



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**TEMA:**

**“DETERMINACIÓN DE LAS PROTEÍNAS SOLUBLES Y CLOROFILA EN  
*RHIZOPHORA HARRISONII* MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE  
LUZ VISIBLE COMO INDICADORES DE POLUCIÓN EN UN SECTOR DEL  
PUERTO DE GUAYAQUIL.”**

**AUTOR**

**WALTER XAVIER SIERRA APOLINARIO**

**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**ING. QCO. CARLOS MUÑOZ CAJIAO, M.Sc**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**DICIEMBRE 2016**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

**Walter Xavier Sierra Apolinario**, declaro bajo juramento que el trabajo de titulación aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaro cedo los derechos de propiedad intelectual a la **UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL – FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

-----  
**Walter Xavier Sierra Apolinario**

## AVAL DE TUTOR

ING. QUIM. CARLOS MUÑOZ CAJIAO, M.Sc. Certifico haber tutelado el trabajo de titulación; “Determinación de las proteínas solubles y clorofila en *Rhizophora harrisonii* mediante espectrofotometría de luz visible como indicadores de polución en un sector del Puerto de Guayaquil”, que ha sido desarrollado por Walter Xavier Sierra Apolinario, previa obtención del título de Ingeniero Químico, de acuerdo al REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN PARA EL GRADO DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA.

ATENTAMENTE

-----  
Ing. Qco. Carlos Muñoz Cajiao, M.Sc.

# CERTIFICADO DE APOYO EN PROCESO DE INVESTIGACIÓN DOCTORAL

Por medio de la presente yo Olga Quevedo Pinos con C.I. 0909642936, docente de la Universidad de Guayaquil, certifico que el trabajo de titulación: “Determinación de las proteínas solubles y clorofila en *Rhizophora harrisonii* mediante espectrofotometría de luz visible como indicadores de polución en un sector del Puerto de Guayaquil” es un producto parcial de la investigación doctoral: “Relación de las características morfológicas del manglar y el SO<sub>2</sub> en el Puerto marítimo de Guayaquil”, desarrollado por la suscrita.

Particular que comunico para los fines pertinentes

Atentamente

-----  
Blga. Olga Quevedo Pinos, M.Sc.

C.I. 0909642936

# CERTIFICADO DE EXPOSICIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

D.L. NO. 69-04 DE 14 DE ABRIL DE 1969

*Calidad, Pertinencia y Calidez*

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

De: Consejo Académico del CTEC 2016  
Universidad Técnica de Machala



Saludos cordiales:

II CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

En el marco de sus 47 años de creación institucional y después del éxito conseguido en su primera convocatoria, la Universidad Técnica de Machala (UTMACH) se apresta a inaugurar el II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología, CTEC 2016, a realizarse del 23 al 25 de noviembre.

**El Consejo Académico del CTEC 2016 tiene el gusto de informarles que la ponencia "Cuantificación de proteínas y clorofila como indicadores de contaminación en *Rizopogon harrisonii* en el Puerto de Guaysquil", ha sido aceptada para su presentación en dicho evento en la modalidad de ponencia oral.**

Agradecemos su participación en nuestro Congreso y aprovechamos para invitarle a que consulte la página oficial del CTEC 2016, donde se actualizan las actividades científicas organizadas y el programa general para tal encuentro, tanto de carácter científico como social.

Prof. Hugo Romero Bonilla

Consejo Académico  
II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología  
Universidad Técnica de Machala  
Av. Panamericana Km. 5 1/2 Vía a Pasaje  
Machala, El Oro, Ecuador



Dpto. Investig. Inc. 5 1/2 Vía Machala Pasaje Telf: 2983362 - 2983363 - 2983363 - 2983364

www.utmachala.edu.ec

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco primero a Jehová por darme fuerzas, sabiduría en todo este tiempo para continuar con mis metas.

A mi madre la Dra. Haydee Apolinario por darme siempre su apoyo incondicional y siempre guiándome para seguir adelante en todo momento.

Al ingeniero Carlos Muñoz por ayudarme en las tutorías, con su paciencia y comprensión.

A la Blga. Olga Quevedo Msc. por permitirme ser parte de su tesis doctoral, su tutoría y acompañamiento en la recolecta de muestras.

A la Dra. Patricia Manzano, Ana Barragán y todo el personal del CIBE que estuvieron apoyándome siempre y enseñándome con sus conocimientos para el aporte de este tema.

Gracias a todos.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de titulación dedico a mi madre que siempre está en las buenas y en las malas, a mi familia en general.

# INDICE

DERECHOS DE AUTORÍA.....	II
AVAL DE TUTOR .....	III
CERTIFICADO DE APOYO EN PROCESO DE INVESTIGACIÓN DOCTORAL.....	IV
CERTIFICADO DE EXPOSICIÓN .....	V
AGRADECIMIENTO .....	VI
DEDICATORIA .....	VII
RESUMEN.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I.....	2
1.1 Tema .....	2
1.2 Antecedentes.....	2
1.3 Justificación .....	4
1.4 Objetivos.....	4
Objetivo general .....	4
Objetivos específicos .....	5
1.5 Limitaciones geográficas .....	5
Manglares “Don Goyo” .....	6
CAPITULO II.....	8
Marco Teórico.....	8
2.1 Contaminación atmosférica .....	8
2.1.1 Contaminantes atmosféricos .....	8
2.1.2 Dióxido de azufre .....	9
2.1.3 Efectos del dióxido de azufre en la atmósfera.....	9
2.1.4 Relación entre los estomas y la contaminación atmosférica .....	10
2.2 Fotosíntesis .....	11
2.2.1 Clorofila .....	11
2.2.2 Estructura de la molécula de clorofila.....	12

2.2.3 La clorofila y su función en la fotosíntesis .....	12
2.2.4 Espectro de absorción y color .....	13
2.3 Proteínas .....	14
2.3.1 Tipos de proteínas.....	14
2.3.1.1 Proteínas simples .....	15
2.3.1.2 Proteínas conjugadas.....	16
2.3.2 Métodos de medición de proteínas.....	18
2.4 Manglar.....	20
2.4.1 Localización de los manglares .....	21
2.4.2 Características morfológicas del manglar.....	22
2.4.2.1 Mangle rojo.....	22
CAPITULO III .....	24
3.1 Metodología .....	24
3.1.1 Metodología de la investigación .....	24
3.1.2 Tipo de investigación.....	24
3.2 Método de investigación .....	25
3.2.1 Métodos empíricos .....	25
3.2.2 Métodos teóricos .....	25
3.2.3 Método analítico y descriptivo .....	26
3.2.4 Unidad de análisis .....	26
3.3 Materiales Muestreo y procedimiento de muestreo .....	27
3.3.1 Descripción del control .....	27
3.3.2 Preparación de la muestra para la determinación de proteínas solubles y clorofilas .....	28
3.3.3 Tratamiento previo a las hojas de análisis.....	28
3.4 Determinación de Clorofila .....	29
3.5 Determinación de proteínas solubles.....	30
3.5.1 Curva de calibración.....	30
CAPITULO IV.....	35
4.1 Análisis de los resultados y discusión.....	35
4.2 Resultados.....	35

4.3 Discusión .....	40
CONCLUSIONES .....	42
RECOMENDACIONES .....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS.....	48

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: UBICACIÓN DE LOS TRANSECTOS ESTUDIADOS. ....	6
FIGURA 2: MAPA DE LA RESERVA NATURAL “DON GOYO”.....	7
FIGURA 3: DIVISIÓN DE LAS ZONAS PARA PROTEINAS Y CLOROFILAS. ....	28
FIGURA 4: ESTRUCTURA MOLECULAR DE UNOS PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS. ....	49
FIGURA 5: ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LOS PRINCIPALES PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS DE LAS PLANTAS.....	49
FIGURA 6: MAPAS DE ÁREAS DE DISTRIBUCIÓN DE MANGLARES EN EL MUNDO.....	50
FIGURA 7: MANGLE ROJO ( <i>Rhizophora harrisonii</i> ).....	50
FIGURA 8: ESTACIÓN TRANSECTO. ....	51
FIGURA 9: ROTULADO DE MUESTRAS.....	51
FIGURA 10: IDENTIFICACIÓN DE LAS HOJAS .....	51
FIGURA 11: PESADA DE LAS MUESTRAS.....	51
FIGURA 12: MEZCLA DE ACETONA CON HOJAS. ....	52
FIGURA 13: MUESTRAS MOLIDAS CON ACETONA.....	52
FIGURA 14: TUBOS EPPENDORF CON MUESTRA.....	52
FIGURA 15: MICROPLACA DE 96 POCILLOS CON MUESTRA. ....	52

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1: CARACTERÍSTICAS DEL MANGLE ROJO.....	22
TABLA 2: ECUACIÓN DE LA RECTA DEL SUERO BOVINO. ....	33

TABLA 3: MEDIAS DE PROTEÍNAS SOLUBLES.....	36
TABLA 4: MEDIDAS CLOROFILA a. ....	37
TABLA 5: MEDIDAS CLOROFILA b. ....	38
TABLA 6: MEDIDAS SIGNIFICATIVAS DE CLOROFILA a Y b, CAROTENOS Y PROTEÍNAS SOLUBLES. ....	40
TABLA 7: TRANSECTO 1. ....	53
TABLA 8: TRANSECTO 2. ....	53
TABLA 9: TRANSECTO 3. ....	54
TABLA 10: CONTROL.....	55
TABLA 11: PROTEINAS CUANTIFICADAS EN $\mu\text{G/ML}$ .....	56
TABLA 12: CLOROFILAS a CUANTIFICADAS $\mu\text{G/ML}$ .....	57
TABLA 13: CLOROFILAS b CUANTIFICADAS $\mu\text{G/ML}$ .....	58
TABLA 14: VALORES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES AL AIRE PARA FUENTES FIJAS DE COMBUSTIÓN. ....	61
TABLA 15: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA EMISIONES GASEOSAS DE INCINERADORES.....	62
TABLA 16: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES PARA GENERADORES ELÉCTRICOS. ....	63
TABLA 17: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES PARA PLANTAS TERMOELÉCTRICAS [1]. ....	63

## **INDICE DE GRÁFICOS**

GRÁFICO 1: CURVA DE CALIBRACIÓN DE SUERO BOVINO.....	31
GRÁFICO 2: INTERVALO DE PROTEINAS SOLUBLES. ....	36
GRÁFICO 3: INTERVALO DE CLOROFILA a. ....	38
GRÁFICO 4: INTERVALO DE CLOROFILA b. ....	39

## RESUMEN

La contaminación atmosférica generada por la actividad naviera, industrial, termoeléctrica, cementera y de producción de acero, son componentes que no se han analizado en cómo afecta a los manglares de zona del Puerto de Guayaquil. Este estudio se medirán variables que afecten a la calidad de vida en los manglares, y se va a referenciar las proteínas solubles y las clorofilas para *Rhizophora harrisonii* en dos áreas, la primera es una zona poluída con respecto a una zona de conservación, se analizaron 180 muestras de sol durante la marea alta en época seca durante el mes de Agosto. Para los análisis de las muestras se utilizó métodos de espectrofotometría de luz visible y los resultados fueron medidos estadísticamente con ANOVA simple de una vía, con el programa Statgraphic 5.1. Se encontró que las medias de proteínas y clorofila fueron significativamente más altas en la zona de control comparándolas con los transectos cerca del puerto.

Palabras claves:

Manglar – Contaminación – Proteínas solubles – Clorofila – Dióxido de azufre

## ABSTRACT

Air pollution generated by shipping, industrial activity, thermal power, cement and steel production, are components that have not been analyzed in how it affects the mangrove area of Puerto de Guayaquil. This study variables affecting the quality of life in the mangroves are measured, and will reference the soluble proteins and chlorophylls to *Rhizophora harrisonii* in two areas, the first is a polluted area with respect to a conservation area, is they analyzed 180 samples sun at high tide during the dry season during the month of August. For sample analysis methods they were used visible light spectrophotometry and the results were measured statistically by ANOVA single one-way, with Statgraphic 5.1 program. It was found that average protein and chlorophyll were significantly higher in the control area comparing with transects near the port.

Keywords:

Mangrove – pollution – soluble protein – Chlorophyll – Sulfur dioxide

# INTRODUCCIÓN

Los manglares son una parte fundamental en el ecosistema de nuestro planeta. En el Ecuador existen varias especies de manglares que se encuentran a lo largo del perfil costero y estos árboles actúan como hogar y refugio para algunos animales que viven en este medio (Ramon Bravo, Almanza, & Sariago, 2006).

