enumeración De Microorganismos. *Como Resolver Aspectos Practicos de Microbiologia [2012/05] [Cas]*, 7.
- Arredondo-Vega, B. O., & Voltolina, D. (2007). Capítulo 2: Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. *Métodos y Herramientas Analíticas En La Evaluación de La Biomasa Microalgal*, January, 10. <https://www.researchgate.net/publication/253237563>
- Azcona, C. (2016). Hidratos de carbono Manual de Nutrición y Dietética. *Nutrición Carbajal*, 0, 1–5. <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-cap-7-hidratos-carbono.pdf>
- Bartzas, G., Tsakiridis, P. E., & Komnitsas, K. (2021). Nickel industry: Heavy metal(loid)s contamination - sources, environmental impacts and recent advances on waste valorization. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 21, 100253. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100253>
- Bastidas, O. (2011). Conteo Celular con Hematocitómetro. *Technical Note-Neubauer Chamber Cell Counting*, 1–6.
- Bécar, H. C., & Arancibia, G. V. (2010). Impacto y consecuencias del Arsénico en la salud y el



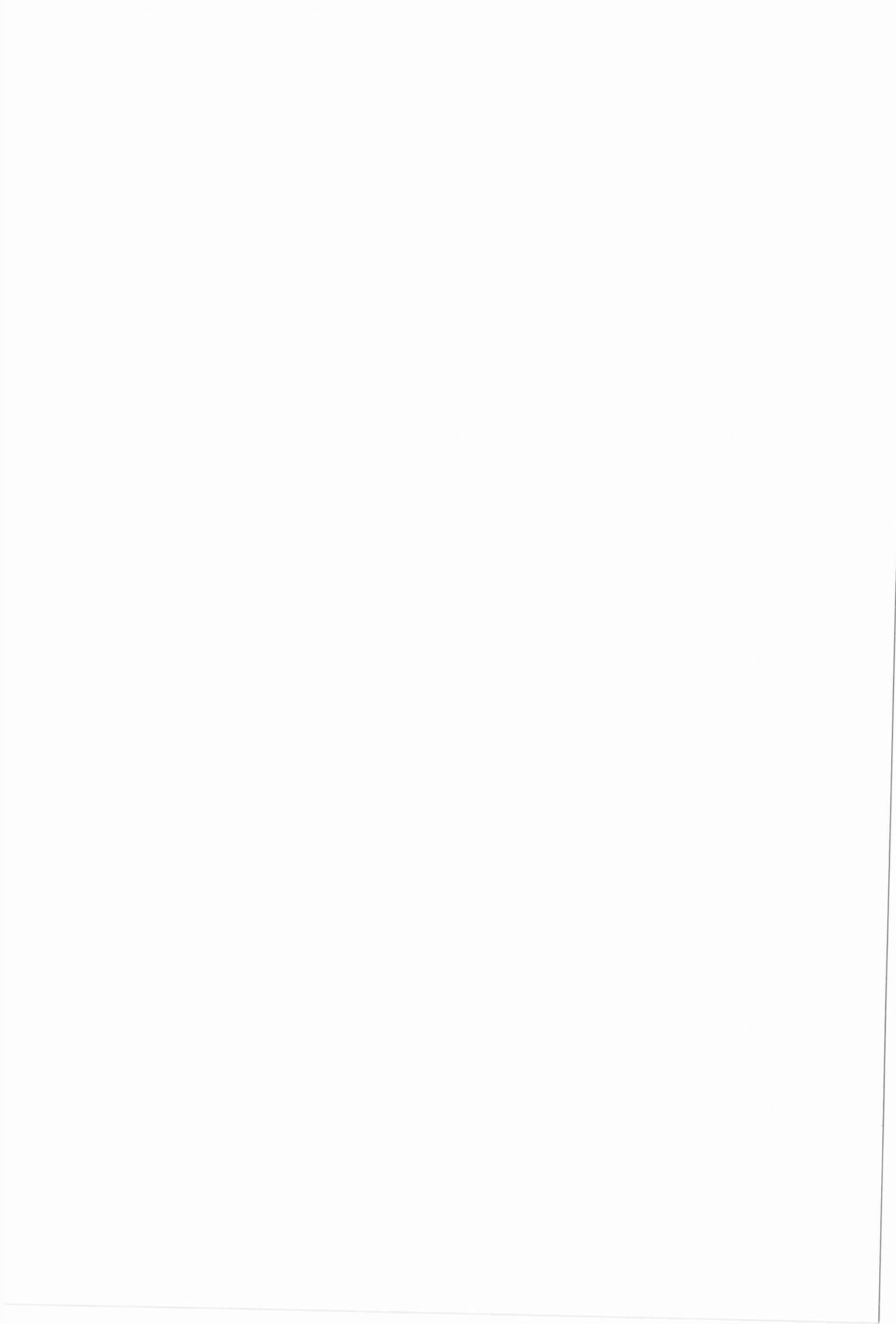
- medio ambiente en el Norte de Chile The impact and consequences of arsenic on health and the environment in Northern Chile. *Revista Interamericana de Ambiente y Turismo*, 6(1), 53–60.
- Bolaños-Alfaro, J. D., Cordero-Castro, G., & Segura-Araya, G. (2017). Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Revista Tecnología En Marcha*, 30(4), 15. <https://doi.org/10.18845/tm.v30i4.3408>
- Bose, S. K., & Chakraborty, U. C. (2016). Resolutions Adopted at the General Session of the VIII All India Pediatric Conference at Vellore on the 21st December, 1956. *The Indian Journal of Pediatrics*, 24(1), 14. <https://doi.org/10.1007/BF02796157>
- Burbano, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. The soil organic carbon and its role on climate change. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35(1), 1–15.
- Caho-Rodríguez, C. A., & López-Barrera, E. A. (2017). Determinación del Índice de Calidad de Agua para el sector occidental del humedal Torca-Guaymaral empleando las metodologías UWQI y CWQI. *Producción + Limpia*, 12(2). <https://doi.org/10.22507/pml.v12n2a3>
- Caillagua, S., & Sánchez, J. (2022). Universidad técnica de cotopaxi. *Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad*, 1, 101. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>
- Camacho, M. (2014). Los páramos ecuatorianos: caracterización y consideraciones para su conservación y aprovechamiento sostenible. *Revista Anales*, 1(372), 77–92. <https://doi.org/10.29166/anales.v1i372.1241>
- Carabantes, A. G., & Fernicola, N. A. G. G. de. (2003). Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39(4). <https://doi.org/10.1590/s1516-93322003000400003>
- Caviedes Rubio, D. I., Muñoz Calderón, R. A., Perdomo Gualtero, A., Rodríguez Acosta, D., & Sandoval Rojas, I. J. (2015). Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión. *Ingeniería y Región*, 13(1), 73. <https://doi.org/10.25054/22161325.710>



