

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES ORIGINADAS POR LA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ (UNACHI), EMPLEANDO *Eichhornia  
crassipes* PARA BIORREMEDIACIÓN Y POSTERIOR DESINFECCIÓN CON LUZ  
UV-C.**

**JOSTIN STEVEN CRUZ MIRANDA**

**ASESOR:**

**Ph.D. OSCAR MARTÍNEZ**

**CO-ASESORES:**

**Dr.Rer.nat ARIADNA BATISTA**

**Dr. ROGELIO SANTANACH**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO PARA OPTAR POR EL  
TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**DAVID, CHIRIQUÍ, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2024**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo lo dedico primeramente a Dios por siempre brindarme su amor, bondad, misericordia y por guiarme a cumplir todos los objetivos conforme a su perfecta voluntad. A mi abuela quien siempre estuvo apoyándome e impulsándome a un día ser un profesional lo cual le hubiera encantado presenciar. A mi tío José y Azalia que con tanto esfuerzo me permitieron culminar mis estudios apoyándome en cada área y por sus consejos sabios para afrontar cada etapa de mi vida. También lo dedico a cada uno de mis familiares. Finalmente, a los amigos que me apoyaron en cada momento.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por proveerme de sabiduría, fuerzas y salud, durante los años de la carrera.

A la universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), por capacitarme todos estos años de la licenciatura y por los espacios brindados dentro de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas para llevar a cabo este proyecto.

Al Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT) por brindarme el espacio y los equipos necesarios para realizar mis análisis físico-químicos y parte de los microbiológicos. Al laboratorio de microbiología L-15 por el espacio, los equipos y materiales brindados para desarrollar este proyecto. Al Centro de Investigaciones en Cultivos Vegetales (CITEV), por el espacio brindado dentro del invernadero para colocar los sistemas a escala piloto con *E. crassipes*.

Al Ph.D. Óscar Martínez por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, por su asesoramiento y los conocimientos brindados. Al co-asesor Dr., Rogelio Santanach, por las prácticas de técnicas microbiológicas realizadas en los bioensayos preliminares y el asesoramiento en esta área. Y en especial a mi co-asesora Dr.Rer.nat. Ariadna Batista por el tiempo que me brindó para la revisión exhaustiva del proyecto, con la colaboración de los viales restantes para terminar los análisis físico-químicos y por todos sus consejos tanto para mi formación profesional como personal.

Al Ph.D., Alex Ríos el cual aportó junto con el asesor los viales iniciales para los análisis y otros materiales.

Al M.Sc., Miguel Vega por el asesoramiento en el análisis de nutrientes y su ayuda en el montaje de los sistemas.

A la Lcda. Dayra Icaza, Técnica encargada del laboratorio L-15, quien siempre tuvo la disposición de ayudarme con la preparación de los medios y materiales que necesitaba para los bioensayos. También por su apoyo moral y consejos.

Al Lic. Pinzón, por siempre estar animándome a seguir adelante con el proyecto a pesar de los inconvenientes que surgieron.

A cada profesor que con tanto esmero impartió sus conocimientos, en especial a la M.Sc. Clotilde Arrocha por el apoyo que me brindó.

A mi tío José Miranda y mi tía Azalia Montezuma, quienes me han adoptado como su hijo y me han apoyado en todas las áreas.

A mi mamá Marlys Miranda y mi tía Yazmina Miranda por siempre apoyarme moral y económicamente. A mi tío Marco por ayudarme en las modificaciones de los sistemas.

A mi primo José Emanuel Miranda, por ayudarme con entusiasmo en todas las recolectas de las plantas que necesitaba para el desarrollo de este proyecto a pesar del largo camino.

A toda mi familia por apoyarme y celebrar cada logro que alcanzo.

A los amigos que me apoyaron y estuvieron conmigo en los buenos y malos tiempos.

A Yuris Guerra por su gran amistad, por apoyarme con sus conocimientos y en la colecta de las muestras de agua para la realización de este proyecto.

A mi pastora Norma de Ortiz que en todo momento me ha dado su apoyo moral y espiritual.

A la M.Sc. Mónica Ibarra por su apoyo incondicional el cual fue muy importante para la culminación de la parte escrita de este proyecto.

Al M.Sc. Luis González por su ayuda y asesoría en la parte de microbiología.

## HOJA DE APROBACIÓN

“Esta tesis fue aprobada por la respectiva Comisión de Tesis de la Escuela de Biología, según los requerimientos de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí”.

---

Ph.D. Oscar Martínez

Asesor principal de tesis

---

Dr.Rer.nat Ariadna Batista

---

Dr. Rogelio Santanach

---

Jostin S. Cruz M.

Estudiante

## INDICE GENERAL

|  |           |
|--|-----------|
| DEDICATORIA.....                               | III       |
| AGRADECIMIENTOS.....                           | IV        |
| HOJA DE APROBACIÓN.....                        | VII       |
| INDICE GENERAL.....                            | VIII      |
| ÍNDICE DE TABLAS.....                          | XII       |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                         | XVII      |
| INDICE DE ABREVIATURAS.....                    | XX        |
| RESUMEN.....                                   | XXII      |
| ABSTRAC.....                                   | XXV       |
| <b>CAPITULO I.....</b>                         | <b>1</b>  |
| 1.1.INTRODUCCIÓN.....                          | 2         |
| 1.2.HIPÓTESIS.....                             | 5         |
| 1.3.OBJETIVO GENERAL.....                      | 6         |
| 1.4.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                 | 6         |
| 1.5.ALCANCE DEL TRABAJO.....                   | 7         |
| 1.6.LIMITACIONES.....                          | 9         |
| 1.7.JUSTIFICACIÓN.....                         | 10        |
| <b>CAPÍTULO II.....</b>                        | <b>12</b> |
| 2.1.REVISIÓN DE LITERATURA.....                | 13        |
| 2.1.1. Contaminación por aguas residuales..... | 13        |
| 2.1.2. Aguas residuales.....                   | 14        |
| 2.1.3. Consecuencias de las ARs.....           | 16        |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.1.4. Contaminación por ARs en Panamá.....   | 17        |
| 2.1.5. Normativas Panameñas.....  | 17        |
| 2.1.6. Parámetros para definir la calidad de las aguas residuales.....                          | 18        |
| 2.1.7. Principales parámetros predominantes y con mayor relevancia a considerar en las ARs..... | 21        |
| 2.1.8. Fitorremediación.....  | 27        |
| 2.1.9. Humedales artificiales (HAs).....  | 29        |
| 2.1.10. Lirio acuático. <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms, 1883.....                    | 30        |
| 2.1.11. Taxonomía.....  | 31        |
| 2.1.12. Usos del lirio acuático.....  | 32        |
| 2.1.13. Radiación ultravioleta UV.....  | 33        |
| 2.1.14. Desinfección con radiación UV-C.....  | 33        |
| 2.1.15. Desinfección con UV-C en medio líquido.....   | 34        |
| 2.1.16. Antecedentes del estudio.....   | 35        |
| <b>CAPITULO III.....</b>  | <b>39</b> |
| 3.1. OBTENCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO.....   | 40        |
| 3.1.1. Lirio acuático.....  | 40        |
| 3.1.2. Muestras de ARs.....   | 40        |
| 3.1.3. Bioensayos preliminares.....   | 42        |
| 3.2. Diseño Experimental.....   | 44        |
| 3.3. Parte A. Desinfección de ARs mediante radiación UV-C.....                                  | 47        |
| 3.4. Parte B. Fitorremediación en combinación con la desinfección con UV-C                      | 49        |
| 3.4.1. Análisis físico-químicos de la muestra de AR.....  | 51        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.4.2. Recuento de colonias.....  | 51        |
| 3.5. Medios selectivos para el aislamiento e identificación de grupos de microorganismos..... | 52        |
| 3.6. Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias.....                                | 53        |
| 3.7. Análisis estadístico.....  | 53        |
| <b>CAPÍTULO IV.....</b>   | <b>55</b> |
| 4.1. RESULTADOS.....  | 56        |
| 4.1.1. Bioensayos preliminares.....   | 56        |
| 4.1.2. Desinfección de ARs mediante radiación UV-C.....                                       | 57        |
| 4.1.3. Fitorremediación sobre nutrientes con <i>E. crassipes</i> .....                        | 62        |
| 4.1.4. Efecto en los parámetros físico-químicos.....  | 73        |
| 4.1.5. Efecto de las plantas y posterior UV-C sobre las bacterias en AR.....                  | 85        |
| 4.1.6. Identificación de las bacterias presentes en las muestras de AR utilizadas.....        | 91        |
| 4.1.7. Efectos de las ARs en la macrófita <i>Eichhornia crassipes</i> .....                   | 94        |
| 4.2. DISCUSIÓN.....   | 97        |
| 4.2.1. Desinfección del agua mediante UV-C.....   | 97        |
| 4.2.2. Fitorremediación de parámetros físico químicos con <i>E. crassipes</i> .....           | 100       |
| 4.2.3. Requerimientos nutricionales.....  | 103       |
| 4.2.4. Observaciones visuales en <i>E. crassipes</i> .....                                    | 107       |
| 4.2.5. Fitorremediación de bacterias.....   | 107       |