En Guayaquil existen industrias y puertos que se encuentran muy cerca de los manglares y algunas de estas envían gases contaminantes a la atmósfera que pasan los límites permitidos por el ministerio del ambiente (ESPOL, 2012).

Según indica (Bretón *et al.*, 2012), la relación que existen entre los gases de combustión, específicamente el SO<sub>2</sub> y las hojas de los árboles que reaccionan al aumento de este. Actualmente en el Ecuador existen pocos estudios sobre la contaminación que se encuentran en estos bosques y este estudio busca referenciar las proteínas solubles y clorofilas de manglar rojo *Rhizophora harrisonii* en dos áreas, la primera que se encuentra en el Puerto de Guayaquil y la segunda en la reserva humedal manglares de “Don Goyo”.

Estos análisis se realizaron en la época seca, en el mes de agosto, para luego ser comparadas con un estudio que se va a ejecutar en la etapa de invierno. Para la cuantificación de clorofila se optó por el método de Bradford y para clorofila se tomó las ecuaciones de Lichtenthaler para acetona al 80%.

# CAPÍTULO I

## 1.1 Tema

Determinación de las proteínas solubles y clorofila en *Rhizophora harrisonii* mediante espectrofotometría de luz visible como indicadores de la afectación por polución en un sector del Puerto de Guayaquil.

## 1.2 Antecedentes

Los manglares tienen una importancia fundamental en las funciones ecológicas como: prevención de la erosión de las zonas costeras, abastece de alimento a mamíferos y aves, establece un ambiente idóneo para la anidación, cría y alimentación de una enorme gama de animales y organismos acuáticos viviendo en esa zona (Schaeffer-Novelli, Cintrón-Molero, Adaime, & de Camargo, 1990). Efectos dañinos en la vida acuática, cambios en la diversidad de las especies y la reducción en la productividad son solo algunas de las secuelas y el resultado directo de la falta de planes de contingencia y de efectivos controles institucionales, frente a la presión que se provoca en el ecosistema de manglar para la obtención de materia prima.

En el Ecuador no existen indicadores que demuestren los niveles de dióxido de azufre en los manglares de las zonas costeras del país, por ende, son incipientes los estudios sobre la contaminación generada por la industria: naviera, termoeléctricas, cementeras y acerías.

Debido al desconocimiento de los indicadores químicos-orgánicos en manglar rojo (*Rhizophora harrisonii*) influenciados por la contaminación atmosférica en el puerto de Guayaquil, se busca poder determinar los niveles de proteínas solubles que se encuentran en las hojas de los árboles de manglar para poder obtener una información concreta sobre la contaminación situada en esa zona de alta actividad naviera (Quevedo, en prensa).

Actualmente en el Puerto Marítimo de la ciudad de Guayaquil, semanalmente cruzan un promedio de 19 barcos los cuales influye en la calidad de los manglares (INEC, 2014), afectando las hojas con el cubrimiento de hollín que se adhiere a las hojas.

Los manglares del Puerto de Guayaquil se encuentran afectados debido a la actividad naviera, que influye en su calidad y encontrándose hollín adherido en la superficie de sus hojas, observ. pers. en las zonas aledañas a la actividad del Puerto de Guayaquil en el 2011 (Quevedo en prensa).

Otros factores que inciden en la contaminación de los manglares, según lo indicado por el Ministerio del Ambiente (2012), es el desfogue de aguas servidas, cierre de esteros, rellenos, infraestructuras industriales, entre otros. (ESPOL, 2012) refleja en su auditoría ambiental el incumplimiento de la norma ambiental en la central termoeléctrica Ing. Gonzalo Zevallos G. con respecto a sus chimeneas No 2 y No 3 con valores de 1811.3 mg/Nm<sup>3</sup> y 1842.6 mg/Nm<sup>3</sup> respectivamente con respecto al valor permitido 1650 mg/Nm<sup>3</sup>, ver Anexo 3.

En consecuencia, este estudio cuantificará las proteínas solubles que se encuentran en las hojas de las especies de manglar rojo que están influenciadas por la actividad naviera en el Puerto Marítimo de la ciudad de Guayaquil, a partir de los hallazgos de (Cerón-Bretón & Cerón-Bretón, 2010), quién realizó investigaciones en los manglares de la península de Yucatán – Campeche, demostrando que las concentraciones de SO<sub>2</sub> y O<sub>3</sub> aplicado con

diferentes niveles de pH, influyen en las proteínas y clorofilas de las plantas de manglar y otras especies.

### **1.3 Justificación**

Aportará con conocimiento nuevo sobre las concentraciones de proteínas y clorofila en las hojas de manglar en el Ecuador, corroborando los aportes de (Cerón-Bretón & Cerón-Bretón, 2010) y permitiendo que nuevos estudios se desarrollen para cubrir vacíos de información que se generen a partir de este.

Se demostrará como las capacidades académico-científicas de la universidad de Guayaquil junto con el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la ESPOL, pueden contribuir en la resolución de problemáticas ambientales y sociales de su entorno. El perfil profesional se vincula como aprendizaje futuro para el trabajo en equipo y multidisciplinario frente a las demandas de estudios de impacto ambiental, análisis en laboratorios y responsabilidad social en el sector industrial respecto a los efluentes atmosféricos depositados por las chimeneas.

### **1.4 Objetivos**

Objetivo general

- Determinar la concentración de proteínas solubles y clorofila en *Rhizophora harrisonii*, mediante espectrofotometría de luz visible como indicadores de la afectación por polución en un sector del Puerto de Guayaquil.

#### Objetivos específicos

- Cuantificar las proteínas solubles mediante el método de Bradford en manglar rojo (*Rhizophora harrisonii*) en el Puerto de Guayaquil.
- Comparar los datos obtenidos de proteínas solubles y clorofilas en manglar rojo (*Rhizophora harrisonii*) en el control del estuario del interior del Golfo de Guayaquil, con respecto a la zona de influencia en el Puerto de Guayaquil.
- Referenciar la concentración en época seca de proteínas solubles del manglar rojo (*Rhizophora harrisonii*) en el control del estuario del interior del Golfo de Guayaquil, respecto a la zona de influencia en el Puerto de Guayaquil.

### **1.5 Limitaciones geográficas**

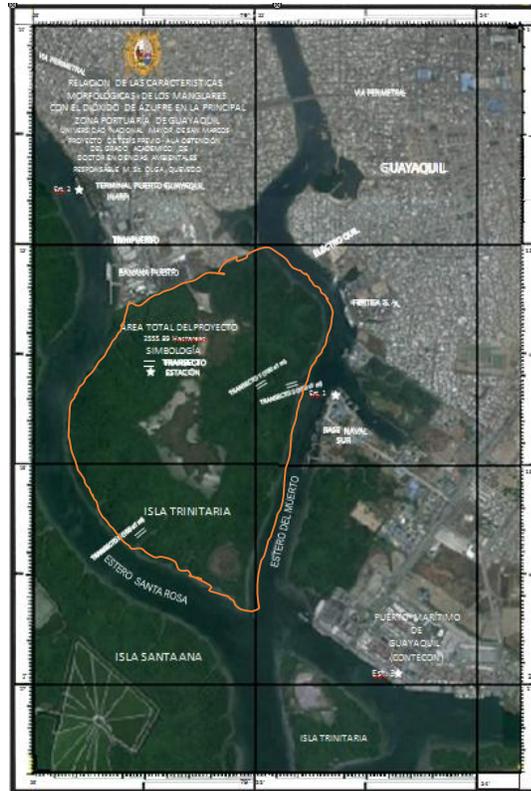
La presente investigación se desarrolló en los manglares interiores del Golfo de Guayaquil, y en las proximidades a la ciudad que lleva el mismo nombre, como elemento de investigación para la toma de muestras se eligió un sector de manglar influenciado por la actividad naviera en el Puerto de Guayaquil.

El tiempo empleado en el estudio comenzó en el mes de julio desde la preparación del anteproyecto hasta las salidas de campo y los análisis de laboratorio finalizando los mismos en septiembre.

Tiene una gran importancia a nivel local porque en este sitio es donde se realiza la colecta de cangrejos y la pesca de peces como la lisa, corvina, etc. para su posterior comercialización en la ciudad, es de suma importancia económicamente hablando, pero su diversidad en fauna y flora es lo que la destaca como lugar de reserva.

FIGURA 1: UBICACIÓN DE LOS TRANSECTOS ESTUDIADOS.

(2°16'51"S 79°54'49" O)



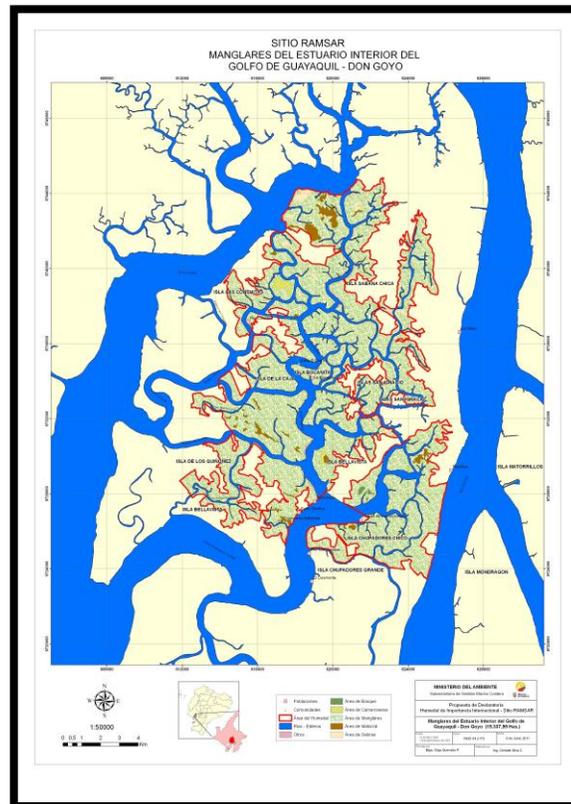
Fuente: (Quevedo, 2016 en prensa).

### Manglares “Don Goyo”

El humedal Manglares “Don Goyo”, está a 25 km de Guayaquil, ubicado en la Zona Central del Estuario Interior del Golfo de Guayaquil, su jurisdicción incluye la parroquia rural Puná y parroquia Ximena, del cantón Guayaquil, Provincia del Guayas, Región Costera Ecuatoriana, limitando al norte con la Isla Santa Ana, al sur con la Concesión de Manglar de la Asociación de Usuarios de Manglar Cerrito de los Morreños, al este con Isla Matorrillos de la

Reserva Ecológica “Manglares Churute” y al oeste con la Isla de los Quiñonez e Isla la Orozco (RAMSAR, 2004).

FIGURA 2: MAPA DE LA RESERVA NATURAL “DON GOYO”.



Fuente: (RAMSAR, 2004).

Las aguas de estuario son muy importantes para que exista el bosque del manglar. Estas áreas sostienen la productividad primaria que, que genera alimento a los organismos que habitan en ella, y también a zonas cercanas mediante la exportación de energía liberada por los manglares. Este ecosistema es comparable con la productividad de los bosques húmedos tropicales, (Ramon Bravo, Almanza, & Sariego, 2006)

# CAPITULO II

## Marco Teórico

### 2.1 Contaminación atmosférica

La contaminación es un problema que tiene muchos años y su alcance tiene gran variación, tanto puede ser en una área pequeña y determinada como en una cocina que funcione con carbón y con ventilación pobre.

También hay grandes industrias que contaminan en sectores de gran crecimiento industrial como en el continente asiático (Manahan, 2006). En el mismo caso la contaminación puede darse nivel local provocado por una fábrica o conjunto de fábricas, así mismo puede darse el caso de contaminación regional, abarcando cientos de kilómetros cuadrados en forma de smog fotoquímico que perjudica una gran área.

#### 2.1.1 Contaminantes atmosféricos

Los contaminantes atmosféricos que causan el deterioro del ambiente radica en los vapores, gases y partículas (Manahan, 2006). Entre los contaminantes más comunes que existen tenemos los dióxidos de carbono, azufre y nitrógeno.

Los contaminantes atmosféricos se clasifican en primarios y secundarios. Los contaminantes primarios son aquellos que tienen una emisión de gases directos al ambiente mientras que los secundarios se crean en el aire por medio de reacciones químicas y fotoquímicas del primero, (Mirta A. Roses, 2005).