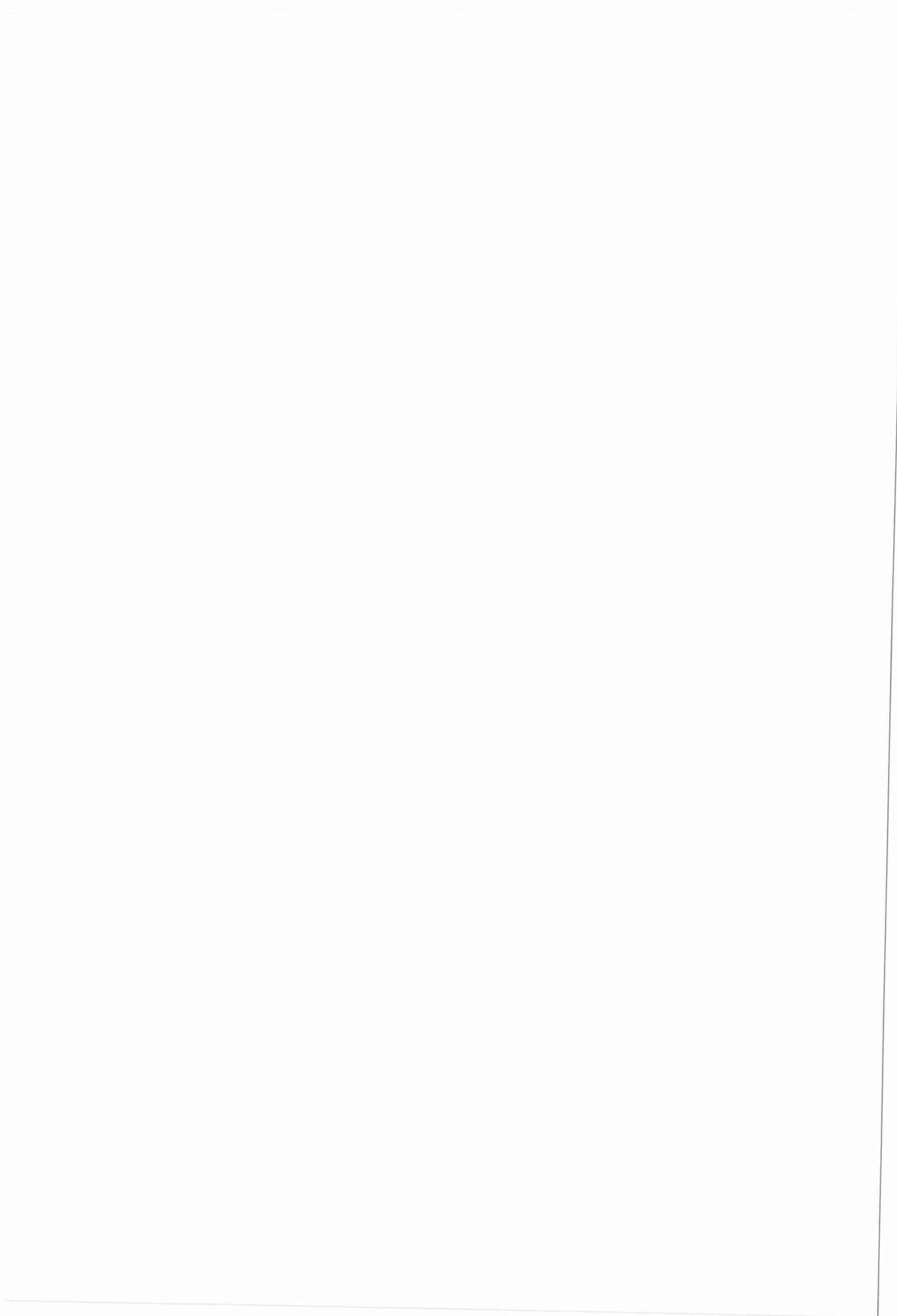
- Ceron, C., Andres, A., Vidal, P., Lozada, T., Del, I., La, Y., En, A., Tratamiento, E. L., & Las, A. D. E. (2005). IMPORTANCIA DEL pH Y LA ALCALINIDAD. *Scientia Et Technica*, XI(27). <https://www.redalyc.org/pdf/849/84911698045.pdf>
- Chávez, M., & Miglio, M. (2011). Remoción De Arsénico Por Oxidación Solar En Aguas Para Consumo Humano. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 77(4), 307–314.
- Coley, T., & Zapata, D. (2006). Aislamiento y purificación de microorganismos degradadores de cianuro. *Universidad Eafit Escuela De Ingenieria Departamento De Ingenieria De Procesos*, 92.
- Corral, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Ramírez-Valverde, A., Martínez-Contreras, R. D., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo.” *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2). <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/37416/40417>
- De La Mora-Orozco, C., Saucedo-Terán, R. A., González-Acuña, I. J., Gómez-Rosales, S., & Flores-López, H. E. (2020). Efecto de la temperatura del agua sobre la constante de velocidad de reacción de los contaminantes en un humedal construido para el tratamiento de aguas residuales porcícolas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11, 1–17. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11s2.4681>
- DSMZ-GmbH. (2020). 55. Fructose mineral medium. *DSMZ Media Culture Collection*, 1.
- Faccia, P. A., Pardini, F. M., Agnello, A. C., Amalvy, J. I., & Del Panno, M. T. (2021). Degradability of poly(ether-urethanes) and poly(ether-urethane)/acrylic hybrids by bacterial consortia of soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 160(March), 13. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105205>
- Fernández. (2017a). Ambiente. *TRAVESSIA - Revista Do Migrante*, 11(81). <https://doi.org/10.48213/travessia.vi81.866>
- Fernández, O. (2017b). Cultivos de Bacterias. *Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de La Salud, Universidad Nacional de La Patagonia San Juan Bosco*. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microgeneral/wp-content/uploads/2017/02/04-CULTIVO-DE-BACTERIAS.pdf>
- GAD Toacaso. (2020). Plan de desarrollo y Ordenamiento Territorial de la Parroquia de Toacaso. *Gobierno Autonomo Descentralizado Parroquial Rural de Toacaso*, 189.



