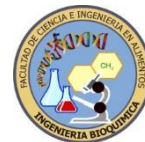




UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN  
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



---

Tema: Determinación de clorofila A como indicador de polución en los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo por el método espectrofotométrico UV visible.

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**AUTOR:** José Diego Alvares Pérez

**TUTOR:** Químico. Pérez Aldas Lander Vinicio

Ambato – Ecuador

Enero - 2021

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Químico: Lander Vinicio Pérez Aldas

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos de Grado de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 14 de diciembre del 2020

-----  
Químico: Lander Vinicio Pérez Aldas

**C.I. 1802706596**

**TUTOR**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, José Diego Alvares Pérez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



José Diego Alvares Pérez

**C.I.** 180443954-3

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman

.....

Presidente del tribunal

.....

William Ricardo Calero Cáceres

**C.I** 1714348859

.....

Jeanette Verónica Carrera Cevallos

**C.I** 1716192271

Ambato, 11 de Enero del 2021

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedemos los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además aprobamos la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



José Diego Alvares Pérez

**C.I.** 180443954-3

**AUTOR**

## **DEDICATORIA**

A mis padres a mis hermanos, mis sobrinos, mi novia, por su amor, dedicación y el tiempo brindado, su apoyo incondicional día con día y hacer que este escalón se cumpla en mi vida, además a un ser tan especial como fue mi abuelita por sus enseñanzas y mi formación desde la infancia, quien dedicó su vida para hacerme hombre de bien, formar mi carácter y mis valores.

**José Alvares**

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a Dios en primer lugar por mi madre y por la esperanza de vida que nos regala al tenerla juntos a nosotros. Quien siempre ha estado en todos los momentos de mi vida, por su mano extendida en mis caídas, y al levantarme, por cumplir con esta meta.

A mis padres Lucio Alvares, y Mónica Pérez, por sus enseñanzas, por su amor incondicional, y por brindarme siempre su apoyo en momentos difíciles, en hacer que este proyecto sea la puerta para abrir nuevos horizontes, a mis hermanos Alex y Adrián, quienes han formado parte fundamental en mi vida. A mi tío Dr. Jhonny Pérez quien fue mi representante en mi infancia y ser mi segundo padre, por ayudarme en todo momento con sus enseñanzas y sus experiencias, por sus consejos.

A mi novia por ser mi compañera y mi amiga, por ser ese ser que llego a empujarme, y a hacerme crecer como ser humano y como estudiante, por ayudarme en ser competitivo, además por brindarme ese amor incondicional y sincero, por su ayuda en todo momento de mi formación.

A mi tutor quien formo parte de mi aprendizaje, por ser amigo y docente a la vez, por su ayuda en este proyecto.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ÍNDICE DE ECUACIONES .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPITULO I.....	1
1.1. Antecedentes Investigativos .....	1
1.1.1. Clorofila característica y composición .....	1
1.1.1.2. Clorofila a .....	2
1.1.1.3. Clorofila b.....	3
1.1.1.4. Otros pigmentos.....	3
1.1.2. Plancton .....	4
1.1.2.1. Fitoplancton .....	4
1.1.2.2. Zooplancton .....	5
1.1.3. Aspectos Físico-Químicos .....	5
1.1.3.1. Turbidez.....	6
1.1.3.2. Temperatura.....	6
1.1.3.3. pH .....	7
1.1.3.4. Oxígeno Disuelto (O.D).....	7
1.1.3.4.1. Hipoxia.....	8
1.1.3.4.2. Anoxia.....	8
1.1.3.5. Materia orgánica .....	9
1.1.3.6. Nitratos y fosfatos.....	9



1.1.4.	Ubicación Geográfica .....	10
1.1.4.1.	Embalse Agoyán .....	10
1.1.4.2.	Embalse Pisayambo .....	10
1.1.5.	Niveles tróficos .....	11
1.1.5.1.	Productores primarios .....	11
1.1.5.2.	Consumidores .....	12
1.1.5.3.	Descomponedores .....	12
1.1.6.	Contaminación de embalses.....	13
1.1.6.1.	Estado trófico.....	14
1.1.6.1.1.	Oligotrófico .....	14
1.1.6.1.2.	Mesotrófico .....	14
1.1.6.1.3.	Eutrófico.....	14
1.1.6.1.4.	Hipertrófico .....	15
1.1.6.2.	Causas de eutrofización .....	15
1.1.7.	Espectrofotometría UV visible .....	16
1.1.7.1.	Espectro de Luz .....	17
1.1.7.2.	Absorbancia .....	17
1.1.7.3.	Transmitancia .....	18
1.1.7.4.	Ley de Lambert-Beer .....	18
1.2.	Objetivos.....	19
1.2.2.	Objetivo General.....	19
1.2.1.	Objetivos Específicos .....	19
1.3.	Hipótesis .....	19
1.3.1.	Hipótesis nula .....	19
1.3.2.	Hipótesis alternativa .....	19
1.4.	Señalamiento de las variables de la hipótesis .....	19
1.4.1.	Variables dependientes .....	19

1.4.2. Variables independientes .....	19
CAPITULO II .....	20
2.1.    Materiales .....	20
2.1.1. Material de Laboratorio .....	20
2.1.2. Equipos .....	20
2.1.3. Reactivos.....	20
2.2.    Métodos .....	21
2.2.1.1. Muestreo y transporte de materiales .....	21
2.2.1.2. Clorofila a en presencia de feofitina .....	21
2.2.1.3.    Filtración.....	22
2.2.1.4.    Extracción.....	22
2.2.1.5.    Centrifugación .....	22
2.2.1.6.    Acidificación y lectura de la muestra en el espectrofotómetro.....	22
2.2.2. Oxígeno disuelto .....	23
2.2.2.1.    Método yodometrico.....	24
2.2.3. Diseño Factorial AxB .....	25
CAPITULO III.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
3.1. Análisis y discusión de los resultados.....	27
3.1.1. Determinación de la clorofila A .....	27
3.1.1.1. Corrección de la absorbancia $\text{mg}/\text{m}^3$ .....	28
3.1.2. Determinación de oxígeno disuelto.....	31
3.1.3. Análisis estadístico entre Agoyán y Pisayambo .....	36
3.2. Verificación de la hipótesis .....	42
3.2.1. Hipótesis nula del lugar .....	42
3.2.2. Hipótesis nula de los Puntos de muestreo.....	42
3.2.3. Hipótesis nula de la relación lugar y punto de muestreo .....	42

3.2.4. Hipótesis alternativa del lugar .....	43
3.2.5. Hipótesis alternativa de los puntos de muestreo.....	43
3.2.6. Hipótesis alternativa de la relación lugar y punto de muestreo .....	43
CAPITULO IV.....	44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	44
4.1. Conclusiones .....	44
4.2. Recomendaciones.....	45
BIBLIOGRAFÍA .....	47
ANEXOS .....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la clorofila A.....	3
Figura 2. Partes del espectrofotómetro .....	16
Figura 3: Relación de contaminación entre Agoyán y Pisayambo .....	38
Figura 4. Nivel medio de contaminación entre los puntos de muestreo .....	39

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos de los factores y niveles del diseño AxB.....	25
Tabla 2. Corrección de absorbancias para determinar la clorofila A.....	27
Tabla 3. concentración de clorofila A.....	29
Tabla 4. Ubicación geográfica de los muestreos en el embalse Agoyán y Pisayambo	

.....	31
Tabla 5. Valores limite de OECD para clasificación trófica.. 31	<b>Error! Marcador no definido.</b>
Tabla 6. Parámetros de Agoyán .....	32
Tabla 7. Parámetros de Pisayambo .....	33
Tabla 8. Parámetros in situ de Agoyán y Pisayambo.....	35
Tabla 9. Relación entre Agoyán y Pisayambo, con los puntos de muestreo.....	36
Tabla 10. Tabla de comparación Tukey.....	39
Tabla 11. Orden de datos de menor a mayor de clorofila A para prueba de comparación Tukey.....	40
Tabla 12. Prueba de comparación Tukey.....	41

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuacion. Diferencia entre Absorbancias .....	23
Ecuacion. Corrección de la absorbancia $\text{mg}/\text{m}^3$ .....	23
Ecuacion. Cálculo de la corrección por pérdida de muestra desplazada por reactivos .....	24
Ecuacion. Determinación Oxígeno disuelto en $\text{mg}/\text{L}$ .....	24
Ecuacion. Prueba de Tukey.....	42

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Toma y recolección de las muestras.....	54
Anexo 2. Comparación múltiple entre los puntos de muestreo de los embalses .....	56

Anexo 3. Nivel de Contaminación .....	56
Anexo 4. Relación entre los puntos de muestreo entre embalses. ....	57
Anexo 5. Informe de resultados obtenidos de los embalses Agoyán y Pisayambo. ..	58

## RESUMEN

Este proyecto se realizó con la finalidad de evaluar un método de polución, determinando la concentración de clorofila A, mediante el método espectrofotométrico UV-visible, debido a que este factor influye directamente en la contaminación de los embalses Agoyán y Pisayambo, los cuales no han sido estudiados a profundidad hasta la actualidad y debido a los residuos industriales que en ellos desembocan, se encuentran altamente perjudicados. Estos cuerpos de agua sirven de riego en los cultivos de las comunidades aledañas y alimentan vertientes naturales, transportando un elevado nivel de contaminantes. Estos ayudaran a reducir el impacto ambiental ocasionado en estas hidroeléctricas, para lo cual primero es necesario identificar un método que permita estudiar a la clorofila A y su incidencia en los embalses mencionados. Para esto, se analizaron parámetros *in situ* como Temperatura, pH, disco Secchi y presión, así como, oxígeno disuelto, los cuales junto con la clorofila ayudan a evaluar el estado trófico de estas represas. Este estudio se realizó en conjunto con estudiantes de postgrado, quienes determinaron otras variables como materia orgánica, nitratos y fosfatos. Con esto se logró identificar que existen diferencias significativas de contaminación entre estas hidroeléctricas, ya que Agoyán presenta un nivel eutrófico y Pisayambo un estado mesotrófico. Dado que, Agoyán está limitado por la zona textil de Pelileo, la zona agrícola de Patate, el camal de Baños y otros factores de contaminación propias del lugar, a diferencia de Pisayambo, cuyas actividades antropogénicas son limitadas, debido a la poca accesibilidad, reduciendo los factores antes mencionados.

**Palabras clave:** Contaminación ambiental, Química analítica, hidroeléctricas clorofila A, embalse Agoyán, embalse Pisayambo

## ABSTRACT

This project was carried out with the aim of evaluating a pollution method, determining the concentration of chlorophyll A, using the UV-visible spectrophotometric method, because this factor directly influences the contamination of the Agoyán and Pisayambo reservoirs, which have not been thoroughly studied to date and due to the industrial waste that flows into them, are highly harmed. These bodies of water serve as irrigation in the crops of the surrounding communities and feed natural slopes, transporting a high level of contaminants. These will help reduce the environmental impact caused on these hydroelectric plants, for which it is first necessary to identify a method to study chlorophyll A and its impact on the above-mentioned reservoirs. For this, in situ parameters such as Temperature, pH, Secchi disc and pressure, as well as dissolved oxygen, which together with chlorophyll help evaluate the trophic status of these dams were analyzed. This study was conducted in conjunction with graduate students, who determined other variables such as organic matter, nitrates and phosphates. This was able to identify that there are significant differences in pollution between these hydroelectric plants, as Agoyán has a eutrophic level and Pisayambo a mesotrophic state. Since, Agoyán is limited by the textile area of Pelileo, the agricultural area of Patate, the canal of Baños and other pollution factors typical of the place, unlike Pisayambo, whose anthropogenic activities are limited, due to the low accessibility, reducing the aforementioned factors.

**Keywords:** Environmental pollution, analytical chemistry, chlorophyll A hydroelectric plants, Agoyán reservoir, Pisayambo reservoir

## CAPITULO I

### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. Clorofila característica y composición

La clorofila es el pigmento fotorreceptor responsable de la fotosíntesis, en la principal etapa de transformación de la luz en energía química, debido a esta por medio del cual es el mayor responsable de la vida en el planeta, con el intercambio gaseoso de la respiración de los seres vivos, principalmente se encuentra en las cianobacterias y todo aquel organismo que contiene cloroplastos. La clorofila es utilizada para estimar la biomasa planctónica, y constituye de 1 a 2 % de peso seco a su vez los productos que son degradados como los clorofilidas, feofitinas y feoforbidos (**González, Perales, & Salcedo, 2008**).

La composición química por la cual está constituida la clorofila, en su estructura consta de un anillo de porfirina que contiene magnesio y cuya función es absorber la luz, también está cubierta por una membrana hidrófoba de fitol cuya función es mantener integrada a la membrana fotosintética (**Manrique, 2003**).

Las bacterioclorofilas eran organismos existentes, constituidas de clorofila tenía la capacidad de realizar fotosíntesis, a su vez esta clorofila de estos organismos se clasificaban a, b, c, d, e, g, por esto probablemente la molécula de clorofila era de un ancestro muy similar a las bacterioclorofilas.

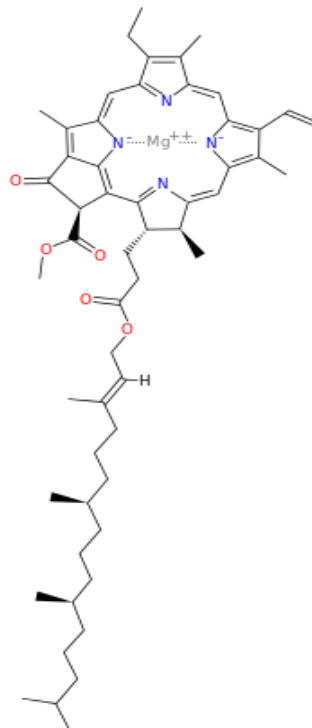
Las clorofilas tienen un rango de absorción de 380 nm hasta los 710 nm, cabe mencionar que la biosfera del planeta puede absorber la cantidad de 290 nm hasta 3000nm de radiación, además de la captación de la luz las clorofilas están organizadas en moléculas que captan la luz (complejos antena), unidos a proteínas, que los electrones son excitados debido a la cantidad de fotones que interactúan en la absorción llegando a los aceptores finales, oxidando la NADP a NADPH reducido (**Reol, 2003**).



A menudo la captación del fotón de luz de una molécula de clorofila puede pasar de un estado basal a un estado excitado, estos son dependientes del nivel energético, es decir, del estado basal puede pasar a un estado de mayor nivel energético como es el excitado, este tiempo que puede el fotón ser absorbido por la clorofila es de ( $10^{-9}seg$ ) y así sucesivamente, puede transferir la energía de una molécula a otra, dado toda este proceso, puede ser utilizado el electrón en el proceso fotoquímico.

