



FACULTAD DE INGENIERÍAS Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

IDENTIFICACIÓN EL GRADO DE EUTROFIZACIÓN EN LA  
MICROCUENCA DEL RÍO PITA.

AUTOR

María José Guilcatoma Macías

AÑO

2018



FACULTAD DE INGENIERÍAS Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

IDENTIFICACIÓN EL GRADO DE EUTROFIZACIÓN EN LA MICROCUENCA  
DEL RÍO PITA.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniera Ambiental en Prevención y  
Remediación

Profesor Guía  
Ph.D. Blanca Patricia Ríos Touma

Autora  
María José Guilcatoma Macías

Año  
2018

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Identificación el grado de eutrofización en la microcuenca del río Pita, a través de reuniones periódicas con el estudiante María José Guilcatoma Macías, en el semestre 2018-1, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

-----

Blanca Patricia Ríos Touma

Doctora en Estudios Avanzados en Ecología

CI:1707113765

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Identificación el grado de eutrofización en la microcuenca del río Pita, de María José Guilcatoma Macías, en el semestre 2018-1, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

-----  
Christian Patricio Villamarín Flores  
Doctor en Ecología Fundamental y Aplicada  
CI:1002339404

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

-----  
Maria Jose Guilcatoma Macias

CI: 1750949156

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme sabiduría, a mis padres por su apoyo en este largo camino de aprendizaje. A mis profesores de carrera por compartir sus conocimientos y ayudarme en mi formación profesional. A mi tutora de tesis por dedicarme su tiempo y apoyo para culminar con éxito esta investigación.

## DEDICATORIA

A mi familia por ser siempre mi  
apoyo en todo momento.

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en la microcuenca del río Pita para determinar su estado trófico y el efecto sobre sus productores primarios. Elegimos 13 puntos de muestreo a lo largo del río Pita con 3 réplicas respectivamente. Las concentraciones de nitritos, nitratos, amonio, nitrógeno total y fosfatos se analizaron mediante la metodología de análisis de agua (APHA) y la biomasa de algas bentónicas ( $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ ) a través de la metodología de Indicadores Nacionales de Biodiversidad (MAE). Los puntos ubicados en el área superior de la microcuenca del río Pita presentaron bajas concentraciones de nutrientes, mientras que la zona inferior, cercana a la confluencia con el río San Pedro presentaron valores altos. En este estudio, las concentraciones de nutrientes no mostraron ningún efecto sobre la biomasa de los productores primarios de la microcuenca. A pesar de esto, varios de los nutrientes presentaron en zonas bajas de la cuenca valores que exceden normativas internacionales.

**Palabras claves:** Biomasa, productores primarios, límites permisibles, nutrientes.



## ABSTRACT

This study was done in the Pita river microbasin to determine its trophic status and the effect on its primary producers. We chose 13 sampling points along the Pita River with 3 replicas respectively. The concentrations of nitrites, nitrates, ammonium, total nitrate and phosphates were analyzed through the methodology of water analysis (APHA) and biomass of benthic algae ( $\mu\text{mg} / \text{cm}^2$ ) through the methodology of National Indicators of Biodiversity (MAE). The points located in the upper area of the Pita River micro-basin presented low nutrient concentrations, while the lower zone, near the confluence with the San Pedro River, had high values. In this study, the nutrient concentrations showed no effect on the biomass of the primary producers of the microbasin. In spite of this, several of the nutrients presented values that exceed international regulations in low areas of the basin.

**Key words:** Biomass, primary producers, permissible limits, nutrients.

# ÍNDICE

1.CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1.Antecedentes .....	1
1.2.Alcance .....	3
1.3.Justificación.....	4
1.4.Objetivos .....	6
1.4.1.Objetivo General .....	6
1.4.2.Objetivos Específicos.....	6
2.CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	7
2.1.¿Cuál es el efecto de la eutrofización en los productores primarios de los cuerpos de agua dulce? .....	7
2.2.Indicadores de Eutrofización.....	7
2.2.1. Formas de Nitrógeno .....	7
2.2.1.1.Nitritos .....	8
2.2.1.2.Nitratos.....	8
2.2.1.3.Amonio.....	8
2.2.1.4.Nitrógeno total (Nt).....	9
2.2.2. Fósforo.....	9
2.2.2.1.Fosfato .....	9
2.2.3.¿Qué son las algas bentónicas?.....	9
2.2.4.Clorofila <i>a</i> .....	10
2.3.Establecimiento del grado de eutrofización a nivel mundial: Principales métodos .....	10
3.CAPÍTULO III. Metodología .....	11
3.1.Ubicación del área de muestreo .....	11
3.2.Diseño de muestreo .....	13
3.2.1.Muestras de agua .....	13

3.2.2.Muestras de algas bentónicas .....	14
3.3.Análisis en laboratorio.....	15
3.3.1.Métodos de detección de nutrientes .....	15
3.3.2.Análisis de clorofila a .....	16
3.4.Determinar la variación espacial de los nutrientes de la microcuenca del Río Pita.....	16
3.5.Evaluación según los límites permisibles de nutrientes e indicadores de calidad.....	17
3.5.1.Normativa.....	17
3.6.Análisis estadístico de resultados .....	18
<b>4.CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>19</b>
4.1.Ambiente lótico de la cuenca del Río Pita.....	19
4.2.Nutrientes.....	21
4.3.Biomasa de algas bentónicas .....	23
4.4.Relación áreas de drenaje y usos de suelo con la biomasa de algas y nutrientes .....	23
4.5.Análisis de cumplimiento de normativas nacionales e internacionales .....	27
4.5.1.TULSMA.....	27
4.5.2.EPA .....	27
4.5.3.DMA .....	28
4.5.4.Agencia Catalana del Agua.....	29
4.6.Discusión .....	31
<b>5.CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>35</b>
5.1. Conclusiones .....	35
5.2. Recomendaciones .....	35
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>37</b>

ANEXOS .....	45
--------------	----

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Puntos de muestreo de la microcuenca del río Pita, Ecuador .....	12
Tabla 2. Metodos de deteccion de nutrientes para aguas .....	15
Tabla 3. Normativas ambientales para la evaluacion del recurso agua de la microcuenca del río Pita .....	17
Tabla 4. Resultados de caudal, area de drenaje,QBR, temperatura y quimica del agua .....	20
Tabla 5. Resultados de biomasa de algas bentónicas y nutrientes .....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ubicación de la microcuenca del río Pita, Ecuador.....	11
Figura 2. Mapa de localización de puntos de muestreo en la microcuenca del río Pita, Ecuador. ....	13
Figura 3. Nitratos mg/L vs sitio de la microcuenca del río Pita, Ecuador.....	21
Figura 4. Correlación entre área de drenaje (m <sup>2</sup> ) y biomasa de algas (ug/cm <sup>2</sup> ) en la microcuenca del río Pita, Ecuador.....	23
Figura 5. Tabla de variables con correlaciones significativas entre ellas de la microcuenca del río Pita, Ecuador.....	24
Figura 6. Nitritos con relación el uso de suelos de la microcuenca del río Pita, Ecuador. ....	24
Figura 7. Nitratos y los usos de suelo en la microcuenca del río Pita, Ecuador.....	25
Figura 8. Amonio en el uso del suelo en la microcuenca del río Pita, Ecuador. ....	25
Figura 9. Nt con relación al uso de suelo de la microcuenca del río Pita, Ecuador. ....	26
Figura 10. Fosfatos y el uso de suelos en la microcuenca del río Pita, Ecuador .....	26
Figura 11. Mapa de cumplimiento de concentraciones de Amonio para la conservación de la Flora y la Fauna acuática según la normativa de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. ....	28
Figura 12. Mapa de cumplimiento de concentraciones de Fosfatos según la normativa de la DMA para Ríos de Montaña (mediterránea silícea - calificación Muy bueno/Bueno). ....	29
Figura 13. Mapa de cumplimiento de concentraciones de Fosfatos según la Agencia Catalana del Agua (Efectos del Cambio Ambiental en las comunidades de organismos de los ríos mediterráneos. Barcelona, 2015) .....	30

## 1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

Existe una serie de elementos considerados esenciales para el desarrollo de la vida, entre ellos se encuentran el nitrógeno, fósforo, azufre, calcio y magnesio. Uno de los nutrientes esenciales para las plantas es el fósforo ya que forma parte de moléculas importantes como fosfatos, fosfolípidos y se encuentra presente en el ATP que sostienen la vida y que son muy comunes en la biosfera y los animales siendo un nutriente limitante para los organismos acuáticos (Espinoza, Norman, Slaton, & Daniels, 2010, pp. 2-3). Este elemento no ingresa a la atmósfera, por lo cual permanece principalmente en tierra, rocas y minerales del suelo, este nutriente se puede encontrar en varias formas, incluido el ortofosfato inorgánico (Ajmone-Marsan, Côté, & Simard, 2006, p.244).

Otro de los elementos importantes para el desarrollo de la vida y subsistencia de organismos es el nitrógeno. El ciclo de este elemento incluye la fijación, la amonificación, la nitrificación y la desnitrificación (Conley et al., 2009, pp. 1014-1015). La mayor fuente de nitrógeno en el planeta es la atmósfera, formada por el 78% de este elemento. Sin embargo, el nitrógeno atmosférico tiene una disponibilidad limitada para el uso biológico, lo que conduce a una escasez de nitrógeno utilizable en muchos de ecosistemas (Schuur, 2011, pp. 39-40).

Los ciclos de nutrientes (fósforo y nitrógeno) han sido alterados masivamente por actividades antropogénicas, principalmente de la agricultura y los asentamientos urbanos. El incremento de las concentraciones de nitritos y nitratos a los cuerpos hídricos se debe al uso de fertilizantes, aplicación de estiércol de ganado al suelo, de actividades industriales y urbanas específicamente de vertidos de efluentes y aguas residuales (Vitousek et al., 1997, pp. 737-750). Para después, ser trasladados por el suelo al agua subterránea y posteriormente a las aguas superficiales (Environmental

Protection Agency [EPA], 2012). La principal fuente de contaminación de amonio es por aguas residuales debido a la descomposición de la urea que se encuentra en el orina o material fecal de los vertidos domésticos. (World Health Organization [WHO], 2013, pp. 12-14). La presencia más habitual de fósforo en aguas superficiales son los fosfatos y es causado por la aplicación de purines, fertilizantes y agroquímicos fosforados en los cultivos de las zonas aledañas (Institute for Water Quality, Resources & Waste Management, 2012, p. 27).

Entre los problemas ambientales más frecuentes en lagos y ríos es la eutrofización. El mismo que se define por el aumento o enriquecimiento de nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y fosfatos) provocando grandes impactos ecológicos, sanitarios y económicos a escala regional y a su vez local (Chislock, Doster, Zitomer, & Wilson, 2013). La eutrofización convierte a los ecosistemas en lugares excesivamente ricos en nutrientes, afectando la relación entre la carga de nutrientes, biomasa de algas, oxígeno disuelto y turbidez de los cuerpos de agua. Produciendo un desequilibrio en la productividad y las funciones ecosistémicas acuáticas (Pradesh, 2005, pp. 459-462).

El efecto más drástico de la eutrofización es la creación de floraciones densas de fitoplancton nocivo y maloliente que reduce la claridad del agua y daña la calidad de la misma (Glibert, 2016). Las floraciones de algas limitan la penetración de la luz, reducen el crecimiento y provocan la desaparición de las plantas en zonas litorales, al tiempo que disminuyen el éxito de los depredadores que necesitan luz para perseguir y atrapar presas (Salonen, Urho, & Engström-Öst, 2009, p. 4) .Además, las altas tasas de fotosíntesis asociadas con la eutrofización pueden agotar el carbono inorgánico disuelto y elevar el pH a niveles extremos durante el día. Cuando estas floraciones densas de algas finalmente mueren, la descomposición microbiana agota severamente el oxígeno disuelto (Dodds & Whiles, 2010, pp. 247-257), creando una 'zona muerta' hipóxica o anóxica que carece de oxígeno suficiente para soportar la mayoría de los organismos (Skei et al., 2000, p. 189).



## 1.2. Alcance

El presente trabajo de investigación forma parte de un proyecto más amplio sobre la calidad ecológica de la cuenca del Guayllabamba (Ríos-Touma & Guerrero-Latorre, 2016) el mismo que se realizó en la microcuenca del río Pita. Este cuerpo hídrico representa el 30% de agua para consumo humano que suministra al sur de Quito (Ochoa, 2012, p. 2). Además, la cuenca del río Pita, provee otros servicios ecosistémicos, como agua de riego, turismo y agua potable en zonas rurales. Debido a la importancia de esta cuenca, se desea evaluar los patrones de eutrofización a lo largo del río.

Los puntos de muestreo tanto de nutrientes como de clorofila *a* fueron 13 los mismos que se encuentran ubicados a lo largo de la microcuenca del río Pita. Se utilizó la biomasa de algas bentónicas como indicador de eutrofización, también se realizó análisis en laboratorio (Laboratorio Ambiental – Dirección de Investigación de la UDLA) para identificar los niveles actuales de nutrientes y su efecto en los productores primarios bentónicos (clorofila *a*) para poder determinar el estado trófico de la microcuenca del Río Pita. Además, se evaluó el estado eutrófico frente a la legislación nacional vigente (TULSMA) como también por otras normativas internacionales como la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea (DMA), la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y la Agencia Catalana del agua (ACA). De modo que puedan reconocer áreas que requieran acciones de mitigación y prevención a la contaminación por nutrientes.

También, el conocer, monitorear y evaluar el estado trófico del río Pita permitirá generar información técnica necesaria para el planteamiento de soluciones a las áreas afectadas y a las autoridades locales o a entidades gestoras del agua como un apoyo en la toma de decisiones.

### 1.3. Justificación

El enriquecimiento de nutrientes degrada gravemente los ecosistemas acuáticos y afecta el uso del agua, ya sea para consumo humano, la industria, la agricultura, la recreación y otros fines. El costo estimado de daños por la eutrofización solo en los EEUU es de aproximadamente \$2.2 mil millones anuales (Dodds et al., 2009, p. 12). Además, las floraciones de algas son responsables de varios compuestos que dan mal sabor al agua por ejemplo, metilisoborneal y geosmina (Zhang, Yang, & Singh, 2014, p.131) que se encuentran en sistemas de agua potable municipales y en peces de acuicultura. Esto, además de presentar riesgos significativos para la salud pública, también representa grandes pérdidas financieras para las economías estatales y regionales (Pine, Rouse, & Boyd, 2008, p. 42).

Muchos ecosistemas acuáticos alto andinos presentan deterioro en la calidad de agua que albergan sus cuencas, afectando su composición biológica (Kiersch, Mühleck, & Gunkel, 2004, p. 829). Es el caso de Perú, donde algunas lagunas y lagos, ubicados por encima de los 3800 m de altitud, distribuidos a lo largo de los Andes peruanos Puno, Moquegua, Arequipa entre otros, han registrado proliferaciones de algas, afectando así a las funciones ecosistemas de los cuerpos de agua (Samanez & Lopez, 2014, p.224). A su vez en el noroeste de Argentina (Tucumán) las alteraciones físicas, químicas de embalses y el estado trófico de los mismos han generado la existencia de alrededor de 66 taxones de algas en los cuerpos hídricos ya que presentaban altas fluctuaciones de biomasa fitoplanctónica (Seeligmann & Tracanna, 2009, p.109).