Los ejemplos más comunes de contaminantes primarios son monóxido de carbono (CO), óxidos de azufre (SO<sub>x</sub>), óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), entre otros. Como uno de los contaminantes más comunes tenemos dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), y es dañino tanto para el tejido vegetal como para los pulmones (Manahan, 2006), mientras que los contaminantes secundarios, como son consecuencia de los contaminantes primarios tiene una acción oxidativa natural de la atmósfera hacia los gases.

### 2.1.2 Dióxido de azufre

El dióxido de azufre está formado por la oxidación del azufre que se encuentra contenido en un combustible, también lo encontramos en ciertos procesos industriales que utilicen compuestos con contenido de azufre. Las emisiones de SO<sub>2</sub> casi exclusivamente provienen de puntos fijos, (Flagan & Seinfeld, 1988).

### 2.1.3 Efectos del dióxido de azufre en la atmósfera

En la atmósfera encontramos fuentes de azufre gaseoso producidas por bacterias, organismos en el océano y las expulsadas por los volcanes. Pero las fuentes más importantes de dióxido de azufre son las contaminantes, especialmente las combustiones de carbono, donde el azufre orgánico se puede oxidar fácilmente a dióxido de azufre, (Manahan, 2006).

Existen factores que influyen en las reacciones químicas atmosféricas del dióxido de azufre como la humedad, temperatura, transporte atmosférico, etc. Este gas contaminante reacciona para formar materia particulada, para

después ser sedimentada o barrida de la atmósfera por la lluvia u otros factores ambientales, (Manahan, 2006).

El dióxido de azufre es perjudicial para las plantas y varía el daño según el tipo de especie. Es conocido que una alta exposición de este gas puede causar necrosis a las hojas. La vegetación incurre en más lesiones con el dióxido de azufre cuando sus estomas se encuentran abiertos y es cuando existe mayor daño con el gas (Manahan, 2006).

#### 2.1.4 Relación entre los estomas y la contaminación atmosférica

Los factores ambientales no solo intervienen en los procesos de difusión y evaporación de las plantas, sino además en la apertura y cierre de los estomas de la superficie foliar. Cuando amanece, los estomas se abren en respuesta al incremento de luz solar y por consecuencia también de la temperatura de la hoja y el agua se evapora más rápido (Salisbury & Ross, 2000). Los estomas se cierran con mayor rapidez si la planta se la exhibe a oscuridad repentina.

Algunas plantas de climas cálidos y secos, como por ejemplo el cactus, tienen el efecto contrario, cuando es de noche abren sus estomas y fijan el dióxido de carbono con ácidos orgánicos y cierran sus estomas en el día. La mayoría de las plantas cuando existe una baja concentración de CO<sub>2</sub> en la atmósfera, abren sus estomas incluso si es en oscuridad, (Salisbury & Ross, 2000).

Los vientos aportan más gases de combustión, arrebatando el vapor de agua, provocando su evaporación y absorbiendo más CO<sub>2</sub>, pero cuando incrementa el CO<sub>2</sub>, los estomas se cierran parcialmente, (Salisbury & Ross, 2000).

## 2.2 Fotosíntesis

La vida en la Tierra depende fundamentalmente de la energía que nos provee el Sol (Taiz & Zeiger, 2006). El estudio de la fotosíntesis depende del punto de vista que se la quiera estudiar. Algunos solo la consideran como las reacciones que exigen un cuanto de luz, mientras que otros examinan todo el espectro de reacciones por el estímulo inicial proveniente de la luz. Pero básicamente se la define como la absorción de energía lumínica y conversión de potencial químico estable por la síntesis de compuestos orgánicos, (Bidwell, 1993).

La fotosíntesis es muy importante por muchos motivos. Para el hombre su importancia radica en la producción de alimento y oxígeno, por consecuencia se estudia en función a sus productos finales, (Bidwell, 1993). Sin embargo gran de los recursos energéticos de este planta proviene de la actividad fotosintética, así como reciente o de millones de años atrás, (Taiz & Zeiger, 2006).

El tejido fotosintético más activo en las plantas es el mesófilo de las hojas. Las células mesófilas contienen cloroplastos, quienes a su vez contienen pigmentos especializados en absorber luz llamados clorofilas, (Taiz & Zeiger, 2006).

### 2.2.1 Clorofila

Las clorofilas son los pigmentos funcionales de la fotosíntesis, en todas las plantas verdad (Coulter, 1996). Se encuentran, con numerosos carotenoides, dentro de las membranas de los cloroplastos, orgánulos que realizan los procesos fotosintéticos. Los pigmentos de los cloroplastos están

cercanamente relacionados a otros compuestos lipófilos de las membranas, como los fosfolípidos y ciertas proteínas, (Coultate, 1996).

Otros organismos como algas y bacterias fotosintéticas contienen otro tipo de clorofilas, sin embargo, en los vegetales superiores podemos encontrar clorofilas a y b en proporción aproximada 3/1, (Coultate, 1996).

### 2.2.2 Estructura de la molécula de clorofila

Todas las clorofilas tienen una estructura de anillo compleja y esta químicamente relacionada con los grupos porifina (Taiz & Zeiger, 2006), similares a las de los pigmentos hemo, pero se diferencian porque en estas se encuentra un átomo de hierro, mientras que la porfirina de la clorofila contiene un átomo de magnesio en donde debería ir el hierro (Coultate, 1996), como se puede observar en el Anexo 1 (Fig. 4).

También poseen una larga cola de hidrocarburo que está casi siempre unida al anillo (Taiz & Zeiger, 2006). La cola ancla las moléculas de clorofila a la porción hidrofóbica de su ambiente y la mantiene dentro del complejo molecular en que están las clorofilas.

### 2.2.3 La clorofila y su función en la fotosíntesis

Las clorofilas son los únicos pigmentos que absorben luz que se conocen (Bidwell, 1993). En las células eucarióticas, son vesículas distribuidas dentro de los cloroplastos. En los cloroplastos es donde ocurre la fotosíntesis, (Taiz & Zeiger, 2006).

Los pigmentos que no se encuentren dentro de los cloroplastos (las antocianinas azules y rojas, las xantofilas amarillas, y algunos carotenos rojo y naranja) no tiene que ver con la fotosíntesis. La clorofila *a* se encuentra en todas las plantas fotosintéticas, mientras que la clorofila *b* está presente en la mayoría de las plantas verdes.

El proceso fotosintético se divide en dos fases:

La captación de la energía solar, formada por paquetes energéticos que no se pueden separar llamados fotones, donde se realiza la síntesis de energía química en forma de ATP y poder reductor (NADPH) y así ser usados estos productos con alto nivel de energía en disminuir los elementos que constituye la materia orgánica como por ejemplo oxígeno, hidrogeno, carbono, nitrógeno, azufre, etc. (Pozo, 2010) tomados de fuentes inorgánicas como el agua, gases de combustión de la atmósfera, nitratos, sulfatos, etc, para poder incorporarlos a la materia orgánica, (Nobel, 1991).

#### 2.2.4 Espectro de absorción y color

Cuando un fotón se introduce sobre un átomo o molécula que pueda absorber luz a cierta longitud de onda, algunos electrones de esta molécula absorben energía, moviéndose a niveles superiores llamado excitación molecular, dando a una inestabilidad en su estado electrónico y como consecuencia, tiende a soltar esa energía, regresando a su estado fundamental de menor energía, (Pozo, 2010).

Las clorofilas tienen dos picos de absorción en el espectro visible, un pico está localizado en el entorno de luz azul (400 – 500 nm de longitud de onda), y el otro está en la zona roja ( 600 – 700 nm de longitud de onda), pero en la parte media del espectro, reflejan el característico color verde de las hojas (Taiz & Zeiger, 2006), como podemos observar en el Anexo 1 (Fig. 5).

La absorbancia de las clorofilas *a* y *b* puede observarse que captan los colores extremos del espectro (la luz azul y la luz roja), pero no tocan el área verde (Taiz & Zeiger, 2006), así se origina el color verde de las plantas.

## **2.3 Proteínas**

Las proteínas son conocidas como la base de la vida, todas las reacciones de los seres vivos están catalizadas por proteínas enzimáticas (Bidwell, 1993). Las proteínas forman parte del tercer grupo de los macrocomponentes de los sistemas vivos (Coulter, 1996). Los monómeros que están compuestas las proteínas, los aminoácidos, se unen gracias a los enlaces peptídicos.

Las propiedades y funciones de una proteína en particular, dependerán totalmente de las secuencias de sus aminoácidos, que es diferente en cada tipo de proteína. En el caso que se cambie algún aminoácido de la secuencia, lo más probable es que pierda su actividad biológica. La secuencia aminoacídica de cada proteína se define por una secuencia de bases en el ADN, (Coulter, 1996).

### **2.3.1 Tipos de proteínas**

Las proteínas se clasifican por su solubilidad más que por su composición química, no se tiene conocimiento suficiente para poder tener una clasificación basada en su estructura, por ende la solubilidad es el sistema de uso universal, (Bidwell, 1993).

### 2.3.1.1 Proteínas simples

Estas consisten solamente de aminoácidos o sus derivados en su estructura molecular. Estas producen aminoácidos únicos o sus derivados cuando son hidrolizadas por enzimas, ácidos o álcalis, (Álvarez, 2016).

#### Albuminas

Son solubles en agua y en soluciones acuosas de sales diluidas. Es una de las clases importantes de proteínas, tiene propiedades enzimáticas.

#### Globulinas

Ligeramente solubles en agua o insolubles y solubles en soluciones acuosas de sales diluidas. Son importantes tanto para reservas y como enzimas.

#### Prolaminas

Estas son insolubles en agua, pero solubles en etanol de 50 a 90% en agua. Contienen altas cantidades de prolina que frecuentemente son reservas en las semillas.

## Glutelinas

Solubles en ácidos o bases pero insolubles en solventes neutros. Considerado como la reserva proteica más importante en las plantas.

## Protaminas

Son proteínas ricas en argininas y de peso molecular bajo. Se las asocian con las proteínas nucleares, pero son muy comunes en las plantas.

## Histonas

Las histonas poseen un alto contenido de aminoácidos básicos y son solubles en agua. Estas se encuentran comúnmente en el núcleo de las células y se relacionan de algún modo con las nucleoproteínas. Pueden ser reguladores de genes o inhibidores.

### 2.3.1.2 Proteínas conjugadas

Estos contienen una sustancia no proteica llamada prostético que se adhiere a la cadena a través de sales o enlaces covalentes. Poseen una cadena polipeptídica, (Bidwell, 1993).

### Mucoproteínas o glicoproteínas

Resulta de la combinación de proteína y carbohidratos, usualmente un polisacárido de hexosa o de pentosa. Las mucoproteínas vegetales no contienen hexosamina.

### Lipoproteínas

Son complejos de proteínas con una gama de lipoides. Son las proteínas estructurales más importantes de la membrana.

### Nucleoproteínas

Estas proteínas se combinan con ácidos nucleicos. Son a menudo protaminas o histonas. Hay dudas sobre la naturaleza de la asociación, que podría ser un tipo de técnica de extracción.

### Cromoproteínas

Son un grupo complejo e importante de proteínas que tienen varios pigmentos como prostético. La mayoría son importantes y tenemos como ejemplo la hemoglobina, los grupos clorofila-proteína, flavoproteínas y proteínas carotenoides.

## Metaloproteínas

Estas enzimas comunes contienen un metal en el grupo prostético asociado no tan estrechamente con la porción proteica.

### 2.3.2 Métodos de medición de proteínas

La determinación del contenido proteico que más se usa es a partir del nitrógeno que se encuentra en la muestra. Para poder determinar las proteínas contenida, se debe eliminar el resto de materia orgánica, (Skoog, 2015).

Existen algunos métodos para cuantificar las proteínas, muchos de estos métodos tienen como base, (Duarte, 2012):

- A. Las propiedades intrínsecas de las proteínas para absorber la luz en el UV.
- B. Formar derivados químicos.
- C. Capacidad de ciertas proteínas para mezclarse con algunos colorantes.

Los métodos fotométricos son aquellos que determinan la concentración de las proteínas que absorben luz a una longitud de onda específica, como lo indica la ley de Lambert – Beer, tenemos como ejemplo ciertos aminoácidos que pueden absorber mayor cantidad de luz a 280 nm de manera natural. Como existen muchos compuestos que pueden interferir en la lectura de las proteínas, por esta razón se lo usa de modo presuntivo, para determinar la cantidad de proteínas presentes, (Skoog, 2015).

Entre los métodos fotométricos para determinar proteínas están el de Buiet, Lowry, Bca y Bradford.