|   |            |
|---|------------|
| 4.2.6. Identificación de bacterias.....   | 110        |
| 4.2.7. Posibles mecanismos de eliminación y remoción.....                         | 111        |
| <b>CAPÍTULO V.....</b>  | <b>115</b> |
| 5.1.CONCLUSIONES.....   | 116        |
| 5.2.RECOMENDACIONES.....  | 118        |
| 5.3.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....   | 120        |
| 5.4.ANEXOS.....   | 135        |
| 5.4.1. Gráficas de los promedios obtenidos en los análisis de cada bioensayo..... | 135        |
| 5.4.2. Registro fotográfico.....  | 139        |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Concentraciones de color y cantidad de agua generada por algunas industrias .....  | 14 |
| <b>Tabla 2.</b> Reglamentos relativos a la calidad de agua en Panamá .....   | 18 |
| <b>Tabla 3.</b> Principales parámetros físicos de las ARs .....  | 19 |
| <b>Tabla 4.</b> Principales parámetros químicos de las ARs .....   | 20 |
| <b>Tabla 5.</b> Principales organismos presentes en las ARs .....  | 21 |
| <b>Tabla 6.</b> Clasificación taxonómica del lirio acuático .....  | 32 |
| <b>Tabla 7.</b> Trihalometanos más comunes .....   | 35 |
| <b>Tabla 8.</b> Matriz experimental para las combinaciones a realizar en cada bioensayo (Minitab versión 19.1.01) .....                  | 45 |
| <b>Tabla 9.</b> Bioensayos con las combinaciones para cada variable (Minitab 19.1.01) ..   | 48 |
| <b>Tabla 10.</b> Bioensayos con las combinaciones de las variables empleando UV-C y los análisis físico-químicos (Minitab 19.1.01) ..... | 50 |
| <b>Tabla 11.</b> Pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos .....   | 53 |
| <b>Tabla 12.</b> Uso de una lámpara con radiación UV-C a distintos tiempos de exposición para eliminación de bacterias .....             | 56 |
| <b>Tabla 13.</b> Uso de lámpara de pecera con radiación UV-C a diferentes distancias y con dos tiempos de exposición .....               | 56 |
| <b>Tabla 14.</b> Variables optimizadas de tiempo de exposición de la radiación UV-C y la distancia de La fuente de luz .....             | 56 |
| <b>Tabla 15.</b> Cálculo del porcentaje de desinfección con los distintos tratamientos con AR .....                                      | 59 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 16.</b> Estadística descriptiva de la medición de las UFC antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01) .....   | 59 |
| <b>Tabla 17.</b> Estadística descriptiva del pH medido antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01).....  | 60 |
| <b>Tabla 18.</b> Estadística descriptiva de la medición de la temperatura antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01) .....  | 61 |
| <b>Tabla 19.</b> Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de amonio antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....  | 63 |
| <b>Tabla 20.</b> Estadística descriptiva de la concentración de amonio analizados antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos con concentración medible según el método TNT 830 y 832 (Minitab versión 19.1.01)..... | 64 |
| <b>Tabla 21.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones de amonio mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01).....  | 65 |
| <b>Tabla 22.</b> Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de los nitratos (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....                             | 66 |
| <b>Tabla 23.</b> Estadística descriptiva de la concentración de los nitratos antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos uno, dos, tres, seis y siete (Minitab versión 19.1.01).....                                 | 68 |
| <b>Tabla 24.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones de los nitratos (Minitab versión 19.1.01) .....   | 68 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 25.</b> Información agrupada de los bioensayos para las concentraciones de los nitratos empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01)..... | 68 |
| <b>Tabla 26.</b> Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de fosfatos analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01).....           | 71 |
| <b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones obtenidas de fosfatos (Minitab versión 19.1.01) .....  | 71 |
| <b>Tabla 28.</b> Información agrupada de los bioensayos para las concentraciones de fosfatos empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01).....     | 71 |
| <b>Tabla 29.</b> Estadística descriptiva del análisis del DQO antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....                                       | 73 |
| <b>Tabla 30.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis del DQO obtenido (Minitab versión 19.1.01).....  | 74 |
| <b>Tabla 31.</b> Información agrupada de los bioensayos para el análisis del DQO empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01) .....                | 75 |
| <b>Tabla 32.</b> Estadística descriptiva del análisis del pH antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.) .....                                       | 77 |
| <b>Tabla 33.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis del pH (Minitab versión 19.1.01.).....   | 77 |
| <b>Tabla 34.</b> Información agrupada de los bioensayos para el análisis del pH empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.) .....                | 77 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 35.</b> Estadística descriptiva de la temperatura medida antes y después de la aplicación de la planta (Minitab versión 19.1.01.).....                                | 80 |
| <b>Tabla 36.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis de la temperatura (Minitab versión 19.1.01.).....  | 80 |
| <b>Tabla 37.</b> Información agrupada de los bioensayos para el análisis de la temperatura empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)80   |    |
| <b>Tabla 38.</b> Estadística descriptiva de los S.T.D. medidos antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.).....                                | 83 |
| <b>Tabla 39.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis de S.T.D. (Minitab versión 19.1.01.).....  | 83 |
| <b>Tabla 40.</b> Información agrupada de los bioensayos para el análisis de los S.T.D. empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)83       |    |
| <b>Tabla 41.</b> Estadística descriptiva para las UFC/mL calculados a partir de las muestras antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.).....  | 85 |
| <b>Tabla 42.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para las UFC mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01.) .....                                       | 86 |
| <b>Tabla 43.</b> Estadística descriptiva para las UFC/mL calculados a partir de las muestras obtenidas post planta y después de aplicarle UV-C (Minitab versión 19.1.01.)..... | 87 |
| <b>Tabla 44.</b> Eficiencia de la radiación UV-C en las muestras de AR obtenidas luego del tratamiento con la macrófita. (Minitab versión 19.1.01.).....                       | 88 |
| <b>Tabla 45.</b> Análisis de varianza entre tratamientos para las UFC mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01.) .....                                       | 88 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 46.</b> Caracterización del agua con y sin tratamiento con <i>E. crassipes</i> (TRH= 10 días) .....   | 90 |
| <b>Tabla 47.</b> Pruebas confirmatorias para la identificación de las especies de bacterias presentes en las muestras de AR analizadas .....   | 93 |
| <b>Tabla 48.</b> Estadística descriptiva para el tamaño (cm) de las plantas utilizadas tanto antes como después de la aplicación a las muestras de AR (Minitab versión 19.1.01.) ..... | 94 |
| <b>Tabla 49.</b> Estadística descriptiva para el peso (g) de las plantas utilizadas tanto antes como después de la aplicación a las muestras de AR (Minitab versión 19.1.01.) .....    | 95 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Puntos de colecta de las macrófitas .....   | 41 |
| <b>Figura 2.</b> Punto de colecta de la muestra de AR .....  | 42 |
| <b>Figura 3.</b> Procedimiento para los tratamientos con la macrófita y radiación UV-C ...   | 46 |
| <b>Figura 4.</b> Recuento bacteriano antes y después de la exposición de la AR a radiación UV-C .....  | 58 |
| <b>Figura 5.</b> Gráfica de caja de las unidades formadoras de colonias (UFC) de las muestras de AR antes y después de la exposición a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01) .....  | 58 |
| <b>Figura 6.</b> Gráfica de caja del pH medido antes y después de exposición de las muestras de AR a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01) .....  | 60 |
| <b>Figura 7.</b> Gráfica de caja de la temperatura medida antes y después de exposición de las muestras de AR a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01).....  | 61 |
| <b>Figura 8.</b> Gráfica de caja de la concentración de amoníaco ( $\text{NH}_4^+$ ) analizado antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....  | 63 |
| <b>Figura 9.</b> Gráfica de caja de la concentración de amonio de analizado antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos con concentración medible según el método TNT 830 y 832 (Minitab versión 19.1.01) ..... | 64 |
| <b>Figura 10.</b> Gráfica de caja de la concentración de los nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01).....   | 67 |
| <b>Figura 11.</b> Gráfica de caja de la concentración de nitratos analizados antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos uno, dos, tres, seis y siete (Minitab versión 19.1.01).....                            | 67 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 12.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para la concentración de nitratos (Minitab versión 19.1.01) .....                                   | 69 |
| <b>Figura 13.</b> Gráfica de caja de la concentración de fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) ..... | 70 |
| <b>Figura 14.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para la concentración de nitratos (Minitab versión 19.1.01) .....                                   | 72 |
| <b>Figura 15.</b> Gráfica de caja para el análisis del DQO antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....  | 74 |
| <b>Figura 16.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para el análisis del DQO (Minitab versión 19.1.01) .....  | 75 |
| <b>Figura 17.</b> Gráfica de caja para el análisis del pH antes y después de la aplicación de la planta (Minitab versión 19.1.01) .....  | 76 |
| <b>Figura 18.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para el pH (Minitab versión 19.1.01) .....  | 78 |
| <b>Figura 19.</b> Gráfica de caja para la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) medida antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01).....                  | 79 |
| <b>Figura 20.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas entre los bioensayos para la temperatura (Minitab versión 19.1.01).....   | 81 |
| <b>Figura 21.</b> Gráfica de caja para para los S.T.D. analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01).....                                    | 82 |
| <b>Figura 22.</b> Comparación múltiple de las medias obtenidas entre los bioensayos para los S.T.D. analizados (Minitab versión 19.1.01) .....                                       | 84 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 23.</b> Gráfica de caja para para las UFC calculadas a partir de las muestras tanto antes como después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01) .....                        | 86 |
| <b>Figura 24.</b> Gráfica de caja para las UFC calculadas a partir de las muestras obtenidas post planta y posterior desinfección con UV-C (Minitab versión 19.1.01) .....                               | 89 |
| <b>Figura 25.</b> Recuento bacteriano de las muestras de AR antes de tratamiento con la planta (A), tratamiento luego de 10 días (B) y posterior desinfección con UV-C (C). 89                           |    |
| <b>Figura 26.</b> Estriado en placa en agar MacConkey para separar bacterias fermentadoras de la lactosa (colonias rosadas o rojas) (A) de las no fermentadoras (colonias blancas o incoloras) (B) ..... | 91 |
| <b>Figura 27.</b> Pruebas confirmatorias empleadas para la identificación de las especies bacterianas presentes en las muestras de ARs .....   | 92 |
| <b>Figura 28.</b> Método de MicroScan para la identificación de las especies bacterianas presentes en las muestras de ARs.....   | 92 |
| <b>Figura 29.</b> Gráfica de caja para el tamaño de las plantas antes y después de su aplicación a las muestras de ARs (Minitab versión 19.1.01) .....   | 95 |
| <b>Figura 30.</b> Gráfica de caja para el peso de las plantas antes y después de su aplicación a las muestras de ARs (Minitab versión 19.1.01) .....   | 96 |