- García, C. (2013). Parámetros fisicoquímicos del agua. *Pv Albeitar*, 4.
- García, G. (2002). La contaminación del agua. *Ciencias de La Tierra y Del Medio Ambiente*, 0, 1–5. <http://www1.ceit.es/asignaturas/ecologia/Hipertexto/00General/IndiceGral.html>
- Garibaldi, P., Santambrosio, E., & Ortega, M. (2009). Siembra y recuento de microorganismos. *Universidad Tecnológica Nacional*, 1–8. https://www.fro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoII I.pdf
- Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Giaverini, N. (2015). Exposición laboral a arsénico. *Laboratorio de Toxicología Ocupacional. Instituto de Salud Pública de Chile.*, 0, 10.
- Grijalba, M. V., & Escobar, A. P. (2011). Aislamiento preliminar de consorcios microbianos degradadores de pentolita a partir de muestras de suelos, lodos y agua con presencia de explosivos. *Ingeniería Ambiental y Sanitaria*, 0, 250. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/24%0Ahttps://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/1695
- INEC. (2010). *Proyecciones y estudios demográficos*. <https://sni.gob.ec/proyecciones-y-estudios-demograficos>
- INEC. (2018). Agua, saneamiento e higiene: medición de los ODS en Ecuador. In *Estudios Temáticos- INEC* (Vol. 0).
- INEN. (2013). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2266 : 2013 Primera revisión: AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. DISEÑO DE LOS PROGRAMAS DE MUESTREO. Primera Ed*, 1–20. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2226-1.pdf>
- INEN. (2018). *Nte Inen-Iso/Iec 17025*.
- Isch, E. (2011). Contaminación de las Aguas y Políticas para Enfrentarla. *Foro de Los Recursos Hídricos*, 1, 52. <https://camaren.org/documents/contaminacion.pdf>