### Método de Biuret

Se caracteriza por la formación de complejo coloreado entre  $\text{Cu}^{2+}$  y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico (Fernández & Galván, 2006). Dependiendo de la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos) que tenga la muestra, será la intensidad del color. Como la reacción es bastante específica, no existen muchas sustancias que interfieran (Fernández & Galván, 2006). Su sensibilidad es muy baja.

### Método de Lowry

Este método tiene como base la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu provocada por el complejo unión peptídico- $\text{Cu}^{2+}$  en un medio alcalino, para medir la cantidad de proteínas totales en un compuesto. La concentración de proteínas se detecta gracias a la diferencia de color, utilizando técnicas de colorimetría, (Montoya & Torres, 2013). Bastante sensible.

### Método BCA

El ácido bicinconínico, sal sódica, este compuesto es capaz de formar un complejo color púrpura intenso con los iones de  $\text{Cu}^{1+}$  en un medio alcalino. Este reactivo forma como base de un método analítico que tiene como capacidad de monitorizar el ion cuproso que se produce en una reacción entre las proteínas con  $\text{Cu}^{2+}$  en un medio alcalino, (Montoya & Torres, 2013). Muy sensible y tiene menos interferencia.

## Método de Bradford

El método de Bradford tiene como base la unión de un colorante llamado Comassie Blue G-250 hacia las proteínas. Este colorante existe en dos formas en una solución ácida, en forma azul y la otra naranja. Las proteínas se dirigen a la forma azul (absorbiendo a 595nm) para hacer un complejo proteína-colorante con un coeficiente de extinción mayor al del colorante libre, (Fernández & Galván, 2006).

Esta unión se realiza por medio de grupos ionizados y se demuestra la proporcionalidad con la concentración de proteínas contenidas en la muestra, (Montoya & Torres, 2013).

Este método es sensible (1-15 µg), es simple, rápido, no es costoso y la interferencia de sustancias es mínima para su determinación. Entre las sustancias que interfieren son los detergentes y las soluciones básicas.

Al momento no existen sistemas que sean totalmente satisfactorios para poder determinar proteínas en una muestra. Para poder elegir un método depende mucho de la naturaleza de la proteína y los componentes restantes que están presentes en la muestra, (Montoya & Torres, 2013).

El método que se utilizó fue el de Bradford, porque es un procedimiento rápido, que no es muy complejo de seguir y su mayor sensibilidad.

## **2.4 Manglar**

El termino manglar es utilizado comúnmente para identificar los árboles y arbustos que tienen adaptaciones morfológicas, como por ejemplo raíces aéreas, semillas vivíparas y glándulas que excretan sal. Los manglares

incluyen 27 géneros y alrededor de 70 especies a nivel mundial y los bosques de manglar proveen vital importancia ecológica tales como suelos de crianza y refugio para muchas especies de animales, también protección costera y retención de nutrientes, (Saint-Paul & Schneider, 2010).

Las raíces se encuentran parcialmente sumergidas en el suelo, y la parte aérea de la raíz es la que obtiene parte del oxígeno del árbol para subsistir. Tiene en las hojas una estructura nombrada hidátolos en la cual expulsa el exceso de sal: cuando las raíces absorben los nutrientes del agua, la sal circula en el interior de la planta hasta que llega a las hojas y es expulsada, donde se acumula en la superficie de esta, (Ramon Bravo *et al.*, 2006).

#### 2.4.1 Localización de los manglares

Los bosques de manglares se encuentran principalmente en las zonas tropicales y subtropicales de nuestro planeta, la razón es porque en estas zonas son muy cálidas, la temperatura y la luz solar son constantes durante todo el año, (“Red Manglar,” 2012).

Los bosques de manglar se encuentran en la mayoría de los continentes del planeta (América, África, Asia y Oceanía) en el continente americano y El Caribe se localizan esta especie en todos los países costeros excepto en Chile, Argentina y Uruguay, (“Red Manglar,” 2012).

En el Ecuador se pueden encontrar los manglares a lo largo del perfil costanero, se los encuentran en las zonas donde se unen el agua salada del mar con el agua dulce de los ríos, es decir en estuarios, deltas y desembocaduras de los ríos, en las islas o islotes, (Vargas, 2002).

## 2.4.2 Características morfológicas del manglar

### 2.4.2.1 Mangle rojo

#### *Rhizophora harrisonii*

En el Ecuador contamos con dos especies de mangle rojo, en ambos casos se encuentran como especies en amenaza (Guevara, 2009). Estos árboles pueden alcanzar una altura de hasta 45 metros, principalmente en la desembocadura de los ríos, aunque habitualmente tienen unos 15 metros de altura. La corteza externa es de color gris claro, con manchas oscuras y la cara interna es rosada (Ramon Bravo *et al.*, 2006). El color de la madera es rojizo y no contiene anillos de crecimiento. Sus hojas opuestas se agrupan apicalmente en internodos cortos que son simples, con tamaños que van de 8 a 10 centímetros, (Ramon Bravo *et al.*, 2006).

TABLA 1: CARACTERÍSTICAS DEL MANGLE ROJO.

<b>Características</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Color rojizo.</li><li>• Hojas opuestas, punta redonda y de color verde oscuro y tamaño va desde 10 a 15cm.</li><li>• Crece en el agua de zona intermareal.</li><li>• Fruta larga en forma de vaina que germina en el árbol.</li><li>• Raíces surgen del tronco y las ramas hacia el sustrato.</li></ul>

Fuente: (Ramon Bravo *et al.*, 2006)

Entre sus características principales tenemos que su tronco tiene una resistencia muy fuerte por lo cual es utilizada para la fabricación de postes, construcción de botes, utensilios para pesca, entre otros. La corteza contiene taninos, una sustancia orgánica que se utiliza para hacer tintes y curtir pieles (cuero), (Ramon Bravo *et al.*, 2006).

La reproducción de esta especie de mangle es vivípara, es decir, el embrión no detiene su crecimiento llegándose a desarrollar dentro del fruto, (Ramon Bravo *et al.*, 2006).

## **CAPITULO III**

### **3.1 Metodología**

#### 3.1.1 Metodología de la investigación

En el presente proyecto se abordará la metodología de investigación, además implementar diversos métodos y técnicas que ayuden a la recolección de información del área afectada para luego realizar el análisis, y así reconocer el problema presente en los manglares del puerto de Guayaquil.

#### 3.1.2 Tipo de investigación

Siendo la investigación científica un procedimiento que aborda la reflexión, control y crítica a partir de un sistema que contribuye nuevos hechos, relaciones, datos o leyes en el medio científico conocido. Conjuntamente comprende un proceso sistemático y empírico que se emplea para el estudio de algo no conocido. Se puede mostrar de tres maneras: Cuantitativa, Cualitativa y Mixta, (Hernández-Sampieri, Fernández-Collado, & Baptista-Lucio, 2006).

Esta investigación es cuantitativa, debido a que usa 180 muestras para ser analizadas, mediante la recolección de hojas tanto en la zona afectada como en el estuario del Golfo de Guayaquil, para realizar los análisis respectivos. Estos datos pueden ser tratados por herramientas estadísticas para un fin determinado.

Se utilizaron métodos estadísticos como el Anova de una vía para obtener el gráfico de “Bigote de Barras” con el programa Statgraphic 5.1 portable a con

la finalidad de presentar los datos de proteínas solubles y de clorofila, mediante para la media, desviación estándar, y los valores mínimos y máximos comparando las muestras entre transectos y el control.

Este trabajo también cumple con la modalidad de campo porque las muestras tomadas fueron tanto del manglar de la zona afectada como de la zona de reserva natural, para ver el estado en que se encuentra los árboles de estos lugares.

### **3.2 Método de investigación**

En lo que encierra la investigación científica se encuentran tres métodos de investigación: Los empíricos, teóricos y estadísticos. En este proyecto se realizarán los métodos de investigación más convenientes.

#### 3.2.1 Métodos empíricos

Los utilizamos para almacenar y descubrir un conjunto de datos y hechos para comprobar una hipótesis previa, obtener respuestas a las preguntas y conseguir argumentos para poder defender una idea, (Hernández-Sampieri *et al.*, 2006)

#### 3.2.2 Métodos teóricos

Estos ayudaron a interpretar los datos empíricos que se encontraron, explicando los hechos, con mayor entendimiento de las relaciones esenciales

y cualidades fundamentales de los procesos que no se pudieron observar directamente (Taylor & Bogdan, 2000). Aplicamos los siguientes métodos:

### 3.2.3 Método analítico y descriptivo

Se utilizó la metodología descriptiva aplicada, para evaluar los análisis realizados a las muestras que fueron recolectadas en los cuatros transectos establecidos, en la zona de influencia del Puerto de Guayaquil y la isla Chupador Chico en el estuario interior del Golfo de Guayaquil “Don Goyo”.

### 3.2.4 Unidad de análisis

Se identificaron tres transectos de manera azarosa, ubicados en la isla Trinitaria, en el estero Salado de Guayaquil frente al Puerto marítimo de Guayaquil, los transectos son de 100 x 0,50 m de superficie (Schaeffer-Novelli et al., 1990), se colectaron muestras de hojas de *Rhizophora harrisonii* única especie presente, la colecta se realizó en marea alta y durante la época seca, se usó una embarcación de madera desde la cual se recogió las hojas del dosel o de techo expuestas directamente al sol como se puede observar en el Anexo 1 (Figura 8).

La especie de *Rhizophora harrisonii* fue reportada por el Ministerio del ambiente del Ecuador, 2012 en el estudio de evaluación del manglar, además de que las especies difícilmente florecen en la época.

### **3.3 Materiales Muestreo y procedimiento de muestreo**

Todos estos datos fueron necesarios para estimar las concentraciones de proteína y de clorofila en relación al blanco o control para comprobar el estado de los manglares presentes en el Puerto de Guayaquil, los mismos que fueron evaluados de manera numérica, permitiendo tener una noción del estado actual de esta área que está siendo afectada.

#### **3.3.1 Descripción del control**

El control es la referencia para la comparación de los datos que se tomen en los transectos 1, 2 y 3 que se encuentran en el Humedal de Importancia Internacional “estuario interior del Golfo de Guayaquil – Don Goyo” el sitio seleccionado dentro del humedal es la Isla Chupador Chico, en Cerrito de los Morreños. Este sitio se seleccionó por ser uno de los más conservados en razón de que aquí los locales capturan cangrejos, ostiones y mejillones así como también actividades de pesca artesanal. Este sitio fue entregado como concesión de manglar a los cangrejeros de Cerrito de Los Morreños, (RAMSAR, 2004).

Se escogió este sitio por estar en la última etapa de la reserva Don Goyo, está lo más alejado posible de zonas con actividad naviera alta e industrial y obtener hojas de árboles de contaminación mínima por el hombre para obtener los datos más confiables y poder comparar con las zonas contaminadas.

En ese sitio se obtuvieron un total de 90 muestras para llevar a analizar al laboratorio, aplicando la misma superficie de los transectos.

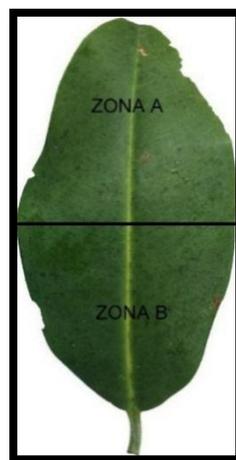
### 3.3.2 Preparación de la muestra para la determinación de proteínas solubles y clorofilas

Se identificó las muestras por transecto, etiquetó las bolsas ziploc como se ver en el Anexo 1 (Figura 9), para la colecta de las hojas, y rotuló con fecha y lugar de colecta para los análisis respectivos, Anexo 1 (Fig. 10).

### 3.3.3 Tratamiento previo a las hojas de análisis

Estas hojas fueron divididas en dos partes para la determinación de clorofila (parte A) y proteínas solubles (parte B), se dividió de manera simétrica como se puede observar en la Figura 3 y de estas se tomaron 100 mg de cada parte como podemos observar en el Anexo 1 (Fig. 11). Para la obtención de los datos de clorofila y de proteínas solubles, se utilizó el peso fresco de ambas partes. Posteriormente se realizaron los protocolos para la obtención de los datos a analizar.

FIGURA 3: DIVISIÓN DE LAS ZONAS PARA PROTEINAS Y CLOROFILAS.



Elaboración: Walter Sierra.