## INDICE DE ABREVIATURAS

**AR:** Agua residual

**ARs:** Aguas residuales

**ADP:** Adenosin difosfato

**ATP:** Adenosin trifosfato

**BHI:** Brain Heart Infusion Agar (Infusión cerebro corazón agar)

**Ca<sup>2+</sup>:** Calcio

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono

**COT:** Carbono orgánica total

**CT:** Coliformes totales

**CTE:** Coliformes termotolerantes

**DBO<sub>5</sub>:** Demanda bioquímica de oxígeno al quinto día

**DQO:** Demanda química de oxígeno (mg/L)

**GPD:** Galones por día

**FAN:** florecimientos algales nocivos

**H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>:** Ortofosfato primario

**HPO<sub>4</sub><sup>-</sup>:** Ortofosfato secundario

**HAs:** Humedales artificiales

**HAF:** humedales artificiales tipo flotantes

**IC:** Índice de confianza

**LMP:** Límite máximo permitido

**MICI:** Ministerio de Comercio e Industrias

**MO:** Materia orgánica

**MSA:** Manitol salado

**NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:** Amonio (mg/L)

**OD:** Oxígeno disuelto (mg/L)

**OH:** hidróxido

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:** Nitratos (mg/L)

**PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>:** Fosfatos (mg/L)

**PTAR:** Planta de tratamiento de agua residual

**SIM:** Sulfuro-Indol-Movilidad

**SPD:** Subproductos de desinfección

**S.T.D.:** Sólidos totales disueltos (ppm)

**THM:** Trihalometanos

**TRH:** Tiempo de retención hidráulica (días)

**UFC:** Unidades formadoras de colonias

**UV-C:** radiación ultravioleta tipo C

## RESUMEN

Las descargas de aguas residuales (ARs) son un problema a nivel mundial, ya que afectan los ecosistemas acuáticos contribuyendo a la eutrofización, lo cual genera un desequilibrio en el ambiente pudiendo causar afectaciones sanitarias; debido a esto surgen tecnologías alternativas que ayudan a mitigar el grado de contaminación de las ARs para su descarga directa o ver si se pueden reutilizar. El presente trabajo de investigación consistió en el uso de la ecotecnología fitorremediación a escala piloto con flujo discontinuo empleando *Eichhornia crassipes* y posterior radiación UV-C para la desinfección de ARs. Las muestras de ARs a tratar se tomaron del último tanque séptico del campus central de la Universidad Autónoma de Chiriquí, previo a la descarga en la cuenca media de la quebrada San Cristóbal, posteriormente fue filtrada utilizando gasa simple (4"x4"x12 capas) la cual fue colocada en un embudo.

Se emplearon diversos bioensayos en donde la primera parte consistió únicamente en el uso de radiación UV-C ( $250 \pm 10$  nm), con combinaciones de distancias de radiación de 2 como de 8 cm, y con tiempos de exposición de 30 como 15 min. Se realizaron ocho repeticiones con las variables mencionadas. Para determinar la concentración bacteriana tanto antes como después de la aplicación de la radiación, se llevó a cabo el método de vertido en placa y diluciones seriadas. Las placas petri contenían agar BHI.

La segunda parte consistió en bioensayos con un TRH de 10 días para la muestra de AR con *E. crassipes* y un fotoperíodo de 12:12; además de bioensayos con radiación UV-C ( $250 \pm 10$  nm) con combinaciones de distancias de radiación de 2 como de 8 cm, y con tiempos de exposición de 30 como 15 min. Los bioensayos con

planta se repitieron siete veces y cada uno contaba con dos réplicas. El control consistió en muestras de ARs sin planta. A las muestras obtenidas tanto antes como después de tratamiento con la macrófita, se le realizaron análisis físico-químicos, determinación de concentraciones de nutrientes ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NH}_4^+$ ) y DQO; a las plantas se le midió la altura y la masa tanto al inicio como al finalizar el estudio. Luego se realizó recuento bacteriano mediante vertido en placa a las muestras de ARs al inicio del bioensayo, después de aplicar tanto la planta como la radiación UV-C. Por último, se realizaron pruebas confirmatorias y estriado en placa en agar MacConkey, para identificar las especies bacterianas que crecieron en las placas petri empleadas para recuento bacteriano.

En la sección obtuvimos una desinfección del 100 % de UFC/mL en todas las combinaciones de variables de tiempo y distancia.

En los bioensayos con *E. crassipes*, obtuvimos una remoción de parámetros físico-químicos como el amonio (83 %), ortofosfatos (57 %), DQO (34 %), pH (4 %), temperatura (0.37 %) y S.T.D. (9 %). Por el contrario, se obtuvo un aumento en la concentración de los nitratos. En cuanto al parámetro microbiológico, se obtuvo una eficiencia de remoción del 86 % de las UFC/mL. Luego, con la posterior desinfección con radiación UV-C a la carga bacteriana remanente de las muestras tratadas con *E. crassipes*, se obtuvo un 100 % de desinfección en todas las combinaciones de las variables de tiempo y distancia de estudio.

Con las pruebas confirmatorias se identificaron especies bacterianas como *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae*.

*E. crassipes* mostró ser eficiente en la mayoría de los parámetros físico-químicos y en los microbiológicos, sin embargo, solo el pH obtenido está dentro del LMP establecido en la normativa panameña DGNTI-COPANIT 35-2000.

La limpieza de las ARs empleando plantas con potencial biorremediador y el uso de radiación UV-C, constituyen una solución para evitar la contaminación de los ecosistemas, además de proveer alternativas renovables de las fuentes hídricas.

## ABSTRAC

Discharges of sewage (SW) are a problem worldwide, as they affect aquatic ecosystems contributing to eutrophication, which generates an imbalance in the environment that can cause health effects; due to this, alternative technologies arise that help mitigate the degree of contamination of SW for direct discharge or reuse. The present research work consisted of the use of phytoremediation ecotechnology on a pilot scale with discontinuous flow using *Eichhornia crassipes* and subsequent UV-C radiation for the disinfection of SW. The samples of SW to be treated were taken from the last septic tank of the central campus of the Autonomous University of Chiriqui, prior to discharge in the middle basin of the San Cristóbal creek, later filtered using simple gauze (4"x4"x12 layers) which was placed in a funnel.

Several bioassays were used, the first part consisting only of the use of UV-C radiation ( $250 \pm 10$  nm), with combinations of radiation distances of 2 and 8 cm, and with exposure times of 30 and 15 min. Eight repetitions were performed with the aforementioned variables. To determine the bacterial concentration both before and after the application of radiation, the method of plate pouring and serial dilutions was carried out. The petri dishes contained BHI agar.

The second part consisted of bioassays with a hydraulic retention time (HRT) of 10 days for the AR sample with *E. crassipes* and a photoperiod of 12:12; as well as bioassays with UV-C radiation ( $250 \pm 10$  nm) with combinations of radiation distances of 2 and 8 cm, and with exposure times of 30 as 15 min. The plant bioassays were repeated seven times and each had two replicates. The control consisted of samples of plantless SW. Physicochemical analyses were performed on the samples obtained

both before and after treatment with the macrophyte, determination of nutrient concentrations ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{NH}_4^+$ ) and COD were performed; The plants' height and mass were measured both at the beginning and at the end of the study. Bacterial counting was then performed by plate pouring into the SW samples at the beginning of the bioassay, after applying both the plant and UV-C radiation. Finally, confirmatory tests and plate striation were performed on MacConkey agar to identify the bacterial species that grew in the petri dishes used for bacterial counting.