### 1.1.1.2. Clorofila a

La clorofila es el pigmento responsable del color verde de las plantas y protistas por la función fotosintética que permite absorber la luz transformándolos en compuestos orgánicos y oxígeno como energía, a su vez contiene una máxima absorción de la luz de 350-850 nm. En su estructura la clorofila a está compuesta por un grupo metilo en el carbono 3 del anillo número 2, la clorofila A por su estructura hace presente el color azul verdoso en las plantas, la clorofila A se encuentra en los pigmentos fotosintéticos ubicados en los tilacoides de los cloroplastos (**González , Briceño, Chirinos , Buonocore, & Villareal, 2014**).



**Figura 1. Estructura de la clorofila A.** La clorofila A tiene en su anillo interno un átomo de magnesio y un grupo metilo en el carbono 3 del anillo 2 (**Hohmann & Blankenship, 2011**). La clorofila mide a una longitud de onda menor que las demás, mostrando un color verde azulado de las plantas (**González , Perales , & Salcedo, 2008**).

#### **1.1.1.3. Clorofila b**

La presencia de la clorofila a y b en las plantas son indispensables para que puedan absorber la luz para los procesos biológicos, en principal para producir esa energía en materia orgánica. Esta es similar a la clorofila A, pero a diferencia del radical formilo en su estructura química que hace que al espectro su absorción de la luz sea mayor, la clorofila B por su estructura es la responsable del color amarillo verdoso en las plantas (**Martínez, Ortega, & Ramos, 2014**)

#### **1.1.1.4. Otros pigmentos**

Existen tipos de pigmentos como la clorofila y los carotenoides, menciona **Manrique (2003)**, debido a que estos son los encargados de la absorción de la luz pero solo la clorofila es la única encargada de transferir directamente la luz a la vía fotosintética. Como las clorofilas se derivan en varios tipos como la clorofila A, clorofila b, clorofila C, así también son los carotenoides, como son los carotenos y las xantofilas, Estos pigmentos carotenoides contienen en su estructura pequeños anillos de seis carbonos y una larga cadena de carbono.

Los carotenoides son derivados tetraterpénicos, que en su estructura presentan dobles enlaces conjugados, con un anillo ciclohexano sustituido insaturado en cada uno de los extremos de la cadena lineal, dado el nivel de absorción estos pueden absorber a 530 nm, cabe mencionar que es el color anaranjado además, son solubles en solventes orgánicos, el caroteno que presenta mayor importancia en las plantas es el  $\beta$ -caroteno, por otro lado la luteína es la mayor xantofila (**Reol, 2003**).

### **1.1.2. Plancton**

Plancton es la comunidad de microorganismos incluidas, bacterias, algunos tipos de algas, crustáceos y moluscos estos habitan en agua dulce o en agua salada, dado su sistema y su tamaño son arrastrados por mareas, viven en zonas pelágicas a su vez estas se las encuentra en la parte superior y media de los océanos y en cuerpos de agua dulce como son los ríos y lagunas existen dos variedades el fitoplancton y zooplancton (**Lara , 1992**).

#### **1.1.2.1. Fitoplancton**

Son comunidades de microorganismos fotosintéticos, a su vez viven en cuerpos de agua en la columna fótica, debido a que juegan un papel importante en indicar por medio de las redes tróficas la calidad del agua. Según **Rodríguez (2005)**, el tamaño que oscila los organismos que componen el fitoplancton son picoplancton (0,2–2)µm, nanoplancton (2–20) µm, microplancton (20-200) µm, y meso-plancton (200-2000) µm, los organismos fitoplanctonicos procarióticos como es el caso de las cianobacterias presentan clorofila a. son organismos autótrofos que para su alimentación que no requieren de seres vivos para alimentarse.

Llamados los primeros organismos del nivel trófico del océano debido a que muchas especies de manera directa y viceversa ayudan a sustentar la vida de los organismos. Estos a su vez absorben el dióxido de carbono e incrementan el oxígeno de los cuerpos de agua por medio de la fotosíntesis.

Debido a las características del cuerpos de agua dulceacuícolas o denominadas en su función en eutrofización, la contaminación y a su vez la biomasa y las comunidades fitoplanctonicas suelen aumentar, la incorporación de contaminantes que resultan de las actividades antrópicas propiamente son productos domésticos agrícolas, y productos industriales formando así una concurreda alimentación a los embalses lo que produce que aumente la concentración de estos y a su vez sea afectada las comunidades fitoplanctonicas modificando su composición y elevada producción, si estos son consumidos por la población las afectaciones y los suministros básicos de las poblaciones pueden recurrir a problemas relacionados con el suministro y el tratamiento (**Higuera & Ortiz, 2007**).

### 1.1.2.2. Zooplancton

El zooplancton conforman el vacío clave de la cadena trófica, son de gran importancia para el análisis de los ecosistemas, cabe mencionar que es importante el efecto de las actividades antropogénicas en los cuerpos de agua dulce es decir, que a consecuencia de los productos de desecho como domésticas, agrícolas, e industriales llegan a formar parte de los ríos y lagos, minimizando las comunidades que se desarrollan en estos embalses, los efectos sobre el zooplancton es indirecto, debido a la alimentación y los cambios físicos y químicos donde habitan estas comunidades, cabe mencionar que sobre el fitoplancton es directo, elevando su producción y modificando las aguas por la incorporación de nutrientes en gran cantidad.

La depredación, según **González , y otros (2002)**, es uno de los factores importantes sobre los cuerpos de agua, debido a que los peces están en actividad de consumidor primario hacia el zooplancton regulando el crecimiento, cabe mencionar que se no solo regula el tamaño de las comunidades zooplanctónicas, sino también de las estructuras, debido a que depredación sobre las grandes favorece el dominio de las pequeñas

Dado el nivel trófico, específicamente en el nivel oligotrófico la abundancia del plancton es mínima y el zooplancton replica de manera directa las interacciones del fitoplancton, cabe mencionar que en ambientes como los Eutróficos la abundancia de plancton es elevada, es decir que desfavorece la producción fitoplanctónicas y el zooplancton aumenta como fuente fundamental de alimentación (**Ortiz, González, & Peñaherrera, 2006**).

### 1.1.3. Aspectos Físico-Químicos

Los caracteres físico-químicos son indispensables para conocer la calidad del embalse y así por medio de la recolección de datos entender que está sucediendo con los niveles de contaminantes que se producen en los cuerpos de agua.

Acera del oxígeno disuelto (mg/L) según **Perdomo (2015)**, la cantidad de oxígeno que esta presente en el agua es el resultado de la fotosíntesis liberado por las plantas, y de otras mezclas del oxígeno de las corrientes del aire con el agua. A su vez este esta relacionado con la presión atmosférica cabe mencionar que es de forma directa,

pero de forma inversa esta relacionada directamente con la concentración de sales y la temperatura. El cálculo del oxígeno disuelto es importante por que sirve para identificar las condiciones aeróbicas de los ecosistemas, se puede utilizar métodos winkler, yodométrico, electrométrico para la obtención del mismo (**Navarro, Espinosa, & Gutiérrez, 2005**).

#### **1.1.3.1. Turbidez**

El análisis de turbidez se debe a las características indirectas de detección de sólidos en suspensión por las cuales dependen siempre de los parámetros para medición de aguas en plantas de tratamiento.

Las partículas insolubles y que dan color a las aguas van a depender de las causas de donde es alimentada y los desechos que son arrojados, debido a esto se ha indicado que las aguas tengan un método de absorción, según **Murillo (2009)**, la turbidez en las plantas de tratamiento es necesaria para la potabilización y el consumo humano dependiendo a los niveles que estos deben mantener.

El método más conocido para medición de la turbidez es por un equipo Turbidímetro en el cual las partículas de suspensión son medidas en un haz de luz.

#### **1.1.3.2. Temperatura**

La temperatura es un aspecto muy importante del parámetro fisicoquímico y biológico que está presente en los sistemas acuáticos. En un ecosistemas lacustre (embalse) dada las condiciones de nutrientes y actividad de la luz es necesaria para la condición biológicas para vivir, así como también de las condiciones geológicas. La temperatura es la condición más importante debido a que es un regulador de la calidad del agua y así también de la actividad biológica (**Escobar, Restrepo, & Martínez, 2005**). Una relación que favorece de mucho a los organismos acuáticos es la temperatura debido a que por medio de esta se realicen procesos como físicos, químicos, biológicos y químicos.

El factor clave es la temperatura, debido a que se encarga del oxígeno disuelto, como resultado de la dependencia de las reacciones bioquímicas y cinéticas de los organismos acuáticos, cabe mencionar que los cambios de temperatura podría afectar

a los especies acuáticas, ya que estas solamente pueden tolerar un cambio no brusco de la misma (Arbat, 2015).

#### **1.1.3.3. pH**

El pH es la medición fisicoquímica que indica los iones hidrogeno presentes en una cantidad de agua, o denominado también potencial de hidrogeno, las condiciones de pH pueden variar dependiendo del tipo de embalse ácido, neutro, alcalino (Afanador. G. 2007).

El pH del agua con la actividad de los microorganismos acuáticos debido al carbono, dando como resultado desequilibrios de CO<sub>2</sub> en el agua, además de la insolubilización de bicarbonatos alteran las concentraciones de pH, cabe mencionar que cumplen un papel fundamental los microorganismo fotosintéticos debido a que estos interactúan reduciendo el contenido de CO<sub>2</sub> que se encuentra disuelto en el agua, y la actividad de otros microorganismo sea heterótrofos que son responsables de la respiración producen un efecto inverso lo que hace que el pH de los cuerpos de agua sea alterado debido a la variación del pH medido (De & Averhoff, 2016).

Gracias a la ayuda de un pH metro debido a la norma Ecuatoriana NTE INEN 2169 (2013), es necesario para su uso la calibración del equipo previamente para la medición.

#### **1.1.3.4. Oxígeno Disuelto (O.D)**

La respiración de los organismos acuáticos y microorganismos de carácter aerobio y anaerobio necesitan de oxígeno para cumplir con las funciones vitales. Cabe mencionar que el oxígeno es un compuesto ligeramente soluble en agua. Para conocer la cantidad de O.D en las muestras de agua hay que analizar los aspectos bioquímicos de los organismos del agua a su vez también las características fisicoquímicas. El oxígeno disuelto es uno de los aspectos más importantes que hay que tener en cuenta para la analizar el grado de contaminación de los cuerpos de agua ya sea este provocado por la cantidad de compuestos arrojados a los ríos.

Los niveles de oxígeno disuelto se acepta dependiendo de la diversidad de la vida acuática estable son de 5 a 6 ppm, hay que tomar en cuenta que esta puede variar

dependiendo la ubicación, temperatura, presión, aguas frías, dependiendo a todo lo mencionado estas contienen más cantidad de O.D.

Según **Gaitán (2004)**, el laboratorio de IDEAM se puede analizar aplicando el método recomendado en el (**Standard Methods 19ed. 1995**). Ya sea de muestras de agua domesticas e industriales. Hay que tomar en cuenta que los agentes oxidantes y reductores porque estos provocan interferencia en las lecturas de los equipo, para este se necesita el método yodometrico tomando en cuenta las indicaciones de los contaminantes.

- Determinación de Oxígeno Disuelto

$$OD (mg/L) = \frac{g * N * 8000 * volumen winkler ml}{volumen real muestra (ml) * (volumen winker ml - 2)}$$

Donde g es el gasto de tiosulfato de Sodio  $Na_2S_2O_3$

N: Normalidad del  $Na_2S_2O_3$

#### **1.1.3.4.1. Hipoxia**

La hipoxia es conocida como una disminución de la saturación de oxígeno, ocurre naturalmente en ambientes costeros, y reduce el alcance metabólico, cabe mencionar que esto se da porque el agua no tiene la suficiente ventilación o el movimiento no es constante para que puede existir dicho intercambio, además de la actividad de los nutrientes y la biomasa de la zona.

Hay tomar en cuenta que la única manera para que las condiciones de Oxígeno disuelto seas mínimas en un cuerpo de agua tenga que ver con la actividad fotosintética de las plantas que son los productores primarios, la luz y la temperatura idónea para que la actividad acuática prospere (**Baptiste , Murillo, Isaza, & Charlotte , 2016**)

#### **1.1.3.4.2. Anoxia**

El termino anoxia se puede comparar con la incompatibilidad de la vida de los organismos, llegar al punto de anoxia, quiere decir que la concentración de oxígeno

debe ser mínima, por debajo del que todos los organismos pueden resistir provocando la muerte instantánea. Proviene de la hipoxia que es disminución de oxígeno disuelto.

#### **1.1.3.5. Materia orgánica**

La materia orgánica en descomposición de embalses o lagunas ha sido uno de los factores más predominantes para evaluar el estado eutrófico, debido a las características químicas de la columna de agua de los sedimentos obtenidos de los embalses (Gallo , Flórez , & Parra, 2014). Los sedimentos son parte fundamental de los comportamientos de los ecosistemas acuáticos, biológicamente se pueden analizar la calidad del agua, para así remediar y disminuir el estrés antropogénico a los cuerpos de agua evitando el deterioro de biodiversidad y remediación.

#### **1.1.3.6. Nitratos y fosfatos**

Los nitratos  $NO_3^-$  comúnmente encontrados de la descomposición de animales y vegetales, lixiviados y principalmente de soluciones químicas de fertilizantes nitrogenados por lo general en aguas naturales no sobrepasan de los 10 mg/L, aún más detalladamente estos no son mayores de 1mg/L (Carrera & Pérez, Salinidad, Fosfatos, Nitratos y problemas de infiltración, 2013).

Según Gallo , Flórez , & Parra (2014) el nitrógeno es un elemento de importancia en las comunidades de organismos en los cuales pueden sintetizar proteínas que son compuestos de todas las células, como ácidos nucleicos y amino azúcares, cabe mencionar que sin este suministro la tierra dejaría de existir, es decir el planeta tiene el 79 % de atmósfera del planeta, el nitrógeno en forma de amoníaco es asimilado por algunas bacterias del género nitrosomas, es decir bacterias nitrificantes. En el Ecuador el límite permisible de nitratos en el efluentes es de 10 mg/L (Ministerio del Ambiente, 2015).

El fosfato  $PO_4^-$  en los últimos años se ha visto como el aumento de fósforo en los cuerpos de agua afecta a la calidad del agua, el exceso de nutrientes en los embalses hace que se encuentre cubierta plantas acuáticas limitando de nutrientes (Carrera, Guerrón , Cajas, & González , 2020). A medida que el aumento de concentración



de fosfato en las aguas un gramo 1g podría provocar el crecimiento de 100 g de alga. Según **Monroy (2004)**, existen varios factores que permiten producir esta eutrofización en embalses fertilizantes del suelo eliminados por agua y viento, las excreciones de los animales o humanas, y los productos de limpieza o detergentes.

Los límites permisibles de este compuesto en el agua según **Ministerio del Ambiente (2015)**, cantidad permisible de fosfatos por NSF menor a 0.1-0.2 mg/L.

#### **1.1.4. Ubicación Geográfica**

La ubicación geográfica es importante para conocer el punto exacto donde se recolecta la muestra en el embalse así como otros análisis in situ de recolección de la muestra, estos factores son la velocidad del viento, la presión atmosférica, la altura sobre el nivel del mar. Equipos como GPS, anemómetro, barómetro (**INECC, 2004**).