### 3.4 Determinación de Clorofila

#### Procedimiento:

Los 100 mg de muestra previamente cortadas (parte A), se las colocó en una cápsula de porcelana y se les agregó 3 ml de acetona al 80%, para ser macerada hasta obtener una mezcla uniforme como vemos en el Anexo 1 (Fig. 12 y 13). Posteriormente se colocó 1 ml de la mezcla en un tubo eppendorf como se observa en el Anexo 1 (Fig. 14) y se la centrifugó a 1500 rpm durante 1 minuto. Finalmente se tomaron 200  $\mu$ l del sobrenadante para ser colocados en una microplaca de 96 pocillos, observar Anexo 1 (Fig. 15).

#### Reactivos:

- Acetona 80%

#### Materiales:

- Microplacas de 96 pocillos
- Micropipeta de capacidad 1000  $\mu$ l a 100  $\mu$ l
- Tubos eppendorf con capacidad de 2 ml
- Cápsulas de porcelana
- Mortero de porcelana

#### Equipos:

- Espectrofotómetro (BioTek Synergy HT)
- Balanza de analítica (Mettler Toledo AB204-S)
- Microcentrífuga (Jouan SA A-12)

Medición:

Se encendió el espectrofotómetro (marca) y para la lectura de las clorofilas se calibró el equipo a las siguientes ondas 646, 470, 430 y 663 nm. Finalmente, las clorofilas fueron cuantificadas por unidad de masa usando las ecuaciones Lichtenthaler.

Acetona (80%, v/v):

$$Ca (\mu\text{g/ml}) = 12.25 (A663) - 2.79 (A646)$$

$$Cb (\mu\text{g/ml}) = 21.50 (A646) - 5.10 (A663)$$

$$Cx+c (\mu\text{g/ml}) = \frac{1000 (A470) - 1.82 (Ca) - 85.02 (Cb)}{198}$$

Donde:

Ca: Clorofila a.

Cb: Clorofila b.

Cx+c: Carotenoides.

### **3.5 Determinación de proteínas solubles**

#### 3.5.1 Curva de calibración

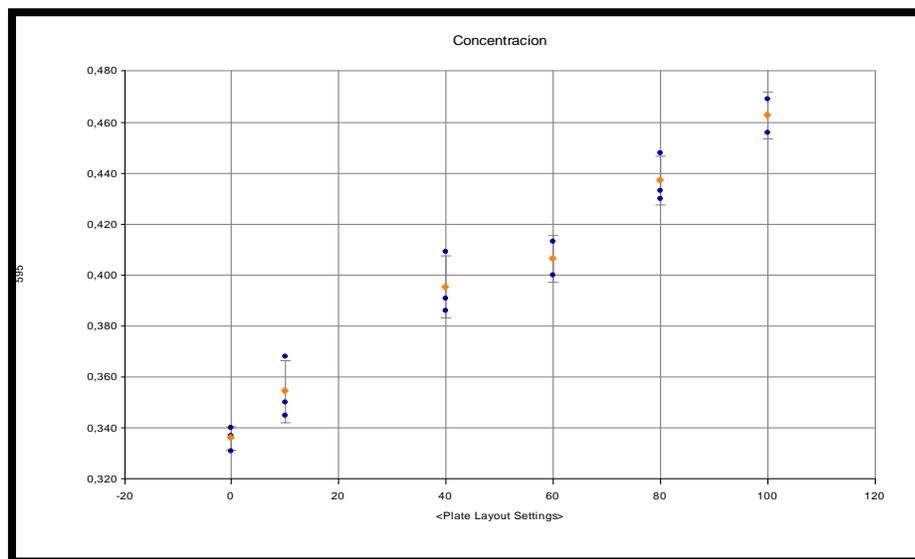
Preparación del estándar:

Para preparar el estándar patrón de suero bovino 1 mg /ml, se pesó 10 mg del reactivo y luego lo agregamos en un matraz aforado de 10 ml y se añadió agua destilada hasta enrazar.

- Para la dilución de 10  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 10  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.
- Para la dilución de 20  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 20  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.
- Para la dilución de 40  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 40  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.
- Para la dilución de 60  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 60  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.
- Para la dilución de 80  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 80  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.
- Para la dilución de 100  $\mu\text{l/ml}$  procedimos a tomar 100  $\mu\text{l}$  de la mezclar y enrazamos a 1 ml de agua destilada.

Los estándares para la calibración fueron 10  $\mu\text{l/ml}$ , 20  $\mu\text{l/ml}$ , 40  $\mu\text{l/ml}$ , 60  $\mu\text{l/ml}$ , 80  $\mu\text{l/ml}$  100  $\mu\text{l/ml}$ .

GRÁFICO 1: CURVA DE CALIBRACIÓN DE SUERO BOVINO.



Elaboración: Walter Sierra.

#### Procedimiento:

Para el análisis de las proteínas solubles se usaron las muestras de la parte B utilizando el método de Bradford. Para la extracción de las proteínas se procedió a moler 100 mg de las muestras en fresco con 3 ml de la solución Buffer fosfato de potasio. En un tubo microcentrifuga eppendorf se agregó 1 ml de la muestra ya molida con el Buffer y se le añadió 1 ml de ácido tricloroacético al 10 %, dejando reposar toda la noche en refrigeración.

En el siguiente día, las muestras fueron centrifugadas 10 minutos a 10.000 rpm, desechando el sobrenadante y dejando el sedimento con 1 ml de NaOH 1 N durante 2 horas.

En una placa de 96 pocillos se agregaron 200  $\mu$ l de reactivo de Bradford-agua destilada (1:5 v/v) con 10  $\mu$ l de la muestra para su lectura en el espectrofotómetro (marca) a 595 nm.

#### Reactivos:

- Buffer fosfato de potasio 0.1 M
- Ácido tricloroacético al 10%
- Hidróxido de sodio 1 N

#### Materiales:

- Capsula de porcelana
- Mortero
- Tubos eppendorf con capacidad de 2 ml
- Platos para balanza descartables
- Micropipetas 1000ul y 10ul
- Microplaca de 96 pocillos

Equipos:

- Espectrofotómetro (BioTek Synergy HT)
- Balanza de analítica (Mettler Toledo AB204-S)
- Microcentrífuga (Jouan SA A-12)
- Refrigeradora

Medición:

Una vez encendido el equipo de espectrofotometría (marca), se procedió a la lectura de las muestras a una longitud de onda de 595 nm. Una vez hecha la lectura de las proteínas, utilizamos la ecuación de la recta del suero bovino para su cuantificación.

TABLA 2: ECUACIÓN DE LA RECTA DEL SUERO BOVINO.

Curve Name	Curve Formula	A	B	R <sup>2</sup>	Fit F Prob
Concentración	Y=A*X+B	0,00122	0,34	0,991	?????

Elaboración: Walter Sierra.

Con la ecuación de la recta podemos cuantificar las proteínas despejando X. Es importante recalcar que el R<sup>2</sup> debe ser lo más próximo a 100 para obtener una óptima cuantificación de las proteínas. Las medidas una vez calculadas, están en ppm (partes por millón) y hay que transfórmalas en miligramos de muestra de proteína por gramo de muestra fresca con la siguiente formula:

$$X = \frac{Y - B}{A} * \left( \frac{1mg}{1000ug} \right)$$

Donde:

X: Proteína (µg/ml)

Y: Medida de la absorbancia

A: 0,00122

B: 0,34

## **CAPITULO IV**

### **4.1 Análisis de los resultados y discusión**

En este capítulo veremos los resultados obtenidos en las hojas de manglar de las zonas afectadas del Puerto marítimo de Guayaquil y de la zona de control situado en el estuario del Golfo de Guayaquil, comparando las proteínas solubles y las clorofilas en los transectos con el control y así evidenciar las condiciones en las que se encuentran los manglares que están en una atmósfera de actividad industrial ya sea de barcos, termoeléctricas, acerías, etc.

### **4.2 Resultados**

Las proteínas solubles cuantificadas en las hojas de manglar de la zona afectada son significativamente más elevadas que las encontradas en el transecto 4 (control) con un valor medio de 47,878  $\mu\text{g/ml}$ . Las muestras recogidas en los transectos 1, 2 son muy similares entre sí con valores de 53,032  $\mu\text{g/ml}$  y 52,486  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente, en comparando con las del transecto 3 donde la media de este sector es más elevada con 57,732  $\mu\text{g/ml}$ , que las mencionadas anteriormente como podemos observar en la siguiente tabla.

TABLA 3: MEDIAS DE PROTEÍNAS SOLUBLES.

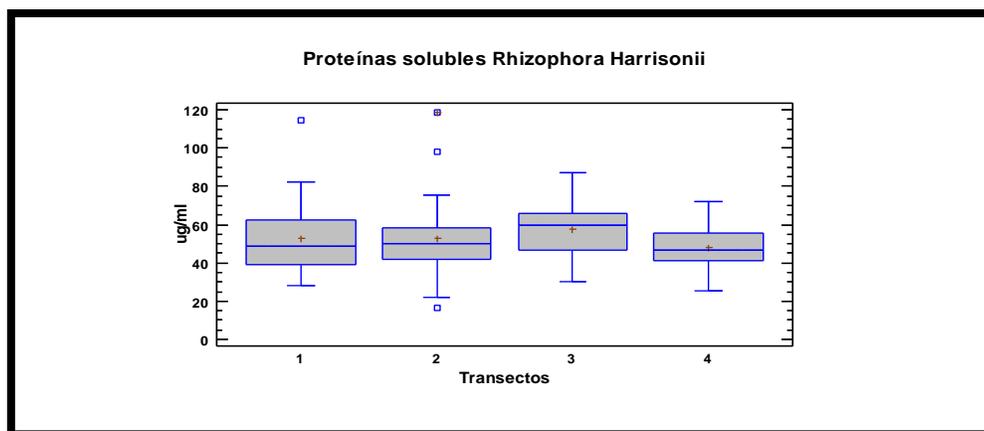
*Rhizophora harrisonii*

Transectos	Frecuencia	Media (µg/ml M.F.)	Desv. Est.
1	30	53,032	18,682
2	30	52,486	20,643
3	30	57,732	13,812
4	90	47,878	10,065

Elaboración: Walter Sierra.

En el gráfico 2 podemos observar con mayor claridad que la media del control es significativamente más baja que los otros transectos. Los valores mínimos observados en el control son los más bajos que con los del área afectada, así mismo los valores máximos más bajos son los del control. Por otro lado, los valores de proteínas más elevados son los del transecto 3 seguidos por el transecto 1 y 2.

GRÁFICO 2: INTERVALO DE PROTEINAS SOLUBLES.



Elaboración: Walter Sierra.

Asimismo, en un caso similar los datos que podemos observar en las tablas 4 y 5 de clorofila nos demuestran que los transectos 1, 2 y 3 son más elevados que las clorofilas en el control (4). En los transectos 1 y 2 son valores cercanos con respecto al transecto 3, sin embargo, en control tiene los valores de clorofila más bajos, coincidiendo con los datos de proteínas.

Los valores medios de clorofila a los transectos 1 y 2 son cercanos como podemos observar en la tabla 4 que son 9,1293 µg/ml y 10,5629 µg/ml respectivamente a comparación del transecto 3 que es más alto con un valor de 15,8074 µg/ml. Por otra parte, la zona del control tiene los valores medios más bajos.

TABLA 4: MEDIDAS CLOROFILA a.

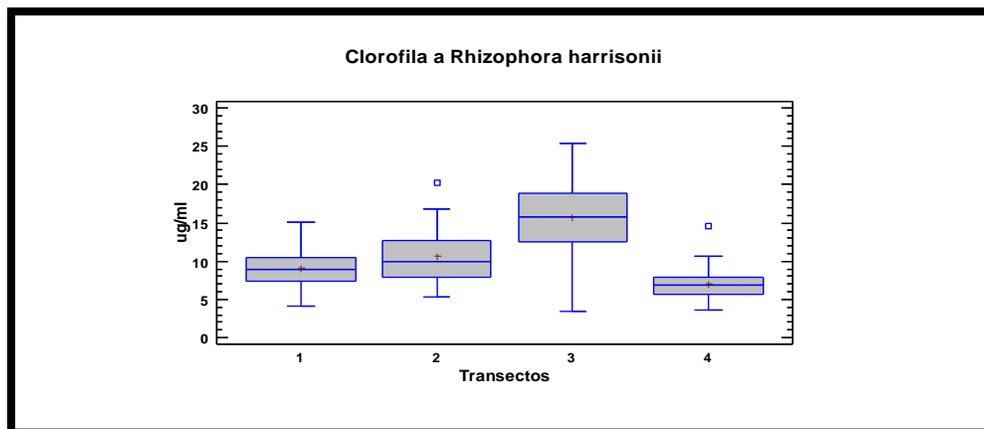
*Rhizophora harrisonii*

Transectos	Frecuencia	Media (µg/ml M.F.)	Desviación Estándar
1	30	9,1293	2,6687
2	30	10,5629	3,8367
3	30	15,8074	4,7931
4	90	6,9503	1,8569
Total	180		

Elaboración: Walter Sierra.