El Ecuador tiene abundantes recursos hídricos pero, un gran porcentaje de éstos se encuentran con abundancia de algas y material vegetal muerto causando la desoxigenación del agua y provocando procesos incompletos de descomposición (Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas [FAO], 2008). También el uso desmesurado de fertilizantes con altos contenidos de fósforo y la descarga de aguas residuales es un

problema habitual en los embalses y ríos del Ecuador (Fernández & Vanina, 2013, p.2), lo cual provoca un impacto negativo en los ecosistemas acuáticos y por consiguiente afecta la diversidad de flora y fauna que allí se desarrolla y los servicios ecosistémicos que brindan.(Benitez & Contreras, 2013, p.8). Actualmente uno de los ecosistemas más afectados por las actividades antropogénicas en nuestro país son los ecosistemas altos andinos. Estos ecosistemas son afectados por la agricultura, la deforestación específicamente la quema de vegetación natural, expansión de la frontera agrícola, sobrepastoreo y minería (Ordóñez, 2011, pp.3-4). El uso del suelo en la zona noreste del país se encuentra altamente intervenida por pastizales con fines ganaderos o cultivos de ciclo corto (Ordóñez, 2011, p. 6). Sumado a todo lo anteriormente expuesto, existe la presencia de asentamientos urbanos que se encuentran ubicados a lo largo de las cuencas hidrográficas y que también aportan nutrientes a los cursos hídricos (Kannan, Miller, & Colinvaux, 1984)

En Ecuador, las lagunas San Pablo y Yahuarcocha se encuentran con proliferación de algas debido a las actividades agrícolas y ganaderas de la zona como también del desecho de aguas residuales. Yahuarcocha se puede catalogar como una laguna eutrófica, debido a que su alcalinidad es de 956 mg/l, y su conductividad superior a 620 mS; y la transparencia del agua es menor a 2 metros de profundidad, presentando floraciones de plantas acuáticas (*Potamogeton pusillus*) (Kannan et al., 1984). En cambio, San Pablo es un lago mesotrófico, que tiene una transparencia de agua sobre los 3 m de profundidad y tiene al menos veinte especies de plantas acuáticas que originan hábitats heterogéneos, óptimos para el establecimiento de comunidades mixtas de plantas alrededor de toda la laguna (Kannan, 1979).

El continuo crecimiento urbano de Quito ha creado múltiples problemas de saneamiento ambiental como la alta concentración de nutrientes en los ríos. La microcuenca del Pita forma parte del sistema hidrológico de la cuenca del Guayllabamba, la misma que es de gran importancia debido a que suministra agua a un porcentaje significativo del Distrito Metropolitano de Quito y a las

poblaciones de: Loreto, San Rafael, El Pedregal, Rumipamba, Sangolquí, Selva Alegre, entre otras (Orellana, 2015, p.23). También, abastece agua de riego a alrededor de cien propiedades dedicadas al cultivo de la tierra y la ganadería.(Distrito Metropolitano de Quito [DMQ], 2010). La microcuenca del río Pita representa el sustento tanto social como económico de muchas familias que realizan un sinnúmero de actividades ya sean estas agrícolas, ganaderas, recreación o de consumo. Por lo tanto, la disminución de la calidad del agua de los ríos de la microcuenca y su estado trófico tienen el potencial de afectar significativamente a la población si se pierden los servicios ecosistémicos que la cuenca provee. Además hay que mencionar la gran importancia ecológica del ecosistema andino y sus ríos, no solo por ser un reservorio del recurso hídrico sino también por los servicios ecológicos y ecosistémicos que proveen a las comunidades biológicas y por la gran biodiversidad que alberga (Kiersch et al., 2004, p.830) (Herzog, Martínez, Jørgensen, & Tiessen, 2011, p.4).

#### **1.4. Objetivos**

##### **1.4.1. Objetivo General**

- Identificar el grado de eutrofización en la microcuenca del Río Pita y su efecto sobre los productores primarios (algas bentónicas).

##### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Cuantificar los nutrientes de la microcuenca del Río Pita y su efecto en la biomasa de algas bentónicas.
- Determinar la variación espacial de los nutrientes de la microcuenca del Río Pita.
- Comparar los límites permisibles de nutrientes e indicadores de calidad de agua mediante el TULSMA y otras herramientas de control internacionales.

## **2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. ¿Cuál es el efecto de la eutrofización en los productores primarios de los cuerpos de agua dulce?**

La eutrofización ocurre naturalmente a lo largo de los siglos a medida que los lagos envejecen y se llenan de sedimentos (Carpenter, 1981, p.10, p.373). Sin embargo, las actividades humanas han acelerado la velocidad y el grado de eutrofización mediante descargas puntuales y cargas no puntuales de nutrientes limitantes, como nitrógeno y fósforo, en los ecosistemas acuáticos provocando diversos problemas ambientales como floraciones de algas tóxicas, pérdida de oxígeno, muerte de peces, pérdida de biodiversidad (incluidas especies importantes para el comercio y la recreación) (Tyrrell, 1999, pp.22-24).

La eutrofización causa la proliferación de algas debido a una mayor abundancia de nutrientes, seguido por cambios en las especies dominante y disminución de la diversidad (Meerhoff, 2002, p.11). El aumento de la carga de nutrientes determina una mayor biomasa de productores primarios en los ecosistemas acuáticos que representa una notoria modificación en la transparencia y coloración del agua (Pradesh, 2005, p.463). Por otro lado, la excesiva generación de materia orgánica supera la capacidad de degradación del sistema produciendo la acumulación en sedimentos. Todo lo antes mencionado condiciona la distribución de la concentración de oxígeno disuelto, registrándose valores elevados en la superficie producto de las actividades fotosintéticas del fitoplancton y valores cercanos a cero en el fondo debido a la degradación de la materia orgánica (Dodds & Whiles, 2010, pp. 248-249).

### **2.2. Indicadores de Eutrofización**

#### **2.2.1. Formas de Nitrógeno**

Los iones de nitrógeno orgánico presentes en los ecosistemas acuáticos son el amonio ( $\text{NH}_4$ ), el nitrito ( $\text{NO}_2$ ) y el nitrato ( $\text{NO}_3$ ). Se encuentran en el medio acuático ya sea por deposición atmosférica, escorrentía superficial, escorrentía

subterránea, disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno y la descomposición de la materia orgánica (Dodds & Whiles, 2010, pp. 250).

#### **2.2.1.1. Nitritos**

La presencia de nitritos en los sistemas acuáticos se da gracias a la transformación natural ya sea por oxidación bacteriana incompleta del nitrógeno o por reducción bacteriana (Conley et al., 2009, p.1014). Los nitritos son solubles en agua, son más reactivos y son menos estables que el nitrato. El cual es un agente oxidante o reductor por lo cual está en cantidades apreciables en condiciones de baja oxigenación (Dodds & Smith, 2016, p.156). Es por ello su rápida transformación a nitratos, los mismos que predominan en las aguas superficiales y subterráneas (Hernandez, Aguirre, & Palacio, 2011, pp. 21-23)

#### **2.2.1.2. Nitratos**

Los nitratos son movilizados fácilmente de los sedimentos mediante las aguas superficiales y subterráneas (Sabana-camagüey et al., 2003, p.4). El incremento excesivo de nitratos en agua se debe al uso de fertilizantes nitrogenados, acumulación de excretas humanas y animales (Conley et al., 2009, pp.1015). En los medios acuáticos y terrestres los materiales nitrogenados se transforman a nitratos.

#### **2.2.1.3. Amonio**

El amonio en aguas es indicador de degradación incompleta de la materia orgánica (Camargo & Alonso, 2007, p.100) como también del vertimiento de aguas residuales (Lampert & Sommer, 2000). En aguas superficiales como en aguas subterráneas las concentraciones normales son menores 0,2 mg/L pero en condiciones anaeróbicas para aguas subterráneas puede llegar hasta 3 mg/L (Ferreira et al., 2011, p.122). Las actividades ganaderas pueden aumentar las concentraciones.

#### **2.2.1.4. Nitrógeno total (Nt)**

El Nt es un indicador que refleja la cantidad total de este elemento disponible en aguas ya que es la suma de nitritos, nitratos y amonio. El Nt mide el nitrógeno capaz de ser nitrificado a nitritos y nitratos (Dodds & Smith, 2016, p.159). En aguas con elevadas concentraciones de nitrógeno, éste se convierte en un factor importante para el agotamiento del oxígeno y de la eutrofización (Conley et al., 2009, p1015).

#### **2.2.2. Fósforo**

El fósforo (P), es necesario para el ADN, el ARN y la transferencia de energía, es importante para el crecimiento de las plantas acuáticas y es un nutriente limitante clave en la mayoría de los ecosistemas acuáticos y terrestres.

##### **2.2.2.1. Fosfato**

La presencia de cantidades altas de fosfatos en los ecosistemas acuáticos se debe a vertidos urbanos como también de los vertidos de la industria agroalimentaria, uso de productos con tensoactivos, detergentes y demás productos de limpieza (Sabana-camagüey et al., 2003, p. 6). Lo cual puede producir eutrofización con problemas de acumulación de sedimentos

#### **2.2.3. ¿Qué son las algas bentónicas?**

Las algas bentónicas se encuentran adheridas a las rocas y en sedimentos de arena o fango, son los principales productores en muchos lagos poco profundos (Munawar & Talling, 1999, p.28). Las distribuciones de algas bentónicas en lagos están reguladas por la penetración de la luz (Bermudez, Lodeiros, & Morales, 2002, p.174). Además, las algas bentónicas son una fuente de alimento, energía y cobertura para muchos organismos, de esta forma, su productividad en aguas poco profundas afecta directa o indirectamente la eficiencia de todo el ecosistema marino (Meerhoff, 2002). Generalmente se dividen en tres grupos principales: algas verdes, algas marrones y algas rojas.

#### **2.2.4. Clorofila a**

La clorofila a es usada para estimar la biomasa de comunidades fitoplanctónicas ya que es el principal pigmento fotosintético que está en los diferentes grupos de algas. También ayuda a la determinación del estado trófico de cuerpos de agua ya que el aumento de nutrientes (N y P) produce la proliferación de biomasa de algas (productores primarios) (Hernandez et al., 2011, pp.162-165).

#### **2.3. Establecimiento del grado de eutrofización a nivel mundial: Principales métodos**

Existen algunos métodos matemáticos para evaluar a eutrofización en agua dulce como: Modelos de fósforo total, el uso de variables de calidad de agua como Macrofitos y Trihalometanos (Salas, Martino, & Others, 1990, p.1830). También se usan diferentes procedimientos para estimar la clorofila minimizando el margen de error como el uso de varios solventes como: (acetona, metanol, etanol, entre otros) y procedimientos de extracción (maceración, sonicación, calentamiento y congelamiento), en conjunto con diversas fórmulas usadas a distintas longitudes de ondas.

Además, se usan diversos métodos de detección de nutrientes para la determinación de eutrofización como de indofenol azul, nitrógeno total oxidando las formas reducidas de nitrógeno a nitratos con persulfato de potasio en medio alcalino, fósforo inorgánico mediante la formación del complejo fosfomolibdoso, fósforo total oxidando la muestra con persulfato de potasio y posterior determinación como fósforo inorgánico, entre otros. Los mismos que se pueden encontrar en manuales de (Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas [FAO], 1975, pp.1-75).



### 3. CAPÍTULO III Metodología

#### 3.1. Ubicación del área de muestreo

La cuenca del Río Guayllabamba pertenece a la unidad hidrográfica 1524 (Secretaría del agua [SENAGUA], 2009, pp. 14–42) la misma que abarca el río Pita (unidad hidrográfica 15248) ubicado en el límite entre el cantón Quito y el cantón Rumiñahui (provincia Pichincha). Esta cuenca nace de los deshielos de los volcanes Cotopaxi y Sincholagua y termina entre la unión de los ríos San Pedro en San Rafael (Ochoa, 2012, p.18) (Figura 1).

Para determinar de la variación espacial de los nutrientes de la microcuenca del río Pita se escogieron 13 puntos de muestreo a lo largo de la microcuenca, hasta su unión con el río San Pedro. Para poder abarcar todos los tipos de uso de suelo de la microcuenca se escogieron los puntos de muestreo mediante el uso información cartográfica 1:50000, mapas de uso de suelo 1:25000 y 1:5000. Se incluyeron sitios con vegetación original hasta sitios afectados por distintas actividades humanas como ganadería, agricultura y asentamientos humanos.

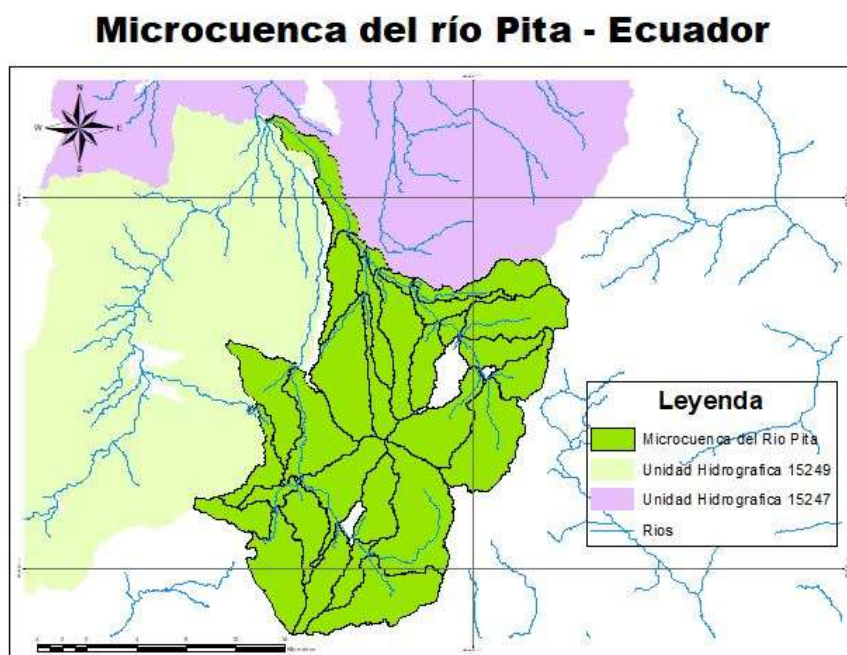


Figura 1. Mapa de ubicación de la microcuenca del río Pita, Ecuador.