- Jaya, F. E. (2017). Estudio De Los Sólidos Suspendedos En El Agua Del Rio Tabacay Y Su Vinculación Con La Cobertura Vegetal Y Usos Del Suelo En La Microcuenca. *Universidad de Cuenca*, 0, 103. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28542/1/Trabajo de titulacio n.pdf>
- Kenyon, E. M. (2021). Arsenic toxicokinetic modeling and risk analysis: Progress, needs and applications. *Toxicology*, 457(April), 11. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152809>
- Konopka, A. (2019). Ecology, microbial. *Encyclopedia of Microbiology*, 0, 97–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90675-7>
- Liang, X., Cui, S., Li, H., Abdelhady, A., Wang, H., & Zhou, H. (2019). Removal effect on stormwater runoff pollution of porous concrete treated with nanometer titanium dioxide. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 73, 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.trd.2019.06.001>
- Lillo, J. (2008). Peligros geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas. *Gemm*, May, 33. http://www.aulados.net/GEMM/Documentos/Peligros_geoquimicos_As/Peligros_As_2.pdf
- Lobo, H., Méndez-Fernández, L., Martínez-Madrid, M., Rodríguez, P., Daam, M. A., & Espíndola, E. L. G. (2021). Bioaccumulation and chronic toxicity of arsenic and zinc in the aquatic oligochaetes *Branchiura sowerbyi* and *Tubifex tubifex* (Annelida, Clitellata). *Aquatic Toxicology*, 239(August), 10. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105955>
- Londoño, O. (2013). Caracterización de parámetros microbiológicos y fisicoquímicos del sistema para producir agua desionizada tipo ii, en una industria cosmética. *Universidad Militar Nueva Granada*, 16.
- López, J., García, O., Grima, J., Ballesteros, B., & Pérez, M. (2010). Técnicas de biorrecuperación in situ en acuíferos contaminados por metales pesados. *Instituto Geológico y Minero de España. Oficina de Proyectos de Valencia*, 0, 233–243.
- López, L., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *CENIAQ*, 3(1), 10–18. www.medigraphic.org.mx
- MAE. (2015). *Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Ecuador*. <http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/es/areas-protegidas/reserva-ecologica-ilinizas>



- Martínez Valdés, Y., & Villalejo García, V. M. (2018). La gestión integrada de los recursos hídricos: una necesidad de estos tiempos. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 39(1), 58–72.
- Modiegi, M., Rampedi, I. T., & Tesfamichael, S. G. (2020). Comparison of multi-source satellite data for quantifying water quality parameters in a mining environment. *Journal of Hydrology*, 591(July), 12. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2020.125322>
- Montoya, E. A. R., Hernández, L. E. M., Escareño, M. P. L., & Balagurusamy, N. (2015). Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos. *Terra Latinoamericana*, 0, 103–118. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57339210001>
- Naciones Unidas. (2019). *Paz, dignidad e igualdad en un planeta sano*. <https://www.un.org/es/global-issues/water>
- Naderi, M., Jahanshahi, R., & Dehbandi, R. (2020). Two distinct mechanisms of fluoride enrichment and associated health risk in springs' water near an inactive volcano, southeast Iran. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195(September 2019), 110503. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110503>
- OMS. (2018). *Arsénico*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
- ONU. (2018). Informe mundial Naciones Unidas desarrollo recursos hídricos 2018: soluciones basadas en la naturaleza para la gestión del agua. In *Interciencia* (Vol. 40, Issue 4). https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Bibliotecas/Libros/AGUA,_SANEAMIENTO_e_HIGIENE.pdf
- Osorio Trujillo, A. F., & Martínez Cajigas, M. E. (2018). Validación de un método para el análisis de color real en agua. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 7(1), 143–155. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v7n1.68086>
- Pabón, S., Benítez, R., Sarria, R., & Gallo, J. (2020). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27). http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-83672020000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Pérez Cruz, E., Elizabeth Serralde Zúñiga, A., & Meléndez Mier, G. (2007). Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Medigraphic.Com Revista de Endocrinología y Nutrición Abril-Junio*, 15(2), 67–74.