El gráfico 3 corrobora los datos expuestos en la tabla anterior. Danto a conocer visiblemente que los valores obtenidos en los transectos 1 y 2 están por debajo que el transecto 3, pero que al mismo tiempo el control (4) continúa con los datos más bajos de todos.

GRÁFICO 3: INTERVALO DE CLOROFILA a.



Elaboración: Walter Sierra.

Un caso similar pasa con los datos de la clorofila *b*, donde el transectos 3 está un poco más elevado con valor de 8,7697  $\mu\text{g/ml}$  mientras que el transecto 2 está un poco más abajo con 7,8834  $\mu\text{g/ml}$ . Pero a comparación del transecto 1 con el valor de 6,9694  $\mu\text{g/ml}$ , los transectos 2 y 3 siguen siendo valores elevados en clorofila. En consecuencia, el control (4) sigue teniendo los valores medios por debajo de los demás como podemos ver en la tabla 5, tiene un valor de 4,9941  $\mu\text{g/ml}$ .

TABLA 5: MEDIDAS CLOROFILA b.

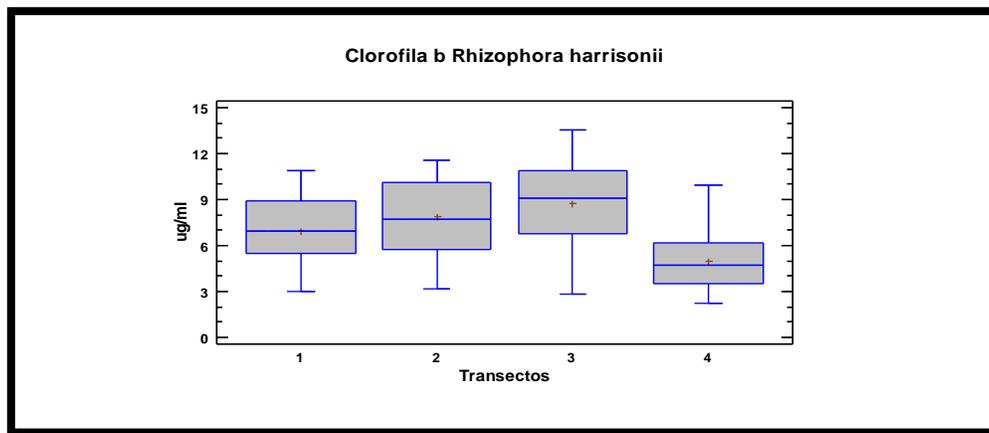
*Rhizophora harrisonii*

Transectos	Frecuencia	Media ( $\mu\text{g/ml}$ M.F.)	Desviación Estándar
1	30	6,9694	2,2135
2	30	7,8834	2,4833
3	30	8,7697	2,6243
4	90	4,9941	1,7883
Total	180		

Elaboración: Walter Sierra.

Como en el caso anterior, el gráfico 4 nos indica de forma más notoria que el transecto 3 está un poco más elevado que los otros transectos, siguiendo el transecto 2 que se encuentra por debajo del 3 y el transecto 1 que es el más bajo con respecto a los otros dos de la zona afectada. El control (4) continúa siendo con valores promedios más bajos que los demás.

GRÁFICO 4: INTERVALO DE CLOROFILA b.



Elaboración: Walter Sierra.

En la parte afectada por los barcos e industrias, el análisis de proteínas, clorofilas *a* y *b* demuestran un incremento en los transectos 1,2 y 3 con respecto al control (4) como se puede observar en la tabla 6 sobre todo en el transecto 3 que refleja una diferencia significativa en la clorofila *a* de 8,8571 y la clorofila *b* van de la mano con un valor de 3,7756. Los transectos 1 y 2 obtuvieron valores de clorofilas *a* y *b* menos elevados que el transecto 3 pero de igual manera reflejan un incremento comparados al control dando a conocer un problema en la zona estudiada.

TABLA 6: MEDIDAS SIGNIFICATIVAS DE CLOROFILA a, b, Y PROTEÍNAS SOLUBLES.

<i>Rhizophora harrisonii</i>			
Transectos	Proteínas solubles	Clorofila a	Clorofila b
1-4	5,154	2,179	1,9753
2-4	4,608	3,6126	2,8893
3-4	9,854	8,8571	3,7756
4			

Elaboración: Walter Sierra.

### 4.3 Discusión

La zona Manglares “Don Goyo”, es un humedal protegido a nivel internacional de donde se tomaron las muestras para el control, las medias obtenidas son las más bajas, tanto para proteína con el valor de 47,878 µg/ml, como para clorofila a y b con 6,9503 µg/ml y 4,9941 µg/ml respectivamente. En los datos obtenidos por los análisis de proteínas, el transecto 3 tiene el valor medio de 57,732 µg/ml que fue el más alto encontrado de todos los transectos, tanto en el transecto 1 con 53,032 µg/ml y transecto 2 con 52,486 µg/ml. En cuanto a clorofila a y b el transecto 3 sigue con una media elevada de 15,8074 µg/ml y 8,7697 µg/ml respectivamente coincidiendo con los datos de proteínas mencionados.

Esto se debe al estrés que sufre el árbol *Rhizophora harrisonii* por la contaminación atmosférica generada por las industrias cercanas y el tráfico naviero. Cerca de ahí se encuentran tanto Banana puerto, Trinipuerto, Termo

Guayas, la cementera Holcim, entre otros, y existen otros factores importantes como las corrientes de viento que circulan del cuadrante sur a oeste y que van para el norte(CELEC, 2011), como consecuencia, primero llegará al transecto 3 dejando partículas de contaminación en ese sector siguiendo el transecto 2 que está localizado en la parte exterior de la isla, así como frente al tramo 3 también existen más árboles de manglar, estos recibirán todo el aire contaminado que proviene del sur y que se dirige hacia el este.

## CONCLUSIONES

Las proteínas fueron cuantificadas por el método de Bradford, con la curva de calibración del suero bovino. Las cantidades fueron medidas en  $\mu\text{g/ml}$  de muestra.

Los datos obtenidos en los transectos 1, 2, 3 fueron significativamente más elevados que los encontrados en el control (4). Las proteínas solubles y las clorofilas calculadas en el transecto 3 fueron los más altos encontrados en la zona estudiada.

Los valores de proteínas solubles tanto en los transectos 1, 2, 3 y el del control (4) se encuentran en la tabla 11 del Anexo 2. Esta investigación como fue analizada en el mes de agosto, es en época seca y por lo tanto estos datos referencian las proteínas cuantificadas en esta estación del año, para ser comparadas con un futuro estudio que se realizaría en la época lluviosa de Guayaquil.

## RECOMENDACIONES

A partir de los análisis realizados, se deberían proponer otros estudios sobre más zonas de manglares en el Ecuador que pudieran ser afectadas por industrias u otros factores que se encuentran cerca de ellos.

Las entidades gubernamentales deberían ser más estrictas con los límites de emisión de gases a la atmósfera, como se muestran en el Anexo 4, para las fuentes fijas y evitar que sigan contaminando el manglar.

Aplicar un control sobre las emisiones de SO<sub>2</sub> que están escritas en la Organización Marítima Internacional (OMI), en los barcos que transiten al Puerto de Guayaquil.

## BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, J. C. (2016). Proteínas. Retrieved from <http://proteinas.org.es/>

Bidwell, R. G. S. (1993). *Fisiología vegetal*.

CELEC. (2011). Estudio de impacto ambiental expost de la central termoeléctrica trinitaria. Capítulo 3: Caracterización de los componentes ambientales., 1–36.

Cerón-Bretón, J. G., & Cerón-Bretón, R. M. (2010). Effects of simulated tropospheric ozone on soluble proteins and photosynthetic pigments levels of four woody species typical from the mexican humid tropic. *WSEAS Transactions on Environment and Development*, 6(5), 335–344.

Coultate, T. (1996). *Manual de química y bioquímica de los alimentos*.

Duarte, P. (2012). *Aislamiento y caracterización de fracciones proteicas de la semilla de moringa oleífera*.

ESPOL. (2012). Estudio de impacto ambiental expost y plan de manejo ambiental de la central termoeléctrica ING. GONZALO ZEVALLOS G.

Fernández, E., & Galván, A. (2006). Métodos para la cuantificación de

proteínas. *Departamento de Bioquímica*, 1–7.

Flagan, R. C., & Seinfeld, J. H. (1988). *Air pollution. Environmental Pollution (1970)* (Vol. 1).

Guevara, J. M. (2009). *El manglar es vida*.

Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C., & Baptista-Lucio, P. (2006). *Análisis de los datos cuantitativos. Metodología de la investigación*.

INEC, I. N. de E. y C. (2014). *Anuario de Estadísticas de Transportes 2014*, 1–417.

Manahan, S. (2006). *Introducción a la Química Ambiental. PhD Proposal* (Vol. 1).

Mirta A. Roses. (2005). *Evaluación de los Efectos de La Contaminación del Aire en la Salud de América Latina y el Caribe*.

Montoya, D. S. C., & Torres, J. J. H. (2013). *Comparación de la Concentración y Actividad Enzimática de la Bromelina Obtenida a Partir de la Pulpa de la Piña (Ananas Comosus) Variedad Perolera de Dos Grados de Madurez*.

Nobel, P. S. (1991). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*.

Pozo, D. G. del poZo. (2010). Aclimatación De La Fotosíntesis En El Dosel Vegetal Del Trigo Al Aumento Del Co2 Atmosférico. Función Del Nitrógeno Y Las Citoquininas En Cultivos En Cámaras De Campo Con Clima Mediterráneo.

Ramon Bravo, J., Almanza, M. J., & Sariego, I. (2006). *EL Manglar, Ecosistema de Vida*.

RAMSAR. (2004). Ficha informativa de los humedales de RAMSAR, 1–14.

Red Manglar. (2012). Retrieved from [www.redmanglar.org](http://www.redmanglar.org)

Saint-Paul, U., & Schneider, H. (2010). *Mangrove Dynamics and Management in North Brazil*.

Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (2000). *Fisiología de las plantas*.

Schaeffer-Novelli, Y., Cintrón-Molero, G., Adaime, R. R., & de Camargo, T. M. (1990). *Variability of mangrove ecosystems along the Brazilian coast. Estuaries* (Vol. 13).

Skoog. (2015). *Fundamentos de Química Analítica*.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology. Annals of Botany*.

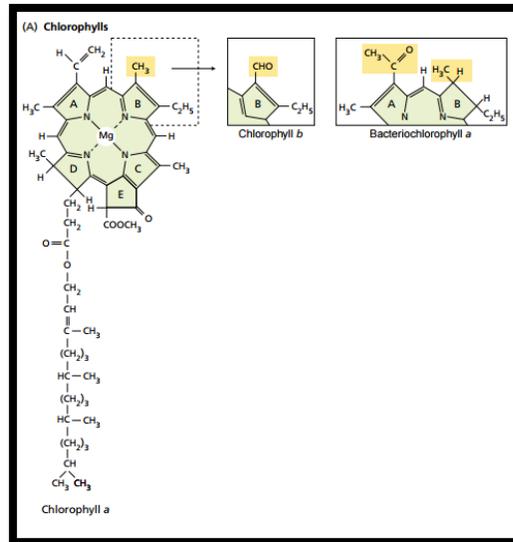
Taylor, S. J., & Bogdan, R. (2000). *Introducción a los métodos cualitativos*.

Vargas, M. (2002). *Ecología y biodiversidad del Ecuador*.

## **ANEXOS**

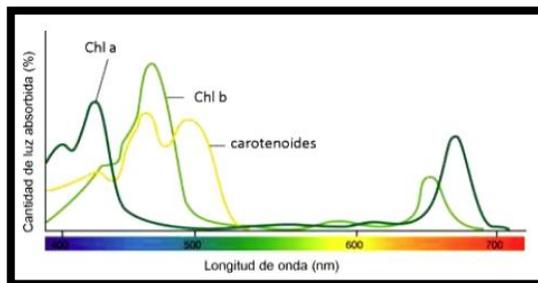
## ANEXO 1

FIGURA 4: ESTRUCTURA MOLECULAR DE UNOS PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS.