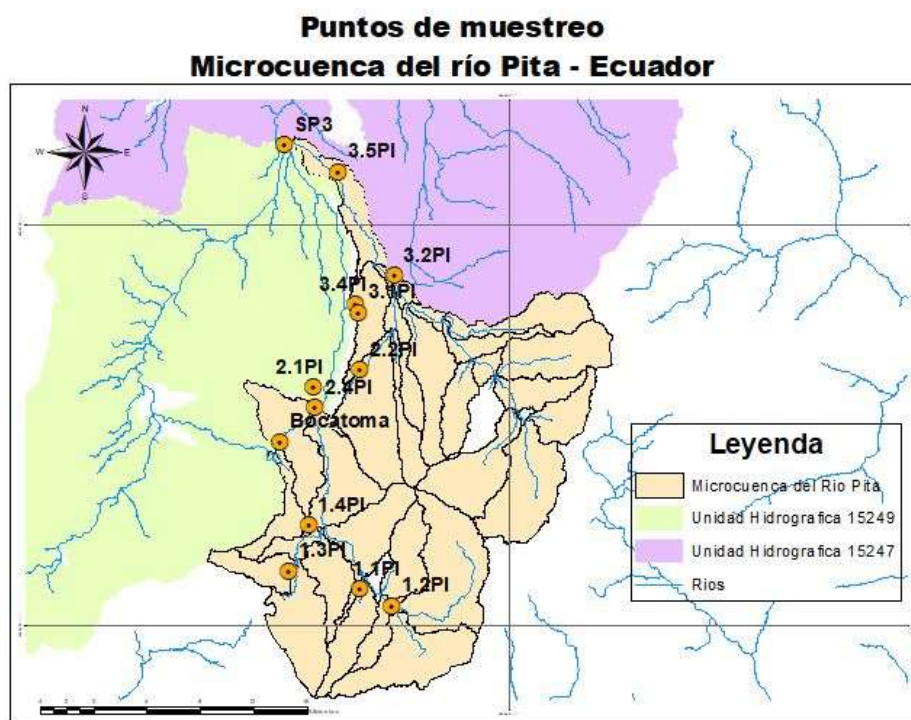
Tabla 1.

*Puntos de muestreo de la microcuenca del río Pita, Ecuador con sus respectivas coordenadas, elevación y áreas de drenaje.*

Puntos	Longitud	Latitud	Elevación	Área de drenaje	Uso de suelo	Zona de la cuenca
	Grados sexagesimales	Grados sexagesimales	msnm	km <sup>2</sup>		
<b>1.1PI</b>	-78,404001	-0,608499	3817,1	203.209	Área Protegida	Zona Alta
<b>1.2PI</b>	-78,383113	-0,619687	3863,6	129.574	Área Protegida	Zona Alta
<b>1.3PI</b>	-78,452345	-0,596131	3788,2	372.455	Área Protegida	Zona Alta
<b>1.4PI</b>	-78,439000	-0,565322	3696,9	231.464	Área Protegida	Zona Alta
<b>BT PI</b>	-78,458333	-0,508500	3337,0	1127.54	Área Protegida	Zona Alta
<b>2.1PI</b>	-78,436200	-0,471902	3322,7	417.264	Agropecuaria	Zona Alta
<b>2.2PI</b>	-78,404679	-0,460177	3071,5	60.220	Agropecuaria	Zona media
<b>2.4PI</b>	-78,434624	-0,485829	3261,3	1.050	Agropecuaria	Zona media
<b>3.4PI</b>	-78,407392	-0,415919	2823,3	1.665	Agropecuaria	Zona media
<b>3.2PI</b>	-78,381524	-0,396425	2789,0	133.094	Agropecuaria	Zona media
<b>3.1PI</b>	-78,405208	-0,421459	2905,3	1.556	Agropecuaria	Zona media
<b>3.5PI</b>	-78,418944	-0,326111	2600,0	21.881	Urbano	Zona Baja
<b>SP3</b>	-78,459882	-0,296142	2464,5	525.528	Urbano	Zona Baja

### 3.2. Diseño de muestreo

Los puntos de muestreo se encuentran ubicados entre los 2200 y los 3800 msnm en la cuenca alta del Guayllabamba y son similares a los estudiados por Acosta, Ríos, Rieradevall y Prat (2009). Se escogieron 13 puntos de muestreo (Figura 2), usando cartografía base desde la cabecera del Parque Nacional Cotopaxi hasta la unión del río San Pedro en el Valle de los Chillos. En cada uno de los sitios escogidos se tomaron 3 réplicas de las variables estudiadas: Amonio, Nitritos, Nitratos, Fosfatos y algas bentónicas.



*Figura 2.* Mapa de localización de puntos de muestreo en la microcuenca del río Pita, Ecuador.

#### 3.2.1. Muestras de agua

Se usó botellas ámbar y frascos de muestreo de plástico debidamente lavados y etiquetados para la toma de muestras de agua in situ, siguiendo la

metodología propuesta por el Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), (2011):

- Se procede a llenar el recipiente con una pequeña porción de agua del cuerpo hídrico a muestrear.
- Se registra la localización del punto de muestro mediante GPS.
- Se toma la muestra sumergiendo el envase de forma contraria al flujo evitando la inclusión de aire.
- Se identifica y etiqueta la muestra.

Posterior al envasado de las muestras se procedió a la preservación de las mismas entre 2°C a 5°C para un uso posterior a las 24h después del muestreo (ICONTEC, 2011). (Anexo 1. Condiciones de conservación de muestras para análisis de nutrientes)

Después de la toma de muestras se midió parámetros in situ necesarios mediante el uso de sondas multiparámetro: Oxígeno en mg/L y %, temperatura con Milwaukee Mi605 (Dissolved Oxygen / Temperature, Szeged - Hungría), el pH mediante Mettler-Toledo SG23 (SG, SevenGo Duo, Zaventem, Bélgica) y conductividad con YSI Pro30 (YSI, Yellow Springs, OH, USA).

### **3.2.2. Muestras de algas bentónicas**

Las muestras de algas bentónicas, fueron tomadas mediante la metodología de Indicadores Nacionales de Estado de la Biodiversidad (Ríos & Encalada, 2015, pp. 131-133) basada en Steinman et al., (2007). Se recogieron rocas sumergidas en los puntos de muestreo del río Pita y de cada roca se extrajo todas las algas adheridas a la baldosa de 4cm<sup>2</sup>. El material de algas raspado fue pasado por filtros de fibra de vidrio Whatman Grade GF/F (47 mm). Luego las muestras fueron colocadas a -20°C. La extracción se realizó con etanol al 96% en la oscuridad por 24h. (Steinman, Lamberti, & Leavitt, 2007, pp. 357-379) (Anexo 2. Metodología de Biomasa de algas bentónicas en ríos de páramo).

### 3.3. Análisis en laboratorio

Los análisis de laboratorio se realizaron mediante diferentes métodos de detección citados a continuación y con los espectrofotómetros Shimadzu UVmini-1240 (Kioto, Japon) usado para la detección de nutrientes y clorofila a también se utilizó el NANOCOLOR UV/VIS II (Düren, Alemania) para determinar color y turbidez.

#### 3.3.1. Métodos de detección de nutrientes

Para la detección de los diferentes nutrientes se los realizo mediante métodos de análisis de aguas de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) citados a continuación (Tabla 2).

Tabla 2.

*Métodos de detección de nutrientes para aguas.*

<b>Parámetro</b>	<b>Método de análisis</b>	<b>Cita</b>
<b>Amonio</b>	4500 NH3-F Phenate Method. (Anexo 4)	(Rice, Baird, Eaton, & Clesceri, 2012a)
<b>Nitrito</b>	TP0093. Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method. (Anexo 5)	(Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), 2009)
<b>Nitrato</b>	4500 NO3-B Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method. (Anexo 6)	(Rice, Baird, Eaton, & Clesceri, 2012b)

---

<b>Fosfato</b>	4500 P-E Ascorbic Acid Method.  (Anexo 7)	(Rice, Baird, Eaton, & Clesceri, 2012c)
----------------	---	---

---

### 3.3.2. Análisis de clorofila a

Con las muestras de algas bentónicas se analizó la clorofila *a* mediante la técnica biomasa y pigmentos de algas bentónicas planteada en la publicación *Methods in Stream Ecology* (Steinman et al., 2007, pp. 357–379). Después de las 24h, las muestras con diluyente fueron centrifugadas por 5 minutos a 4000 rpm para separar el sobrenadante que contiene la clorofila *a* y concentrar material en el fondo para evitar interferencias. Se realizó lecturas de absorbancias a 664nm y 750 nm en el espectrofotómetro Shimadzu UVmini-1240 (Kioto, Japon). Se acidificó cada una de las muestra con 0,1 ml de HCl 0,1N para realizar nuevamente las lecturas de absorbancias a 665 y 750 nm (Steinman et al., 2007, p. 362). Por último, con los valores de las absorbancias obtenidas se aplicó la fórmula de biomasa de algas de Steinman et al., (2007).

$$\text{Clorofila A} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = 26.7 (E_{664b} - E_{665a}) * \frac{V_{ext}}{A(\text{cm}^2) * L}$$

(Ecuación 1)

El análisis de la clorofila *a* se realizó en el plazo máximo de una semana posterior al muestreo, ya que a partir de ese tiempo la clorofila tiende a decaer (Irastorza & Ibañez, 1981) (Ver Anexo 2. Metodología de Biomasa de algas bentónicas en ríos de páramo).

### 3.4. Determinar la variación espacial de los nutrientes de la microcuenca del Río Pita.

Se determinó la variación espacial relacionando los diferentes puntos de muestreo con los niveles de nutrientes obtenidos y así se identificó las áreas donde existe el incumplimiento en los valores de nutrientes según los límites

permisibles e indicadores de calidad de agua de la normativa nacional e internacional vigente.

### 3.5. Evaluación según los límites permisibles de nutrientes e indicadores de calidad.

La comparación de los niveles de nutrientes con los límites permisibles e indicadores de calidad de agua se realizó mediante normativa nacional e internacional.

#### 3.5.1. Normativa

Para analizar desde la normativa legal vigente se usaron las siguientes normas técnicas ambientales (Tabla 3): Límites permisibles de nutrientes del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente del Ecuador (TULSMA) (Medio Ambiente del Ecuador [MAE], 2015), la normativa de índices de calidad de agua para la protección de la flora y fauna de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [EPA], 2000b) y las Normativas referente a la Calidad de las aguas continentales de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea (Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente de España, 2015) y la legislación referente a la calidad ecológica y manejo de agua dulce de Barcelona (Freshwater Ecology and Management [FEM], 2015, pp. 21–24).

Tabla 3.

*Normas utilizadas para la evaluación del agua de la cuenca del río Pita, con sus respectivos parámetros y límites permisibles.*

	Nitritos mg/L	Nitratos mg/L	Amonio mg/L	Nt mg/L	Fosfatos mg/L	Pt mg/L
<b>DMA<sup>i</sup></b>	-	≤10	≤0,2	-	≤0,2	-

<b>Agencia</b>						
<b>Catalana del agua<sup>ii</sup></b>	≤0.1	≤10	≤4	-	≤0,5	-
<b>EPA<sup>iii</sup></b>	≤1	≤10	≤0,015	≤2,2	-	≤ 0,075
<b>TULSMA<sup>iv</sup></b>	≤1	≤10	-	≤15*	-	≤10*

**Nota** <sup>i</sup> Tomado del Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. Anexo II Condiciones de referencia, máximo potencial ecológico y límites de clases de estado. Ríos de Montaña mediterránea silíceas, calificación Muy bueno/Bueno.

<sup>ii</sup> Tomado de efectos del Canvi Ambiental en les comunitats d'organismes dels Rius MEDiterranis – Barcelona, Informe 2015. Calidad: Aguas con un grado de toxicidad agudos para los organismos y Aguas contaminadas con riesgo de producir fuerte eutrofización.

<sup>iii</sup> Tomado de Water Quality Standards for the protection of flora and fauna.

<sup>iv</sup> Tomado de Criterios de calidad para aguas por uso: Uso pecuario.

\*Tomado de Criterios generales de descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce.

### 3.6. Análisis estadístico de resultados

Las variables cuantitativas se analizaron mediante correlaciones para identificar las más significativas. A su vez se relacionó la covariable área de drenaje de cada punto de muestreo con los niveles de nutrientes y la abundancia de clorofila *a* (Ordóñez, 2011, p.8). Para determinar, si las variables presentaban diferencias estadísticamente significativas entre ellas, se aplicó la prueba Kruskal-Wallis. De esta forma se pretendió saber el grado de variabilidad entre ellas, con la finalidad de relacionar el impacto de las actividades antropogénicas con los niveles de nutrientes y abundancia de algas.



## 4. CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Ambiente lótico de la cuenca del Río Pita

Para el parámetro de caudal ( $m^3/s$ ) los valores más altos fueron registrados en los puntos BT PI ubicado a 3337 msnm y 3.4PI a 2823 msnm. Por otra parte, los puntos con menos caudal fueron los afluentes 2.1PI, 2.2PI, 1.3PI y SP3. Para la temperatura, el valor más alto registrado fue SP3 ubicado en el Valle de los Chillos con  $19^{\circ}C$ , mientras que la más baja se encontró en BT con  $7^{\circ}C$  (Tabla 4). El Oxígeno disuelto presentó una tendencia a aumentar entre los puntos ubicados desde la cabecera del volcán Cotopaxi (3800 msnm) hasta 3.2PI (2789 msnm). En cambio, para los puntos 3.1PI, 3.5PI y SP3 presentaron valores de  $O_2$  disuelto por debajo de 2 ppm.

En el punto SP3 la conductividad fue de 968 ( $\mu S/cm$ ), siendo la más alta registrada en el estudio, seguido por los valores de conductividad de los afluentes 1.1PI y 1.4PI (Tabla 4.) los mismos que se encuentran ubicados en los 3863 y 3322 msnm en el Parque Nacional Cotopaxi que tienen influencia volcánica (Tabla 1.). Los puntos del río Pita que se encuentran situados dentro de la zona urbana en el valle de los chillos (Tabla 1.) 3.5PI y SP3 presentaron altos valores de turbidez seguidos por el afluente 2.2PI. Los valores más altos de color registrados fueron en los afluentes 1.3PI con 67 UPC y 2.2PI con 63 UPC. Para el parámetro de pH no se presentaron fluctuaciones importantes (Tabla 4.).

El QBR de los puntos 3.5PI, BT PI y SP3 fueron los más bajos, sin embargo, los puntos ubicados entre los 3863 a 3696 msnm presentaron calidades moderadas de bosque de ribera. En cambio, los sitios ubicados entre los 3322 a 2905 msnm presentaron excelente calidad del bosque de ribera (Tabla 4.)

Tabla 4.