In the section, we obtained 100% disinfection of CFU/mL in all combinations of time and distance variables.

In the bioassays with *E. crassipes*, we obtained a removal of physicochemical parameters such as ammonium (83%), orthophosphates (57%), COD (34%), pH (4%), temperature (0.37%) and S.T.D. (9%). On the contrary, an increase in the concentration of nitrates was obtained. Regarding the microbiological parameter, a removal efficiency of 86% of CFU/mL was obtained. Then, with the subsequent disinfection with UV-C radiation of the remaining bacterial load of the samples treated with *E. crassipes*, 100% disinfection was obtained in all combinations of the time and distance variables.

Confirmatory tests identified bacterial species such as *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae*.

*E. crassipes* it was shown to be efficient in most of the physical-chemical and microbiological parameters, however, only the pH obtained is within the LMP established in the Panamanian regulations DGNTI-COPANIT 35-2000.

The cleaning of SW using plants with bioremediation potential and the use of UV-C radiation is a solution to avoid the contamination of ecosystems, in addition to providing renewable alternatives to water sources.

**CAPITULO I**  
**MARCO INTRODUCTORIO**

## 1.1.INTRODUCCIÓN

La contaminación de los recursos hídricos por el aumento de las descargas directa de aguas residuales (ARs) no tratadas a los cuerpos de agua superficiales ha sido insostenible, ya que la misma no puede hacer frente a los altos niveles de contaminación, a través de su proceso natural de limpieza (Rodríguez Pimentel, 2017). Un estudio realizado por Tuholske *et al.*, (2021) en donde utilizaron un modelo geoespacial de alta resolución para mapear los aportes de nitrógeno de las ARs en 135 000 cuencas hidrográficas de todo el mundo, encontraron que éstas incorporan aproximadamente 6.2 millones de toneladas anuales de nitrógeno a las aguas costeras del mundo; siendo este uno de los contaminantes más dañinos, ya que conlleva a los florecimientos algales nocivos (FAN), eutrofización y zonas hipóxicas o anóxicas. Debido a esta insostenibilidad causada por las actividades antropogénicas se busca implementar tecnologías eficientes y viables para tratar las ARs, ya sea para reutilizarlas (Monroy Hermosillo, 2021) o para mitigar su impacto en el medio ambiente (Rodríguez Pimentel, 2017). Una de las alternativas biotecnológicas sustentables y económicas, es la fitorremediación la cual es un conjunto de tecnologías que emplean plantas y microorganismos asociados a éstas, para degradar, extraer o inmovilizar contaminantes presentes en el suelo y el agua, a través de procesos naturales (Uggetti, 2021). Esta fitotecnología hace uso de macrófitas como, por ejemplo, *Azolla*, *Eichhornia*, *Lemna*, entre otras especies, las cuales reducen la contaminación de las ARs por medio de la bioacumulación de los contaminantes en sus tejidos aún en altos niveles de estrés (Ansari *et*

*al.*, 2020). Para aprovechar la capacidad biorremediadora de las plantas, construyen humedales artificiales, en donde los de tipo flotantes (HAF) son los más empleados por sus numerosas ventajas en comparación a otros tipos (Delvalle-Borrero *et al.*, 2022). En los HAF emplean distintos tipos de macrófitas entre ellas la macrófita flotante *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (jacinto de agua), la cual ha demostrado ser eficiente en la disminución de la concentración de nutrientes (Auchterlonie *et al.*, 2021), materia orgánica, metales pesados como el cadmio y cromo (Vargas-Perdomo *et al.*, 2018), e incluso en la eliminación la bacteria *Escherichia coli* (León Suárez, 2017), representando así una importante alternativa ecológica. Otra alternativa utilizada para tratar ARs es el uso de radiación ultravioleta tipo C (UV-C), la cual es empleada para la desinfección bacteriana (coliformes totales y termotolerantes) en un tiempo mínimo, lo cual conlleva a una disminución del uso del cloro (Rossel Bernedo *et al.*, 2020). Este tipo de radiación es considerada germicida, ya que puede inactivar a los microorganismos expuestos hasta un 99 % (Correa *et al.*, 2020). El objetivo de este proyecto es evaluar la eficiencia de *E.crassipes* para biorremediación y la radiación UV-C para desinfección, en el tratamiento de ARs originadas por la Universidad Autónoma de Chiriquí. Se espera que los resultados obtenidos aporten una base en la búsqueda de alternativas ecológicas, viables y accesibles que puedan ser implementadas dentro del campus universitario, permitiendo que las ARs descargadas directamente cumplan con el reglamento técnico de Panamá DGNTI-COPANIT 35-2000

(Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000).

## **1.2.HIPÓTESIS**

El uso de la macrófita *E. crassipes* y la radiación UV-C disminuyen la concentración de nutrientes y carga bacteriana de las muestras de aguas residuales estudiadas.

### **1.3.OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el uso de la planta *Eichhornia crassipes* para biorremediación y posterior desinfección con radiación UV-C en el tratamiento de aguas residuales originadas por la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI).

### **1.4.OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analizar las concentraciones de nutrientes (fosfatos, nitratos y amonio) y parámetros físico-químicos (temperatura, pH, S.T.D y DQO) en las muestras de ARs tratadas con *E. crassipes*.
- Realizar recuentos bacterianos tanto de las aguas tratadas con *E. crassipes* como posteriormente a la aplicación de UV-C en la disminución/eliminación de bacterias en las muestras de ARs.
- Realizar ensayos aplicando radiación UV-C utilizando variables combinadas de distancia de la fuente de luz y tiempo de exposición a las muestras de AR para verificar su eficiencia de desinfección bacteriana.
- Recomendar los usos posibles de las ARs evaluadas, de acuerdo a los Reglamentos Técnicos (DGNTI-COPANIT 35-2000 y 24-99) de la calidad del agua en Panamá.

## 1.5.ALCANCE DEL TRABAJO

En el presente estudio se utilizó la macrófita *E. crassipes* y radiación UV-C para el tratamiento de las ARs las cuales fueron tomadas de la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), previo a su descarga directa en la cuenca baja de la quebrada San Cristóbal, David, Chiriquí. Sus coordenadas son 8°25'49.51" latitud norte y 82°26'53.36" longitud oeste. Se desea conocer la eficiencia de estos tratamientos como alternativas ecológicas y accesibles para depurar las ARs generadas por la universidad.

- **Delimitación espacial**

El sitio donde se realizó la presente investigación fue en la UNACHI. Los análisis biológicos se realizaron en el laboratorio de microbiología y los físico-químicos en el laboratorio del Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT). Los sistemas pilotos con la macrófita estuvieron en el invernadero del Centro de Investigación de Cultivos de Tejidos Vegetales (CITEV). Todos los centros donde se realizaron los análisis y montaje de los sistemas, están en la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas (FCNYE) dentro del campus universitario.

Las muestras de ARs se recolectaron en el tanque séptico ubicado en la parte de atrás de FCNYE. Las ARs que llegan a este último tanque no reciben ningún tipo de tratamiento que disminuya la cantidad de nutrientes y carga bacteriana. Estas ARs son descargadas directamente en la quebrada San Cristóbal, a la cual también llegan ARs de diferentes instituciones y barriadas desde los años

50, por lo que su grado de contaminación es alto, afectando al medio ambiente y a las personas que residen a lo largo de la quebrada (Vásquez, 2015).

- **Delimitación temporal**

La parte experimental se desarrolló entre los meses de noviembre de 2022 hasta mayo de 2023. De esta manera, hubo una mayor generación de ARs domésticas de tal forma que facilitó su colecta, debido al tiempo de gran auge en la universidad. Los análisis de nutrientes y parámetros físico-químicos también se realizaron dentro de este rango de tiempo.

- **Delimitación del tema**

Se realizaron pruebas *ex situ* de desinfección de ARs utilizando radiación UV-C. Mediante la técnica de recuento bacteriano se conoció la efectividad para determinar el tiempo y distancia mínima de exposición a este tipo de radiación dentro del recipiente en donde se hicieron las pruebas. También se realizaron pruebas *ex situ* con la macrófita flotante *E. crassipes*, para comprobar su efecto biorremediador mediante la caracterización de la calidad del agua tratada con esta planta. Ésto se realizó mediante análisis de parámetros fisicoquímicos como pH, temperatura, demanda química de oxígeno (DQO); nutrientes como nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, fosfato total, y parámetros biológicos como coliformes totales y fecales.

## 1.6.LIMITACIONES

La presente investigación tuvo limitaciones para adquirir una mayor cantidad de viales de la marca HACH, lo cual impidió realizar pruebas fisicoquímicas de las ARs con la *E. crassipes* durante cada día de exposición de estas. Por ende, estos análisis se realizaron el día cero y día diez de exposición. En dos de los ensayos se tuvo un retraso en los análisis físico-químicos de las ARs tanto antes como después de exposición a la macrófita, debido a retrasos con los kits solicitados para sus análisis.