##### **1.1.4.1. Embalse Agoyán**

El embalse de Agoyán se encuentra ubicado en la Sierra en la Provincia de Tungurahua desembocada del río Pastaza en la ciudad de Baños en el sector Ulba, con una altitud de 1651 m.s.n.m con una longitud de 239.00 m con un ancho entre 300 m y una profundidad de 35m, con una capacidad de volumen de 85,100,000 m<sup>3</sup>. Este embalse es parte de la hidroeléctrica Agoyán donde los ríos que desembocan son el Chambo y Patate, a su vez estos ríos son de la unión del sector de Pelileo y Patate del sector productivo de Pelileo y la parte agrícola donde se unen al río denominado por su propio nombre, del río Chambo proveniente de la zona central alimentada por la laguna de Colta y ríos de la zona. Este río termina su recorrido en la zona amazónica llegando a formar parte del río Amazonas (**CELEC.EP, 2013**).

##### **1.1.4.2. Embalse Pisayambo**

El embalse de Pisayambo se encuentra ubicado en la Sierra en la provincia de Tungurahua, denominada central hidroeléctrica Pucará, se encuentra ubicado en el parque nacional Llanganates a una altura de 3576 m.s.n.m, con 2,5 Km de ancho y 4 Km de largo, su volumen total de almacenamiento es de 100.706.000 m<sup>3</sup> su flora y fauna muy acordes a los páramos andinos, especies vegetales como romerillo de páramo, chuquiragua, Puliza, Pisag, y fauna como conejos y cacho de venado. Este

es conocido por que se encuentra en el páramo Ecuatoriano dónde la temperatura oscila entre 2 °C y 22° C, este a su vez esta alimentado por los ríos Roncador y Quillupagcha, estas desembocan al embalse por medio de obras de captación como son el Talatag, Quillopaccha y Agualongopungo (CELEC.EP, 2013).

#### **1.1.5. Niveles tróficos**

Los niveles tróficos nacen de la interpretación de la denominada cadena trófica alimentaria donde el rol que cumple es consumir o ser consumido, ésta también depende de la transferencia de calor a menudo del 80 al 90 % de energía es producto de la relación alimentaria, es decir cuanto menor es la cadena alimentaria mayor energía se encuentra disponible.

Un análisis donde el mayor consumidor sea el caso en los páramos andinos se encuentran varios peces endémicos. Según **Rodríguez (2008)**, en los paramos Andinos se encuentran la especie *Oncorhynchus sp.* conocida como trucha. La trucha es el mayor consumidor en el embalse, otro aspecto que hay que tomar en cuenta es el aumento del zooplancton que disminuye a fitoplancton, la predación del fitoplancton por el zooplancton y a su vez esta por los peces es la cadena trofica mas simple mayormente considerada en los embalses de los paramos andinos, ademas de las algas que se analizan dependiendo de las características de nutrientes ya que este podría aumentar o disminuir dependiendo de la disponibilidad de la cadena y de otras características del embalse, cabe mencionar que el nivel energetico es muy importante para los organismos que se alimentan de detritos (**Jorgensen & Vollenweider, 2000**).

##### **1.1.5.1. Productores primarios**

Las plantas verdes acuáticas y terrestres son los principales productores primarios, además de fitoplancton comprendido entre algunas algas y cianobacterias conocidas como algas verde-azules. El análisis de los embalses es de importancia para el reconocimiento de los niveles tróficos y entender de manera objetiva los puntos importantes como se desarrollan, debido a esto los organismos fotosintetizadores elabora moléculas ricas en energía (orgánicas) que posteriormente alimentan otros

organismos formando un ciclo (**Armendáriz, Fernández, Salgado, Gómez, & Urrieta, 2008**).

Existe una serie de mecanismos adoptados por las plantas en estrés provocado cuando el aire se encuentra limitado absorbiendo la luz y desdoblado moléculas orgánicas con el mismo para obtener energía necesaria para los procesos vitales procesos de consumo inverso de moléculas (**Condé, 2004**).

#### **1.1.5.2. Consumidores**

Los organismos consumidores son los que obtienen energía de otros organismos, dada las circunstancias de la cadena trófica de un ecosistema fluvial, es decir organismos acuáticos todos son omnívoros ya que el material vegetal así como también el biofilm están colonizados por organismos bacterianos, hongos y algunos invertebrados (**Echaniz & Vignatti, 2009**).

Los peces pequeños es decir larvas se alimentan de un filtrado de plancton organismos pequeños compuesto de animales y vegetales que se encuentran presentes en embalses o cuerpos de agua, los peces que son más grandes se alimentan de otros organismos o material vegetal.

#### **1.1.5.3. Descomponedores**

Estos son organismos que ayudan a la descomposición de plantas muertas o animales que caen al fondo del cuerpo de agua, es decir algunos microorganismos como bacterias descomponedores u hongos son los encargados de cumplir este rol. Este intercambio que se realiza en la descomposición es obtención de elementos más simples para que el fitoplancton pueda aprovechar estas compuestos para su crecimiento y cumplir su ciclo, A demás de que la alta cantidad de bacterias u hongos comprendidos en los organismos descomponedores es de gran importancia entender que estos tienen que ser limitado, debido a que el exceso de estos organismos antes mencionados podría ocasionar alteración con los procesos vitales de otros organismos (**Gómez , 2007**).

### **1.1.6. Contaminación de embalses**

Se conoce como polución a la contaminación ambiental causada por sustancias y desechos que generan un impacto para los seres vivos incluido el hombre ya sea por el mayor contaminante de efecto invernadero  $CO_2$ . Menciona **Casares, Giménez, Porta, Hundesa, & Girones (2005)**, debido a que la polución es un problema para el ambiente a su vez los contaminantes ingresan a los cuerpos de agua que se dan en países subdesarrollados por control reducido de agentes ambientales, estos ocasionados por basura que se suelen acumular en ríos, lagos, océano, a su vez también son ocasionados de modo de escurrimientos y desechos químicos, sales ácidos tóxicos, otros metales, desechos industriales que son arrojados indiscriminadamente en las afluentes reduciendo la vida acuática de los seres vivos que habitan esos medios.

Los contaminantes del agua ocasionan serios problemas en los ecosistemas debido a que el agua, aire, están en constante ciclo de evaporación y lluvias, ocasionando que los contaminantes se evaporen y suban al ambiente y provoquen afectación a las zonas esto es conocido como lluvia ácida (**Guadarrama, Kido, Roldan, & Salas, 2016**).

La contaminación de los embalses es producto de excesos de nutrientes en el agua como es el caso de nitrógeno y fósforo inducido por las actividades antropogénicas en este caso las principales causas de este exceso de nutrientes como la agricultura, residuos humanos urbanos, ganadería, Sector industrial, contaminación atmosférica, actividad forestal (**Márquez, Fernández, del Toro, Goheler, & Luederitz, 2005**). Los contaminantes que se encuentran en gran cantidad en los ríos, son producto de la agricultura existe muchas sustancias que son emitidos por la actividad de la mano del hombre, entre los más potenciales se encuentra los pesticidas sintéticos y nitratos en su gran mayoría. No solamente la afectación de la actividad antropogénica si no también los accidentes nucleares o radiológicos contaminando las tierras los productos agrícolas, debido a esto hay que tomar en cuenta todos los aspectos que ocasionan la contaminación desde cualquier punto de vista.

### **1.1.6.1. Estado trófico**

El estado trófico de los lagos ríos o embalses se hace referencia a ciertos parámetros que deben contener las aguas, es decir que se analizan dos factores fundamentales como es la clorofila, nitrógeno y fosforo para dar una idea de qué tipo de embalse contiene y la medición de los estados tróficos. Menciona **Montalvo , García , Almeida, Betanzos, & García (2014)**, el estado trófico de los cuerpos de agua está comprendido en los bosques que son de 1300 a 1800 metros sobre el nivel del mar, esta zona conocida como la de transición de la flora y fauna representativas se encuentra intervenida por su mayoría las actividades de deterioro humano o conocidas también como actividades antropogénicas. La eutrofización de los embalses respecto a la productividad biológica se establecen en estados, oligotrófico, mesotrófico, eutrófico, estos desde el nivel más bajo.

#### **1.1.6.1.1. Oligotrófico**

Se denomina así a un cuerpo de agua que no contiene suficientes nutrientes en el embalse dado el termino de condición baja, estas aguas son claras debido a la limitada cantidad de algas crecen en el estas aguas, son muy bien utilizadas para consumir, otra característica de estos cuerpos de agua es que son en climas fríos paramos Ecuatorianos donde los peces como truchas pueden vivir debido a que tienen alta cantidad de oxígeno.

#### **1.1.6.1.2. Mesotrófico**

Estos se denominan intermedios debido a que contienen un nivel entre Oligotrófico e Eutrófico de nutrientes para los organismos existentes en estos embalses, estos son de aspecto claro transparente con una variedad de plantas sumergidas pero de limitado crecimiento.

#### **1.1.6.1.3. Eutrófico**

Se denomina así debido a que su cuerpo de agua es de alta productividad biológica, ricos en nitrógeno y fosforo y por esto son de fauna extensa, debido a su niveles de oxígeno crecen gran cantidad de plantas, cuando estos cruzan la excesiva cantidad de

nutrientes produce el debate de respiración por la densa vegetación (**González, Ortaz, Peñaherrera, & Matos, 2004**).

#### **1.1.6.1.4. Hipertrófico**

Se denomina aquel lago que sufre excesivo crecimientos de plantas y algas por su condición enriquecida de nutrientes, a su vez son muy opacos debido a la densa capas de plantas que crecen obteniéndose una visibilidad muy limitada de 1.3 pies. En su concentración de fosforo se encuentran entre 100  $\mu\text{g/L}$  y de 40  $\mu\text{g/L}$  de clorofila (**Ruiz, 2017**).

Los análisis más relevantes para analizar los embalses son la temperatura, oxígeno disuelto, pH, Secchi, clorofila a, fosfatos, nitratos, materia orgánica, estos parámetros son indispensables para determinar los embalse que nivel eutrófico (**Secretaria Nacional del Agua, 2012**)

#### **1.1.6.2. Causas de eutrofización**

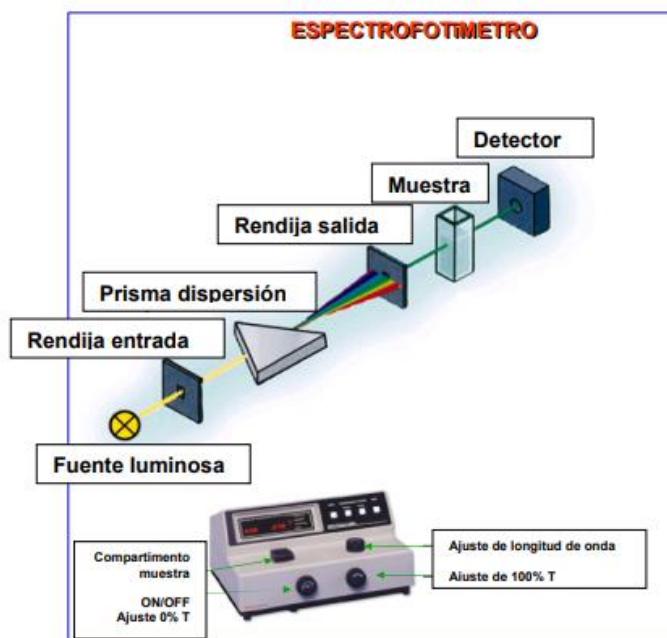
La Eutrofización tiene dos aspectos de contaminación ya sea por origen natural o antropogénico, este es causado por las cantidades excesivas de nutrientes a manera que la descomposición causa un descenso de los niveles de oxígeno en el agua produciendo así la muerte de especies de peces lo que limita a despojarlos del oxígeno provocando su muerte, los componentes o sustancias que necesitan los organismos para poder vivir son el carbono, nitrógeno, fosforo (**Informe, 2012**). Los componentes de fuente de carbono nitrógeno se encuentran más fácilmente de forma natural, en comparación al fosforo siendo este el regulador del crecimiento de las algas según **Martínez, Ortega, & Ramos (2014)**, la proliferación del fitoplancton en la superficie de los embalses hace que el agua se torne opaca y turbia, lo que permite que se produzca muertes por la disponibilidad de oxígeno es decir se consume la cantidad de O.D reduciendo considerablemente la especies que habitan dicho lugar. El análisis Secchi es considerado necesario para saber el estado en que se encuentra el cuerpo de agua, debido a la visión del embalse en metros sabiendo que si es un embalse con alta cantidad de nutrientes disminuiría la visualización por el crecimiento excesivo de plantas.

### 1.1.7. Espectrofotometría UV visible

La espectrofotometría UV Visible es el método más indicado para la obtención de la absorbancia de diferentes sustancias con diferentes concentraciones, factores importantes como la cuantificación de contaminantes en salud, calidad del agua, calidad de alimentos (Martín & Castañeda, 2016).

El espectro de la luz visible es la descomposición de un rayo de luz des en diferentes rangos determinados por su variación de color a diferentes longitudes de onda, cuando el objeto a analizar emite un reflejo proveniente de un pigmento mientras el otro rango es absorbido, en síntesis el método espectrofotométrico es una técnica utilizada mayormente en química analítica.

Este se basa en el estudio la interacción de la radiación electromagnética con la materia, también se encarga de medir la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda analizada, a su vez se encarga del estudio para identificación de sustancias químicas y la determinación de la concentración todo esto dependiendo del análisis cuantitativo (Martinez, 2012).



**Figura 2. Partes del espectrofotómetro.** Partes fundamentales del espectrofotómetro, con las que se puede medir por medio de un haz de luz que choca con la sustancia o molécula a analizar dependiendo de la concentración de la

muestra, para la obtención de la absorbancia cuantitativamente (**Duymovich, Acheme, Sesini, & Mazziotta, 2005**).

#### **1.1.7.1. Espectro de Luz**

Un espectro de luz o de absorción depende de las estructuras electrónicas del cual se distinguen del resto de la molécula, por consiguiente es la luz absorbida en función de la longitud de onda, que se puede medir, según las ondas del espectro que constituye una señal para identificar la sustancia o molécula a medición.

El espectro de luz para la determinación de la clorofila en aguas, donde el factor luz hace que el agua tome un color de acuerdo a la composición óptica de absorción y dispersión, es importante para determinar los estados de las células de manera fisiológica, y análisis para la interpretación del color de los cuerpos de agua debido a las comunidades que habitan estos (**Ávalos, Nuñez, Quijano , Lara, & Silva , 2015**).