*Resultados de Caudal, área de drenaje, QBR, temperatura y Química del agua de los puntos estudiados en la microcuenca del Río Pita, Ecuador.*

Puntos	Caudal	Área de drenaje	Conductividad	O <sup>2</sup> disuelto	pH	Temperatura	Color	Turbidez	QBR
	(m <sup>3</sup> /s)	(km <sup>2</sup> )	uS/cm	ppm		°C	UPC	NTU	
<b>1.1PI</b>	0,211	203.20	903	4,35	7,6	12	2,3	3	60
<b>1.2PI</b>	1,2	129.57	135,3	5,71	7,3	9,4	53	7	70
<b>1.3PI</b>	0,03	372.45	130,9	4,23	8,4	14,2	67	7	45
<b>1.4PI</b>	0,327	231.46	752	5,24	8,8	14	5,7	3	55
<b>BT PI</b>	2,577	1127.5	153,9	7,83	8,4	7,4	38	4	15
<b>2.1PI</b>	0,006	417.26	60	7,39	7,6	8,3	18	1	95
<b>2.2PI</b>	0,018	60.220	114,3	9,9	8,1	12,2	63	13	100
<b>2.4PI</b>	0,589	1.050	233,5	7,18	8,2	11,6	6,8	1	100
<b>3.4PI</b>	2,368	1.665	217,9	8,53	8,3	10,1	17	2	65
<b>3.2PI</b>	0,23	133.09	216,5	10,13	8,4	11,5	16	1	95
<b>3.1PI</b>	1,587	1.556	259,9	9,38	8,5	12,4	15	1	95
<b>3.5PI</b>	1,534	21.881	275,5	6,01	8,4	13	45	50	10
<b>SP3</b>	0,07	525.52	968	2,66	7,7	19,4	42	8	30

## 4.2. Nutrientes

Desde el punto 1.1PI hasta el 3.5PI los valores de nitritos fueron entre 0,003 y 0,014 mg/L excepto SP3 el mismo que se encuentra en zona urbana, presentó un aumento de 6 veces los valores del resto de la cuenca, con un valor de 0.129 mg/L. El amonio de igual manera mantiene valores por debajo de 0.094 mg/L en la mayoría de los puntos de la microcuenca, sin embargo, el SP3 (zona urbana) aumenta significativamente a 0.488 mg/L.

Los valores de nitratos presentan cierta tendencia ascendente desde la parte alta a la parte baja de la cuenca (Tabla 1.), sin embargo, presentan cuatro picos registrando concentraciones altas de nitratos ubicados en 1.3PI, 2.2PI, 3.4PI y SP3 (Figura 3).

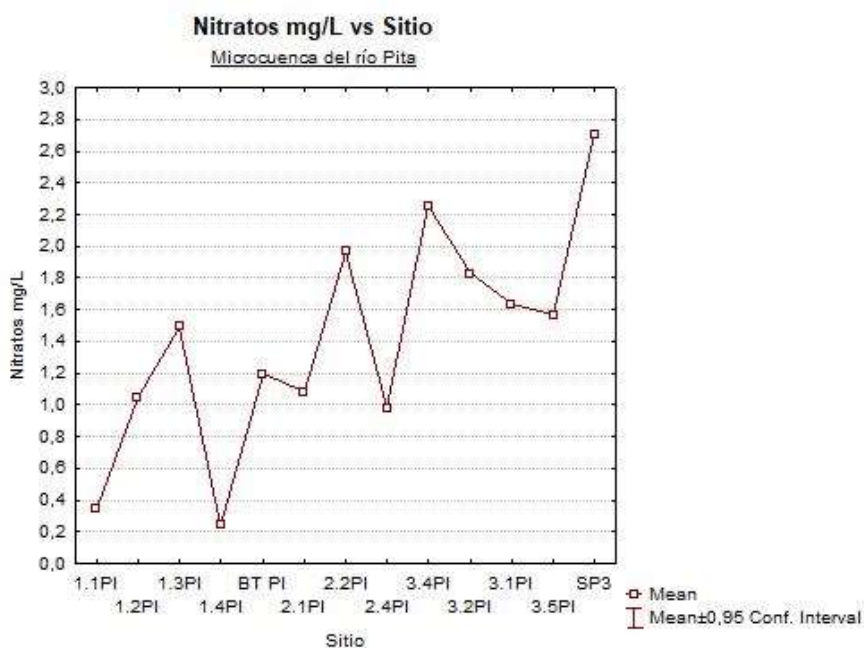


Figura 3. Nitratos mg/L vs sitio de la microcuenca del río Pita, Ecuador.

Para fosfatos el punto SP3 presenta la concentración más elevada 3.96 mg/L. Al igual que para los otros nutrientes, los sitios localizados en los 3200 a 2600 msnm presentan valores similares en sus concentraciones manteniendo valores de 0.8 a 1 mg/L.

Para las concentraciones de Nitrógeno total (NT), los valores más altos fueron en los sitios SP3 con 3.32 mg/L y 3.4PI con 2.30 mg/L, demostrando una clara tendencia al aumento en las zonas bajas de la cuenca del Pita. El valor más bajo de NT fue en la parte alta, en el Parque Nacional Cotopaxi (1.4PI).

Tabla 5.

*Resultados de biomasa de algas bentónicas y nutrientes del agua de los puntos estudiados en la Cuenca del Río Pita, Ecuador.*

<b>Puntos</b>	<b>Clorofila a mg/cm<sup>2</sup></b>	<b>Nitritos mg/L</b>	<b>Nitratos mg/L</b>	<b>Amonio mg/L</b>	<b>Fosfato mg/L</b>	<b>Nt mg/L</b>
<b>1.1PI</b>	3,439	0,004	0,346	0,038	0,745	0,388
<b>1.2PI</b>	32,625	0,003	1,047	0,045	0,293	1,095
<b>1.3PI</b>	7,929	0,005	1,490	0,030	0,039	1,524
<b>1.4PI</b>	4,944	0,004	0,241	0,032	1,043	0,277
<b>BT PI</b>	51,827	0,007	1,196	0,094	0,533	1,297
<b>2.1PI</b>	33,628	0,005	1,079	0,089	0,070	1,173
<b>2.2PI</b>	0,860	0,009	1,968	0,045	0,886	2,022
<b>2.4PI</b>	12,945	0,004	0,979	0,068	1,127	1,051
<b>3.4PI</b>	6,878	0,006	2,255	0,043	1,044	2,303
<b>3.2PI</b>	17,089	0,006	1,825	0,046	0,869	1,877
<b>3.1PI</b>	1,433	0,005	1,631	0,056	1,025	1,691
<b>3.5PI</b>	2,484	0,014	1,563	0,071	1,156	1,648
<b>SP3</b>	35,682	0,129	2,705	0,488	3,967	3,321

### 4.3. Biomasa de algas bentónicas

La biomasa de algas, medida como Clorofila *a* por  $\text{cm}^2$ , presentó valores más altos en los puntos BT PI y SP3. El punto SP3 corresponde al sector con más uso de suelo urbano en la cuenca (valle de los Chillos). Mientras que los puntos 1.3PI, 1.4PI, 2.2PI, 3.1PI, 3.4PI y 3.5PI registró valores por debajo de  $10 \text{ ug/cm}^2$  (Tabla 5).

### 4.4. Relación áreas de drenaje y usos de suelo con la biomasa de algas y nutrientes

El área de drenaje ( $\text{m}^2$ ) se relaciona significativamente con la biomasa de algas ( $\text{ug/cm}^2$ ) demostrando que drenajes más grandes representan valores mayores de biomasa de algas teniendo una relación positiva moderada de 0.74732. (Figura 4)

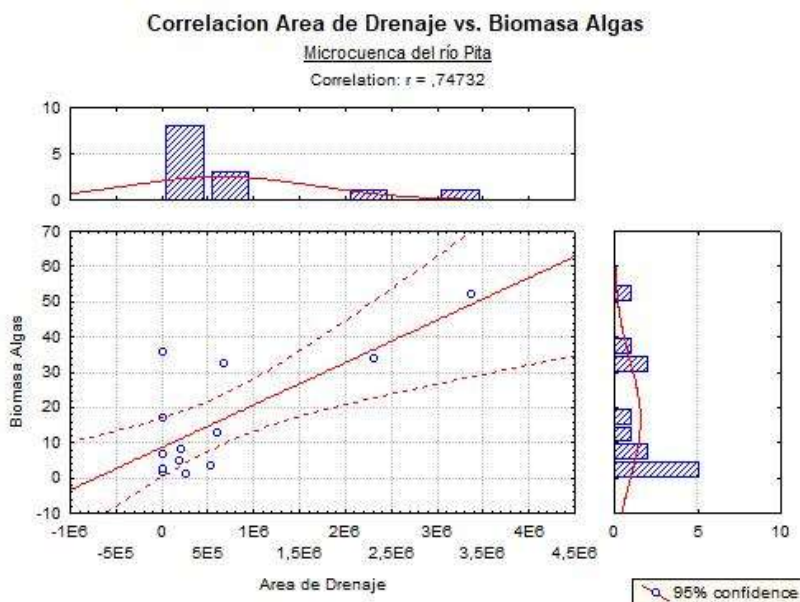


Figura 4. Correlación entre área de drenaje ( $\text{m}^2$ ) y biomasa de algas ( $\text{ug/cm}^2$ ) en la microcuenca del río Pita, Ecuador.

El parámetro que tuvo mayor correlación entre los demás nutrientes fue los nitritos ( $p$  entre 0,5 a 0,7) mientras que la variable área de drenaje no se

correlaciona con ningún nutriente, pero sí con la variable biomasa de algas ( $p < 0,7$ ) (Figura 5).

Correlations (EXCEL DE statistica)									
Marked correlations are significant at $p < ,05000$									
N=13 (Casewise deletion of missing data)									
Variables	Means	Std.Dev.	Area de Drenaje	Biomasa de algas	Nitritos	Nitratos	Amonio	Fosfatos	NT
Area de Drenaje	635004,5	1032794	1,000000	<b>0,747321</b>	-0,188409	-0,297208	-0,052269	-0,358235	-0,276994
Biomasa de alga	16,3	17	<b>0,747321</b>	1,000000	0,333531	0,085080	0,446857	0,114874	0,157009
Nitritos	0,0	0	-0,188409	0,333531	1,000000	<b>0,583154</b>	<b>0,986951</b>	<b>0,926267</b>	<b>0,705097</b>
Nitratos	1,4	1	-0,297208	0,085080	<b>0,583154</b>	1,000000	0,550592	0,551968	<b>0,986903</b>
Amonio	0,1	0	-0,052269	0,446857	<b>0,986951</b>	0,550592	1,000000	<b>0,897645</b>	<b>0,677933</b>
Fosfatos	1,0	1	-0,358235	0,114874	<b>0,926267</b>	0,551968	<b>0,897645</b>	1,000000	<b>0,660961</b>
NT	1,5	1	-0,276994	0,157009	<b>0,705097</b>	<b>0,986903</b>	<b>0,677933</b>	<b>0,660961</b>	1,000000

Figura 5. Tabla de variables con correlaciones significativas entre ellas de la microcuenca del río Pita, Ecuador.

A lo largo de la microcuenca del Río Pita, la biomasa de algas en relación con los distintos usos del suelo no presento variaciones significativas. El nitrito mostró un incremento significativo a comparación del uso de suelo Agropecuario y Áreas protegidas, las misma que no presentaron diferencia alguna (Figura 6).



Figura 6. Nitritos con relación el uso de suelos de la microcuenca del río Pita, Ecuador.

Los nitratos en relación con el uso del suelo presento una tendencia ascendente desde las áreas protegidas hasta su punto más alto el uso de suelo urbano (Figura 7).

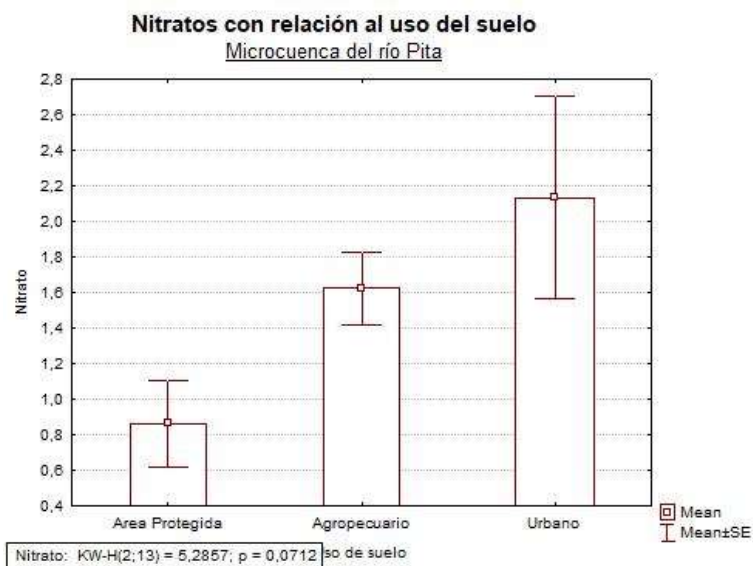


Figura 7. Nitratos y los usos de suelo en la microcuenca del río Pita, Ecuador.

En las concentraciones de amonio en relación con el uso de suelo urbano presenta una variación significativa la misma que tiene una tendencia en aumento en comparación con el uso de suelo agropecuario y áreas protegidas (Figura 8).

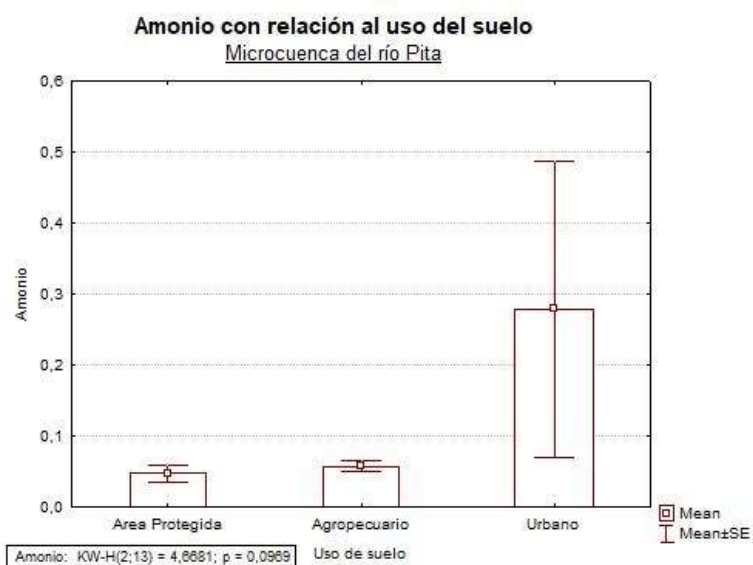


Figura 8. Amonio en el uso del suelo en la microcuenca del río Pita, Ecuador.

El Nt presenta una tendencia ascendente desde el uso de áreas protegidas hasta el uso de suelo urbano, no presento una variación significativa (Figura 9), sin embargo, de áreas protegidas a uso urbano el aumento es considerable.

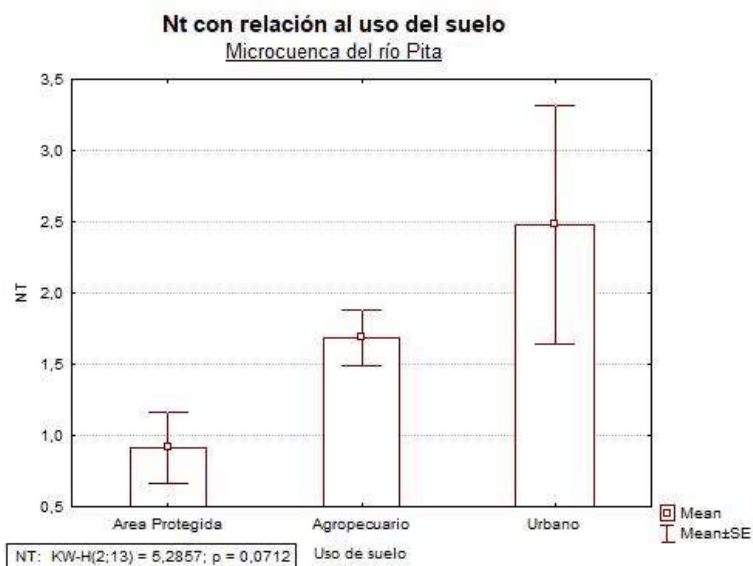


Figura 9. Nt con relación al uso de suelo de la microcuenca del río Pita, Ecuador.