Se utilizaron cuatro plantas por cada sistema debido al espacio reducido para colocarlos y a la dificultad de conseguir más volumen de ARs del utilizado el cual fuera homogéneo para cada sistema. Por otra parte, limitación de controlar variables como la concentración de nutrientes y carga bacteriana presente en las ARs durante cada muestreo, edad de las plantas, densidad de las raíces, tamaño de las hojas, entre otros, puede haber afectado los resultados en cada ensayo. También, factores del sitio donde estuvieron los sistemas pilotos como la intensidad luminosa, temperatura, humedad, entre otros, no se pudieron controlar.

Son pocos los estudios encontrados con *E. crassipes* en Panamá, por lo que no se tienen datos sobre su comportamiento y eficiencia al ser expuesta a ARs con las condiciones abióticas del sitio. Sin embargo, (Delvalle-Borrero *et al.*, 2022) menciona a la *E. crassipes* dentro de las macrófitas presentes en Panamá las cuales pueden ser utilizadas en la construcción de humedales artificiales flotantes HAF por su potencial biorremediador.

## 1.7.JUSTIFICACIÓN

En Panamá existen algunas plantas de tratamientos de ARs (PTAR), las cuales se encuentran en las provincias de Panamá, Panamá Oeste y Herrera, siendo la más importante la que está ubicada en el corregimiento de Juan Díaz, provincia de Panamá. Esta planta pertenece al Programa Saneamiento de Panamá. Esta PTAR es de tipo biológico (lodos activados), es decir, utilizan microorganismos que viven en las ARs las cuales utilizan los nutrientes presentes para su metabolismo. Además, requieren la presencia de oxígeno (reacciones aeróbicas) (Programa Saneamiento de Panamá, s/f).

En la provincia de Chiriquí existen algunos proyectos de PTAR finalizados como el ubicado en el distrito de Boquete, la cual cuenta con una capacidad para tratar 750 mil galones por día GPD de AR. La empresa Grupo PLODESA (s/f) cuenta con algunos proyectos de PTAR, por ejemplo, los ubicados en la urbanización Brisas de Boquerón con capacidad de 60.000 GPD, urbanización El Pinar con 50.000 GPD, urbanización Valle Bonito con 90.000 GPD, entre otras. También existen otras PTAR en construcción por otras empresas, como la que se ubicada en el Centro Femenino de Rehabilitación de Los Algarrobos, la cual tendrá capacidad para atender a 500 personas. Actualmente cuenta con un avance del 50 % (Ministerio de Gobierno, 2022). En el distrito de David se encuentran otras PTAR como la del Hospital Rafael Hernández, pero enfocadas en lodos activados a través de reactores biológicos secuenciales (SBR), mediante la modalidad de aireación extendida (Proyectos Generales S. A. [PROGESA], 2022). También otros proyectos en fase de construcción como el que se ubica en la ciudad de David, en la comunidad de San Cristóbal próxima

al río David, estará equipado con un tratamiento secundario, digestión anaeróbica de lodos con conversión de biogás (utilizando biodigestores LIPP) y un colector de ARs. Esta PTAR tendrá un caudal de diseño de 51.840 m<sup>3</sup>/día. (Grupo IDP, s/f). Además de las PTAR mencionadas, también existen lagunas de oxidación como la ubicada en la Ciudad de David, la cual beneficia a una población de 25 mil personas aproximadamente (Rodríguez y Zarraonandia, 2016). Debido a los altos costos que representa la construcción de PTAR (Andrade Avalos *et al.*, 2021), en el presente trabajo de investigación se propone un tratamiento mixto el cual consiste en la depuración y desinfección de las ARs de la UNACHI mediante el uso de la macrófita *E. crassipes* y radiación UV-C, respectivamente. Estas ARs son descargadas directamente en la quebrada San Cristóbal; por ende, se busca proporcionar alternativas viables, accesibles y económicas que puedan ser implementadas a gran escala dentro del campus universitario para mitigar el impacto de las grandes cantidades de ARs generadas, en el entorno. Además, permitirá obtener datos relevantes del uso combinado de la macrófita *E. crassipes* con radiación UV-C para la biorremediación y desinfección como alternativa a otros métodos como la cloración. Las ARs tratadas brindará opciones a las personas para su reutilización o para que las mismas sean descargadas directamente en la quebrada de acuerdo a los límites máximos permitidos (LMP) según los reglamentos técnicos de Panamá como el DGNTI-COPANIT 35-2000 y DGNTI-COPANIT 24-99 (1999).

**CAPÍTULO II**  
**MARCO TEÓRICO**

## 2.1.REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1.1.Contaminación por aguas residuales

La contaminación de los cuerpos de agua se da de manera natural cuando el agua subterránea fluye disolviendo diversos compuestos que se encuentran en las distintas capas del suelo. Este proceso aumenta de la concentración de oligoelementos como el flúor y el arsénico inorgánico, considerado este último por la OMS como una de las 10 sustancias químicas más preocupantes para la salud humana(Organización Mundial de la Salud [OMG], 2022); entre otros contaminantes como el manganeso, aluminio, hierro, uranio, litio, entre otros (We Are Water, 2019; Xiao *et al.*, 2019). La contaminación del agua también se puede dar por eventos como la erosión y lixiviación (Xiao *et al.*, 2019) La contaminación del agua también se da de manera antropogénica la cual es causada por la descarga directa de ARs al medio ambiente procedente de actividades humanas. Aproximadamente un 80 % de ARs son vertidas a los cuerpos de agua sin ningún tipo de tratamiento previo, afectando así a los ecosistemas y la salud humana (Lin *et al.*, 2022). La descarga directa de ARs provocan un aumento en la concentración de muchos contaminantes en los ecosistemas costeros, por ejemplo, las cuencas de la India, Corea del Sur y China son las que más aportan nitrógeno a estos ecosistemas. En China, solo la cuenca del río Yangtsé aporta el 11 % de nitrógeno de ARs a las aguas costeras del mundo (Tuholske *et al.*, 2021). Haga clic o pulse aquí para escribir texto.Haga clic o pulse aquí para escribir texto.

Por otra parte, las industrias producen ARs, las cuales representa una de las categorías más peligrosas, ya que contienen metales pesados que son

significativamente tóxicos y altamente resistentes, representando un serio problema para la salud humana y de los ecosistemas (Diaconu *et al.*, 2023). La industria textil es de las más contaminantes debido al alto consumo del agua y las aguas residuales que ésta genera con una alta carga de contaminantes como colorantes artificiales (Brañez Sánchez *et al.*, 2018).

En la (tabla 1) se muestran otras industrias que utilizan pigmentos y colorantes.

**Tabla 1**

*Concentraciones de color y cantidad de agua generada por algunas industrias*

| <b>Industria</b> | <b>Cantidad de agua generada<br/>(m<sup>3</sup>/Ton)</b> | <b>Concentraciones de color<br/>(Unidades Hazen*)</b> |
|------------------|--|---|
| Azucarera        | 0.4 caña de azúcar                                       | 150-200   |
| Cervecera        | 0.25 cerveza producida                                   | 200-300   |
| Destilera        | 12 de alcohol producido                                  | 200-300   |
| Curtido          | 28 de papel  | 400-500   |
| Papelera         | 175 de papel   | 100-600   |
| Textilera        | 120 de fibra   | 1100-1300   |

*Nota.* Unidades Hazen o Platino-Cobalto son estándares basados en la escala de color introducida en 1892 por el químico Allen Hazen, por (Cortázar *et al.*, 2009)

### **2.1.2. Aguas residuales**

Son aguas que contienen materia disuelta y una variedad de impurezas procedentes de los vertidos de fuentes como domésticas, comerciales, agrícolas, urbanas e industriales (Ecomar, 2020; Lin *et al.*, 2022). Estas contienen metales pesados, nutrientes, efluentes de sistemas como tanques de tratamiento séptico y escorrentías pluviales, las cuales pueden arrastrar sustancias nocivas (Tuser, 2021), por ejemplo,

fertilizantes, herbicidas, pesticidas; petróleo y productos proveniente de industrias; bacterias, residuos de animales domésticos. entre otros (Nuñez, 2022). También sustancias inorgánicas Las ARs contienen aproximadamente 99.9 % agua mientras que la parte restante incluye sólidos de materia orgánica e inorgánica, sólidos disueltos y suspendidos, y microorganismos. Este 0.01 % es el que produce la contaminación del agua (von Sperling, 2007).

El flujo y composición de las ARs cambia constantemente cada año, estación, semana e incluso durante el día (Monrroy Hermosillo, 2021; Tuser, 2021). También dependerá del uso que se le da al agua (von Sperling, 2007).

Existen diferentes tipos de ARs de acuerdo a su origen siendo las principales:

- **Agua residual doméstica**

Son producto de los residuos líquidos de zonas residenciales, establecimientos comerciales e instituciones.

- **Agua residual urbana**

Son los residuos de actividades residenciales, recreativas e industriales las cuales son transportadas por un sistema de alcantarillado.

- **Agua residual industrial**

Son originadas por procesos de fabricación industrial o comercial, siendo estas más complejas para tratar, siendo esta la principal causa de

contaminación del agua (Fibras y Normas de Colombia S.A.S., s/f; Tuser, 2021).