#### **1.1.7.2. Absorbancia**

En un espectrofotómetro lo que mide es la intensidad, la cual se denomina absorbancia  $A$ , una de las ventajas de la absorbancia es que es directamente proporcional a la concentración de sustancias o moléculas de la muestra, es decir cuando la luz pasa por las cubetas dependiendo de la intensidad de la luz denominada  $I$ , según **Hernández, Aguirre, & Palacio (2011)**, que recorre una distancia  $dL$  según la ecuación integrando:

$$dI = -k \cdot [B] \cdot I \cdot dL$$

$$\frac{dI}{I} = K \cdot [B] \cdot dL$$

$$\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = K \cdot [B] \cdot \int_0^L dL$$

$$\ln \frac{If}{I_0} = K \cdot [B] \cdot L$$

$$If = I_0 \cdot e^{-K \cdot [B] \cdot L}$$



$$A = \ln \frac{I_0}{I_f} = K \cdot [B] \cdot L$$

### 1.1.7.3. Transmitancia

La Transmitancia es la diferencia que existe entre la cantidad de luz que se transmite cuando ha llegado al detector siempre y cuando la luz ha atravesado la muestra. En cambio la absorbancia es la muestra que indica la cantidad de luz absorbida por la misma definiendo como la inversa de la Transmitancia que sería  $1/T$  la cual se puede analizar en la ecuación V (Calvo & Castañeda, 2016).

### 1.1.7.4. Ley de Lambert-Beer

La ley de Lambert y Beer fue descubierta por el astrónomo y matemático Pierre Bouguer en el año 1729, así hasta August Beer en 1852, que propone que es una ley matemática el cual determina como la materia absorbe la luz. Este proceso de análisis del método espectrofotométrico UV-VIS se interpreta con el análisis básico del ojo humano un proceso físico para describir la absorción de un espectro por medio de la luz visible, hay que tomar en cuenta los conceptos básicos como es espectro de luz, absorbancia y pigmentos (Rodríguez & Nadeau, 2015).

La concentración es uno de los aspectos más importantes a tomar en cuenta con la ecuación de Lambert y Beer, debido al número de materiales que absorben de acuerdo a la trayectoria, otro aspecto a tomar en cuenta es la distancia que tiene que recorrer la luz dentro de la muestra a analizar conocida también como distancias del trayecto óptico, y por último no menos importante la probabilidad del fotón pueda absorberse por el material denominado coeficiente de emisión.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.2. Objetivo General**

- Determinar la clorofila A como indicador de polución en los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo por el método espectrofotométrico UV visible.

### **1.2.1. Objetivos Específicos**

- Cuantificar la concentración de clorofila A, como principal componente en los procesos metabólicos de los organismos acuáticos, para estimar el nivel trófico.
- Determinar la disponibilidad de oxígeno disuelto en los embalses para el estudio de la descomposición de la materia orgánica.
- Analizar mediante un diseño factorial AxB si existe diferencias significativas de clorofila A en los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo.

## **1.3. Hipótesis**

### **1.3.1. Hipótesis nula**

No existe diferencia significativa en cuanto a la concentración de clorofila A entre los puntos de muestreo y la ubicación de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo.

### **1.3.2. Hipótesis alternativa**

Existe diferencia significativa en cuanto a la concentración de clorofila A entre los puntos de muestreo y la ubicación de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo.

## **1.4. Señalamiento de las variables de la hipótesis**

### **1.4.1. Variables dependientes**

- Clorofila A.

### **1.4.2. Variables independientes**

- Punto de muestreo, ubicación de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo.

## CAPITULO II

### 2.1.Materiales

#### 2.1.1. Material de Laboratorio

- Material de vidrio
- Coolers
- Probetas 10, 20, 50, 100, 250 ml
- Matraces Erlenmeyer 10, 50, 100 ml
- Vasos de precipitación de 10, 50 ml
- Pipetas
- Pinzas
- Botellas ámbar 200 ml
- Millipore de 0.45  $\mu\text{m}$
- Botellas centrifuga 15 cm
- Botellas Wincler
- Cinta adhesiva
- Cubetas 1 cm
- Papel aluminio

#### 2.1.2. Equipos

- Botellas de Niskin
- Bomba al vacío
- pH metro
- Termómetro
- Disco Secchi
- Gps
- Turbidímetro
- Centrifuga
- Refrigerador 4°C
- Programa SPSS

#### 2.1.3. Reactivos

- Carbonato de magnesio
- Ácido clorhídrico 1M

- Acetona 90%
- Sulfato manganoso
- Tiosulfato de sodio
- Yoduro de potasio
- Ácido sulfúrico concentrado
- Indicador almidón

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1.1. Muestreo y transporte de materiales**

Las muestras se trataron mediante las normas internacionales de muestreo y transporte de materiales según **INECC (2004)**, para oxígeno disuelto, así como también el método para determinar la clorofila A por espectrofotometría UV-Visible (Kouril, Ilík, & Naus, 1999). Las muestras de clorofila A se hicieron con una diferencia de horas para no variar las condiciones meteorológicas para la obtención de las réplicas.

### **2.2.1.2. Clorofila a en presencia de feofitina**

La recolección de las muestra se realizará en 2 embalses con el método APHA 10200H chlorophyll, para evaluar la clorofila A y calidad de los cuerpos de agua, así también la estimación del nivel trófico, estos son pertenecientes a la zona central ecuatoriana ubicados en la provincia del Tungurahua, la muestra 1 en el cantón Baños de Agua Santa- Ulba y la muestra 2 en el cantón Pillaro- Pualo Llanganates.

Para cada embalse se establecerá 5 puntos que se encontraron ubicados en la zona horizontal cubriendo la mayor parte posible del embalse. Los parámetros ambientales se recolectaron en el mismo punto las muestras en horas luego de la recolección de las muestras para las réplicas y sin cambiar las condiciones meteorológicas, siendo estos: ubicación geográfica, presión, altura, velocidad del viento, temperatura, pH, Disco Secchi, muestra del embalse para clorofila A y sedimentos.

### **2.2.1.3.Filtración**

Se empleó un filtro de fibra de vidrio (Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$ ; diámetro de 47 mm) con la ayuda de una bomba al vacío, una vez pasada la muestra por los filtros, se le extrajo toda la humedad posible, se los colocó en un tubo de centrifuga que sean resistentes a disolventes con una medida exacta de volumen de muestra a 10 ml, luego se los cubrió con papel aluminio para evitar la fotodegradación, la muestra se preservaron a una temperatura de 4°C con hielos por lo menos dos horas y posteriormente se colocó en una centrifuga con el objetivo de romper las celular y que los pigmentos sean liberados más fácilmente.

### **2.2.1.4.Extracción**

Para temperizar y llegar a la extracción, se necesitó los filtros a temperatura ambiente y se añadió 6 ml de acetona al 90% con una micropipeta graduada ya que se debe saber exactamente la cantidad vertida en el mismo para el cálculo de la ecuación para la obtención de clorofila. Se refrigeró al tubo con un tiempo no inferior a 2 horas y no mayor a 24 h, en el cual debe estar alejado de la luz.

### **2.2.1.5.Centrifugación**

La extracción se realizó a 2500 revolución por minuto (r.p.m) durante 5 minutos para la extracción total del material particulado, y el extracto líquido se trasvaso con cuidado, donde el sobrenadante se colocó en otro tubo de centrifuga de 10 ml de capacidad evitando que se trasvase acetona con restos del filtro. Se utilizó un blanco el cual contenía acetona al 90%.

Las absorbancias se las realizó a una L.O de 664, 665 nm, se realizó las mediciones de clorofila acidificando la muestra, debido a que puede comprender lecturas erróneas de feofitina A. El método para la obtención de clorofila A se realizó con la formula acidificando la muestra (**APHA, 1995**).

### **2.2.1.6.Acidificación y lectura de la muestra en el espectrofotómetro**

La acidificación se da por la sobrestimación de presencia de pigmentos como es el caso de feofitina A, los cuales absorben a la misma longitud de clorofila A. Lo que

conllevó a acidificar la muestra perdiendo el átomo de magnesio dando como resultado la feofitina A. es decir que la clorofila A pura es convertida a feofitina A pura por la acción del HCl.

Para esto las absorbancias obtenidas se deberán leer en un espectrofotómetro Hach DR6000, indicaciones del espectrofotómetro en el punto 1.1.5, a 750 nm acidificando y sin acidificar la muestra con lecturas de 664 y 665 nm, una vez obtenidas las absorbancias se deberá restar los valores dependiendo al APHA 10200H chlorophyll.

#### **2.2.1.6.1. Diferencia entre Absorbancias**

$$(664 - 750) - (665_a - 750_a)$$

#### **2.2.1.6.2. Corrección de la absorbancia mg/m<sup>3</sup>**

$$\text{Clorofila } a \left( \frac{\text{mg}}{\text{m}^3} \right) = \frac{26,7(664 - 665)V1}{V2.L}$$

**26.7:** corrección de absorbancias = **A.K:** A coeficiente de absorbancia para Cl.a a 554 nm: 11,0; K: corrección por acidificación: 2,43

664 y 665: Densidad Óptica corregida

**V1:** volumen del extracto en litros

**V2:** volumen de la muestra en m<sup>3</sup>

**L:** recorrido de luz de la cubeta en cm

Las muestras se las obtuvieron con los errores de interferencias antes mencionadas las cuales se obtuvo los valores de absorbancias respecto a la longitud de onda medida, para eso se calculó mediante la ecuación las lecturas del equipo dando el valor real de clorofila A.

#### **2.2.2. Oxígeno disuelto**

Los niveles de oxígeno disuelto se aceptan dependiendo de la diversidad de la vida acuática estable, que puede ser de 5 a 6 ppm, hay que tomar en cuenta que esta puede variar dependiendo la ubicación, temperatura, presión, aguas frías, a todo lo

mencionado estas contienen más cantidad de O.D dependiendo de las condiciones reales del lugar. Según **Gaitán (2004)**, el O.D. se puede analizar aplicando el método recomendado en el **Standard Methods (1995)**, ya sea de muestras de agua domesticas e industriales.

### **2.2.2.1.Método yodometrico**

El método Winkler o volumétrico, empieza adicionando una muestra de agua previamente colocada en una botella Winkler con 2 ml de solución de sulfato de manganeso MnSO<sub>4</sub> y 2 ml de solución álcali yoduro nitruro conocida como (ácida), estos se mezclan por inversión, dejar sedimentar por 2 minutos, seguidamente se añade 2 ml de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, luego de realizar la mezcla por inversión. Seguidamente, tomar una alícuota de 100 ml de la muestra tratada, y colocar en un matraz tiosulfato de sodio Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para la titulación correspondiente, titular hasta coloración marrón pálido, y adicionar una pequeña cantidad de almidón con la cual tomara un color azulado opaco, luego agitar y continuar la titulación hasta desaparición de color azulado, finalmente anotar el volumen gastado en la titulación para emplearlo en la fórmula (**NTE INEN 1106. 2013**).

#### **2.2.2.1.1. Cálculo de la corrección por pérdida de muestra desplazada por reactivos**

*v. muestra corregida (ml)*

$$= \frac{\text{volumne muestra orginal}(ml) * \text{volumen de la botella}}{\text{volumen de la botella} - \text{volumen total de lo los reactivos}}$$

#### **2.2.2.1.2. Determinación Oxígeno disuelto en mg/L**

$$OD (mg/L) = \frac{g * N * 8000 * \text{volumen winkler ml}}{\text{volumen real muestra (ml)} * (\text{volumen winker ml} - 2)}$$

g: gasto de tiosulfato de sodio Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

N: Normalidad del Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

### 2.2.3. Diseño Factorial AxB

El diseño factorial es una de las propuestas investigativas más prescindibles, debido a que se manipulan dos o más variables independientes, dependiendo de la función de la cantidad de factores o variables de tratamiento, simbolizadas en diseños de tratamientos de tratamientos o conocidas AxB, si en dependencia de análisis se necesita de más factores con niveles se utilizaría un diseño factorial AxBxC.

El diseño factorial AxB es el mejor método para analizar si los factores influyen en la respuesta, dependiendo de este análisis saber dónde radica las diferencias, es por esto que se escogió debido a que las interacciones se analizan de mejor manera como existen o no diferencias entre los embalses a estudiar. Un diseño es aquel que se puede analizar todas las posibles combinaciones de los factores con los niveles, es decir con sus respectivas interacciones cruzadas.

Para el análisis de los datos se realizó un Diseño factorial AxB en el programa IBM SPSS Statistics 21, donde el factor a  $f_a$ ,  $A_0$  será Agoyán y  $A_1$  será Pisayambo y el factor  $f_2$ , serán los 5 puntos de muestreo al cual se denominará B desde  $B_0$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $B_4$  (puntos de muestreo) con dos replicas para para cada uno, con 10 datos para cada replica. Si se rechaza la hipótesis, se realizara una prueba de intersección Tukey para el análisis complementario del estudio. Respecto a la siguiente tabla del diseño factorial como se estima las variables y los factores.

**Tabla 1:** Datos de los factores y niveles del diseño AxB

	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
<b>A<sub>0</sub>B<sub>0</sub></b>	X	X
<b>A<sub>0</sub> B<sub>1</sub></b>	X	X
<b>A<sub>0</sub>B<sub>2</sub></b>	X	X
<b>A<sub>0</sub>B<sub>3</sub></b>	X	X



<b>A<sub>0</sub>B<sub>4</sub></b>	X	X
<b>A<sub>0</sub>B<sub>5</sub></b>	X	X
<b>A<sub>1</sub>B<sub>0</sub></b>	X	X
<b>A<sub>1</sub>B<sub>1</sub></b>	X	X
<b>A<sub>1</sub>B<sub>2</sub></b>	X	X
<b>A<sub>1</sub>B<sub>3</sub></b>	X	X
<b>A<sub>1</sub>B<sub>4</sub></b>	X	X

Con respecto al programa IBM SPSS Statistic 21 hay que ubicar en las secciones correspondientes los factores y los niveles para así determinar las hipótesis según el requerimiento del estudio y según las tablas de los resultados del programa se procedió a la interpretación de los mismos.

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis y discusión de los resultados

##### 3.1.1. Determinación de la clorofila A

La determinación de la clorofila A es el parámetro más importante para medir la contaminación, debido a que ayuda a evaluar la cantidad de la biomasa producida en el embalse, por lo tanto está directamente relacionada con la eutrofización y el nivel trófico, dependiendo las condiciones de vida de los organismos acuáticos, y de otros factores que se relacionan con la polución (**Martín & Castañeda, 2016**).

Cuantificar la clorofila A ayuda a entender cómo es que los embalses en las zonas de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo tienen o no un desequilibrio provocado por medio de las actividades antropogénicas respectivamente, cabe mencionar que son dos embalses con características muy diferentes para poder entender si existe o no diferencias en la captación de la clorofila antes mencionada. Los indicadores de polución serán los parámetros físicos y químicos de la tabla N°8 así como también de las coordenadas in situ que se evidenciara en la tabla N°4, a estos adicionando datos de materia orgánica, además de fosfatos y nitratos en la tabla N° 6, 7 respectivamente a los embalses, cabe mencionar que el propósito importante es saber el grado de contaminación de los cuerpos de agua con la ayuda de estudiantes de post grado que evidenciaron parámetros de la tabla N° 6, 7.