El uso de suelo urbano en comparación del suelo agropecuario y áreas protegidas presento una variación significativa para los fosfatos (Figura 10).

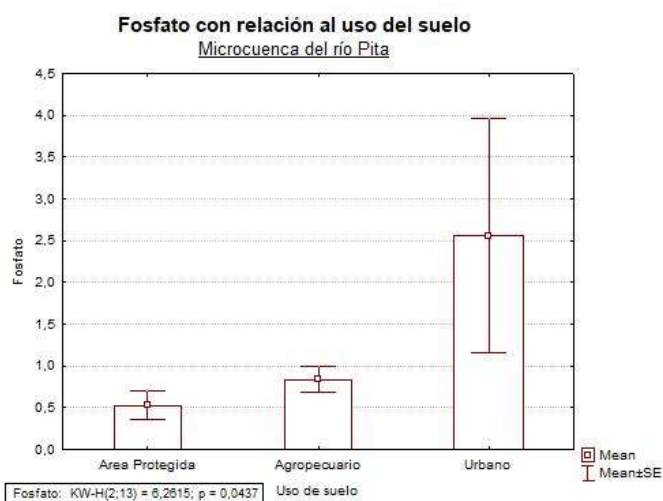


Figura 10. Fosfatos y el uso de suelos en la microcuenca del río Pita, Ecuador.



#### **4.5. Análisis de cumplimiento de normativas nacionales e internacionales**

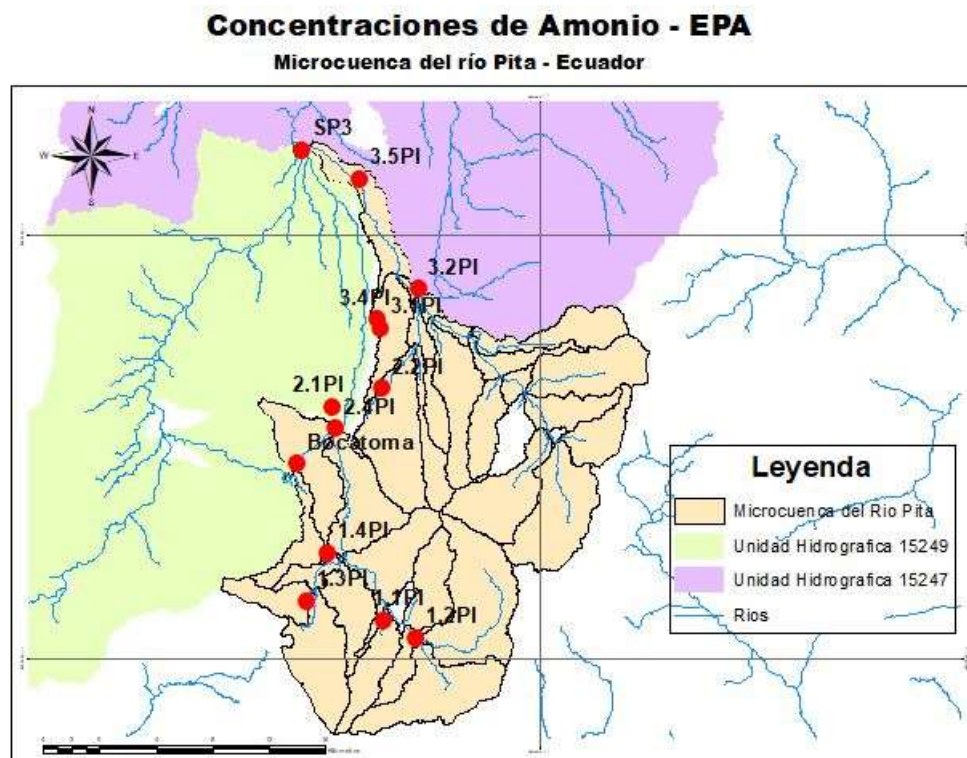
Los resultados de nutrientes analizados a lo largo de la microcuenca del Río Pita se compararon con 4 normativas vigentes referentes al recurso agua (TULSMA, EPA, DMA, ACA). Las mismas que tienen diferentes y diversos parámetros de control de calidad de agua y por lo tanto hay distintas valoraciones de los sitios estudiados.

##### **4.5.1. TULSMA**

Para Uso Pecuario tomado de criterios de calidad por usos del Texto Unificado de Legislación secundaria del Medio Ambiente del Ecuador demostró que no excede los límites permisibles de este uso.

##### **4.5.2. EPA**

Para el uso de la normativa de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos se utilizó como parámetro de control de calidad de agua la clasificación para la protección de flora y fauna. Todos los puntos analizados a lo largo de la microcuenca del Río Pita incumplen con los límites permisibles de Amonio el mismo que debe de ser  $\leq 0,015$  mgNH<sub>3</sub>/l. Los puntos 3.4PI y SP3 incumplen los niveles de Nt sobrepasando los  $\leq 2,2$  mg/L. El resto de los nutrientes se encuentran dentro de los rangos permisibles (Figura 11).

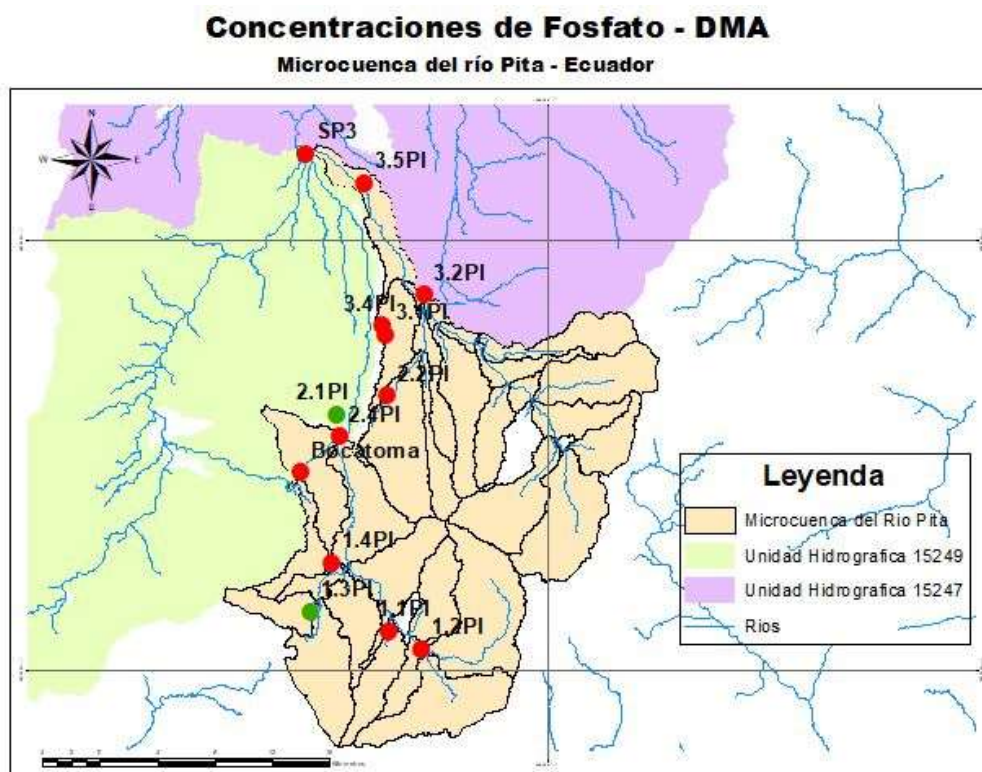


<b>Símbolo</b>	<span style="color: green;">●</span>	<span style="color: red;">●</span>
<b>Rango</b>	<0,015 mg NH <sub>4</sub> /l	>0,015 mg NH <sub>4</sub> /l
<b>Calidad</b>	Sin riesgo de toxicidad para los organismos.	Con riesgo de toxicidad para los organismos.

*Figura 11.* Mapa de cumplimiento de concentraciones de Amonio para la conservación de la Flora y la Fauna acuática según la normativa de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

#### 4.5.3. DMA

Según la normativa de la Directiva Marco del Agua para Ríos de Montaña (mediterránea silíceo y de calificación Muy bueno/Bueno), los fosfatos exceden los límites establecidos excepto dos puntos ubicados entre los 3700 y 3000 msnm (1.3PI y 2.1PI) cumplen con el límite permisible  $\leq 0,2$  mgPO<sub>4</sub>/L. Los nitratos y amonio se mantienen en los límites establecidos por esta normativa (Figura 12).





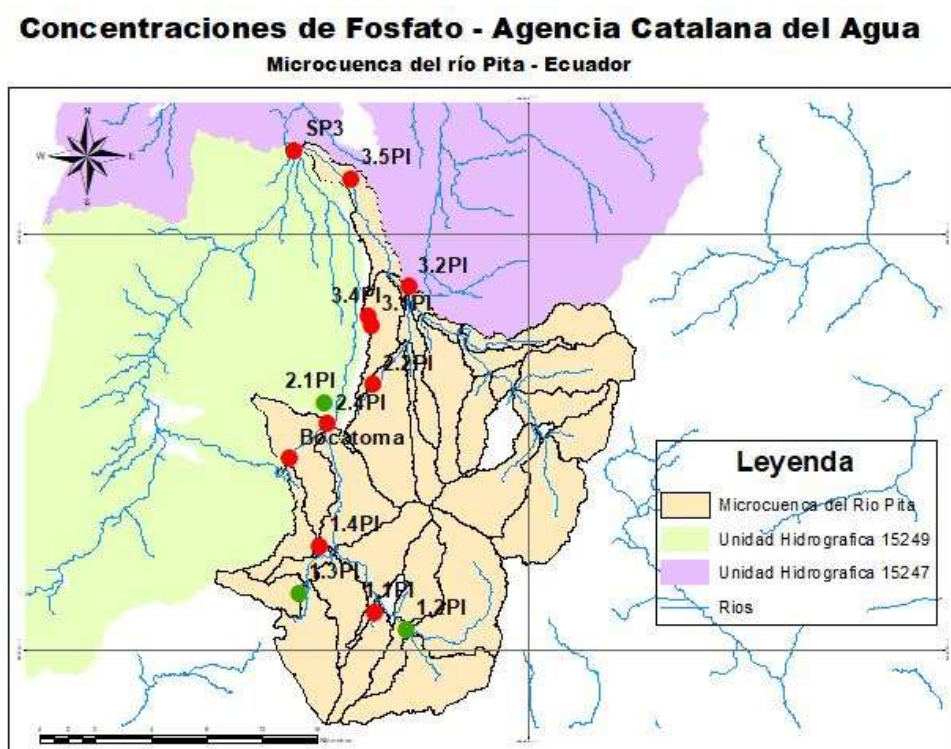
Símbolo		
Rango	<math>< 0,2 \text{ mg PO}_4/\text{l}</math>	<math>> 0,2 \text{ mg PO}_4/\text{l}</math>
Calidad	Agua que pueden presentar ligeros síntomas de eutrofización.	Aguas con probabilidades de presentar importantes crecientes vegetales.

Figura 12. Mapa de cumplimiento de concentraciones de Fosfatos según la normativa de la DMA para Ríos de Montaña (mediterránea sílicea - calificación Muy bueno/Bueno).

#### 4.5.4. Agencia Catalana del Agua

Según el Informe del 2015 de la Agencia Catalana del Agua sobre los Efectos del Cambio Ambiental en las comunidades de organismos de los ríos mediterráneos – Barcelona, no existe incumplimiento de los límites permisibles

para nitritos, nitratos y amonio. Los sitios 1.2PI, 1.3PI y 2.1PI son los únicos que cumplen con el límite permisible de  $\leq 0,5$  mgPO<sub>4</sub>/L (Figura 13).



Símbolo	<span style="color: green;">●</span>	<span style="color: red;">●</span>
Rango	$<0,5$ mg PO <sub>4</sub> /l	$>0,5$ mg PO <sub>4</sub> /l
Calidad	Agua que pueden presentar ligeros síntomas de eutrofización.	Aguas con probabilidades de presentar importantes crecientes vegetales.

*Figura 13.* Mapa de cumplimiento de concentraciones de Fosfatos según la Agencia Catalana del Agua (Efectos del Cambio Ambiental en las comunidades de organismos de los ríos mediterráneos. Barcelona, 2015)

En la mayoría de las normativas anteriormente analizadas, los puntos ubicados entre 2823,3 a 2464,5 msnm (3.1PI, 3.4PI, 3.2PI, 3.5PI y SP3) situados dentro de la zona urbana, incumplen los límites permisibles de nitritos, amonio, Nt y fosfatos.

#### 4.6. Discusión

Las prácticas de agricultura y ganadería en los ecosistemas altoandinos y con ello el aumento de las concentraciones de nutrientes no solo afecta al incremento de la biomasa de los productores primarios (Vimos, Encalada, Ríos, Suárez, & Prat, 2015), sino que afecta a su vez a la disminución de heterogeneidad de hábitats y con ello los diferentes servicios ecosistémicos y ambientales que proveen estos ríos.

Los nutrientes de los puntos ubicados en la zona urbana (Valle de los Chillos) tienen los valores más altos de nitritos, nitratos, amonio, nitrógeno total y fosfatos ya que en esta área existe mayor intensidad de actividades antropogénicas. Los nitritos tienden a aumentar ante el vertimiento de efluentes y aguas residuales (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [EPA], 2000a, pp. 85–91) como sucede en la zona baja de la microcuenca del río Pita, los cuales presentaron un incremento de las concentraciones de los puntos clasificados como suelo urbano. A comparación de los nitritos, los nitratos (Figura 7) incrementa sus concentraciones desde el uso de suelo agropecuario hasta el uso urbano. El punto con la mayor intensidad de uso de suelo urbano (SP3) presentó valores elevados de amonio (Figura 8) y puede ser causado por la descomposición de la urea que se halla en el orina y material fecal de los vertidos domésticos de la zona (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [EPA], 1998, pp. 56–57). Los niveles de fosfatos (Figura 10) de igual forma son los más altos en la zona baja de la cuenca del río Pita, teniendo un incremento significativo a comparación de los suelos de uso agropecuario y áreas protegidas. Debido a este patrón este aumento debe ser causado por el uso de detergentes, productos de limpieza y productos con tensoactivos (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [EPA], 2005, pp. 2–3).