### **2.1.3. Consecuencias de las ARs**

- Salud humana

Aproximadamente 829 000 personas mueren por diarrea, lo cual representa casi el 60 % de todas las muertes por esta enfermedad a nivel mundial, incluyendo cerca de 300 00 niños menores a cinco años. Esta enfermedad se debe al consumo de agua potable no segura, falta de saneamiento o la inadecuada higiene en las manos. Además, está relacionada con la desnutrición, ya que la diarrea y enteropatía ambiental inhiben la absorción de nutrientes (UNESCO, 2021).

Las ARs tratadas que no cumplen con los requisitos adecuados y que son utilizadas para riego en la producción agrícola, provoca contaminación de las verduras y hortalizas con coliformes, estreptococos y salmonella lo que conllevaría a afectar la salud de los consumidores (Sánchez *et al.*, 2021).

- **Ambiente**

Las aguas residuales, principalmente industriales, liberan sustancias químicas tóxicas, sustancias orgánicas e inorgánicas, sustancias químicas orgánicas volátiles, lodos radiactivos, plomo, mercurio, benceno, nitratos, fosfatos, colorantes, entre otros contaminantes; los cuales, al ser vertidos a los sistemas acuáticos sin tratamientos previos o adecuados, los hacen insalubres para cualquier tipo de uso humano, afectando el ecosistema (Chowdhary *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2022).

El aumento en la concentración de nutrientes provoca la proliferación de algas en los sistemas dulceacuícolas, lo cual provoca pérdidas económicas, mortandad de peces y cortes en los suministros de agua para el ganado (UNESCO, 2021).

#### **2.1.4. Contaminación por ARs en Panamá**

Panamá cuenta con abundantes recursos hídricos en donde el 80 % de éstos poseen calidad catalogada como aceptable o poco contaminada. Según Fábrega *et al.*, (2019), la mayor contaminación se da en muchas regiones del Pacífico relacionada con la incidencia en zonas marino-costeras, a causa de la gran concentración demográfica y a la abundante cantidad de cuencas que las alimentan. Las cuencas de la ciudad de Panamá presentan problemas de contaminación como consecuencia de la concentración de la población y centros urbanos importantes, los cuales afectan las cuencas cercanas por lo que estas zonas son consideradas focos de contaminación como resultado de la descarga directa de vertidos domésticos, urbanos e industriales sin algún tipo de tratamiento; también por la deforestación de los bosques y erosión de los suelos. Del mismo modo, la ganadería y la agricultura han contaminado cuencas como las de Azuero, debido a la descarga de residuos agroquímicos, vertidos al suelo procedentes de granjas, vertederos, entre otros (MiAmbiente, 2013), por lo que estas cuencas presentan altos niveles de riesgos de calidad del agua (Fábrega *et al.*, 2019).

#### **2.1.5. Normativas Panameñas**

El Ministerio de Ambiente es la entidad responsable de mantener un control de calidad de los recursos hídricos de todo el país; sin embargo, no están exentas a contaminación por causa del vertido de ARs sin tratamiento previo. La concentración de nutrientes, carga bacteriana y parámetros físico-químicos de las ARs tratadas,

están reguladas por reglamentos para garantizar que la misma sea apta para descarga directa a cuerpos de agua o para reutilizar (Rodríguez y Zarraonandia, 2016). En la (Tabla 2) se muestran algunos reglamentos encargados de establecer las regulaciones a las ARs tratadas.

**Tabla 2**

*Reglamentos relativos a la calidad de agua en Panamá*

| <b>Nombre (Institución)</b>                     | <b>Aspecto cubierto</b>   | <b>Referencia</b>   |
|---|---|---|
| Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 24-99 (MICI)   | Reutilización de las aguas residuales tratadas  | <i>Gaceta Oficial</i> N° 24.008 del 13 de marzo de 2000.  |
| Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 35-2000 (MICI) | Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos de agua y masas de aguas superficiales y subterráneas | <i>Gaceta Oficial</i> N° 24.115 del 10 de agosto de 2000. |

*Fuente: Fábrega et al., (2019)*

### **2.1.6. Parámetros para definir la calidad de las aguas residuales**

Los parámetros se pueden dividir en tres categorías, lo cual permite una mejor comprensión de las características y el potencial de contaminación de las ARs (von Sperling, 2007).

La (Tabla 3, 4 y 5) presentan las principales características de las ARs.

**Tabla 3**

*Principales parámetros físicos de las ARs*

| <b>Parámetro</b> | <b>Descripción</b>  |
|------------------|---|
| Temperatura      | <ul style="list-style-type: none"><li>• Influye en la actividad microbiana</li><li>• Ligeramente superior al agua potable</li></ul>   |
| Color            | <ul style="list-style-type: none"><li>• ARs frescas: gris claro</li><li>• ARs sépticas: gris oscuro a negro.</li></ul>  |
| Olor             | <ul style="list-style-type: none"><li>• ARs frescas: olor aceitoso, relativamente desagradable.</li><li>• ARs sépticas: Olor desagradable debido al gas sulfuro de hidrógeno y de otros subproductos como resultado de la descomposición.</li></ul> |
| Turbiedad        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Provocado por una variedad de sólidos suspendidos.</li></ul>  |

*Fuente: adaptado de von Sperling, (2007)*

**Tabla 4***Principales parámetros químicos de las ARs*

| <b>Parámetro</b>        | <b>Descripción</b>  |
|-------------------------|---|
| Sólidos totales         | Orgánicos e inorgánicos; suspendidos y disueltos.   |
| Materia orgánica        | Mezcla heterogénea de diversos compuestos orgánicos como proteínas, carbohidratos y lípidos.  |
| Determinación indirecta |   |
| • DBO <sub>5</sub>      | Demanda bioquímica de oxígeno. Medida del oxígeno consumido por los microorganismos a los cinco días, en la estabilización bioquímica de la materia.  |
| • DQO                   | Demanda química de oxígeno. Representa la cantidad de oxígeno necesario para estabilizar químicamente la materia orgánica carbonosa. Utiliza agentes oxidantes fuertes en condiciones ácidas. |
| Determinación directa   |   |
| • COT                   | Carbono orgánico total. Mide directamente la materia orgánica carbonosa. Es determinado mediante la conversión de carbono orgánico en dióxido de carbono.                                     |
| Nitrógeno total         | Esencial para el crecimiento de microorganismos en el tratamiento biológico de ARs.   |
| Fósforo total           | Existe en formas orgánicas e inorgánicas. Es esencial en el tratamiento biológico de ARs.   |
| pH                      | Indicador de las condiciones ácidas o alcalinas del ARs.  |

*Fuente: adaptado de (von Sperling, 2007)*

**Tabla 5**

*Principales organismos presentes en las ARs*

| <b>Organismo</b> | <b>Descripción</b>   |
|------------------|--|
| Bacterias        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Responsables de la estabilización de la materia orgánica.</li><li>• Algunas son patógenas causando enfermedades intestinales.</li></ul>                  |
| Archaea          | <ul style="list-style-type: none"><li>• Importante en los procesos anaeróbicos.</li></ul>  |
| Algas            | <ul style="list-style-type: none"><li>• Importante en la producción de oxígeno en cuerpos de agua y en algunos procesos de tratamiento de ARs.</li><li>• Pueden causar florecimientos.</li></ul> |
| Hongos           | <ul style="list-style-type: none"><li>• Importantes en la descomposición de la materia orgánica.</li></ul>   |
| Protozoos        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Esencial en tratamientos biológicos para mantener el equilibrio entre varios grupos.</li></ul>   |
| Virus            | <ul style="list-style-type: none"><li>• Patógeno y difícilmente de eliminar en ARs</li></ul>   |
| Helmintos        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Los huevos presentes en algunas ARs provocan enfermedades.</li></ul>   |

*Fuente: adaptado de von Sperling (2007)*

***2.1.7.Principales parámetros predominantes y con mayor relevancia a considerar en las ARs***

- Nitrógeno

Es un elemento importante en todas las formas de vida y esencial tanto en proteínas como de los ácidos nucleicos (Microlab Industrial, 2017).

Puede estar presente en diferentes formas en las ARs, y puede tener varias transformaciones durante los procesos de tratamiento de la misma, por ende, permite convertir el nitrógeno amoniacal en otros que

pueden ser separados del agua residual con más facilidad (Agua, 2018). Este proceso se conoce como nitrificación y desnitrificación. En la primera se reduce la demanda de oxígeno del amoníaco al ser oxidado a nitrato; el segundo consiste en reducir los nitratos en nitrógeno gas, lo cual facilita que sean eliminados del ARs (iAgua, 2018; von Sperling, 2007).

- **Nitrógeno orgánico**

Corresponde a los grupos aminos. Esta forma del nitrógeno predomina en contaminaciones recientes o ARs crudas y junto con nitrógeno amoniacal dan lugar al nitrógeno total Kjeldahl (von Sperling, 2007).