Las absorbancias y mediciones para la determinación de la clorofila A se obtuvieron por medio del método espectrofotométrico UV visible, estos datos se muestran en la tabla N° 2, con el error de la acidificación eliminando la feofitina A, para la obtención de clorofila A pura.

**Tabla 2:** Corrección de absorbancias para determinar la clorofila A

<b>CÓDIGO DE MUESTRA</b>	<b>VOLUMEN DE MUESTRA (ml)</b>	<b>ABSORBANCIA (664nm)</b>	<b>ABSORBANCIA (665nm)</b>	<b>ABSORBANCIA (664nm) R</b>	<b>ABSORBANCIA (665nm) R</b>
P <sub>1</sub> -A	500	0.019	0.009	0.180	0.0595
P <sub>2</sub> -A	500	0.131	0.097	0.382	0.0251
P <sub>3</sub> -A	500	0.016	0.016	0.086	0.067
P <sub>4</sub> -A	500	0.109	0.082	0.271	0.0174
P <sub>5</sub> -A	500	0.014	0.014	0.030	0.012
P <sub>1</sub> -P	500	0.019	0.011	0.130	0.041
P <sub>2</sub> -P	500	0.147	0.115	0.326	0.033
P <sub>3</sub> -P	500	0.009	0.010	0.019	0.019
P <sub>4</sub> -P	500	0.020	0.016	0.047	0.014
P <sub>5</sub> -P	500	0.076	0.064	0.144	0.043

En esta grafica se puede determinar la cantidad de clorofila A, por medio de la ecuación en el punto 2.2.1.6.2.

### **3.1.1.1. Corrección de la absorbancia mg/m<sup>3</sup>**

Constante= 26.7

Volumen extracto=10ml=0.01L

Volumen de muestra=500ml=0.0005 m<sup>3</sup>

Ancho de la celda=1cm

$$\text{Clorofila } a \left( \frac{mg}{m^3} \right) = \frac{26,7(664 - 665)V1}{V2.L}$$

$$\text{Clorofila } a \left( \frac{mg}{m^3} \right) = \frac{26,7(0.019 - 0.009)0.01 L}{0.005m^3 .1cm}$$

$$\text{Clorofila } a \left( \frac{mg}{m^3} \right) = 5.34 \frac{mg}{m^3}$$

**Tabla 3:** Concentración de clorofila A

<b>CÓDIGO DE MUESTRA</b>	<b>Clorofila A (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>Replica de clorofila A (mg/m<sup>3</sup>)</b>
<b>Agoyán (Px-A)</b>		
<b>Pisayambo (Px-P)</b>		
<b>P<sub>1</sub>-A</b>	5.34	6.43
<b>P<sub>2</sub>-A</b>	18.156	19.03
<b>P<sub>3</sub>-A</b>	0	1.03
<b>P<sub>4</sub>-A</b>	14.418	13.45
<b>P<sub>5</sub>-A</b>	0	0.97
<b>P<sub>1</sub>-P</b>	4.272	4.54
<b>P<sub>2</sub>-P</b>	17.088	15.65
<b>P<sub>3</sub>-P</b>	0	0
<b>P<sub>4</sub>-P</b>	2.136	1.76
<b>P<sub>5</sub>-P</b>	6.408	5.43
<b><math>\bar{x}</math></b>	7.890	5.73

En esta tabla se analizó los valores de la concentración de clorofila A de las dos replicas, tiene un valor de media notorio medido en la tabla N°3, la clorofila A del embalse Agoyan es un valor considerable de biomasa encima de la media, por lo que se puede evidenciar que el embalse Agoyán es más contaminado que Pisayambo, es decir, que la concentración de clorofila A en cantidad de biomasa se estima que sea menor que en Pisayambo. Según **Bonanse, Ledesma, Rodriguez, & Sanchez (2012)**, la cantidad de clorofila A, mide la concentracion de fitoplancton presente en los emblases y tambien determina la biomasa que se muestras en los cuerpos de agua respecto a la contaminacion.

**Tabla 4:** Ubicación geográfica de los muestreos en el embalse Agoyán y Pisayambo

	Agoyán		Pisayambo	
	Coordenada	Latitud/longitud	Coordenada	Latitud/longitud
<b>P<sub>1</sub></b>	079129 89845287	SSW184° / 1553 msnm	079036 09880508	ESG 146° / 3363 msnm
<b>P<sub>2</sub></b>	079125 69845331	NE 055° / 2089 msnm	078997 38988057	SSE 166° / 5363msnm
<b>P<sub>3</sub></b>	079120 57843201	SSW 182°/1535 msnm	078976 99880595	SSE 162° / 5363 msnm
<b>P<sub>4</sub></b>	079130 67984305	SSW 098° / 1578 msnm	079001 89880874	SSE 163° / 3778 msnm
<b>P<sub>5</sub></b>	079148 67894324	NE 089° / 2090 msnm	079010 98885670	ESG 176° / 3776 msnm

La ubicación geográfica nos ayuda a determinar el punto exacto donde se realizó la recolección de la muestra, estos es importante debido a que las muestras no están distribuidas en un solo punto del embalse, es decir a lo largo y ancho del embalse se puede dibujar una línea intermedia que ayude a la recolección de la muestra (**INECC, 2004**).

Los puntos de muestreo fueron importantes, debido a que se puede ubicar con el GPS el lugar de recolección de las muestras, para la cual es necesario ubicar las coordenadas precisas en los embalses.

En la tabla N°5 se aprecian los Valores limites de clasificación trófica, y con la estimación de la concentración media de clorofila A presentada en la tabla N°3 se muestra claramente que los embalses Agoyan y Pisayambo estan en la categoria Eutrofico y Mesotrófica, respectivamente, es decir, las características del agua en el nivel Mesotrofico son de aspecto claro, transparente, con una variedad de plantas sumergidas pero de limitado crecimiento, mientras que, en el nivel Eutrófico se tiende a limitar de oxígeno disuelto, debido al crecimiento en gran cantidad de plantas, cuando estos cruzan la excesiva cantidad de nutrientes, se produce el debate de respiración por la densa vegetación (López & Madroño, 2015). Se puede evidenciar otros parámetros que fueron parte de la colaboración de estudiantes de post grado, quienes midieron materia orgánica, así como también de fosfatos y nitratos para determinar las causas de contaminación de los embalses Agoyán y Pisayambo en la tabla N°6 y 7.

**Tabla 5:** Valores limite de OECD para clasificación trófica

<b>Categoría trófica</b>	<b>PT medio (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>Cl-a media (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>Cl-a Máx (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>DS medio (m)</b>	<b>DS min (m)</b>
<b>Ultraoligotrófico</b>	<4	<1	<2.5	>12	>6
<b>Oligotrófico</b>	<10	<2,5	<8	>6	>3
<b>Mesotrófico</b>	10-35	2,5-8	8-25	6-3	3-1,5
<b>Eutrófico</b>	35-100	8-25	25-75	3-1,5	1,5-0,7
<b>Hipertrófico</b>	>100	>25	>75	<1,5	<0,7

(Ledesma, Bonansea, Rodríguez , & Delgado, 2013).

### 3.1.2. Determinación de oxígeno disuelto

Se determinó la disponibilidad de oxígeno disuelto con la ayuda el método Winkler o yodometrico evidenciado en la sección 2.2.2, en los embalses Agoyán y Pisayambo, para dar una idea de la descomposición de la materia orgánica, con la adición de

otros factores como fosfatos y nitratos, y materia orgánica, debido a que estas características brindan una fuente de nutrición de los organismos acuáticos, es decir que la determinación de estos parámetros tienen una relación con clorofila A y la descomposición de la materia orgánica provocada por hongos o bacteriurias degradadoras.

**Tabla 6:** Parámetros de Agoyán

	<b>Embalse Agoyán</b>					
	<b>Materia orgánica (%)</b>	<b>Oxígeno Disuelto (mg/L)</b>	<b>Nitratos (mg/L)</b>	<b>Fosfatos (mg/L)</b>	<b>Cl-a (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>R1 Cl-a (mg/m<sup>3</sup>)</b>
P <sub>1</sub> -A	1.007	3.35	0.200	0.448	5.340	6.434
P <sub>2</sub> -A	1.037	3.25	0.390	0.487	18.156	19.034
P <sub>3</sub> -A	1.139	3.25	0.200	0.498	0.0	1.032
P <sub>4</sub> -A	2.406	3.09	0.200	0.563	14.418	13.454
P <sub>5</sub> -A	0.409	3.07	0.200	0.498	0.0	0.970
$\bar{x}$	1.20	3.202	0.240	0.500	7.58	8,18

(Sánchez, 2020) (Muyon , 2020)

En esta tabla N°6 se demuestra que la relación para Agoyán, la clorofila A alcanza un valor superior de 18.156 (mg/m<sup>3</sup>), con un nivel de oxígeno de 3.25 (mg/L) cuantificados, en el punto P<sub>2</sub>-A, no obstante, este valor de oxígeno disuelto es superior en el punto P<sub>1</sub>-A, cabe mencionar que este parámetro debe estar presente en una cantidad no menor a 5 o 6 ppm o mg/L, para que sea suficiente para todos los organismos acuáticos, si este rango disminuye <3 ppm es perjudicial para el ecosistema y los organismos presentaran hipoxia, una disminución de la concentración de oxígeno disuelto (Amado, Pérez, Ramírez, & Alarcón, 2016). Datos que se evidencian en la tabla N°6, en la cual se observa que el OD es inferior a 5

ppm. El valor establecido por la **NC-25 (1999)**, para agua de buena calidad es  $>5\text{mg}/\text{LO}_2$ , todo está relacionado con la cantidad de la materia orgánica en descomposición, es decir que si existe según la tabla N°6 un valor promedio de 3.202 mg/L de OD, y de materia orgánica presenta una media de 1,20%, por consiguiente los resultados están variando por algún factor que está interviniendo en la respuesta del oxígeno comparando con la materia orgánica, si es que el oxígeno disuelto disminuye, la tasa de materia orgánica debe aumentar, esto se da porque en Agoyán existen factores que afectan directamente al embalse, como son los desechos arrojados a los ríos pertenecientes a las zonas textiles de Tungurahua, también del camal de Baños que utilizan detergentes para la limpieza del lugar y más desechos provocados por la actividad antropogénica, la temperatura, superficie de contacto, salinidad, presencia de tensoactivos, debido a que estos forman al nitrógeno orgánico amoniacal (**Rojas & Espinosa, 2015**). Estos factores de interferencia están provocando un estrés a los organismos acuáticos, los cuales están provocando la contaminación en el embalse Agoyán.

**Tabla 7:** Parámetros de Pisayambo

	<b>Embalse Pisayambo</b>					
	<b>Materia orgánica (%)</b>	<b>Oxígeno Disuelto (mg/L)</b>	<b>Nitratos (mg/L)</b>	<b>Fosfatos (mg/L)</b>	<b>Cl-a (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>R1 Cl-a (mg/m<sup>3</sup>)</b>
P <sub>1</sub> -P	1.573	3.18	0.200	0.523	4.272	4.543
P <sub>2</sub> -P	1.392	3.15	0.200	0.516	17.088	15.654
P <sub>3</sub> -P	1.855	3.03	0.200	0.452	0.0	0.0
P <sub>4</sub> -P	2.407	3.20	0.200	0.469	2.136	1.763
P <sub>5</sub> -P	4.976	3.14	0.200	0.459	6.408	5.430
$\bar{x}$	2.44	3.14	0.200	0.484	5.981	5.480



**(Sánchez, 2020) (Muyon , 2020)**

Mediante el análisis de la tabla N 7 en comparación con la tabla N 6, es más evidente que existe mayor cantidad de materia orgánica producto de la descomposición, es decir 2,44% de materia orgánica, con un oxígeno disuelto mayor de 3,14 mg/L, dado el límite permisible del oxígeno disuelto es  $> 5\text{mg/L}$ , da una idea de que este oxígeno es menor, pero las comunidades se encuentran en equilibrio gracias a la estimación de los embalses en la categoría Mesotrófico. Según **Montalvo, y otros (2008)**, el OD es importante para los procesos metabólicos de los organismos acuáticos, siendo la presión y la temperatura un parámetro que limita al oxígeno, además de la superficie de contacto, la salinidad y otros aspectos.

En comparación de los factores intervinientes en los embalses Agoyán y Pisayambo, los nitratos y fosfatos, tienen relación directa con la materia orgánica en descomposición, debido a que estos compuestos actúan nutriendo al embalse, cabe mencionar que para nitratos el límite permisible es de  $<1\text{mg/L}$  y para fosfatos es 0.1-0.2 mg/L (Sharpley & Withers, 1994). Esto ocasiona el crecimiento excesivo de algas, lo cual es perjudicial para el resto de organismos que se desarrollan, debido a que estos nutrientes son asimilados más fácilmente, además de limitar de oxígeno y de luz para el resto de comunidades acuáticas (**Bonanseña, Ledesma, Rodríguez, & Sánchez, 2012**).

Estos índices de nitratos se encuentran en una baja concentración en los dos embalses respectivamente a las tablas N 6,7, cabe mencionar que los fosfatos se encuentran sobre el límite permisible, debido a que el fósforo es el componente de la degradación de la materia orgánica, es decir el alto índice de fosfatos en el agua de Agoyán y Pisayambo se debe al factor de descomposición, hay que recalcar que en Agoyán este valor es superior por la utilización de detergentes y fertilizantes que son arrojados a los ríos, aumentando la muerte de las especies del embalse. Según **Monroy (2004)**, a medida que aumenta la concentración de fosfato en las aguas un gramo, podría provocar el crecimiento de 100 g de algas. En cambio en Pisayambo es más difícil el acceso de estos fertilizantes y detergentes, por lo que se especula que la alta concentración de fosfatos, se debe a la alta cantidad de biomasa y organismos acuáticos que viven en ciclo de la cadena alimenticia, denominada cadena trófica,

debido a que se encuentra en un estado Mesotrófico donde las condiciones son normales y equilibradas (**Hernández, Aguirre, & Palacio, 2011**).

**Tabla 8:** Parámetros in situ de Agoyán y Pisayambo

	<b>Parámetro</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>
<b>Embalse Agoyán</b>	<b>Secchi</b>	12	8	5	6	3
	<b>Visualización Secchi (m)</b>	1	0.8	0.70	0.50	0.15
	<b>v (m/s)</b>	2.4	2.2	2.3	2.4	2.6
	<b>P (Hpa)</b>	841.4	841.3	841.2	841.4	841.3
	<b>T (°C)</b>	17.7	16	16.1	15.6	15.1
	<b>pH</b>	8.38	8.45	8.15	8.01	8.12
<b>Embalse Pisayambo</b>	<b>Secchi</b>	17	7	5	8	9
	<b>Visualización Secchi (m)</b>	5	4	4	3.5	3.5
	<b>v (m/s)</b>	5.1	4.2	4.3	3.3	4.8
	<b>P (Hpa)</b>	664.5	669.1	669.4	668.9	664.6
	<b>T (°C)</b>	9	9.2	10.2	11.3	11.4
	<b>pH</b>	7.83	8.18	8.15	8.8	7.5

El análisis de la tabla N°8 se encuentran parámetros importantes para evaluar el estado de los embalses, siendo estos la Temperatura y Disco Secchi, pH.