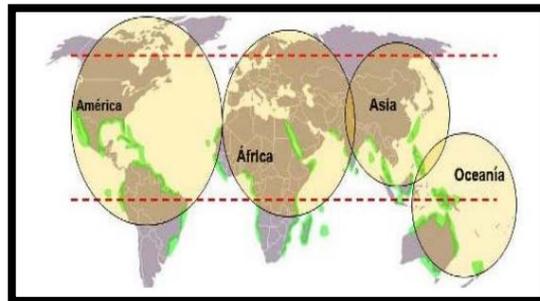
Fuente: (Taiz & Zeiger, 2006).

FIGURA 5: ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LOS PRINCIPALES PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS DE LAS PLANTAS.



Fuente: (Taiz & Zeiger, 2006).

FIGURA 6: MAPAS DE ÁREAS DE DISTRIBUCIÓN DE MANGLARES EN EL MUNDO.



Fuente: ("Red Manglar," 2012).

FIGURA 7: MANGLE ROJO (*Rhizophora harrisonii*).



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 8: ESTACIÓN  
TRANSECTO.



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 9: ROTULADO DE  
MUESTRAS.



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 10: IDENTIFICACIÓN DE  
LAS HOJAS



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 11: PESADA DE LAS  
MUESTRAS



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 12: MEZCLA DE ACETONA CON HOJAS.



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 13: MUESTRAS MOLIDAS CON ACETONA.



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 14: TUBOS EPPENDORF CON MUESTRA.



Elaboración: Walter Sierra.

FIGURA 15: MICROPLACA DE 96 POCILLOS CON MUESTRA.



Elaboración: Walter Sierra.

## ANEXO 2

### ANÁLISIS DE LABORATORIO

Absorbancia de proteínas solubles a 595 nm

TABLA 7: TRANSECTO 1.

	1	2	3	4	5
<b>A</b>	0,385	0,404	0,385	0,411	
<b>B</b>	0,409	0,388	0,386	0,422	
<b>C</b>	0,428	0,397	0,391	0,435	
<b>D</b>	0,406	0,425	0,382	0,394	
<b>E</b>	0,388	0,411	0,431	0,39	
<b>F</b>	0,412	0,374	0,381	0,48	
<b>G</b>	0,402	0,39	0,391		
<b>H</b>	0,44	0,387	0,416		

Elaboración: Walter Sierra.

TABLA 8: TRANSECTO 2.

	1	2	3	4	5
<b>A</b>	0,388	0,394	0,432	0,421	
<b>B</b>	0,41	0,395	0,401	0,406	
<b>C</b>	0,38	0,409	0,391	0,387	
<b>D</b>	0,406	0,46	0,416	0,401	
<b>E</b>	0,416	0,397	0,37	0,485	
<b>F</b>	0,381	0,411	0,395	0,426	
<b>G</b>	0,398	0,408	0,411		
<b>H</b>	0,36	0,399	0,367		

Elaboración: Walter Sierra.

TABLA 9: TRANSECTO 3.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>A</b>	0,411	0,439	0,422	0,413	
<b>B</b>	0,415	0,446	0,415	0,432	
<b>C</b>	0,377	0,416	0,389	0,412	
<b>D</b>	0,386	0,407	0,413	0,411	
<b>E</b>	0,435	0,394	0,407	0,392	
<b>F</b>	0,397	0,402	0,401	0,413	
<b>G</b>	0,382	0,397	0,413		
<b>H</b>	0,42	0,426	0,43		

Elaboración: Walter Sierra.

TABLA 10: CONTROL.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,419	0,385	0,38	0,387	0,397	0,411	0,397	0,418	0,396	0,384	0,408	0,391
B	0,409	0,389	0,407	0,395	0,397	0,379	0,396	0,386	0,398	0,404	0,399	0,393
C	0,416	0,41	0,408	0,41	0,401	0,39	0,387	0,371	0,39	0,417	0,383	
D	0,426	0,428	0,398	0,396	0,409	0,403	0,388	0,402	0,388	0,396	0,408	
E	0,381	0,417	0,387	0,395	0,375	0,392	0,39	0,378	0,392	0,383	0,413	
F	0,385	0,393	0,396	0,391	0,4	0,411	0,394	0,416	0,41	0,407	0,387	
G	0,421	0,39	0,413	0,408	0,411	0,42	0,39	0,403	0,406	0,4	0,391	
H	0,397	0,389	0,401	0,406	0,413	0,394	0,38	0,393	0,408	0,388	0,392	

Elaboración: Walter Sierra.

TABLA 11: PROTEINAS CUANTIFICADAS EN  $\mu\text{G}/\text{ML}$ .

Proteínas					
Transecto 1	Transecto 2	Transecto 3		Control	
36,885	39,344	58,197	64,754	55,738	31,148
52,459	44,262	81,148	56,557	54,098	62,295
36,885	75,410	67,213	62,295	46,721	51,639
56,557	57,377	61,475	70,492	46,721	43,443
39,344	45,082	86,885	33,607	50,000	45,902
37,705	50,000	61,475	36,885	56,557	47,541
72,131	32,787	30,328	66,393	28,689	40,984
46,721	56,557	62,295	46,721	49,180	39,344
41,803	41,803	40,164	36,885	58,197	42,623
54,098	54,098	37,705	40,164	59,836	57,377
69,672	98,361	54,918	57,377	58,197	54,098
34,426	62,295	59,836	72,131	31,967	55,738
39,344	62,295	77,869	63,115	40,984	36,066
58,197	46,721	44,262	43,443	51,639	52,459
74,590	24,590	54,918	40,984	42,623	63,115
59,016	33,607	46,721	40,164	58,197	45,902
27,869	58,197	50,820	32,787	65,574	35,246
33,607	45,082	50,000	54,918	44,262	54,918
50,820	47,541	34,426	55,738	46,721	49,180
40,984	55,738	46,721	47,541	45,902	39,344
81,967	16,393	65,574	38,525	38,525	55,738
38,525	48,361	70,492	45,902	39,344	48,361
58,197	66,393	59,836	59,836	40,984	35,246
40,984	118,852	42,623	50,000	44,262	55,738
67,213	54,098	75,410	38,525	40,984	59,836
114,754	70,492	59,836	45,082	32,787	38,525
77,869	38,525	59,016	57,377	63,934	41,803
41,803	58,197	59,836	45,902	37,705	42,623
44,262	50,000	58,197	45,082	25,410	41,803
62,295	22,131	73,770	41,803	50,820	43,443

Elaboración: Walter Sierra.

TABLA 12: CLOROFILAS *a* CUANTIFICADAS  $\mu\text{G/ML}$ .

Clorofila <i>a</i>					
Transecto 1	Transecto 2	Transecto 3		Control	
8,88733	10,44683	14,82584	7,81007	5,94148	6,88342
7,32238	10,3147	17,31491	5,59299	5,38077	7,42909
9,44451	6,10605	17,06589	6,26151	3,61389	14,50947
8,812	12,21393	15,55299	4,03231	5,33517	7,95728
9,27044	9,33788	3,50839	8,03641	4,57593	10,14345
10,4634	12,73423	19,07843	7,52422	5,1359	7,8391
12,70345	5,90059	16,23036	5,7389	5,29393	9,58418
9,00386	12,6286	14,44474	6,23932	5,73467	9,80965
14,38907	15,31676	20,93882	7,84342	5,91977	7,60901
7,65871	9,70943	14,92611	3,87598	5,76937	7,32569
5,27584	13,52407	14,0288	3,52522	10,43284	8,34144
9,65315	16,07225	20,44402	9,49604	7,11744	6,3517
9,07308	8,50688	14,30354	8,77695	7,23959	5,85865
7,91561	10,27141	9,99188	9,42655	7,07537	7,90985
11,81648	5,69343	11,19129	6,38994	7,41628	9,92731
6,21778	9,04963	11,67296	7,33668	6,94642	10,10099
10,16743	16,87913	11,53503	7,7163	8,78436	10,57813
8,51503	13,07614	12,53426	7,72349	4,89831	6,38287
15,1232	7,84795	14,50655	7,34121	3,82018	7,08317
7,59802	7,66686	18,93722	7,24587	5,02988	7,02859
7,1599	16,77865	10,03922	5,29184	6,56209	5,87395
4,11797	8,07294	19,98244	5,9475	7,42613	5,73641
7,32752	9,63541	18,02039	6,4307	8,00236	6,2503
11,72667	20,2257	15,83409	4,60113	8,0269	9,63745
12,36228	12,19575	16,40147	6,69584	8,54345	8,71992
6,53175	11,2848	25,36386	6,96874	8,48717	8,43333
12,76535	5,34633	24,03977	6,25366	4,82398	8,55971
8,39824	5,62616	18,83852	6,35833	5,22435	5,03794
5,05102	6,51021	23,60962	6,49138	5,54782	3,79694
9,128745	7,91295	9,05987	6,66022	5,94043	5,14915

Elaboración: Walter Sierra.

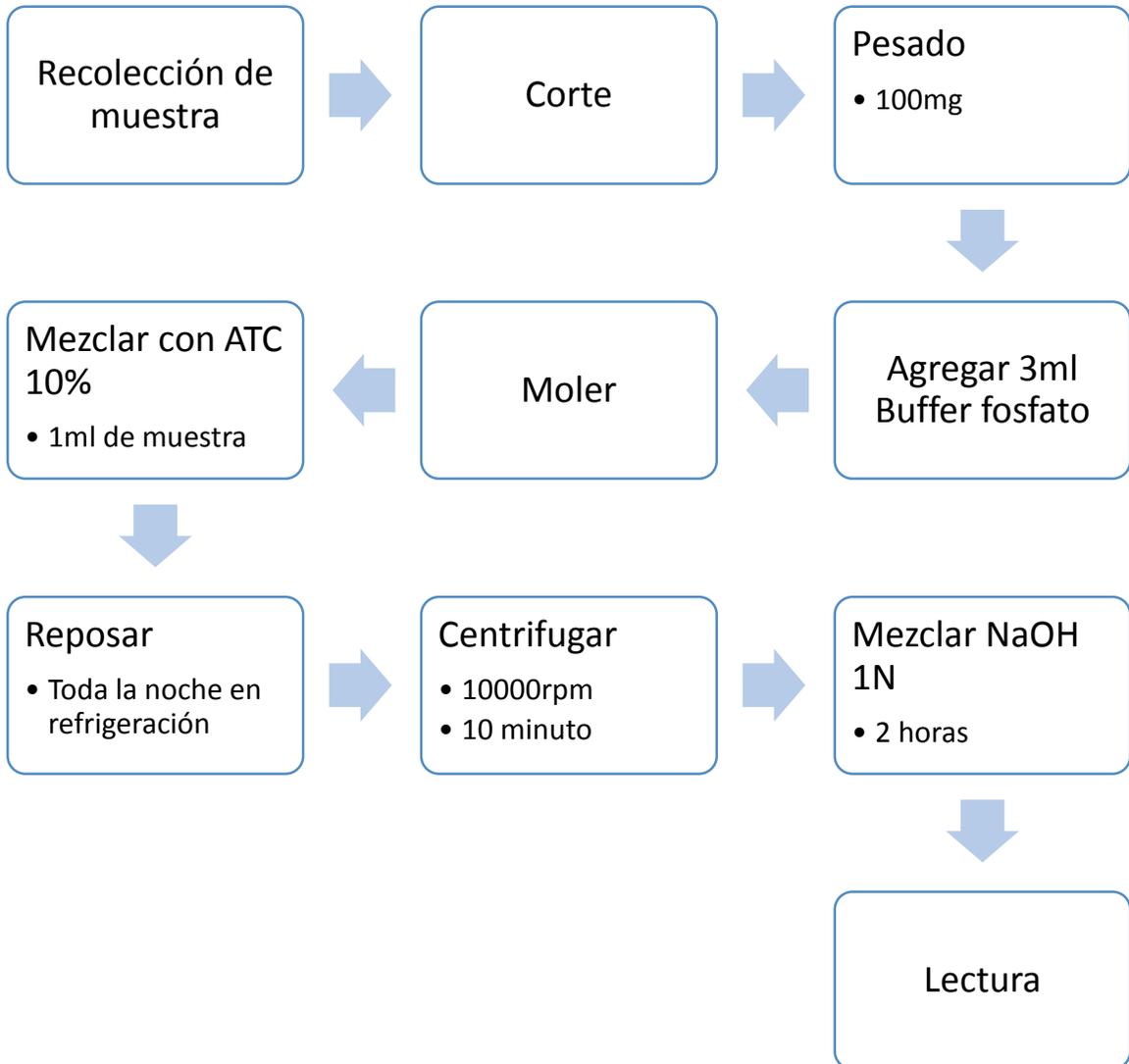
TABLA 13: CLOROFILAS *b* CUANTIFICADAS  $\mu\text{G/ML}$ .