- **Amoníaco**

El amoníaco ionizado o ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y el amoníaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) están relacionados a través del equilibrio químico  $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$  (Camargo y Alonso, 2007). Al ser hidrolizado rápidamente, su presencia no es rara en ARs crudas (von Sperling, 2007). Al aumentar la concentración implica una variedad de procesos biológicos incluido la amonificación, fijación biológica de nitrógeno y la eutrofización. El amoníaco en concentraciones muy bajas es muy tóxico para la vida acuática (von Sperling, 2007; Zhang *et al.*,

2023), siendo también un factor importante de estrés ambiental en la acuicultura (Liu *et al.*, 2020)

- **Nitrito**

El anión nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) es la etapa intermediaria en la descomposición biológica del amoníaco y se encuentra de manera insuficiente en ARs sin tratar (von Sperling, 2007). El nitrito se convierte fácilmente a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) de manera natural, por lo que las muestras a analizar apenas presentarán una concentración cuantificable (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017).

- **Nitratos**

El nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) es el producto final de la oxidación del amoníaco. Se encuentra ausente en las ARs sin tratar (von Sperling, 2007). El nitrato presenta menor toxicidad que el nitrito y el amoníaco (Camargo & Alonso, 2007).

- **Fósforo**

En ARs está presente en la forma de fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) y puede ser de dos tipos:

- **Fósforo inorgánico:** Polifosfatos y ortofosfatos.
- **Fósforo orgánico:** unido a componentes orgánicos (von Sperling, 2007).

El ión fosfato es un nutriente esencial para el crecimiento de algas (Guldhe *et al.*, 2017), por lo que un aumento en la concentración,

contribuye a la proliferación de algas, lo cual puede conllevar a la eutrofización de las aguas superficiales (Bolaños-Alfaro *et al.*, 2017). También, es esencial para el crecimiento de otros microorganismos responsables de la estabilización de la materia orgánica (von Sperling, 2007).

- **Materia orgánica (MO)**

Es una de las principales causas de contaminación del agua debido al consumo de oxígeno disuelto por los microorganismos en la estabilización de la materia orgánica. Está compuesta por una variedad de componentes como partículas macroscópicas, coloides o macromoléculas disueltas (Fuentes *et al.*, 2015; von Sperling, 2007). La MO influye en la ecología de los ecosistemas acuáticos, ya que interviene en el transporte de nutrientes y metales, así como en las tramas tróficas microbianas (R. García, 2019).

La concentración se determina de manera directa con la medida del carbono orgánico total COT, o indirectamente midiendo la capacidad reductora del carbono mediante la cuantificación de la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda bioquímica de oxígeno. No obstante, no se logra cuantificar de manera exacta el tipo de compuesto presente en la materia orgánica (Fuentes *et al.*, 2015).

- **Demanda química del oxígeno (DQO)**

Es un método indirecto para la medición del consumo de oxígeno como resultado de la oxidación

química de la materia orgánica, obtenido por una fuerte oxidación (dicromato de potasio) en medio ácido ((von Sperling, 2007).

- **Indicadores de contaminación fecal**

Permiten realizar un control y monitoreo confiable, breve y económico de la calidad microbiológica de aguas superficiales. De esta manera, permiten clasificar las aguas residuales para distintos usos, tratamientos, identificación de contaminantes, entre otros (Larrea-Murrell *et al.*, 2013). Los microorganismos utilizados para determinar contaminación fecal por humanos y animales son del grupo de los coliformes. Estos son bacilos anaerobios facultativos, gramnegativos, no formadores de endosporas, fermentan la lactosa con producción de gas en 48 horas en incubación a 36 °C (Madigan *et al.*, 2009). Estos presentan una alta resistencia ligeramente mayor a la de bacterias patógenas estéricas, siendo ésto una característica importante (von Sperling, 2007).

Los indicadores de contaminación fecal más usados son:

- **Coliformes totales (CT)**

Podrían entenderse como coliformes ambientales debido a que pueden estar presente en aguas y suelo no contaminados, por lo que son considerados microorganismos de vida libre. Por ende, no deben

utilizarse como indicadores de contaminación fecal. Podrían sugerir un exceso de nutrientes en ARs tratada (von Sperling, 2007).

- **Coliformes fecales o termotolerantes (CTE)**

Son el grupo predominante dentro de los coliformes totales. Los CTE tienen la particularidad de soportar altas temperaturas hasta 44 °C, por lo que es una característica que permite diferenciarlas de las bacterias de origen no fecal denominados coliformes totales (von Sperling, 2007). La *Escherichia coli* forma parte de este grupo, mientras que los demás coliformes termotolerantes (*Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*) se pueden encontrar en aguas enriquecidas de manera orgánica por efluentes industriales, material vegetal o suelos en descomposición (Gianoli *et al.*, 2018; Larrea-Murrell *et al.*, 2013). La presencia de estos organismos indica la presencia de contaminación fecal, ya sea de origen humano o animal, debido a que las heces contienen CTE las cuales se encuentran en el microbiota intestinal (Larrea-Murrell *et al.*, 2013).

- ***Escherichia coli* (E. coli)**

Es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa la cual pertenece a la familia

Enterobacteriaceae. Es la principal bacteria del grupo de CTE y está presente en grandes cantidades en heces humanas y de animales. Forma parte de la microflora entérica normal del colón y de animales homeotermos, por lo que su detección no garantiza que el origen de la contaminación sea humano (Larrea-Murrell *et al.*, 2013; von Sperling, 2007). La mayoría de las cepas de *E. coli* se caracterizan por su capacidad de producir enterotoxinas muy potentes causando enfermedades intestinales y extraintestinales (Larrea-Murrell *et al.*, 2013; Madigan *et al.*, 2009). La mayoría de las cepas fermentan la lactosa y producen indol, por lo que permite identificarlas de otras especies. (Ryan & Ray, 2017). La presencia de esta bacteria en ARs indica contaminación fecal reciente, ya que es el organismo predominante (von Sperling, 2007).

#### **2.1.8. Fitorremediación**

Es el conjunto de tecnologías que utiliza plantas acuáticas y los microorganismos asociados para degradar, contener, extraer e inmovilizar contaminantes del suelo y agua. Esta técnica se fundamenta en los procesos naturales de las plantas aún en condiciones de estrés con elevadas concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánicos (Ansari *et al.*, 2020; Delvalle-Borrero *et al.*, 2022). Algunas especies de plantas acuáticas como *Azolla*, *Eichhornia*, *Lemna*,

*Spirodela* y *Wolfia* han sido reportadas como fitorremediadoras con una eficiente reducción de la contaminación acuática mediante la bioacumulación de los contaminantes en sus tejidos. También son eficientes en la reducción del porcentaje de DBO, DQO, metales pesados, varias formas iónicas de nitrógeno y fósforo (Ansari *et al.*, 2020; Meeinkuirt *et al.*, 2018).

Las plantas acuáticas fitorremediadoras deben cumplir con características como el rápido crecimiento y desarrollo, fácil manipulación y cosecha. Otros factores como la fotosíntesis y grado de contaminación son indispensables para el éxito de los sistemas de fitorremediación (Ansari *et al.*, 2020).

El uso de las fitotecnologías dependerá del tipo de contaminante y condiciones del sitio a tratar. Las más empleadas son:

- **Fitoestabilización**

Las raíces de ciertas especies de plantas acumulan, adsorben y precipitan contaminantes en el suelo y el agua mediante procesos de inmovilización. Este es un método importante para eliminar contaminantes orgánicos e inorgánicos existentes en el suelo, sedimentos y medios de lodo (Ansari *et al.*, 2020).

- **Fitoextracción**

Los contaminantes son absorbidos e hiperacumulados en diferentes tejidos y partes de la planta (McGrath & Zhao, 2003).

- **Fitovolatilización**

Las plantas tienen una gran capacidad para consumir y volatilizar los contaminantes directamente a la atmósfera (Girdhar *et al.*, 2014).

- **Fitodegradación**

También es conocida como fitotransformación. Las plantas metabolizan los contaminantes mediante compuestos producidos dentro de los tejidos vegetales, a través de procesos metabólicos dentro de la planta (Girdhar *et al.*, 2014).

- **Rizofiltración**

Implica la adsorción y precipitación de los contaminantes en el sustrato de crecimiento que rodea las zonas de las raíces (Ansari *et al.*, 2020)

### **2.1.9. Humedales artificiales (HAs)**

Para aprovechar la capacidad biorremediadora de las plantas se construyen humedales artificiales los cuales se basan en procesos naturales, por lo cual son considerados amigables con el medio ambiente. Los HAs se diseñan de tal manera que puedan simular las zonas húmedas naturales dentro de un ambiente controlado. La construcción de los HAs no representa un costo alto en mantenimiento y operación, y mantienen una eficiente remoción de materia orgánica, contaminantes inorgánicos y microorganismos patógenos procedentes de ARs sin tratamiento previo o escaso. Los HAs han demostrado ser eficientes para el tratamiento de diferentes tipos de ARs

como domésticas, textiles, industriales, agrícolas, entre otras (Castillo-Valenzuela *et al.*, 2017; Delvalle-Borrero *et al.*, 2022; Uggetti, 2021).

Los HAs pueden ser de flujo libre superficial, flujo subsuperficial, flujo horizontal, flujo vertical, sistemas híbridos, humedales artificiales flotantes (HAF) (Delvalle-Borrero *et al.*, 2022; Vargas-Perdomo *et al.*, 2018).