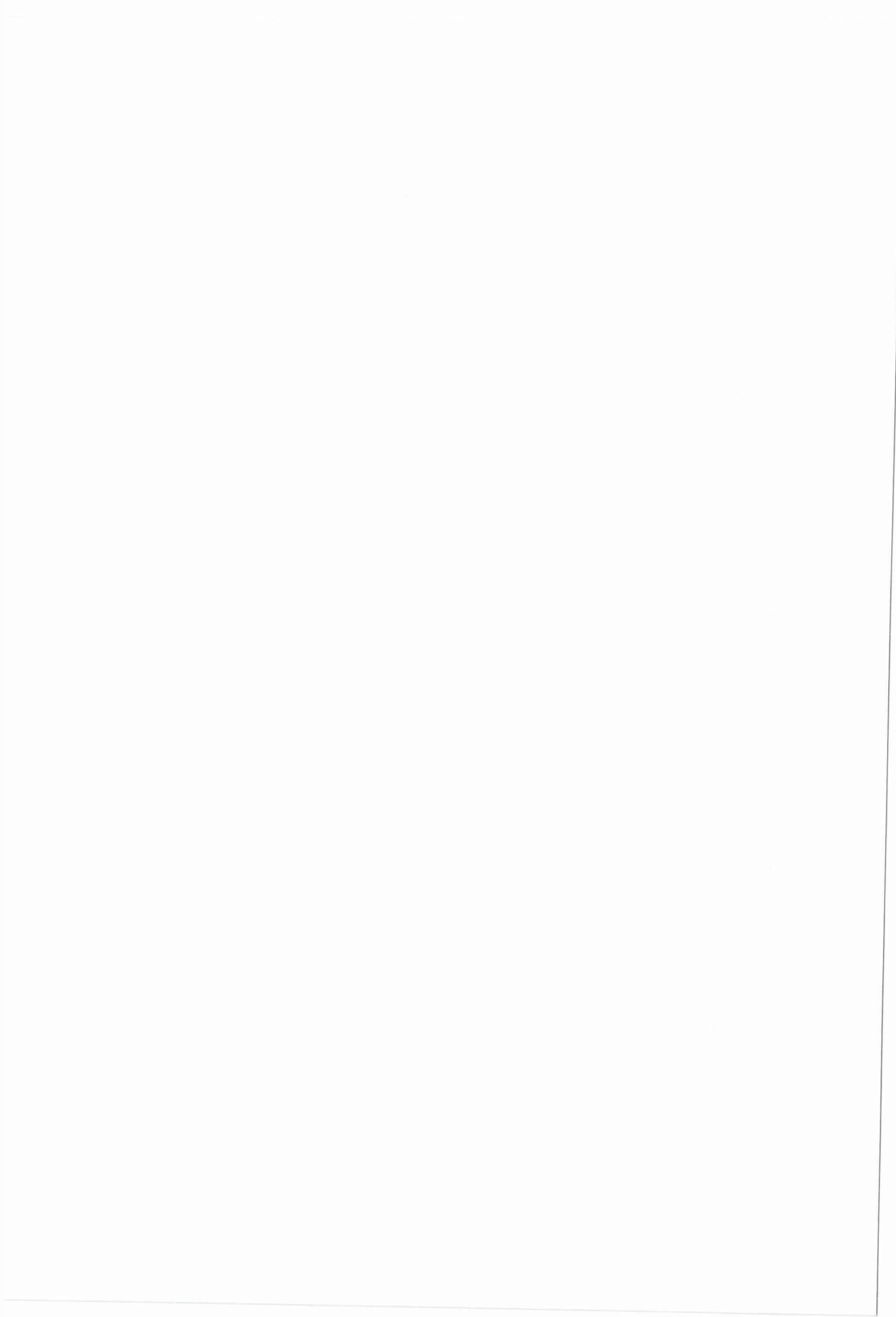
- Pérez, E. (2016). Control de calidad en aguas para consumo humano en la región occidental de Costa Rica. *Revista Tecnología En Marcha*, 29(3), 3. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i3.2884>
- Pérez, Maurice, L., Ochoa-Herrera, V. de L., López, F., Egas, D. A., Lagane, C., & Besson, P. (2015). Determinación de elementos mayores en sedimentos provenientes de zonas afectadas por actividades petroleras en Ecuador. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 7(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v7i2.271>
- Prescott, H. (2002). Laboratory exercises in microbiology. *Laboratory Exercises in Microbiology*, 0, 117–124.
- Proaño Bastidas, J., Urresta Valencia, P., & Racines Oliva, M. (2017). EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA VITAMINA C, VITAMINA E Y ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) EN SALCHICHAS DE POLLO TIPO FRANKFURT. *Industrial Data*, 20(2), 27. <https://doi.org/10.15381/idata.v20i2.13957>
- Rodríguez, A., Silva, P., & Reyes, M. (2010). Determinación De Sulfato Por El Método Turbidimétrico En Aguas Y Aguas Residuales. Validación Del Método. *Revista Cubana de Química*, XXII(3), 39–44.
- Rodríguez Martínez, H. L., Peña Manjarrez, M., Gutiérrez Reyes, A. V., González Trevizo, C. L., Montes Fonseca, S. L., & López Avalos, G. G. (2017). Biorremediación de arsénico mediada por microorganismos genéticamente modificados. *Revista Terra Latinoamericana*, 35(4), 353. <https://doi.org/10.28940/terra.v35i4.220>
- Romero, K., Ledezma, R., Pedro, C., & Revilla, E. (2014). Heavy Metal Contamination. *Heavy Metal Contamination of Water and Soil*. <https://doi.org/10.1201/b16566-4>
- Romero, T., & Vargas, D. (2017). Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 38(3). <http://scielo.sld.cu/pdf/riha/v38n3/riha08317.pdf>
- Samboni, N., Ruiz, S., Carvajal, Y., & Carlos, J. (2007). *Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua A review of physical-chemical parameters as water quality and contamination indicators*. 27(3).
- Sánchez, L., & Viáfara, C. (2014). Impact of total suspended solids on the emitters clogging of localized high-frequency irrigation. *Ingeniería y Competitividad*, 16(2).