En el Libro VI Anexo 1 de TULAS **Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes (2014)**, indica que estos parámetros son necesarios para evaluar el estado

de los embalses debido a contaminación. El pH se debe encontrar en un rango de 5-9, para conservación de la flora y fauna en agua dulce, En Agoyán y Pisayambo en la tabla N°8 indica que el pH se encuentra en el límite permisible.

Respecto a la temperatura, el agua caliente no puede contener tanto oxígeno como el agua fría, ya que al aumentar la temperatura aumenta la solubilidad del oxígeno disuelto, lo que acelera el metabolismo de los organismos degradadores, aumentando la putrefacción de las especies muertas. El agua debe estar en un rango  $>3^{\circ}\text{C}$  a la temperatura ambiente, y respecto al límite permisible no  $>32^{\circ}\text{C}$ , por lo que los embalses cumplen con la temperatura ideal.

El disco Secchi es un parámetro físico que ayuda a determinar qué tan claras son las aguas, en dependencia de esto se demostró que Agoyán tiene una visibilidad muy pobre en cm con un parámetro calculado en metros mostrado en la tabla N 8, esto debido a la alta cantidad de algas o biomasa que se encuentra en el embalse haciendo al agua oscura. Por otro lado, Pisayambo presenta una visualización muy alta en comparación con Agoyán, esto debido a el parámetro representado en metros de visualización, donde el agua es más clara presentando 5 m por debajo del agua, debido a que las algas no se encuentran invadiendo al embalse o la biomasa no está en alta cantidad provocando contaminación, es decir los organismos están viviendo en equilibrio con todas las comunidades, debido a que aquí no actúa las actividades antropogénicas, la accesibilidad es limitada, y no existe fuentes de contaminación por actividad textil o de tensoactivos (Díaz, Elizalde , Quiroz, García, & Molina, 2005).

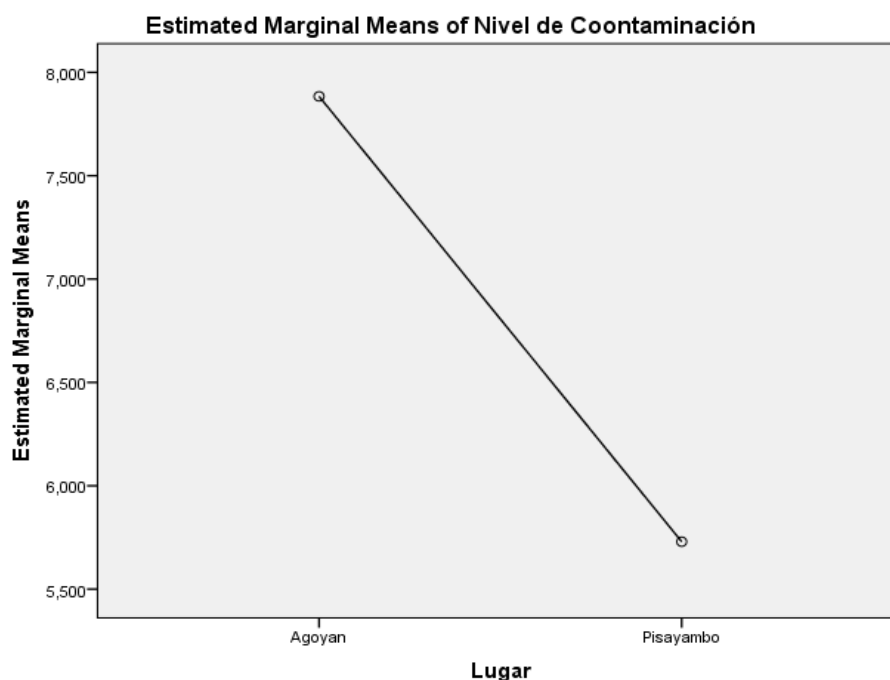
### **3.1.3. Análisis estadístico entre Agoyán y Pisayambo**

Se analizó mediante un diseño factorial AxB si existe diferencias significativas de clorofila A entre los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo, para esto se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 21

**Tabla 9:** Tabla ANOVA del diseño factorial AxB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	876,234 <sup>a</sup>	9	97,359	239,555	,000
Intercept	926,596	1	926,596	2279,912	,000
Lugar	23,207	1	23,207	57,102	,000
Puntos	695,628	4	173,907	427,903	,000
Lugar * Puntos	157,399	4	39,350	96,821	,000
Error	4,064	10	,406		
Total	1806,895	20			
Corrected Total	880,298	19			

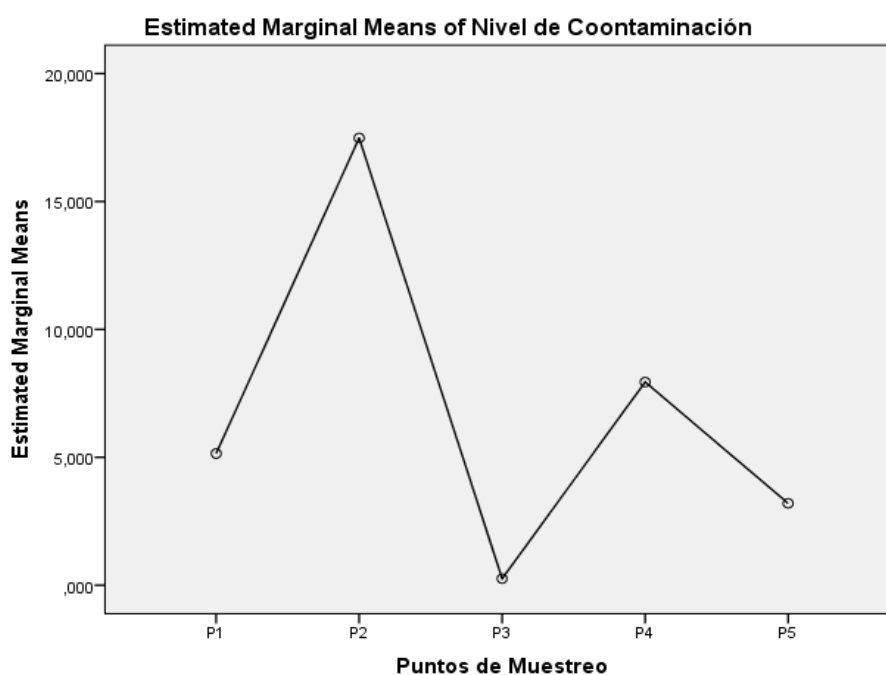
Se observa en la tabla N°9 la relación existente entre Agoyán y Pisayambo, de las variables que dependen de la clorofila A, así como también de la **Sig, significancia asintótica**, donde todos los factores lugar, punto, Lugar y punto, da un resultado 0.000, por lo que la  $H_0$  se rechaza, el valor es menor al nivel de confianza de 0.05 para todas las hipótesis, debido a que existen diferencias significativas entre Agoyán y Pisayambo, para esto se puede observar en la tabla N° 11 la relación de los puntos de muestreo en los embalses.



**Figura 3. Relación de contaminación entre Agoyán y Pisayambo.** En el eje de las abscisas (X), se ubican los embalses Agoyán y Pisayambo y en el eje de las ordenadas (Y), se encuentra las medias marginales.

Se puede apreciar en esta figura N°3 la diferencia significativa que existe entre Agoyán y Pisayambo, lo que indica que la relación entre estos embalses no tienen comparación respecto a la contaminación.

Agoyán es un embalse donde existe mayor cantidad de elementos o sustancias arrojadas al río además de ser un río que es alimentado por las zonas de Pelileo, el camal de baños y desechos de la población hacen que este nivel de contaminación varíe notoriamente entre las regiones, debido a la cuantificación del nivel de la clorofila A y los otros parámetros para identificar la contaminación como es la materia orgánica, fosfatos y nitratos, en comparación con Pisayambo donde el acceso es controlado y la contaminación por las actividades antropogénicas es limitada, además de que se encuentra en zonas de protección y parque nacional, esto indica que su contaminación es mínima, además de esto se puede analizar que no existe contaminación provocada por la propia naturaleza. Se puede decir con certeza de que Pisayambo se encuentra en la zona donde su propia naturaleza mantiene niveles de contaminación propias del lugar y en equilibrio.



**Figura 4. Nivel medio de contaminación entre los puntos de muestreo.** En el eje de las abscisas (X), se ubica los puntos medios de los muestreos en los embalses Agoyán y Pisayambo, en el eje de las ordenadas (Y), se encuentra las medias de clorofila A.

Esta figura N° 4 indica que, el punto más contaminado entre los embalses, es el punto dos en la relación entre Agoyán y Pisayambo, esto es debido a que la muestra se escogió en el lugar más profundo del embalse, para diferenciar notoriamente la contaminación de los mimos. Cabe mencionar que para dar una idea más exacta de la interacción de contaminación, se realizó una prueba de comparación Tukey para saber el punto más contaminado en el embalse.

**Tabla 10:** Tabla de comparación Tukey

Muestra	Cl-a(mg/m <sup>3</sup> )	Cl-a R (mg/m <sup>3</sup> )	$\bar{x}$
<b>A0B0</b>	5.34	6.434	5.887
<b>A0B1</b>	18.156	19.034	18.595
<b>A0B2</b>	0	1.032	0.516

<b>A0B3</b>	14.418	13.454	13.936
<b>A0B4</b>	0	0.97	0.485
<b>A1B0</b>	4.272	4.543	4.4075
<b>A1B1</b>	17.088	15.654	16.371
<b>A1B2</b>	0	0	0
<b>A1B3</b>	2.136	1.763	1.9495
<b>A1B4</b>	6.408	5.43	5.919

En esta tabla N°10, se puede analizar que para la prueba de comparación de Tukey se necesita utilizar las concentraciones de clorofila A medidas en los embalses Agoyán y Pisayambo, por medio esta se podrá interpretar de mejor manera cual es el punto de mayor contaminación entre los embalses, y así determinar cuál de los dos se debe realizar un monitoreo como indicador para reducir la contaminación.

**Tabla 11:** Orden de datos de menor a mayor de clorofila A para prueba de comparación Tukey

<b>Muestra</b>	<b>Orden de clorofila A</b>
A1B2	0
A0B4	0.485
A0B2	0.516
A1B3	1.9495
A1B0	4.4075
A0B0	5.887

A1B4	5.919
A0B3	13.936
A1B1	16.371
A0B1	18.595

En esta tabla N° 11 se observa las media de los valores ordenados de menor a mayor para la prueba de comparación Tukey la cual deberá tener una tabla de doble entrada para así comprobar el punto y lugar más contaminado.

**Tabla 12:** Prueba de comparación Tukey

		A1B2	A0B4	A0B2	A1B3	A1B0	A0B0	A1B4	A0B3	A1B1	A0B1
	0	0.485	0.516	1.9495	4.4075	5.887	5.919	13.936	16.371	18.595	
A1B2	0		0.485	0.516	1.9495	4.4075	5.887	5.919	13.936	16.371	18.595
A0B4	0.485			0.031	1.4645	3.9225	5.402	5.434	13.451	15.886	18.11
A0B2	0.516				1.4335	3.8915	5.371	5.403	13.42	15.855	18.079
A1B3	1.9495					2.458	3.9375	3.9695	11.9865	14.4215	16.6455
A1B0	4.4075						1.4795	1.5115	9.5285	11.9635	14.1875
A0B0	5.887							0.032	8.049	10.484	12.708
A1B4	5.919								8.017	10.452	12.676
A0B3	13.936									2.435	4.659
A1B1	16.371										2.224
A0B1	18.595										



- **Prueba de Tukey**

$$|\bar{Y}.j - \bar{Y}.j| > q_{max, \alpha, k(n-1)} \sqrt{\frac{CME}{n}}$$

$$|\bar{Y}.j - \bar{Y}.j| > 5,60 \sqrt{\frac{0,406}{2}}$$

$$|\bar{Y}.j - \bar{Y}.j| > 1.78$$

$$|18.595| > 1.78$$

En la tabla N° 12 se puede observar la prueba de comparación Tukey, por medio de la ecuación se puede analizar los datos mayores al valor de 1.78, es decir, todos los datos encontrados en el valor mayor a el valor Tukey se encuentran de color anaranjado, cabe mencionar que todos estos valores son indispensables, pero hay que tomar en cuenta al valor más grande promedio de todas las muestras, en donde se señala el color celeste que es correspondiente a la interacción más importante de los muestreos A<sub>0</sub>B<sub>1</sub>, señalando al punto A<sub>0</sub> como Agoyán y el B<sub>1</sub> en el punto dos (P<sub>2</sub>) de toda las muestras, es decir la prueba de comparación de Tukey indica la interacción más importante de contaminación para los dos embalses y los puntos de muestreo.

### **3.2. Verificación de la hipótesis**

#### **3.2.1. Hipótesis nula del lugar**

H<sub>0</sub>: No existen diferencias significativas entre los lugares.

#### **3.2.2. Hipótesis nula de los Puntos de muestreo**

H<sub>0</sub>: No existen diferencias significativas entre los puntos.

#### **3.2.3. Hipótesis nula de la relación lugar y punto de muestreo**

H<sub>0</sub>: No existen diferencias significativas entre los lugares y puntos.

#### **3.2.4. Hipótesis alternativa del lugar**

$H_1$ : Si existen diferencias significativas entre los lugares.

#### **3.2.5. Hipótesis alternativa de los puntos de muestreo**

$H_1$ : Si existen diferencias significativas entre los puntos.

#### **3.2.6. Hipótesis alternativa de la relación lugar y punto de muestreo**

$H_1$ : Si existen diferencias significativas entre los lugares y puntos.

Se puede observar en la tabla N° 9 donde la  $H_0$  se rechaza con un nivel de confianza de 0.05, es decir, si existe diferencias significativas entre los embalses Agoyán y Pisayambo, se puede observar en la figura N° 3 el nivel de contaminación entre los embalses, es decir, que no existe relación entre los ubicación, puntos de muestreo, con la clorofila A, que ayuda a determinar si existe o no polución entre los embalses.