Clorofila <i>b</i>					
Transecto 1	Transecto 2	Transecto 3		Control	
7,9539	7,8131	9,1628	7,7719	4,4008	2,768
7,6902	10,3494	13,5569	6,1933	4,6139	2,5815
8,3931	5,1865	8,3319	6,6675	3,7631	5,7963
8,5344	9,8231	7,1313	4,6465	4,4295	3,1548
9,6452	9,3934	2,7901	6,7421	3,8507	3,8107
10,1858	10,7251	12,5583	6,6706	4,2684	5,5836
9,3549	5,2517	7,8052	6,0512	4,5687	4,8164
9,2884	10,1996	10,135	6,392	5,2801	4,8649
10,1175	11,5414	13,4922	7,9614	4,3895	6,1065
7,5095	6,7981	10,8905	4,2438	4,6555	5,8787
5,5118	9,4607	6,4642	4,2678	9,9748	6,9812
6,9639	11,6133	11,0542	9,2462	5,9654	2,847
4,8258	6,6886	11,3124	8,4473	5,2027	3,9675
6,6907	9,8793	8,1042	8,8887	5,1287	3,5203
9,5818	5,4193	7,5235	7,2852	6,4308	4,2261
3,879	6,9711	5,3298	8,2944	6,301	4,3165
5,5905	7,2707	6,7499	8,5838	7,8544	4,3009
5,4649	10,5014	9,1406	6,8317	3,7775	2,8747
10,8898	5,7833	6,2653	6,1163	4,6738	3,1933
3,6908	6,2858	8,0206	6,5831	5,0854	3,2567
5,4596	10,0989	6,132	6,0136	4,9763	3,0459
3,0041	5,5676	9,2532	6,6762	5,1047	3,1235
5,3288	8,6187	9,4599	6,8818	5,1292	3,0926
6,3447	11,3078	9,2515	5,2639	3,0648	3,5129
8,9478	9,1595	9,0763	6,446	3,4599	3,5288
5,9245	7,6066	11,6296	6,129	3,6257	3,0583
7,0919	4,3435	12,0995	4,942	2,8322	3,0667
5,0254	3,1694	6,638	4,9391	2,6045	2,255
3,2258	3,4115	9,4312	4,9854	2,6122	2,2632
6,96867	6,2647	4,3025	4,488	2,2657	2,7375

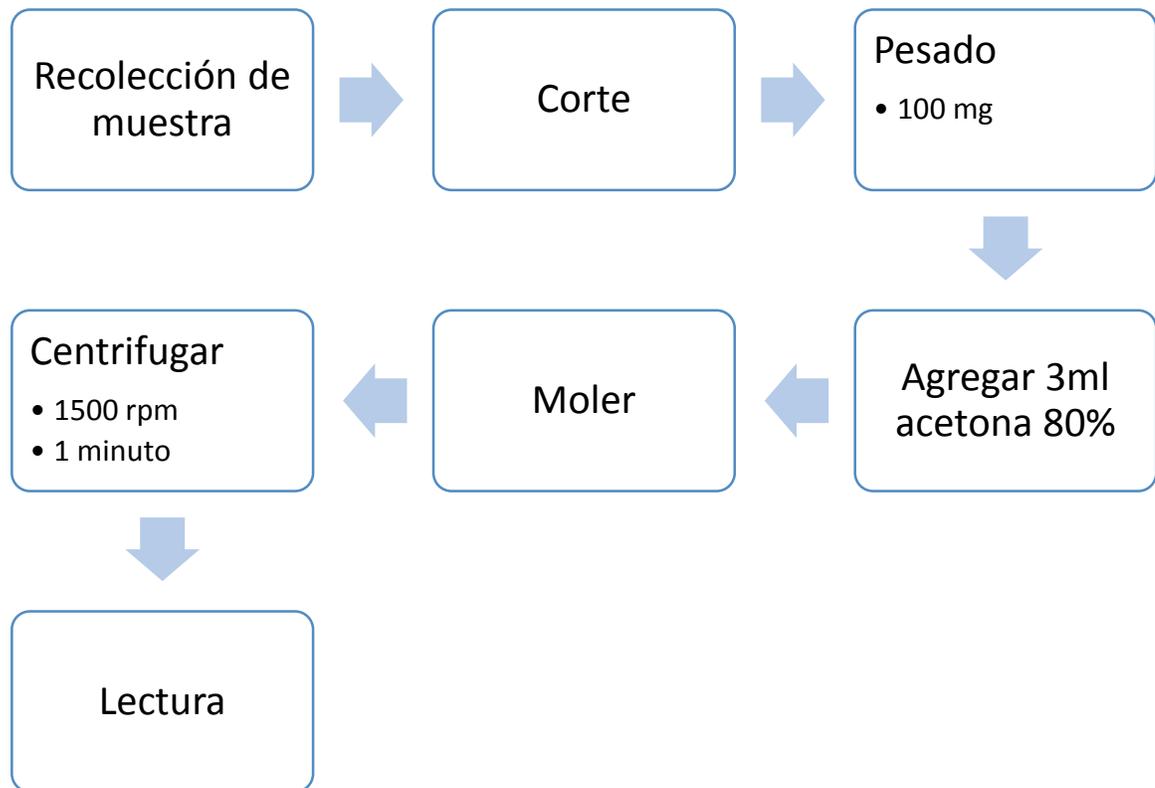
Elaboración: Walter Sierra.

## ANEXO 3

### PROCESO DE DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS.



## PROCESO DE DETERMINACIÓN DE CLOROFILA.



## ANEXO 4

TABLA 14: VALORES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES AL AIRE PARA FUENTES FIJAS DE COMBUSTIÓN.

CONTAMINANTE EMITIDO	COMBUSTIBLE UTILIZADO	UNIDADES <sup>(1)</sup>	Valores máximos	
			fuentes fijas antes de Enero del 2003	fuentes fijas después de Enero del 2003
Material Particulado	Sólido	mg/Nm <sup>3</sup>	200	150
	Búnker	mg/Nm <sup>3</sup>	175	150
	Diésel	mg/Nm <sup>3</sup>	150	100
	Gaseoso	No Aplicable	No Aplicable	No Aplicable
Óxidos de Nitrógeno	Sólido	mg/Nm <sup>3</sup>	900	850
	Búnker	mg/Nm <sup>3</sup>	700	550
	Diésel	mg/Nm <sup>3</sup>	500	500
	Gaseoso	mg/Nm <sup>3</sup>	140	140
Dióxido de Azufre	Sólido <sup>(2)</sup>	mg/Nm <sup>3</sup>	1650	1650
	Búnker	mg/Nm <sup>3</sup>	1650	1650
	Diésel	mg/Nm <sup>3</sup>	1200	1000
	Gaseoso	No Aplicable	No Aplicable	No Aplicable
Monóxido de Carbono	Sólido	mg/Nm <sup>3</sup>	1800	1800
	Búnker	mg/Nm <sup>3</sup>	300	300
	Diésel	mg/Nm <sup>3</sup>	250	200
	Gaseoso	mg/Nm <sup>3</sup>	100	100

Fuente: Autoridad Ambiental Distrital y Norma Nacional

Notas:

(1) mg/Nm<sup>3</sup>: miligramos por metro cúbico de gas, a condiciones normales, mil trece milibares de presión (1.013 mbar) y temperatura de 0 °C, en base seca, y corregidos a 7% de oxígeno (para fuentes fijas de combustión cerrada) y a 18% de oxígeno (para fuentes fijas de combustión abiertas y de proceso).

(2) Sólidos con contenido de azufre >=0.5%.

Fuente: Ministerio de Ambiente.

TABLA 15: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA EMISIONES GASEOSAS DE INCINERADORES.

CONTAMINANTE	UNIDAD <sup>(1)</sup>	LÍMITE DE EMISIÓN
CO <sup>(2)</sup>	(mg/Nm <sup>3</sup> )	87
HCl	(mg/Nm <sup>3</sup> )	55
NOx <sup>(2)</sup>	(mg/Nm <sup>3</sup> )	610
SO <sub>2</sub> <sup>(2)</sup>	(mg/Nm <sup>3</sup> )	109
Material Particulado <sup>(2)</sup>	(mg/Nm <sup>3</sup> )	55
Arsénico, Selenio, Cobalto, Níquel, Telurio	(mg/Nm <sup>3</sup> )	2 <sup>(2)</sup>
Cadmio y Talio	(mg/Nm <sup>3</sup> )	0,1 <sup>(2)</sup>
Plomo, Antimonio, Cromo Total, Platino, Cobre, Vanadio, Zinc, Estaño, Manganeso, Paladio	mg/Nm <sup>3</sup> )	3 <sup>(2)</sup>
Mercurio	(mg/Nm <sup>3</sup> )	0,1
Dioxinas y Furanos UTE <sup>(3)</sup>	(ng/Nm <sup>3</sup> )	11

Fuente: Esquema del Manejo y control de los desechos tóxicos y peligrosos generados en el DMQ

Notas:

<sup>(1)</sup> Todos los valores están para condiciones normales (1 atmósfera, base seca 0° C y 11% de O<sub>2</sub>).

<sup>(2)</sup> Suma total de metales pesados.

<sup>(3)</sup> ng/Nm<sup>3</sup>:nanogramos de Unidades de Toxicidad Equivalente (UTE) por metro cúbico de gas de combustión, a mil trece milibares de presión (1013 mbar) y temperatura de cero grados centígrados (0 °C), en base seca y corregidos al 11% de oxígeno. Los factores para el cálculo de las UTE deben corresponder a la última actualización establecida por la Organización Mundial de la Salud.

<sup>(4)</sup> Contaminantes criterio, si se sobrepasan los límites de emisión establecidos para CO y MP, se deberá monitorear el resto de contaminantes.

Fuente: Ministerio de Ambiente.

TABLA 16: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES PARA GENERADORES ELÉCTRICOS.

CONTAMINANTE EMITIDO	UNIDADES <sup>(1)</sup>	<sup>(2)</sup> VALORES MÁXIMOS
Material Particulado	mg/Nm <sup>3</sup>	150
Óxidos de Nitrógeno	mg/Nm <sup>3</sup>	2 000
Dióxido de Azufre	mg/Nm <sup>3</sup>	400
Monóxido de Carbono	mg/Nm <sup>3</sup>	1 500

Fuente: Dirección Metropolitana Ambiental, Resolución No 003, Capítulo III, 14 Octubre 2005.

Nota:

<sup>(1)</sup> mg/m<sup>3</sup>: miligramos por metro cúbico de gas a condiciones normales de 1.013 milibares de presión y temperatura de 0 °C, corregidos a 15% de O<sub>2</sub>, en base seca.

<sup>(2)</sup> Límites máximos permisibles para el uso de diésel.

Fuente: Ministerio de Ambiente.

TABLA 17: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE EMISIONES PARA PLANTAS TERMOELÉCTRICAS [1].

CONTAMINANTE EMITIDO	UNIDADES <sup>(2)</sup>	GENERADORES ELÉCTRICOS
Material Particulado	mg/Nm <sup>3</sup>	150
Óxidos de Nitrógeno	mg/Nm <sup>3</sup>	2100
Dióxido de Azufre	mg/Nm <sup>3</sup>	2000*** - 2700***
Monóxido de Carbono	mg/Nm <sup>3</sup>	1500* - 550**

Fuente: Dirección Metropolitana Ambiental, Resolución 00005 del 27 Marzo del 2006

Notas:

\* Para generadores con capacidad menor a 750 KW

\*\* Para generadores con capacidad mayor a 750 KW

\*\*\* Para combustibles con contenido de azufre > % 0.7: 2000 mg/Nm<sup>3</sup>; >2.3%: 2700 mg/Nm<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup> En función de las características de la calidad del aire del área de influencia de la fuente emisora, la Autoridad Ambiental Distrital podrá establecer límites de emisión más restrictivos e inclusive considerar la utilización de combustibles que generen menor contaminación.

<sup>(2)</sup> mg/ Nm<sup>3</sup>: Expresado como miligramos de contaminante por metro cúbico de gas seco y referido a condiciones normales estándar de T y P (1 atmósfera, base seca 0° C y 11 % de O<sub>2</sub>).

Fuente: Ministerio de Ambiente.