La biomasa de productores primarios (algas bentónicas) no aumentó con relación a las concentraciones de nutrientes encontradas en este estudio y uso

de suelo por actividades ganaderas, agrícolas, urbanas y áreas protegidas. Esto se puede atribuir por varias razones como, por la baja intensidad de las actividades anteriormente mencionadas en la zona de estudio, lo cual provoca que las concentraciones de nutrientes no sean lo suficientemente representativas para generar brotes de biomasa de algas bentónicas como también las características geológicas y físicas del área. Otro factor importante que pudo haber influido en los resultados obtenidos es que los sitios muestreados se encuentran ubicados en las faldas del volcán Cotopaxi (suelo volcánico) donde la porosidad del suelo puede influir actuando como filtro natural (Ordóñez, 2011, p. 28) disminuyendo las concentraciones de los nutrientes sin generar ningún efecto a la biomasa de algas bentónicas. Sin embargo, hay estudios que demuestran que las algas bentónicas pueden crecer ya sean en diferentes condiciones físicas del suelo (Skei et al., 2000, pp. 188–189) como también a altas concentraciones de fosfatos o con bajas concentraciones de nitrógeno total indicando su capacidad de vivir en entornos modificados (Barry, 1999, p. 26). En cambio, los puntos que tienen mayor área de drenaje (BT PI, SP3 y 2.1PI) si demostraron tener un efecto en el aumento de la biomasa de algas bentónicas. Esto puede estar relacionado a las vertientes y ríos adyacentes que interceptan y desembocan en dichos puntos, generando áreas de drenaje mas grandes y mayor cantidad de nutrientes y teniendo como resultado mayor biomasa de productores primarios.

Por otro lado, los factores limitantes como el oxígeno disuelto, en los ríos que se encuentran en la zona alta de la microcuenca del río Pita tienden a mostrar niveles normales de oxígeno disuelto disponible, en cambio a los ríos que pasan por zonas pobladas (zonas bajas) muestran niveles bajos de oxígeno disuelto (Tabla 4.) Esto está probablemente causado por los vertidos de desechos orgánicos provocando procesos de descomposición y actividad microbiana agotando el oxígeno disuelto (Pradesh, 2005, p. 452). Demostrando que la fuerza de las actividades antrópicas realizadas en la zona baja de la cuenca genera tal presión que disminuye el oxígeno disuelto en las zonas urbanas. La zona alta y media de la microcuenca del río Pita cuentan con los

valores más altos de calidad de bosque de ribera (QBR) (Tabla 4.) debido a la menor presencia de asentamientos humanos y con un menor grado de deforestación de bosque. A comparación de las zona bajas con uso de suelo urbano 3.5PI y SP3 los mismos que cuentan con los índices más bajos de QBR teniendo así mayor grado de deforestación de bosque de ribera y generando mayores probabilidades a la erosión y mayor concentración de sólidos y nutrientes disueltos (Encalada & Arroyo, 2000, p. 13).

Probablemente no se hayan encontrado diferencias significativas en los nutrientes y su relación con las algas bentónicas por el hecho de solo tomar 3 réplicas por sitio de muestreo. Otro aspecto puede ser los métodos de detección de los parámetros medidos, aunque estos fueron previamente calibrados y probados. Otro aspecto limitante puede ser que este estudio fue realizado en una sola vez (época de verano) y no de manera continua. Es sabido que la variación climática (época de invierno) puede lixiviar y diluir las concentraciones de nutrientes y debido a la crudeza de la época de lluvias predecesoras y un invierno relativamente lluvioso como sucedió en los primeros días de muestreo donde se registró una tormenta en la cabecera del volcán Cotopaxi. Es por ello que los patrones encontrados pueden estar afectados por los eventos climáticos registrados en el año 2017 en esta cuenca (Institute for Water Quality, Resources & Waste Management, 2012, p. 41).

Además la zona alta andina presenta particularidades físico y químicas muy complejas (Villamarin, Prat, & Rieradevall, 2014, p. 1073), diversidad de hábitats fluviales y características variadas de hidromorfología que deben ser entendidas para un correcto desarrollo de normativas legales. En Ecuador la legislación vigente ambiental Libro VI recurso agua (TULSMA) usa como parámetros de control, criterios de calidad según el uso del recurso agua, dejando a un lado variables biológicas como: diferencias naturales, gradientes altitudinales (Villamarin et al., 2014, p. 1081), calidad de bosque de ribera entre otros. Convirtiéndolo en un instrumento no útil para la determinación de eutrofización en ríos, ya que, en el presente estudio, todos los puntos de

muestreo no sobrepasan los límites permisibles de nutrientes. Esto limita mucho las acciones que puedan proponerse en la cuenca, ya que como se ha visto, la parte baja está muy afectada y presenta aumento de todos los nutrientes de forma significativa, sin embargo, esto no se refleja usando el TULSMA. En cambio, legislaciones como la Directiva Marco del Agua y la Agencia Catalana del Agua usan factores ambientales como parámetros de control de calidad de aguas. Una de ellas es el clasificar las masas de aguas según su origen, por ejemplo, ríos de paramo o ríos de bosque, ya que de esta forma se toma en cuenta criterios de integridad ecológica. Siendo instrumentos capaces de diagnosticar posibles escenarios de eutrofización, como es el caso en la cuenca del río Pita donde se detectan afecciones en los puntos 3.4PI, 3.2PI, 3.5PI y SP3 usando esta herramienta.



## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Las concentraciones más altas de nutrientes se encuentran en la zona urbana mientras que las concentraciones bajas en la zona alta del río Pita. En este trabajo de investigación, las concentraciones de nutrientes no demostraron variaciones significativas o efectos de aumentar o disminuir la biomasa de algas bentónicas, lo contrario a lo que sucede con el área de drenaje que sí tiene un efecto directo en el aumento de algas bentónicas.

Se determinó la variación espacial de los nutrientes demostrando que las áreas protegidas (puntos cercanos a la cabecera del volcán Cotopaxi) no presentan altas concentraciones de nutrientes ni riesgos de toxicidad para los organismos acuáticos que allí se desarrollan. En cambio, las zonas bajas cercanas a los asentamientos urbanos sí presentan concentraciones de nutrientes considerables para generar en un futuro posibles escenarios de eutrofización. Las concentraciones de nutrientes del río Pita no exceden los límites permisibles de la legislación ambiental vigente del Ecuador (TULSMA) a comparación de las legislaciones de la EPA, Directiva Marco del Agua y la Agencia Catalana del Agua que sí exceden los límites permisibles para el desarrollo de vida acuática y la calidad de agua. Esto demuestra que la normativa debe ser revisada en base a criterios de integridad y no de uso, para poder proteger las funciones que realizan los ríos y los servicios ecosistémicos que proporcionan.

### 5.2. Recomendaciones

Para futuros estudios se recomienda analizar la intensidad de las actividades antropogénicas de cada uso de suelo y poder así obtener datos más significativos. Además, sería útil realizar más replicas e incluir más puntos de muestreo para poder tener un mejor análisis del estado trófico de la cuenca. En base a datos más completos debería proponerse una normativa que regule no

solamente el uso sino los parámetros que permitan conservar la vida acuática y los servicios ecosistémicos.

También se recomienda que el QBR sea considerado como una herramienta de control de calidad ambiental para realizar futuros diagnósticos ambientales de ríos ya que pudiese ser útil para la gestión, protección y conservación de los ríos en las zonas altas andinas.

## REFERENCIAS

- Acosta, R., Rios, B., Rieradevall, M., & Prat, N. (2009). Propuesta de un protocolo de evaluación de la calidad ecológica de ríos andinos (CERA) y su aplicación a dos cuencas en Ecuador y Perú, 27(281), 195–210. <https://doi.org/10.1042/BJ20130013>
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (1998). EPA 1998 Update of Ambient Water Quality Criteria for Ammonia. *Environmental Protection*, 1–88. Recuperado de <http://pubs.usgs.gov/circ/1350/pdf/circ1350.pdf>
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (2005). Ambient Water Quality Criteria Recommendations of State and Tribal Nutrient Criteria Rivers and Streams in Nutrient Ecoregion III 2000a. *US Environmental Protection Agency EPA 822-B-00-016*, (December), 70–120. [https://doi.org/EPA 822-B-00-014](https://doi.org/EPA%20822-B-00-014)
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (2005). Nutrient criteria technical guidance manual: rivers and streams 2000b, (July), 1–253.
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (2005). Nitrogen and Phosphorus in Agricultural Streams, 1–4.
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (2012). Las Preguntas Comunes y sus Respuestas Sobre el Nitrato y el Agua Potable.
- Ajmone-Marsan, F., Côté, D., & Simard, R. R. (2006). Phosphorus transformations under reduction in long-term manured soils. *Plant and Soil*, 239–250.
- Barry, B. (1999). Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient-chlorophyll relationships for benthic algae. *Freshwater Science*, 19(1), 17–31.
- Benitez, P., & Contreras, M. (2013). Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela y otros países de Latinoamérica. *Vol. 29, Septiembre. 2013*, 29, 1–18.

- Bermudez, J., Lodeiros, C., & Morales, E. (2002). Produccion de biomasa de la microalga marina *Chroomonas* sp. , en funcion del pH, intensidad luminosa y salinidad. *Investigaciones Marinas Y Costeras*, 31, 167–185.
- Camargo, J. A., & Alonso, A. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Revista Ecosistemas*, 16(2), 98–110. <https://doi.org/10.7818/457>
- Carpenter, S. (1981). Submersed Vegetation: An Internal Factor in Lake Ecosystem Succession. *The American Naturalist*, 118, 372–383.
- Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A., & Wilson, A. E. (2013). Eutrophication is a leading cause of impairment of many freshwater and coastal marine ecosystems in the world. Why should we worry about eutrophication and how is this problem managed? *Nature*.
- Conley, D. J., Paerl, H. W., Howarth, R. W., Boesch, D. F., Seitzinger, S. P., Havens, K. E., & Likens, G. E. (2009). Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Science*, 303, 1014–1015.
- Distrito Metropolitan de Quito (DMQ). (2010). *Atlas Ambiental del Distrito Metropolitano de Quito*. Quito - Ecuador.
- Dodds, W. K., Bouska, W. W., Eitzmann, J. L., Pilger, T. J., Pitts, K. L., Riley, A. J., ... Thornbrugh, D. J. (2009). Eutrophication of U. S. freshwaters: Analysis of potential economic damages. *Environmental Science and Technology*, 43(1), 12–19. <https://doi.org/10.1021/es801217q>
- Dodds, W., & Smith, V. (2016). Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in streams. *Inland Waters*, 6(2), 155–164. <https://doi.org/10.5268/IW-6.2.909>
- Dodds, W., & Whiles, M. (2010). Freshwater Ecology 2nd Edition. In *Concepts and Environmental Applications of Limnology*. (pp. 247–257). Manhattan Kansas, EEUU.
- Encalada, A., & Arroyo, C. (2000). Evaluación de la calidad de agua a través de macroinvertebrados bentónicos e índices biológicos en ríos tropicales en bosque de neblina montano, 11–16.

- Espinoza, L., Norman, R., Slaton, N., & Daniels, M. (2010). The Nitrogen and Phosphorous Cycle in Soils. *University of Arkansas, United States Department of Agriculture, and County Governments Cooperating*.
- Fernández, L., & Vanina, A. (2013). *Evaluación de los cambios de estado en ecosistemas degradados de Iberoamérica*.
- Ferreira, J. G., Andersen, J. H., Borja, A., Bricker, S. B., Camp, J., Cardoso da Silva, M., ... Claussen, U. (2011). Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 93(2), 117–131. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.03.014>
- Freshwater Ecology and Management (FEM). (2015). Efectes del Canvi Ambiental en les comunitats d'organismes dels Rius MEDiterranis Informe 2014, 18–21. Recuperado de [https://www.incb.org/documents/Publications/AnnualReports/AR2014/Spanish/AR\\_2014\\_ESP.pdf](https://www.incb.org/documents/Publications/AnnualReports/AR2014/Spanish/AR_2014_ESP.pdf)
- Glibert, P. M. (2016). Eutrophication, harmful algae and biodiversity - Challenging paradigms in a world of complex nutrient changes. *Marine Pollution Bulletin*, (September 2016), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.027>
- Hernandez, E., Aguirre, N., & Palacio, J. (2011). Relationship between chlorophyll a pigment and algal geometric biovolume determination in a floodplain lake (Ciénaga Ayapel, Córdoba-Colombia). *Revista Facultad de Ingeniería*, (60), 159–169. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-83655164699&partnerID=40&md5=aabfeed6ce5f42344411769bf7c3941d>
- Herzog, S. K., Martínez, R., Jørgensen, P. M., & Tiessen, H. (2011). Climate Change and Biodiversity in the Tropical Andes Edited by, 1–348. <https://doi.org/10.13140/2.1.3718.4969>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (2011). NTC-ISO: 5667-1: Gestión ambiental. Calidad del Agua., 17.
- Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2009).

- TP0093. Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method.
- Irastorza, A., & Ibañez, M. (1981). Estudio de los pigmentos en las Algas Macrófitas de la Zona Intermareal de la Costa Vasca.
- Jacobsen, D. (2003). Altitudinal changes in diversity of macroinvertebrates from small streams in the Ecuadorian Andes. *Archiv Für Hydrobiologie*, 158(2), 145–167. <https://doi.org/10.1127/0003-9136/2003/0158-0145>
- Kannan, M. S. (1979). Comparative limnology of ecuadorian lakes: a study of species number and composition of plankton communities of the galapagos islands and the equatorial andes. *The ohio state university*.
- Kannan, M. S., Miller, M. C., & Colinvaux, P. A. (1984). Limnology and Primary Productivity of Andean and Amazonian tropical Lakes of Ecuador. *THE OHIO STATE UNIVERSITY*.
- Kiersch, B., Mühleck, R., & Gunkel, G. (2004). Las macrofitas de algunos lagos alto-andinos del Ecuador y su bajo potencial como bioindicadores de eutrofización. *Revista de Biología Tropical*, 52(4), 829–837.
- Lampert, W., & Sommer, U. (2000). *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*.
- Management, I. for W. Q. R. & W. (2012). International Water Quality Guidelines for Aquatic Ecosystems. *Vienna University of Technology Institute*, 3(4), 1–69.
- Meerhoff, M. (2002). *Efecto de la presencia de hidrófitas en la estructura de las comunidades de zooplancton y peces en un lago hipereutrófico somero. Pebeciba-Subárea Ecología*. Universidad de Montevideo.
- Ministerio de agricultura alimentación y medio ambiente. (2015). Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. *Official Bulletin of Spain*, 219, 80627.
- Ministerio del Ambiente (MAE). (2015). LIBRO VI Anexo 1 Normas Recurso Agua. In *Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente* (p. 50). Quito - Ecuador.