- Sánchez, Ó. (2002). *Ecosistemas acuáticos: diversidad, Procesos , Problemática Y Conservación*. 0, 11–36.
- Sanz, S. (2011). Prácticas de microbiología. *Universidad de La Rioja*, 59, 102.
- Scidevnet. (2021). *Uso de agua potable en America Latina*. <https://www.scidev.net/americ-latina/data-visualisation/americ-latina-pandemia-cambio-habitos-de-consumo-de-agua/>
- SENAGUA. (2016). Estrategia Nacional de Calidad del Agua. *Ministerio de Ambiente Ecuador*, 0(0), 97. <https://n9.cl/1klc>
- Sharma, R., Agrawal, P. R., Kumar, R., Gupta, G., & Ittishree. (2021). Current scenario of heavy metal contamination in water. In *Contamination of Water*. INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824058-8.00010-4>
- Soto, F. (2010). La dureza del agua como indicador básico de la presencia de incrustaciones en instalaciones domésticas sanitarias. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 11(2), 167–177. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2010.11n2.014>
- Suarez, R. (2013). *Guía de métodos de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos*. 0. <https://doi.org/10.1190/segam2013-0137.1>
- Tapia, J., Murray, J., Ormachea, M., Tirado, N., & Nordstrom, D. K. (2019). Origin, distribution, and geochemistry of arsenic in the Altiplano-Puna plateau of Argentina, Bolivia, Chile, and Perú. *Science of the Total Environment*, 678, 309–325. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.084>
- Toapanta, L. (2022). *Agua de tres parroquias posiblemente contaminadas con arsénico*. <https://lagaceta.com.ec/agua-de-tres-parroquias-posiblemente-contaminadas-con-arsenico/>
- Tokatlı, C., & Varol, M. (2021). Variations, health risks, pollution status and possible sources of dissolved toxic metal(loid)s in stagnant water bodies located in an intensive agricultural region of Turkey. *Environmental Research*, 201(April), 9. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111571>
- Tsuzuki, Y. (2006). An index directly indicates land-based pollutant load contributions of domestic wastewater to the water pollution and its application. *Science of the Total Environment*, 370(2–3), 425–440. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.07.014>