Con la prueba de Tukey, se analizó que el punto con mayor contaminación de todas las muestras seleccionadas el cual es  $A_0B_1$ , donde se establece que Agoyán en el punto dos es donde existe mayor contaminación, es decir, que Agoyán es el punto de mayor polución entre los dos embalses.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

- Se determinó la clorofila A, como indicador de polución es decir, los parámetros físico-químicos como temperatura, pH, Disco Secchi, los más importantes para evaluar la contaminación en los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo, por el método espectrofotométrico UV visible, se puede interpretar que la media de los valores de clorofila indica que, Agoyán es más contaminado que Pisayambo, debido a la concentración de clorofila A, que indica, la relación que tiene con la contaminación debido a la concentración con la biomasa presente en los embalses. La cuantificación de la concentración de clorofila A, el cual por el método espectrofotométrico acidificando la muestra para eliminar la feofitina A y poder obtener los valores de absorbancia de clorofila A pura, es el principal componente en los procesos metabólicos de los organismos acuáticos, el cual se determinó que Agoyán se encuentra limitando muy cerca de una categoría Eutrófica, es decir que existe una clara contaminación producto de los procesos biológicos, debido a que estos cruzan la excesiva cantidad de nutrientes como fosfatos y nitratos produciendo el debate de respiración por la densa vegetación, causada por las zonas aledañas al embalse, a diferencia de Pisayambo que se encuentra en una categoría Mesotrófica, es decir que se encuentra los organismos acuáticos en equilibrio con los parámetros del embalse, cabe mencionar que no se encuentra en una zona de desecho, provocados por la actividad antropogénica, y su accesibilidad es limitada.
- Se determinó la disponibilidad de oxígeno disuelto el cual tiene valor de 3.202 mg/L en Agoyán y 3.140 mg/L en Pisayambo, el cual indica que no se encuentra dentro de los parámetros de contaminación debido a que tiene que ser  $>$  de 5 a 6 mg/L de O.D en los embalses, además se pudo analizar la materia orgánica en descomposición es decir, con la ayuda de parámetros de fosfatos y nitratos obtenidos de estudiantes de post-grado, se pudo analizar que el fosfato, está

excediendo el límite permisible, debido a la descomposición producto de la degradación de las especies muertas.

- Se analizó mediante un diseño factorial AxB en un programa IBM SPSS Statistics 21, que afirma que existe diferencias significativas de clorofila A en los embalses de las hidroeléctricas Agoyán y Pisayambo, esto se puede observar en la tabla N°9, donde se encuentra que las hipótesis nulas se rechazan, pero se acepta la H<sub>1</sub> de lugar, punto, y la relación lugar y punto, con un nivel de confianza de 0.05, demostrando que existe diferencias significativas entre los embalses de acuerdo a la contaminación.

#### **4.2. Recomendaciones**

- Realizar la determinación mediante fluorescencia en clorofila A, para poder distinguir cual es más precisa, entre la antes mencionada y espectrofotometría y así entender más a fondo la contaminación de los embalses Agoyán y Pisayambo.
- Realizar el análisis de Bio-volumen o Biomasa de la concentración de la vegetación en los embalses, para estimar la cantidad de especies de los cuerpos de agua y así poder evaluar la actividad biológica presente en los embalses.
- Realizar lecturas de muestreo con determinado tiempo de prolongación es decir, recolección de una muestra 12 veces al año, para analizar más a fondo la contaminación entre las fechas, y mostrar aún más a fondo la polución en los embalses antes mencionados.
- Analizar los niveles tróficos de los embalses cada 6 meses, para tener una mayor diferencia entre los embalses, y clasificarlos de acuerdo a la categoría trófica, no solo dependiendo de la clorofila A, además de las relación entre parámetros físicos, químicos, biológicos, para estimar la categoría trófica antes mencionada.
- Cuantificar nitratos y fosfatos periódicamente para tener una base de datos donde se pueda diferenciar las concentraciones de los mismos, debido a que

los compuestos otorgados por estudiantes de post grado evidencian un nivel alto de contaminación respecto a los fosfatos por la degradación de las especies ya sea vegetal o animal de las zonas.

- Analizar en otro diseño factorial  $A \times B \times C$ , tomando en cuenta las características del embalse como profundidad, media profundidad, y superficie, para establecer una relación de contaminación entre los embalses, siendo más específica en la recolección de la muestra.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amado, J., Pérez, P., Ramírez, O., & Alarcón, J. (2016). Análisis de la calidad del agua en la laguna de Bustillos y de los Mexicanos (Chihuahua, México). *Papeles de Geografía*, núm. 62, 107-118.
- Arbat, M. (2015). *Análisis numérico-experimental aplicado a los embalses de Sau (Ter) y Ribarroja (Ebro)*. Barcelona: UPCataluña.
- Armendáriz, Y., Fernández, E., Salgado, A., Gómez, G., & Urrieta, S. (2008). Relaciones tróficas de los peces del embalse San Miguel Arco, de Soyaniquilpan, Estado de México. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 1-5.
- Ávalos, S., Nuñez, E., Quijano, S., Lara, R., & Silva, L. (2015). Variabilidad del coeficiente de absorción por fitoplancton con influencia de marea roja en las bahías de Manzanillo y Santiago, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 50, N°3*, 427-438.
- Baptiste, B., Murillo, J., Isaza, F., & Charlotte, T. (02 de 07 de 2016). *Biota Colombiana*. Obtenido de file:///C:/Users/hp/Downloads/414-412-1-PB.pdf
- Barta, B., Mouillet, C., Espinosa, R., Andino, P., Jacobsen, D., & Christoffersen, K. (08 de 11 de 2017). *SpringerLink*. Obtenido de Ecosistemas de lagos de páramo y alimentados por glaciares en los Andes tropicales altos: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10750-017-3428-4>
- Bonanse, M., Ledesma, C., Rodriguez, C., & Sanchez, A. (2012). Concentración de clorofila-a y límite de zona fótica en el embalse Río Tercero (Argentina) utilizando imágenes del satélite CBERS-2B. *Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science: v. 7, n. 3,* 61-71.
- Calvo, F., & Castañeda, J. (2016). Análisis de la clorofila de spinacia oleracea y cuantificación de albumina de espagueti utilizando espectrofotometría. *UGCiencia 22*, 99-109.
- Carrera, D., & Pérez, S. (2013). Salinidad, Fosfatos, Nitratos y problemas de infiltración. *Revista Ciencia UNEMI*, 85-95.

- Carrera, D., Guerrón , E., Cajas, L., & González , T. (2020). Relación de temperatura, pH y CE en la variación de concentración de fosfatos en el Río Grande cantón Chone. *InfoAnalítica*, 11-14.
- Casares, P., Giménez, N., Porta, C., Hundesa, A., & Girones, R. (2005). Efectos sobre la salud de la contaminación de agua y alimentos por virus emergentes humanos. *Revista Española de Salud Pública*, vol. 79, núm. 2,, 253-269.
- CELEC.EP. (13 de 11 de 2013). *central hidroeléctrica Agoyán* . Obtenido de <https://www.celec.gob.ec/hidroagoyan/index.php/sala-de-prensa/noticias/685-celec-sur-fonapa-y-la-microempresa-cutin-suscriben-convenio-para-proteccion-de-bosques-en-la-subcuenca-del-rio-paute>
- Condé, M. (23 de 05 de 2004). *Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo*. Obtenido de <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41134/tde-20032006-075813/publico/TeseLamparelli2004.pdf>
- Díaz, M., Elizalde , E., Quiroz, H., García, J., & Molina, I. (2005). Caracterización de Algunos Parámetros Físico Químicos del Agua y Sedimento del Lago Zempoala, Morelos, México. *Acta Universitaria*, vol. 15, núm. 2, 57-65.
- Duymovich, C., Acheme, R., Sesini, S., & Mazziotta, D. (2005). Espectrofotómetros y Fotocolorímetros Guía práctica de actualización. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, vol. 39, núm. 4, 529-539.
- Echaniz, S., & Vignatti, A. (01 de Abril de 2009). Determinación del estado trófico y la capacidad de carga del embalse casa de Piedra. *BioScriba* vol.2, 41-51. Obtenido de Jour.
- Gallo , L., Flórez , M., & Parra, L. (2014). Reconstrucción de las concentraciones de materia orgánica y nutrientes mediante espectrometría y análisis de diatomeas en tres embalses de Antioquia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 38(149):409-17, 1-9.
- Gómez , L. (2007). Microalgas : Aspectos Ecológicos y Biotecnológicos. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 3-20.
- Gonzáles , A., Briceño, H., Chirinos , J., Buonocore, R., & Villareal, Á. (2014). Variación de la concentración de clorofila a,b, clorofila total y tasa de

fotosíntesis *Avicennia germinans* en el manglar de Punta de Palmas, municipio Miranda, estado Zulia, Venezuela. *Revista Investigaciones Científicas*, 67-82.

González , E., Ortaz, M., Matos, L., Mendoza, J., Peñeherrera , C., & Carillo , V. ( 2002). Zooplancton de dos embalses neotropicales con distintos estados tróficos. *Interciencia*, vol. 27, núm. 10,, 551-558.

González , S., Perales , H., & Salcedo , M. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, Vol. 27, Núm. 4, 119-129.

González, E., Ortaz, M., Peñaherrera, C., & Matos, M. (2004). Fitoplancton de un embalse tropical hipereutrófico (Pao-Cachinche, Venezuela): abundancia, biomasa y producción primaria. *Interciencia*, vol. 29, núm. 10, 548-555.

González, S., Perales, H., & Salcedo, M. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, Vol. 27, Núm. 4, 119-129.

Guadarrama, R., Kido , J., Roldan, G., & Salas, M. (2016). Contaminación del agua. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 1-10.

Hernández, E., Aguirre, N., & Palacio, J. (2011). Relación entre la determinación del pigmento Clorofila a y el Biovolumen geométrico algal en un lago de planicie de inundación (Ciénaga de Ayapel, Córdoba-Colombia). *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, núm. 60, 159-169.

Hernández, E., Aguirre, N., & Palacio, J. (2011). Relación entre la determinación del pigmento Clorofila a y el Biovolumen geométrico algal en un lago de planicie de inundación (Ciénaga de Ayapel, Córdoba-Colombia). *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, núm. 60, 159-169.

Higuera , P., & Ortiz, J. (2007). Comportamiento del fitoplancton durante el evento Enos en el océano pacífico Colombiano. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, núm. 6, 5-15.



- Hohmann, M., & Blankenship, R. (2011). Evolution of photosynthesis. Annual review of plant biology. *plant biology*, 62, 515-548.
- INECC. (15 de 06 de 2004). *Muestreo y caracterización de un sitio*. Obtenido de Instituto Nacional de Ecología y cambio climático: [http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/consultaPublicacion.html?id\\_pub=459](http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/consultaPublicacion.html?id_pub=459)
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización) . (2013). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y Conservación de muestras*. Quito: S.N.
- Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. (2012). *Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental*. México D.F.: Edición 2021.
- Jorgensen, S., & Vollenweider, R. (2000). *Principios para la generacion de lagos*. São Carlos: Adaptação.
- Kouril, R., Ilík, P., & Naus, J. (1999). Sobre los límites de aplicabilidad de los métodos espectrofotométricos y espectrofluorimétricos para la determinación de la relación clorofila a / b. *Investigación de la fotosíntesis* 62, 107-116.
- Lara , M. (1992). ¿Porqué las especies coexisten?. El caso del plancton. *Hidrobiológica*, vol. 2, núm. 1-2, 43-52.
- Ledesma, C., Bonansea, M., Rodríguez , C., & Delgado, A. (2013). Determinación de indicadores de eutrofización en el embalse Río Tercero, Córdoba (Argentina). *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, n. 3, 419-425.
- López, M., & Madroño, S. (2015). Estado trófico de un lago tropical de alta montaña: Caso laguna de la Cocha. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, vol. 25, 21-42.
- Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, vol. XII, núm. 1, 1-11.
- Márquez, G., Fernández, Z., del Toro, R., Goheler, C., & Luederitz, V. (2005). Contaminación por metales pesados en los sedimnetos de los rios Tínima y

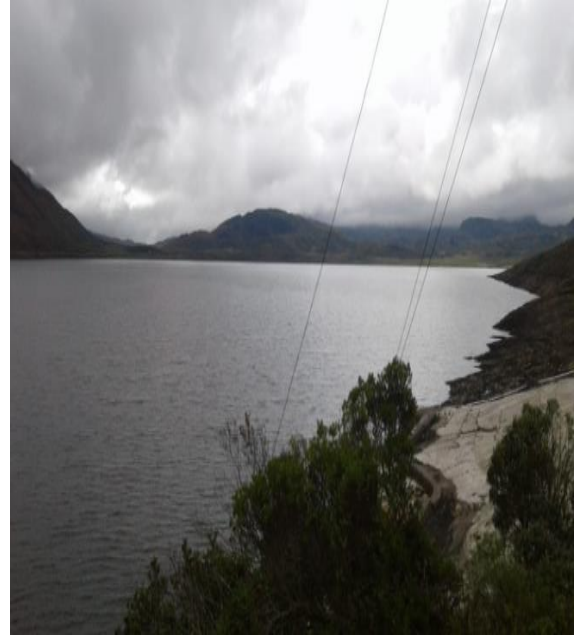
- Hatibonico, Comaguey, Cuba. *Revista Cubana de Química*, vol. XVII, núm. 3, 59-67.
- Martín , J., & Castañeda, J. (2016). Análisis de la clorofila de spinacia oleracea y cuantificación de albumina de espagueti utilizando espectrofotometría. *UGCiencia* 22, 99-109.
- Martín, J., & Castañeda, J. (2016). Análisis de la clorofila de spinacia oleracea y cuantificación de albúmina de spagueti utilizando espectrofotometría. *UGCiencia* 22, 99-109.
- Martinez, E. (29 de 06 de 2012). *Aplicación de la ley de Lambert-Beer en espectroscopía UV-visible*. Obtenido de <https://polimedia.upv.es/visor/?id=1b74dcf6-ed48-f049-9991-ac112504cfe8>
- Martínez, M., & Madroño, S. (2015). Estado Trófico de un lago tropical de alta montaña: Caso laguna de la Cocha. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, vol. 25, núm. 2, 21-42.
- Martínez, M., Ortega, J., & Ramos, C. (2014). Biodiversidad del fitoplancton de aguas continentales en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 54-61.
- Martínez, M., Ortega, L., & Ramos, A. (2014). Biodiversidad del fitoplancton de aguas continentales en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. 85, 54-61.
- Ministerio del Ambiente. (2015). *Revisión y actualización de la norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes*. Quito-Ecuador.
- Monroy, E. (24 de 05 de 2004). *Hisrología del embalse de Valle de Bravo , México*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Emiliano\\_Monroy-Rios/publication/320892497\\_Hidrologia\\_del\\_embalse\\_de\\_Valle\\_de\\_Bravo\\_Mexico/links/5a0149d7aca2725286e2b563/Hidrologia-del-embalse-de-Valle-de-Bravo-Mexico.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Emiliano_Monroy-Rios/publication/320892497_Hidrologia_del_embalse_de_Valle_de_Bravo_Mexico/links/5a0149d7aca2725286e2b563/Hidrologia-del-embalse-de-Valle-de-Bravo-Mexico.pdf)
- Montalvo , J., García , L., Almeida, M., Betanzos, A., & García, N. (2014). Modelación de la eutroficación e índice de calidad del agua en algunas bahías del. *Tecnología Química*, vol. XXXIV, núm. 3, 184-196.