- Munawar, M., & Talling, F. (1999). *Seasonality of Freshwater Phytoplankton: A global perspective*.
- Ochoa, X. (2012). *Diagnóstico ambiental y Criterios para el diseño de la red metropolitana de calidad del recurso hídrico en el distrito metropolitano de Quito*. Escuela Politécnica Nacional. Recuperado de file:///C:/Users/Luis Mosquera/Downloads/CD-4407.pdf
- Ordóñez, M. (2011). *Influencia del uso del suelo y la cobertura vegetal natural en la integridad ecológica de los ríos altoandinos al noreste del Ecuador*.
- Orellana, C. (2015). *Escenarios Hidrológicos en la Cuenca del río Guayllabamba: Modelación del Caudales Mínimos*. Escuela politécnica nacional.
- Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO). (1975). *No Manual of Methods in Aquatic Environmental Research part-1. Methods for detection and monitoring of water pollution*. FAO.
- Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO). (2008). Capítulo 3: Los fertilizantes en cuanto contaminantes de agua. In G. C. Centre & C. C. for I. Waters (Eds.), *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje)*. Burlington, Canadá.
- Pine, H. J., Rouse, D. B., & Boyd, C. E. (2008). Investigations of brackish water aquaculture in the blackland prairie region of western Alabama.
- Pradesh, U. (2005). Eutrophication: An Ecological Vision. *Source: Botanical Review The Botanical Review*, 71(4), 449–482. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2005\)071](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2005)071)
- Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., & Clesceri, L. S. (2012a). Part 400 Inorganic NonMetallic Constituents. 4500 Ammonia. 4500 NH<sub>3</sub>-F Phenate Method. In *Standard Method for the Examination of Water and Wastewater* (22nd Edition, pp. 4115, 4116). Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.

- Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., & Clesceri, L. S. (2012b). Part 400 Inorganic NonMetalic Constituents. 4500 Nitrate. 4500 NO<sub>3</sub>-B Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method. In *Standar Method for the Examination of Water and Wastewater* (22nd Editi, pp. 4122–4123). Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., & Clesceri, L. S. (2012c). Part 400 Inorganic NonMetalic Constituents. 4500 Phosphorus. 4500 P-E Ascorbic Acid Method. In *Standar Method for the Examination of Water and Wastewater* (22nd Editi, pp. 4155, 4156). Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Ríos-Touma, B., & Guerrero-Latorre, L. (2016). *Ecological and microbiological status of the Upper Guayllabamba River Basin, historic trends, biodiversity threats and health risks*. Quito - Ecuador.
- Rios, B., & Encalada, A. (2015). Biomasa de algas bentónicas en rios de páramo. In *Propuesta de indicadores nacionales de biodiversidad* (pp. 131–133). Quito - Ecuador.
- Sabana-camagüey, D. E. L. A., Montalvo, J. F., García, I., Loza, S., Perigó, E., Esponda, S. C., ... Flores, R. (2003). Nitrogen and Phosphorus Composed in Water in Various Bays, (18406), 1–7.
- Salas, H. J., Martino, P., & Others. (1990). Metodologias simplificadas para la evaluacion de eutroficacion en lagos calidos tropicales. *Chemistry & Biodiversity*, 1(11), 1829–1841. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200490137/abstract%5Cnhttp://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&mp;base=REPIDISCA&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=79965&indexSearch=ID>
- Salonen, M., Urho, L., & Engström-Öst, J. (2009). Effects of turbidity and zooplankton availability on the condition and prey selection of pike larvae. *Boreal Environment Research*, 14(6), 981–989.



<https://doi.org/10.1007/s10641-004-5568-4>

- Samanez, I., & Lopez, D. (2014). Geographical distribution of *Boeckella* and *Neoboeckella* (Calanoida: Centropagidae) in Peru. *Revista Peruana de Biología*, 223–228. <https://doi.org/10.15381>
- Schuur, E. A. G. (2011). Ecology: Nitrogen from the deep. *Nature*, 39–40.
- Secretaria del Agua (SENAGUA). (2009). Delimitación y codificación de unidades geográficas del Ecuador. *Secretaría Nacional Del Agua de Ecuador*, 14–18.
- Seeligmann, C., & Tracanna, B. C. (2009). Dinamica del topplancton en un embalse de alta cota del Noroeste Argentino (Tucuman). *Asociacion Ibérica de Limnología.*, 105–123.
- Skei, J., Larsson, P., Rosenberg, R., Jonsson, P., Olsson, M., & Broman, D. (2000). Eutrophication and contaminants in aquatic ecosystems. *Ambio*, 29(4–5), 184–194. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-29.4.184>
- Steinman, A. D., Lamberti, G. A., & Leavitt, P. R. (2007). Biomass and Pigment of Benthic Algae. In R. F. Hauer & G. A. Lamberti (Eds.), *Methods in Stream Ecology*. (Second Edi, pp. 357–379). Elsevier.
- Tyrrell, T. (1999). The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/22941>
- Villamarin, C., Prat, N., & Rieradevall, M. (2014). Caracterización física, química e hidromorfológica de los ríos altoandinos tropicales de Ecuador y Perú. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(5), 1072–1086. <https://doi.org/10.3856/vol42-issue5-fulltext-12>
- Vimos, D. J., Encalada, A. C., Ríos, B., Suárez, E., & Prat, N. (2015). Effects of exotic trout on benthic communities in high-Andean tropical streams. *Freshwater Science*, 34(2). <https://doi.org/10.1086/681540>
- Vitousek, M., Aber, J. D., Howarth, R. W., Likens, G. E., Matson, P. A., Schindler, D. W., ... Tilman, D. G. (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological Society of America.*, 7, Pages 737–750. <https://doi.org/10.1890/1051-0761>
- World Health Organization (WHO). (2013). Water Quality and Health Strategy.

Recuperado de  
[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/2013/water\\_quality\\_strategy/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2013/water_quality_strategy/en/)

Zhang, S., Yang, H., & Singh, L. (2014). First results on the water chemistry, algae and trophic status of an Andean acidic lake system of volcanic origin in... *CEUR Workshop Proceedings*, 129–137. <https://doi.org/10.1023/A>

## **ANEXOS**

<b>Análisis</b>	<b>Recipientes</b>	<b>Condiciones almacenamiento de muestras</b>	<b>Volumen mínimo de Muestra</b>	<b>Almacenamiento máximo recomendado</b>
<b>Amonio</b>	Plástico/Vidrio	Congelar a -20°C sin acidificar. Refrigerar a 4°C acidificando a pH menor de 2.	Aproximadamente 500ml	28 días
<b>Nitritos</b>	Plástico/Vidrio	Refrigerar a 4°C.	Aproximadamente 100ml	1 - 2 días
<b>Nitratos</b>	Plástico/Vidrio	Para un máximo de 24h después del muestreo refrigerar a 4°C . Refrigerar a 4°C con 2 ml/L de H2SO4 concentrado.	Aproximadamente 100ml	28 días
<b>Fosfatos</b>	Botellas ámbar	Para un máximo de 48h después del muestreo refrigerar a 4°C. Congelar a -20°C.	Aproximadamente 100ml	28 días

**Anexo 1.** Condiciones de conservación de muestras para análisis de nutrientes.

Tomada del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), 2009.

## **Anexo 2. Metodología de Biomasa de algas bentónicas en ríos de páramo** (Ríos & Encalada, 2015; Steinman et al., 2007)

Para medir la abundancia de algas bentónicas en ríos de paramo se lo determina mediante la clorofila A por unidad de área (ug/cm<sup>2</sup>).

### **Procedimiento**

Se emplea baldosas de 4 cm<sup>2</sup>, la extracción se la realiza raspando las algas que se encuentren adheridas a las baldosas de las cuales se extrae la clorofila A. Se filtra mediante filtros de vidrio de Whatman Grade GF/F (47mm). Los filtros deben ser guardados a una temperatura de 20°C en la oscuridad hasta después de la extracción. La extracción se realiza por 24 horas y a 4°C con el uso de la acetona o alcohol potables (Steinman et al., 2007).

Después de la extracción se es necesario centrifugar las muestras y el sobrenadante es analizado en el espectrofotómetro a 664 y 750 nm. A cada muestra se le añade 0.1 ml de HCL por 3 minutos y se realiza las lecturas fotométricas a 665 y 750nm.

Para el cálculo de la abundancia de microalgas aplicar la siguiente formula:

$$\text{Clorofila A } \left( \frac{\text{ug}}{\text{cm}^2} \right) = 26.7 (E_{664b} - E_{665a}) * \frac{V_{ext}}{A(\text{cm}^2) * L}$$

(Ecuación 2)

Donde:

$E_{664b}$  = (Absorbancia de la muestra a 664 nm ) – (Absorbancia de la muestra a 750 nm) sin acidificar.

$E_{665a}$  = (Absorbancia de la muestra a 665 nm ) – (Absorbancia de la muestra a 750 nm) después de acidificar.

$V_{ext}$  = Volumen del extracto

$A (cm^2)$  = Área de algas bentónicas muestreadas

$L$  = Largo de la cubeta de medición

26.7 = Factor de corrección de la abundancia (por corrección de acidificación de la clorofila A 664nm)

Análisis	Método	Equipo	Condiciones Previas	Reactivos	Nombre de Reactivos
<b>AMONIO</b>	4500 NH3-F Phenate Method (Rice et al., 2012a).	Espectrofotómetro (640nm), celdas de cuarzo.	Previa filtración de muestras	(C6H5OH)	fenol
				(C2H5OH)	Etanol
				[Na2Fe (CN)5 NO.2H2O]	Nitroprusiato de sodio
<b>Nitritos</b>	TP0093. Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method (Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), 2009).	Espectrofotómetro (543nm), celdas de cuarzo.	Previa filtración de muestras	(C6H5Na3O7.2H2O)	Citrato de sodio
				NaOH	hidróxido de sodio
				NaClO	Hipoclorito de sodio
				NaNO2 99%	Nitrito de Sodio al 99% de pureza
				CHCl3	Cloroformo
<b>Nitrato</b>	4500 NO3-B Ultraviolet Spectrophotometric Screening Method (Rice et al., 2012b).	Espectrofotómetro (220nm y 275nm), celdas de cuarzo.	Previa filtración de muestras	H3PO4 85%	Acido fosforico al 85%
				-	N-(1-Naftil)etilendiamina diclorhidrato
				-	Sulfonilamida
				KNO3	Nitrato de Potasio
				CHCl3	Cloroformo
<b>Fosfato</b>	4500 P-E Ascorbic Acid Method (Rice et al., 2012c)	Espectrofotómetro (880nm), celdas de cuarzo.	Previa filtración de muestras	HCL	Acido Clohidrico
				K(SbO)C4.H4.O6.1/2H2O	antimonio tartrato de potasio
				(NH4)6Mo7O24.4H2O	Heptamolibdato de amonio tetrahidrato
				H2SO4	Ácido Sulfúrico concentrado
				C6H8O6	Ácido Ascórbico

### Anexo 3. Lista de reactivos para análisis físico - químicos.

**Anexo 4.** Método estándar de análisis de Amonio – 4500 HN3-F (Rice et al., 2012a)

Las lecturas fotométricas deben ser a 640 nm.

#### **Reactivos:**

- **Solución patrón de fenol:** Disolver 25 g de fenol (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH) R.A. en 250 ml de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) al 95%. Almacenar la solución refrigerada a 4°C en frasco ámbar
- **Solución de nitropruciato de sodio [Na<sub>2</sub>Fe (CN)<sub>5</sub> NO.2H<sub>2</sub>O](0.5% p/v):** Disolver 0.5 g de Nitropruciato de sodio en 100 ml de agua desionizada. Almacenar refrigerada en botella de color ámbar por un tiempo máximo de Un (1) mes.
- **Reactivo alcalino:** Disolver 100 g de citrato de sodio (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O) R.A. y 5 g de hidróxido de sodio (NaOH) en agua desionizada. Diluya hasta 500 ml. Almacenar en recipiente de vidrio (*La solución es estable durante varios meses*).
- **Hipoclorito de sodio (NaClO):** Solución comercial cercana al 5%. Esta solución de descomponer lentamente una vez destapado la botella. Reemplazar cada 2 meses

#### **Procedimiento**

- Solución estándar de Amonio: Medir 1 mL de la solución patrón y diluir hasta 100 mL con agua desionizada; la concentración de esta solución es de 100 µmol/L
- Tomar 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 y 1.25 mL del stock secundario y completar a 25 mL con agua desionizada. Las concentraciones de estas soluciones son: 1.0; 2.0; 3.0; 4.0 y 5.0 µg-at N/L respectivamente; o seleccionar



concentraciones que estén en el rango de trabajo de las muestras.

- Aplicar el proceso descrito para la muestra y el blanco.
- Aplicar regresión lineal a los resultados y calcular la curva de calibración.

Nota: La curva de calibración se realiza una vez, y cuando se presente un cambio significativo en el ensayo. Se recomienda renovar cada 2 meses

Para las lecturas fotométricas de las muestras de agua se debe:

- Tomar 25 mL de muestra y verterla en un beaker o erlenmeyer
- Adicionar 1 mL de solución de fenol, agitar y mezclar completamente.
- Agregar 1 mL de nitroprusiato de sodio, agitar y mezclar completamente.
- Adicionar 2.5 mL de solución oxidante, agitar y mezclar completamente.
- Mantener el recipiente que contiene la muestra tapado con papel aluminio o película plástica y en la oscuridad, en una habitación entre 20 y 27°C durante 1 hora.
- La muestra tornará azul y la intensidad del color es proporcional a la concentración de amonio en la muestra. El color es estable por 24 horas.
- Leer la absorbancia a 640 nm para todas las muestras. En caso de que la lectura de absorbancia en la muestra exceda el rango espectrofotométrico, diluirla con agua destilada y procesar nuevamente.

Para los cálculos aplicar la siguiente formula:

$$C = \frac{Abs - b}{m}$$

(Ecuación 3)

Donde:

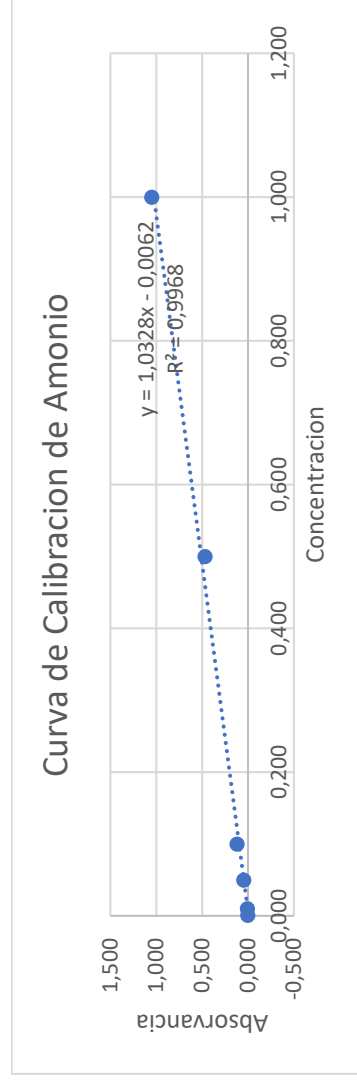
C= Concentración de la muestra en µg-at.N/L (microgramo-átomo de N/L)

Abs = Absorbancia de la muestra corregida (menos la absorbancia del blanco) b = Intercepto

m = Pendiente de la curva de regresión

\*Si se realizó dilución se deberá multiplicar por el factor de dilución.