- UNESCO. (2019). Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2019. No dejar a nadie atrás. In *Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura*. <http://www.unwater.org/publications/world-water-development-report-2019/>
- Vandenberg, O., Gerard, M., & Awa Aidara, K. (2011). Patógenos entéricos bacterianos: Clostridium difficile, Salmonella, Shigella, Escherichia coli y otros. *Revista Chilena de Infectología*, 28(1), 86–86. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182011000100018>
- Vázquez, E., & Rojas, T. (2016). pH: Teoría y 232 problemas. *División de Ciencias Naturales e Ingeniería*, 0(0), 149.
- Vega Falcon, V. (2009). Ecosistemas del Distrito Metropolitano de Quito DMQ. In *Gastronomía ecuatoriana y turismo local*. (Vol. 1, Issue 69).
- Villanueva, M. M. Á., & Avila, R. J. D. (2019). Análisis de calidad del agua (Turbiedad y Color) de un sistema de filtración de flujo ascendente construido con materiales granulares para bajantes de agua lluvia. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Villasante, J. (2000). Tipos de contaminación, sus fuentes y efectos en el estuario de Santoña. *Monte Buciero*, 5.
- Wang, H. T., Liang, Z. Z., Ding, J., Xue, X. M., Li, G., Fu, S. L., & Zhu, D. (2021). Arsenic bioaccumulation in the soil fauna alters its gut microbiome and microbial arsenic biotransformation capacity. *Journal of Hazardous Materials*, 417(April), 10. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126018>
- Wang, J., & Shraim, A. (2003). A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere*, 52(9). [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00470-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00470-3)
- Yang, H., Rose, N. L., & Battarbee, R. W. (2002). Distribution of some trace metals in Lochnagar, a Scottish mountain lake ecosystem and its catchment. *Science of the Total Environment*, 285(1–3), 197–208. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00931-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00931-7)
- Zhang, J., Zou, T., & Lai, Y. (2021). Novel method for industrial sewage outfall detection: Water pollution monitoring based on web crawler and remote sensing interpretation techniques. *Journal of Cleaner Production*, 312(January), 12. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127640>