- Montalvo, J., García, L., Loza, S., Esponda, S., César, M., González, R., & Hernández, L. (2008). Oxígeno disuelto y materia orgánica en cuerpos de aguas interiores del Archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba. *Serie Oceanológica. No. 4,*, 114-156.
- Muyon , C. (2020). *Efectos de las causas antropogénicas en la Eutrofización en las hidroeléctricas de Agoyán y Pisayambo*. En publicación
- Navarro, M., Espinosa, L., & Guitiérrez, M. (2005). Validación de la determinación de Oxígeno disuelto y demanda Bioquímica de oxígeno en aguas y aguas residuales. *Revista CENIC. Ciencias Químicas, vol. 36,* 1-9.
- Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes . (2014). Libro VI anexo 1. En L. d. Ambiental, *Recurso agua* (págs. 286-379). Quito: Panamericana.
- NTE INEN 1106. (2013). Aguas. Determinación de Oxígeno Disuelto. Primera edición.
- Ortiz, M., González, E., & Peñaherrera, C. (2006). Depredación de peces sobre el zooplancton en tres embalses neotropicales con distintos estados tróficos. *Interciencia, vol. 31, núm. 7,* 517-524.
- Perdomo, A. (20 de 03 de 2015). *Predicción de parámetros físico-químicos de calidad del agua mediante el uso de sensores remotos: caso del estudio embalse del Neusa*. Obtenido de <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/1751/T069.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Quinde, A., & Acurio, L. (15 de 01 de 2013). *Researchgate*. Obtenido de Researchgate: [https://www.researchgate.net/publication/332058840\\_Evaluacion\\_de\\_la\\_incidencia\\_de\\_la\\_aplicacion\\_foliar\\_de\\_un\\_biofertilizante\\_elaborado\\_a\\_base\\_de\\_frutas\\_en\\_el\\_nivel\\_de\\_clorofila\\_a\\_y\\_b\\_en\\_la\\_calidad\\_de\\_follaje\\_de\\_Tomate\\_Rinon\\_Solanum\\_lycopersicum\\_L\\_Fres](https://www.researchgate.net/publication/332058840_Evaluacion_de_la_incidencia_de_la_aplicacion_foliar_de_un_biofertilizante_elaborado_a_base_de_frutas_en_el_nivel_de_clorofila_a_y_b_en_la_calidad_de_follaje_de_Tomate_Rinon_Solanum_lycopersicum_L_Fres)
- Reol, M. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas, vol. XII, núm. 1,* 1-11.

- Rodríguez, L., & Nadeau, P. (2015). Resumen de las principales técnicas de percepción remota en las emisiones de gas en superficie. *Revista Geológica de América Central*, núm. 52, 67-105.
- Rodríguez, J. (2005). La estructura de tamaños del plancton: un tópico interdisciplinar y Margalefiano. *Ecosistemas*, vol. 14, núm. 1, 0.
- Rodríguez, L. (30 de 01 de 2008). *Proyecto Páramo Andino (Conservación de la diversidad en el techo de los Andes)*. Obtenido de Proyecto Páramo Andino: <http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/31340/08-06-263-0291PS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rojas, M., & Espinosa, C. (2015). Contaminantes químicos en agua y aire en Venezuela (2006-2013). *Salus*, vol. 19, núm. 2, 46-54.
- Ruiz, T. (28 de 04 de 2017). *Análisis comparativo de índices de Eutrofización en lagunas Costeras del estado de Sonora, México*. Obtenido de Centro de investigaciones Biológicas del Noreste, S,C: [https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/503/1/ruiz\\_t.pdf](https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/503/1/ruiz_t.pdf)
- Sánchez, H. (2020). *Determinacion de metano y CO<sub>2</sub> en los embalses hidroelectricos Agoyán y Pisayambo*. En publicacion.
- Secretaria Nacional del Agua. (20 de 01 de 2012). *Senagua*. Obtenido de <https://www.agua.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/07/InformeCocaFinal1.pdf>
- Sharpley, A., & Withers, P. (1994). The environmentally-sound management of agricultural phosphorus. *Netherlands. Fertilizer Research*. Vol., 133-146.

## ANEXOS

### Anexo 1. Toma y recolección de las muestras





**Anexo 2.** Comparación múltiple entre los puntos de muestreo de los embalses

<b>Multiple Comparisons</b>						
Dependent Variable: Nivel de Coontaminación						
Tukey HSD						
(I) Puntos de Muestreo	(J) Puntos de Muestreo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-12,33575*	,450787	,000	-13,81933	-10,85217
	P3	4,88925*	,450787	,000	3,40567	6,37283
	P4	-2,79550*	,450787	,001	-4,27908	-1,31192
	P5	1,94525*	,450787	,010	,46167	3,42883
P2	P1	12,33575*	,450787	,000	10,85217	13,81933
	P3	17,22500*	,450787	,000	15,74142	18,70858
	P4	9,54025*	,450787	,000	8,05667	11,02383
	P5	14,28100*	,450787	,000	12,79742	15,76458
P3	P1	-4,88925*	,450787	,000	-6,37283	-3,40567
	P2	-17,22500*	,450787	,000	-18,70858	-15,74142
	P4	-7,68475*	,450787	,000	-9,16833	-6,20117
	P5	-2,94400*	,450787	,000	-4,42758	-1,46042
P4	P1	2,79550*	,450787	,001	1,31192	4,27908
	P2	-9,54025*	,450787	,000	-11,02383	-8,05667
	P3	7,68475*	,450787	,000	6,20117	9,16833
	P5	4,74075*	,450787	,000	3,25717	6,22433
P5	P1	-1,94525*	,450787	,010	-3,42883	-,46167
	P2	-14,28100*	,450787	,000	-15,76458	-12,79742
	P3	2,94400*	,450787	,000	1,46042	4,42758
	P4	-4,74075*	,450787	,000	-6,22433	-3,25717

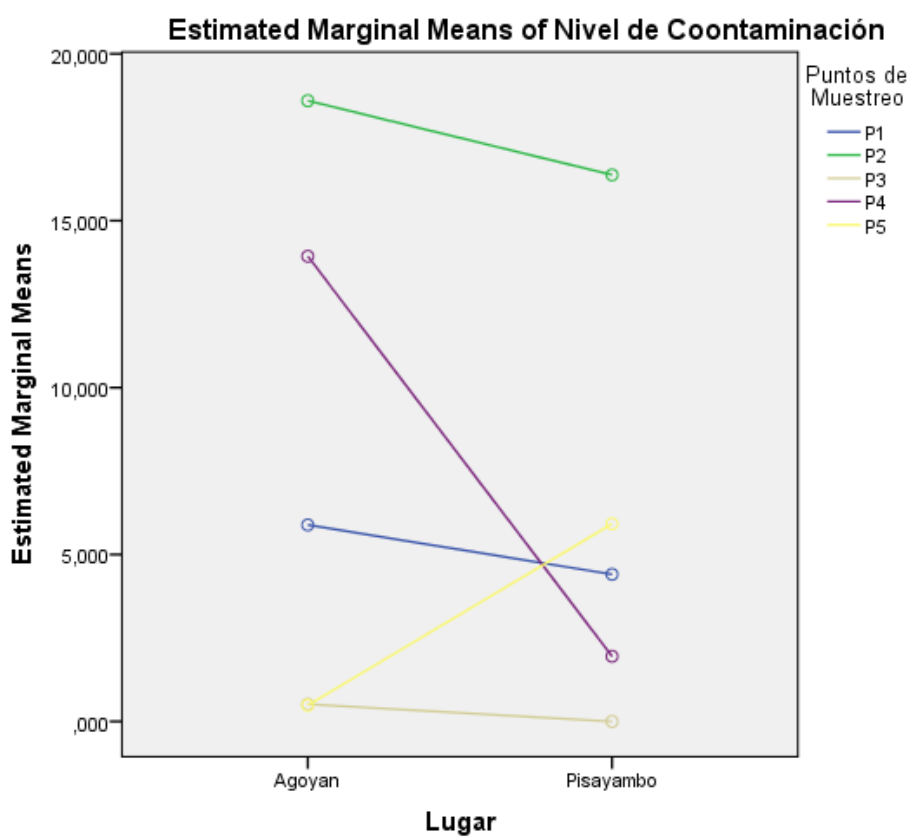
**Anexo 3.** Nivel de Contaminación

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Puntos de Muestreo	N	Subset				
		1	2	3	4	5

P3	4	,25800				
P5	4		3,20200			
P1	4			5,14725		
P4	4				7,94275	
P2	4					17,48300
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Anexo 4.** Relación entre los puntos de muestreo entre embalses.





## Anexo 5. Informe de resultados obtenidos de los embalses Agoyán y Pisayambo

### Clorofila A

		<b>INFORME DE RESULTADOS</b> No. 2020-115				
Cliente:	Jose Diego Alvarez Noya					
Teléfono:	9855521					
Dirección:	Aguas de Jijón					
Fecha emisión de informe:	14/03/2020					
Muestra tomada por:	C.A.T.S.					
Procedimiento de Toma de muestra:	Nueva Escalera (NTE NEN 2185-08)					
Fecha y hora de recepción de muestra:	14/03/2020 15:45					
Período de validez:	3/20/2020-11/04/2020					
INFORMACIÓN DE LA MUESTRA						
CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	UBICACION	COORDENADAS UTM	
A20-115	Punto 1: P1	10/03/2020	10:00	Agoyán	278139 88841287	
RESULTADOS						
PARAMETRO	METODO/REFERENCIA	UNIDADES	RESULTADO	INCIDENTALIDAD		
CLOROFILA "a"	SM 10800 y, No. 21, 2017	µg/l*	0.340	No aplica		

**Notas:**  
 Enviro novalab, Laboratorio de Ensayo Acreditado por el SAI, Acreditación No. 006 (SM 14-049).  
 Los ensayos marcados con (\*) No están incluidos en el alcance de la acreditación de SAC.  
 Ensayo subcontrato al Laboratorio acreditado por SAC Acreditación No. SAC L2N 05-035 SAI - SANCHEZ NECHUZA.  
 Las muestras serán aceptadas 15 días después de la entrega del informe de resultados.  
 Los valores reportados en el presente informe solo se refieren a la muestra analizada.  
 Enviro novalab declina toda responsabilidad por el uso de los resultados presentados.  
 Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de Enviro novalab.

  
**CARLOS TITUÁÑA**  
 ANALISTA



Enviro novalab, Av. Diego de Vilasquez N74-05 y Predio del Destacamento Ponsawa, Cuito - Telf: 01427471196/061976  
 enviro novalab@gmail.com      R.6.10-01a - Edición: 07 - Página 1 de 1

**Fosfatos y Nitratos**

**Materia orgánica**

**Informe novalab**

**INFORME DE RESULTADOS  
No. 2020-129**

**Cliente:** CARLOS MUYON  
**Teléfono:** 0993530202  
**Dirección:** Ambato  
**Fecha emisión de informe:** 11/09/2020  
**Muestra tomada por:** Cliente  
**Procedimiento de Toma de muestras:** ---  
**Fecha y hora de recepción de muestras:** 12/08/2020 8:30  
**Periodo de análisis:** 12/08/2020-27/08/2020

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA						
CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	UBICACIÓN	COORDENADAS UTM	OBSERVACIONES
A20-129	PI Pisayambo	No indicado por el cliente	No indicado por el cliente	Pisayambo	079036 0980308	---

PARAMETRO	METODO/REFERENCIA	RESULTADOS		
		UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE
NITRATOS*	4500-NO3-E, SM Ed. 23 2017	mg/l	<0.200	No aplica
FOSFATOS*	4500-P B, SM Ed. 23 2017	mg/l	0.523	No aplica

**Notas:**  
 Envirovalab, Laboratorio de Ensayo Acreditado por el SAE Acreditación No. SAE LEM 18-040  
 Los ensayos marcados con (\*) No están incluidos en el alcance de la acreditación de SAE  
 SM: Standard Methods  
 Las muestras serán descartadas 15 días después de la entrega del informe de resultados  
 Los valores reportados en el presente informe solo se refieren a la muestra analizada  
 Envirovalab declina toda responsabilidad por el uso de los resultados presentados  
 Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de Envirovalab

  
 CARLOS TITUAÑA  
 ANALISTA

**Informe novalab**

**INFORME DE RESULTADOS  
No. 2020-105**

**Cliente:** HUGO SANCHEZ  
**Teléfono:** 0987081888  
**Dirección:** Riobamba  
**Fecha emisión de informe:** 11/09/2020  
**Muestra tomada por:** Cliente  
**Procedimiento de Toma de muestras:** ---  
**Fecha y hora de recepción de muestras:** 26/07/2020 13:45  
**Periodo de análisis:** 26/07/2020-27/08/2020

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA						
CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	UBICACIÓN	COORDENADAS UTM	OBSERVACIONES
520-105	Punto 1 Agoyan	No indicado por el cliente	No indicado por el cliente	Agoyan	0791129 89641287	sedimento

PARAMETRO	METODO/REFERENCIA	RESULTADOS		
		UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE
MATERIA ORGANICA*	BLANKLEY BLACK 1934	%	1.007	---

**Notas:**  
 Envirovalab, Laboratorio de Ensayo Acreditado por el SAE Acreditación No. SAE LEM 18-040  
 Los ensayos marcados con (\*) No están incluidos en el alcance de la acreditación de SAE  
 Las muestras serán descartadas 15 días después de la entrega del informe de resultados  
 Los valores reportados en el presente informe solo se refieren a la muestra analizada  
 Envirovalab declina toda responsabilidad por el uso de los resultados presentados  
 Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de Envirovalab

  
 CARLOS TITUAÑA  
 ANALISTA

## Oxígeno Disuelto

**Informe novalab**

**INFORME DE RESULTADOS  
No. 2020-181**

**Cliente:** HUGO SANCHEZ  
**Teléfono:** 0987981888  
**Dirección:** Riobamba  
**Fecha emisión de informe:** 11/09/2020  
**Muestra tomada por:** Cliente  
**Procedimiento de Toma de muestras:** ---  
**Fecha y hora de recepción de muestras:** 26/07/2020 13:45  
**Periodo de análisis:** 26/07/2020-27/08/2020

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA						
CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	UBICACIÓN	COORDENADAS UTM	OBSERVACIONES
A20-181	PI Pisayambo	No indicado por el cliente	No indicado por el cliente	Pisayambo	079036 0980308	agua superficial

PARAMETRO	METODO/REFERENCIA	RESULTADOS		
		UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE
OXIGENO DISUELTO*	PE-23 SM 4500-O C, Ed. 23 2017	mg/l	3.18	No aplica

**Notas:**  
 Envirovalab, Laboratorio de Ensayo Acreditado por el SAE Acreditación No. SAE LEM 18-040  
 Los ensayos marcados con (\*) No están incluidos en el alcance de la acreditación de SAE  
 SM: Standard Methods  
 Las muestras serán descartadas 15 días después de la entrega del informe de resultados  
 Los valores reportados en el presente informe solo se refieren a la muestra analizada  
 Envirovalab declina toda responsabilidad por el uso de los resultados presentados  
 Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de Envirovalab

  
 CARLOS TITUAÑA  
 ANALISTA