RANGO DE CALIBRACIÓN 0,001 - 10,0 mg/L (ppm)													
Amonio $\lambda$ 640 nm													
CURVA DE CALIBRACIÓN													
m g/L	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia 4	Absorbancia 5	Absorbancia 6	Absorbancia 7	Absorbancia 8	Absorbancia 9	Absorbancia 10	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0000	0,000
0,010	0,003	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003	0,0004	14,638
0,050	0,045	0,045	0,044	0,045	0,045	0,044	0,044	0,045	0,045	0,044	0,045	0,0005	1,158
0,100	0,118	0,117	0,117	0,118	0,118	0,118	0,117	0,117	0,117	0,117	0,117	0,0005	0,440
0,500	0,466	0,466	0,467	0,466	0,467	0,467	0,467	0,466	0,467	0,466	0,467	0,0005	0,113
1,000	1,047	1,047	1,048	1,047	1,048	1,046	1,046	1,044	1,046	1,046	1,047	0,0011	0,113



**Anexo 5. Método estándar de análisis de nitritos – TP0093 (Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), 2009)**

**Reactivos**

- **Reactivo de coloración.** \_ A 800 ml de agua agregar 100 ml de ácido fosfórico del 85% y 10 g de sulfanilamida, agitar y disolver totalmente. Agregar 1 g de etilendiamina diclorhidrato. Mezclar hasta disolver, y diluir a 1 L con agua. Esta solución es estable hasta por seis meses si se guarda en una botella ámbar y en refrigeración.
- **Solución stock de nitrito de concentración 250 mg NO<sub>2</sub>/L.**\_ Disolver 0.6161 g de nitrito de sodio y diluir a 500 ml en balón aforado con agua destilada. Almacenar la solución en la nevera de reactivos. Este patrón tiene una vida útil de 6 meses.

**Procedimiento**

A partir de la solución patrón de nitritos de 250 mg NO<sub>2</sub>/L, se prepara la solución intermedia de 5,0 y a partir de esta las soluciones de trabajo de 0,01, 0,05, 0,10 mg NO<sub>2</sub>/L y se elabora la curva de calibración. (Standard Methods, 2011)

- Se prepara el estándar intermedio de 5 mg NO<sub>2</sub>/L a partir de la solución patrón de 250 mg NO<sub>2</sub>/L, tomando 5 ml y llevándola a volumen en un balón aforado de 250 ml, con agua destilada. Esta solución intermedia es estable hasta por 10 días.
- Preparar el estándar de 0,10 mg NO<sub>2</sub>/L a partir de la solución intermedia de 5 mg NO<sub>2</sub>/L, tome 4 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 ml, con agua destilada.

- Preparar el estándar de 0,050 mg NO<sub>2</sub>/L a partir de la solución intermedia de 5,00 mg NO<sub>2</sub>/L, tome 2 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 ml, con agua destilada.
- El estándar de 0,010 mg NO<sub>2</sub>/L preparar a partir de la solución intermedia de 0.100 mg N - NO<sub>2</sub> – /L, tome 20 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 ml, con agua tipo 1.
- Realizar las lecturas fotométricas, primero coloque el blanco de reactivos en la celda, léalo como blanco en el rango de la longitud de onda de los 543 nm y posterior a eso leer los estándares.
- Para la lectura del blanco, colocar 25 ml de agua destilada, añadir 1 ml del reactivo de coloración y realizar las lecturas fotométricas después de 30 minutos, pero antes de 2 horas, ya que su concentración empezaría a decaer. Repetir la misma preparación para los estándares y las muestras de agua.

Para los cálculos aplicar la siguiente formula:

$$mg \frac{NO_2}{L} = A * B * C$$

(Ecuación 3)

Donde:

A: Pendiente obtenida a partir de la curva de calibración.

B: Absorbancia dada por el espectrofotómetro.

C: Factor de dilución.

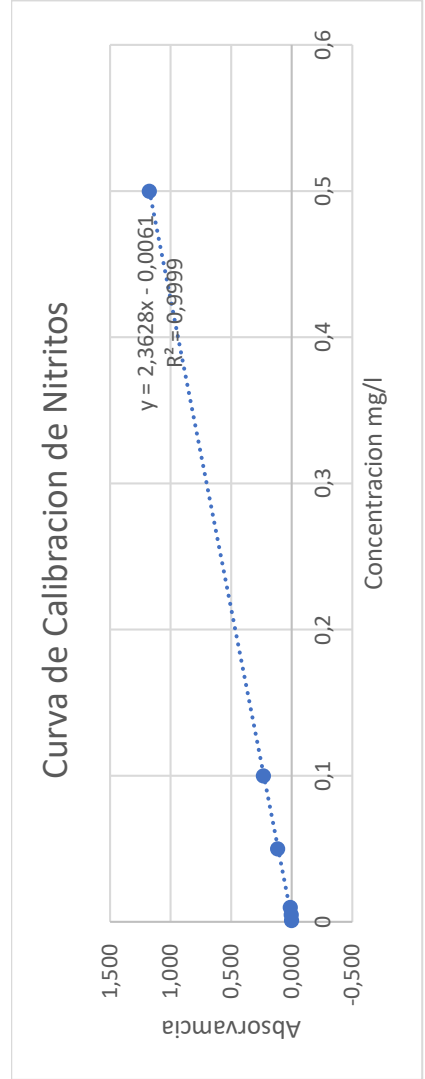
\*En casos de muestras concentradas se recomienda realizar la dilución de la misma.

**RANGO DE CALIBRACIÓN 0,001 - 0,5 mg/L (ppm)**

Nitritos  $\lambda$  543 nm

**CURVA DE CALIBRACIÓN**

m g/L	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia 4	Absorbancia 5	Absorbancia 6	Absorbancia 7	Absorbancia 8	Absorbancia 9	Absorbancia 10	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00000	0,000
0,005	0,002	0,004	0,003	0,004	0,002	0,003	0,004	0,004	0,002	0,003	0,003	0,00088	28,245
0,01	0,01	0,011	0,011	0,01	0,011	0,011	0,011	0,011	0,01	0,011	0,011	0,00048	4,514
0,05	0,12	0,117	0,116	0,116	0,116	0,115	0,115	0,115	0,115	0,116	0,116	0,00152	1,313
0,1	0,233	0,233	0,233	0,233	0,233	0,232	0,233	0,232	0,232	0,233	0,233	0,00048	0,208
0,5	1,176	1,175	1,174	1,175	1,173	1,175	1,175	1,176	1,175	1,172	1,175	0,00126	0,108



**Anexo 6.** Método estándar de análisis de nitratos – 4500 NO<sub>3</sub>-B (Rice et al., 2012b)

### **Reactivos**

- **Solución patrón de nitrato.** \_ Secar nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) al 99% o mayor, en un horno a 105°C por 24 h. Disolver 0,1805 g en agua destilada y diluir a 250 ml. Esta solución es estable por lo menos 6 meses.
- **Solución intermedia de nitrato.** \_ Diluir 100 ml de la solución patrón de nitrato a 1000 ml con agua destilada. Esta solución es estable por lo menos 6 meses.
- **Solución de ácido clorhídrico HCl, 1 N.**\_ Diluir 83 ml de HCl concentrado en 800 ml de agua tipo uno, completar 1000 ml.

### **Procedimiento**

A partir de la solución patrón de nitratos de 100 mg NO<sub>3</sub>/L, prepare las soluciones de trabajo de 0,03 - 0,10 - 2.0 y 5.0 mg NO<sub>3</sub>/L y elabore la curva de calibración. (Norma Técnica Colombiana, 2004)

- Prepare un estándar de 5 mg NO<sub>3</sub>/L a partir de la solución intermedia de 10 mg NO<sub>3</sub>/L, tome 25 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 50 ml, con agua destilada.
- Prepare un estándar de 2 mg NO<sub>3</sub>/L a partir de la solución intermedia de 10 mg NO<sub>3</sub>/L tome 10 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 50 ml, con agua destilada.
- Prepare un estándar de 0,10 mg NO<sub>3</sub>/L a partir de la solución intermedia de 10 mg NO<sub>3</sub>/L, tome 2 ml de esta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 ml, con agua destilada.

- Prepare un estándar de 0.03 mg NO<sub>3</sub>/L a partir de la solución patrón de 2, mg NO<sub>3</sub>/L tome 3 ml de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 ml, con agua tipo uno.
- Los estándares de control que se preparan con cada determinación son los de 0,20 y 1 mg NO<sub>3</sub>/L, tomando de 2 y 10 ml respectivamente del patrón intermedio de 10 mg NO<sub>3</sub>/L y complete a volumen de 100 ml.
- Para la preparación de la curva mida 25 ml de cada uno de los estándares de trabajo y transfíralos a un Erlenmeyer de 125 ml. Adicione 0.5 ml de solución de HCl 1 N y mezclar muy bien.
- Para las lecturas fotométricas filtrar previamente las muestras y el blanco, mida 25 ml y transfíralos a un Erlenmeyer de 125 ml, reserve el resto del filtrado para posibles diluciones. Adicione 0.5 ml de solución de HCl 1 N y mezclar muy bien.

Aplicar la siguiente fórmula para la determinación de nitratos:

$$\frac{mg}{L} NO_3 = M * (A - (2 * B))$$

(Ecuación 4)

Donde;

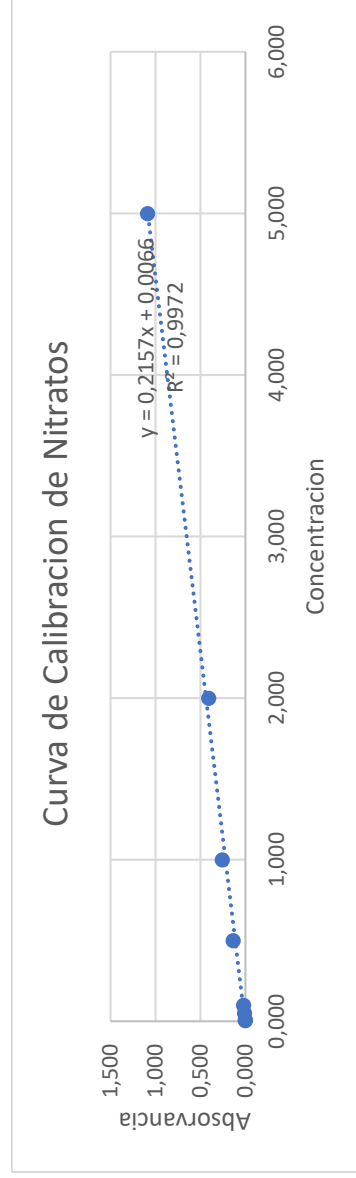
M: inverso de la pendiente de la curva de calibración.

A: absorbancia de 220nm

B: Absorbancia a 275nm

**RANGO DE CALIBRACIÓN 0,005 - 5 mg/L (ppm)**

Nitratos $\lambda$ 220 nm													
CURVA DE CALIBRACIÓN													
mg/L	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia 4	Absorbancia 5	Absorbancia 6	Absorbancia 7	Absorbancia 8	Absorbancia 9	Absorbancia 10	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0000	0,000
2	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003	0,002	0,002	0,0007	43,700
3	0,009	0,009	0,009	0,009	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,010	0,0010	10,125
4	0,021	0,02	0,02	0,021	0,021	0,021	0,021	0,02	0,02	0,02	0,021	0,0005	2,571
5	0,135	0,136	0,135	0,135	0,136	0,136	0,136	0,136	0,136	0,136	0,136	0,0004	0,356
6	0,257	0,257	0,257	0,257	0,257	0,257	0,257	0,258	0,257	0,258	0,257	0,0004	0,164
7	0,409	0,409	0,408	0,409	0,409	0,409	0,409	0,409	0,409	0,408	0,409	0,0004	0,103
8	1,089	1,088	1,087	1,088	1,089	1,089	1,089	1,089	1,087	1,087	1,088	0,0009	0,084





## **Anexo 7. Método estándar de análisis de fosfatos – 4500 P-E (Rice et al., 2012c).**

### **Reactivos**

- Solución de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). \_ Mezclar 70 ml de ácido sulfúrico concentrado con 450 ml de agua destilada. Dejar enfriar y almacenar en recipiente de vidrio.
- Solución de tartrato de potasio antimonilo ( $C_4H_4KO_7Sb$ ) \_ Disolver 0.34 de potasio antimonilo en 250 ml de agua destilada.
- Solución heptamolibdato de amonio ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$ ). \_ Disolver 15 g de heptamolibdato de amonio en agua destilada y aforar a 500ml. Se recomienda almacenar en botella de vidrio y lejos de la luz. Se mantiene estable durante varias semanas.
- Solución de ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ). \_ Disolver 10.8 gramos de ácido ascórbico en 200 ml de agua destilada. Almacenar la solución en recipiente plástico protegido de la luz y mantener en congelación.
- Reactivo Mixto. \_ Se debe mezclar para 100 ml, 20ml de solución de molibdato, 50 ml de solución de ácido sulfúrico, 20 ml de solución de ácido ascórbico y 10 ml de solución de tartrato de potasio antimonilo. Mezclar de manera homogénea el reactivo mixto. Se mantiene estable cada 4 horas, se recomienda preparar diariamente.
- Solución stock de fosfato. \_ Se debe secar por 2 horas a  $104^\circ C$  0.2 g de dihidrogeno fosfato de potasio ( $KH_2PO_4$ ) y diluir a 1000 ml con agua destilada. Almacenar en envases ámbar y se mantiene estable por varios meses.
- Solución estándar de fosfato. \_ Disolver 0.1361 g de dihidrógeno fosfato de potasio ( $KH_2PO_4$ ) (previamente seco a  $104^\circ C$  por dos horas), en 100 ml de agua destilada almacenar en una botella oscura con 50  $\mu$  l de cloroformo.

Esta solución tiene una concentración de 10000  $\mu$  g.at/l y es estable por varios meses.

### **Procedimiento**

Depositar en balones de 25 ml de cada muestra de agua previamente filtrada. Luego agregar a cada balón 2.5 ml del reactivo mixto. Mezclar y cubrir el Erlenmeyer con papel aluminio para evitar contaminación. Dejar en reposo 5 minutos. Seguidamente, registrar la absorbancia de cada una de las muestras, el estándar de trabajo y el blanco de reactivo en una longitud de onda de 885 nm.

Para la determinación de la curva fosfato aplicar la fórmula:

$$\frac{mg}{L} PO_4 = A * B$$

(Ecuación 5)

Donde:

A: Pendiente obtenida a partir de la curva de calibración

B: Absorbancia

**Rango de Calibración 0.1 - 5 mg/l**  
**Fosfatos λ 882 nm**

CURVA DE CALIBRACIÓN													
m g/L	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia 4	Absorbancia 5	Absorbancia 6	Absorbancia 7	Absorbancia 8	Absorbancia 9	Absorbancia 10	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
1	0,031	0,029	0,029	0,029	0,029	0,028	0,03	0,029	0,029	0,029	0,029	0,00089	3,042
2	0,132	0,131	0,131	0,131	0,131	0,132	0,130	0,133	0,130	0,130	0,131	0,00045	0,341
3	0,274	0,273	0,274	0,273	0,274	0,272	0,271	0,27	0,27	0,274	0,274	0,00055	0,200
4	1,058	1,057	1,056	1,055	1,058	1,057	1,057	1,058	1,056	1,055	1,057	0,00130	0,123