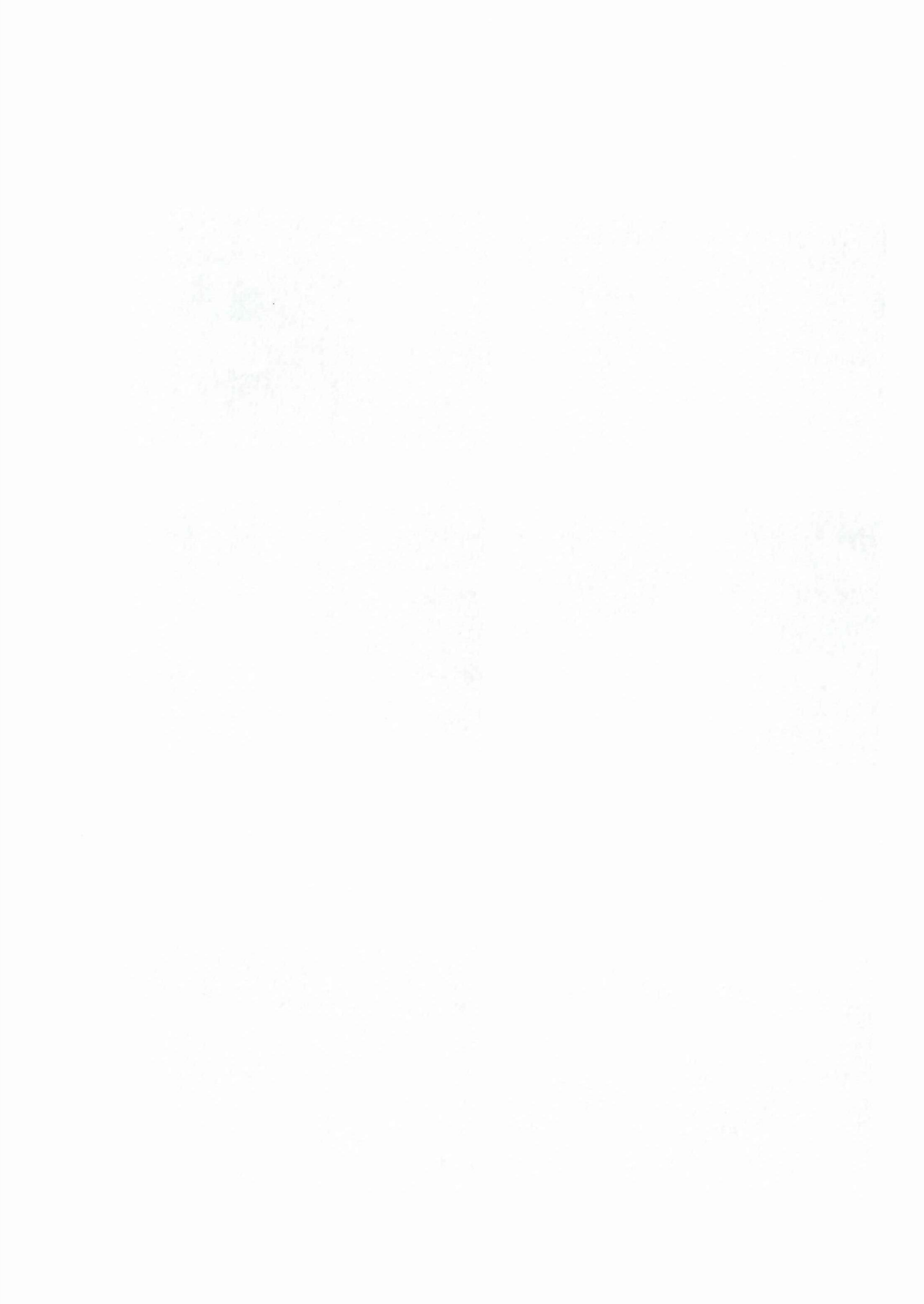
16 ANEXOS

Anexo 1. Muestreo de punto en la Quebrada Talahuachana

Muestreo punto 1	Muestreo punto 2
	
Muestreo punto 3	Muestreo punto 4
	

Anexo 2. Enriquecimiento bacteriano y evaluación de parámetros físico-químicos

Establecimiento y enriquecimiento	Evaluación de parámetros in situ
	



Tinción simple y Gram



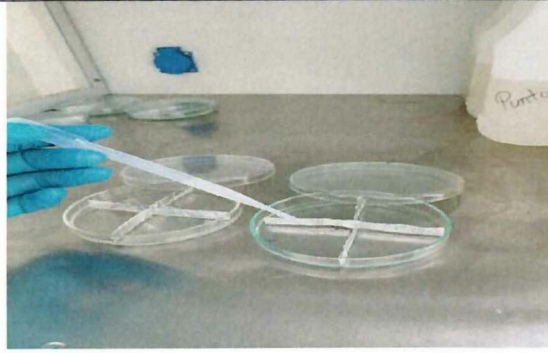
Dilución para conteo Neubauer



Absorbancia en espectrofotómetro



Siembra de microorganismos



A floración de bacterias en medios solidos



Conteo de colonias



Aislamiento de microorganismos



Cultivos puros



Elaborado por: Barriga Luis

[The page contains extremely faint and illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the document. No specific content can be transcribed.]

Anexo 3. Análisis de arsénico en laboratorio por parámetro acreditado.

Resultados de nivel de Arsénico (As) punto 1

**INFORME DE RESULTADOS**

RC38-06

N°. 22-305

Pág. 2 de 3

Párametros	Método Interno LANCAS	Método de Referencia	Unidades	Valor
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	1338,150 ^(a)

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:^(a) Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE

Autorizado por:
Dra. Jeaneth Cartagena
Coordinador de Laboratorio



Resultados de nivel de Arsénico (As) punto 2

**INFORME DE RESULTADOS**

RC38-06

N°. 22-306

Pág. 2 de 3

Párametros	Método Interno LANCAS	Método de Referencia	Unidades	Valor
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	1694,990 ^(a)

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:^(a) Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE

Autorizado por:
Dra. Jeaneth Cartagena
Coordinador de Laboratorio



[The page contains extremely faint and illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the document. No specific content can be transcribed.]

Resultados de nivel de Arsénico (As) punto 3



INFORME DE RESULTADOS

RC38-06

N°. 22-307

Pág. 2 de 3

Párametros	Método Interno LANCAS	Método de Referencia	Unidades	Valor
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	1510,960 ^(a)

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:

^(a) Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE"

Autorizado por:
Dra. Jeaneth Cartagena
Coordinador de Laboratorio



Resultados de nivel de Arsénico (As) punto 4



INFORME DE RESULTADOS

RC38-06

N°. 22-308

Pág. 2 de 3

Párametros	Método Interno LANCAS	Método de Referencia	Unidades	Valor
Arsénico	PE04	Standard Methods Ed 23, 2017. 3114 B Modificado	ug/L	3894,550 ^(a)

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES:

^(a) Los valores reportados se encuentran fuera del alcance de Acreditación del SAE"

Autorizado por:
Dra. Jeaneth Cartagena
Coordinador de Laboratorio



[Faint, illegible text covering the majority of the page, possibly bleed-through from the reverse side.]