#### **2.1.10. Lirio acuático. *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, 1883**

El lirio acuático es originario del río Amazonas en Brasil, pero se ha extendido hasta convertirse en mala hierba causando graves infestaciones en el sur de EEUU, Centroamérica, África, sudeste asiático y Australia. Se encuentra en cuerpos de agua tropicales y subtropicales con altas concentraciones de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio, debido a la escorrentía agrícola, tratamiento insuficiente de ARs, entre otros. Una sola planta puede provocar la invasión completa en cuerpos de agua. Esto provoca que debajo del manto de las colonias del lirio, el oxígeno disminuya hasta cero, lo cual provoca daños en los ecosistemas acuáticos (Ansari *et al.*, 2020; Rodríguez-Lara *et al.*, 2022; Vargas-Perdomo *et al.*, 2018; Verdejo *et al.*, 2006).

El lirio acuático presenta un desarrollo óptimo entre 6 y 8 de pH, y su rango de temperatura va desde 1° hasta 40 °C; sin embargo, su desarrollo favorable es entre 25 y 27.5 °C. Altas concentraciones de sal (6-8), puede inhibir el crecimiento del lirio (Rodríguez-Lara *et al.*, 2022).

Presenta un gran sistema radicular la cual representa casi 50 % de la biomasa de la planta. Sus raíces adventicias y fibrosas pueden llegar a medir 50 cm e incluso un metro; éstas se encuentran sumergidas con libre flotación. La raíz contiene pigmentos solubles los cuales ayudan a protegerla de los herbívoros. La macrófita

origina un rizoma que puede llegar a 30 cm de longitud el cual tienen varios entrenudos cortos de donde sale una hoja y raíz. Las hojas sobresalen por encima de la superficie del agua; estas son gruesas, brillantes, aspecto ceroso, con forma oval o elíptica y pueden llegar a medir entre 2 a 15 cm de longitud, y 2 a 1 cm de ancho. Los peciolo son gruesos y esponjosos, alargados hinchados en el medio y pueden formar un bulbo flotante con tejido esponjoso. El peciolo puede desarrollar una estípula ancha membranosa la cual forma una vaina alrededor en la siguiente hoja. Los tallos son pubescentes y tienen dos brácteas y una estípula la cual da lugar a las flores. Producen entre 8 y 25 flores en espigas solitarias o ramificadas. Cada flor tiene 6 pétalos azulados o violáceos con formas ovales u oblongas; cada uno tiene una longitud de 4 cm y el pétalo superior (lóbulo principal) presenta una mancha amarillo brillante rodeada por un borde purpura intenso. El fruto es una cápsula la cual puede contener hasta 450 semillas (Verdejo *et al.*, 2006).

La reproducción es sexual y vegetativa, siendo esta última mediante estolones los cuales pueden crecer hasta 30 cm de longitud antes de desarrollar una roseta hija. Esta característica le permite duplicar la superficie entre 6 y 15 días (Ayanda *et al.*, 2020; Verdejo *et al.*, 2006)

#### **2.1.11. Taxonomía**

El lirio acuático (*E. crassipes*) es macrófita acuática monocotiledónea perteneciente a la familia Pontederiaceae. Pertenece al género *Eichhornia* el cual comprende siete especies. *E. crassipes* se distingue de otras plantas acuáticas por sus hojas brillantes y sus flores color azul o violáceo (Ayanda *et al.*, 2020; Rodríguez-Lara *et al.*, 2022; Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2022).

En la tabla 6 se muestra la clasificación taxonómica del lirio acuático:

**Tabla 6**

*Clasificación taxonómica del lirio acuático*

|         |                             |
|---------|-----------------------------|
| Dominio | Eucariota                   |
| Reino   | Plantae                     |
| Filo    | Espermatofitos              |
| Subfilo | Angiospermas                |
| Clase   | Monocotiledóneas            |
| Orden   | Pontederiales               |
| Familia | Pontederiaceae              |
| Género  | Eichhornia                  |
| Especie | <i>Eichhornia crassipes</i> |

*Fuente:* (Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2022)

**2.1.12. Usos del lirio acuático**

El lirio acuático ha sido empleado en el tratamiento de ARs de distintas fuentes, remediación de metales pesados, producción de etanol, papel, biogás, alelopatía, alimento humano, forraje animal, producción de artesanías y para la extracción de ácidos grasos volátiles (Alade & Ojoawo, 2009; Ansari *et al.*, 2020; Ayanda *et al.*, 2020; Castillo-Araya, 1990; Kahol *et al.*, 2018; Meeinkuirt *et al.*, 2018; Rodríguez-Lara *et al.*, 2022; Rojas-Sandoval & Acevedo-Rodríguez, 2022).

Se han realizado estudios de sistemas empleando combinaciones de plantas acuáticas y sistemas planta-bacteria obteniendo como resultado una sinergia en la disminución de los parámetros físico químicos (Jia *et al.*, 2023; Prihatini y Soemarno, 2023), sin embargo, no se han realizado estudios de la combinación de planta y posterior radiación UV-C como método de desinfección de ARs.

### **2.1.13. Radiación ultravioleta UV**

La radiación ultravioleta (UV) tiene longitudes de onda más corta a la de la luz visible en donde las energías van de los 3.2 eV hasta  $1.2 \times 10^3$  eV. Esta radiación equivale al 7.2 % de la radiación solar, en donde el 5.1 % equivale a la UV-A, 1.3 % a la UV-B y el 0.8 % a la UV-C (Bohórquez-Ballén *et al.*, 2007). Según Bohórquez-Ballén *et al.*, (2007), la radiación UV comprende las siguientes categorías:

- UV-A: Conocida como longitudes de onda larga, comprende aquellas entre 400 y 315 nm. Es el menos dañino para el ser humano.
- UV-B: Longitudes de onda media entre 315 y 280 nm. Tiene la energía suficiente para deshacer capas biológicas.
- UV-C: Comprende longitudes de onda corta entre 280 y 100 nm.

La mayor parte es absorbida por parte del ozono estratosférico

### **2.1.14. Desinfección con radiación UV-C**

La radiación UV-C, conocida como luz germicida, comprende longitudes de onda corta la cual es letal para bacterias, algas, protozoos y otros organismos. Se ha estudiado la aplicabilidad de este tipo de radiación para la desinfección del agua en donde revelan que aproximadamente a los 265 nm se obtiene un mayor efecto de inactivación de los microorganismos comparado a otras longitudes de onda (Rattanakul & Oguma, 2018). Este tipo de radiación causa daños en la estructura del ADN de cualquier organismo que esté dentro del rango de exposición (Correa *et al.*, 2020). La acción consiste en una reacción de fotosensibilidad del microorganismo la cual provoca la inactivación mediante la inducción de la formación de dímeros de

pirimidina (unión de dos bases con un doble enlace). Estos dímeros alteran las hélices del ADN y los bloques de replicación, por consiguiente, alteran la capacidad de reproducción de las células (Correa *et al.*, 2020).

La efectividad germicida de la luz UV-C es proporcional a la dosis de exposición. Esta dosis es la cantidad de energía óptima para eliminar o inactivar microorganismos mediante emisión de luz UV-C. Por ende, la dosis es el producto de la intensidad de la radiación por el tiempo de exposición, permitiendo calcular la efectividad del tratamiento en los sistemas en donde sea aplicado (Correa *et al.*, 2020; Rattanukul & Oguma, 2018).

#### **2.1.15.Desinfección con UV-C en medio líquido**

La radiación UV-C se ha empleado para la desinfección de ARs llegando a inactivar totalmente coliformes totales y termotolerantes en un corto tiempo de exposición (Rossel Bernedo *et al.*, 2020). Ésto lo convierte en una alternativa para la disminución del cloro, ya que genera y aumenta la concentración de subproductos de desinfección (SPD) al reaccionar con la materia orgánica presente en el agua. Los principales SPD son los trihalometanos (THMs), ácidos haloacéticos y halógenos orgánicos disueltos (Lahora Cano *et al.*, 2019). Las concentraciones de estos subproductos pueden superar el límite máximo permisible; y pueden permanecer después de la post-cloración (Saldaña-González y Franco-Ávila, 2022) en concentraciones significativas de hasta 57, 70 µg/L (Bracho *et al.*, 2009). Los THMs son los subproductos de la cloración con mayor concentración, por lo que son indicadores para la mayoría de subproductos de la cloración (Lahora Cano *et al.*, 2019). El cloroformo y el bromodiclorometano han sido clasificadas por la Agencia

Internacional para la investigación del Cáncer (IARC) en el grupo 2B las cuales agrupa a las sustancias posiblemente carcinogénicas en humanos (Hernández Sánchez *et al.*, 2011; Lahora Cano *et al.*, 2019). Por lo cual, la desinfección con luz UV-C es una alternativa viable, ya que no genera SPD (Lahora Cano *et al.*, 2019), no hay necesidad de almacenar o manejar reactivos químicos, se requiere poco tiempo de exposición, se reduce el tamaño de los tanques de tratamiento y, por ende, el costo (Rossel Bernedo *et al.*, 2020).

En la tabla 7 se muestra los THMs más comunes generados durante el proceso de cloración del agua.

**Tabla 7**

*THMs más comunes*

| <b>Fórmula Molecular</b> | <b>Nombre IUPAC</b> | <b>Nombre común</b> |
|--------------------------|---------------------|---------------------|
| CHCl <sub>3</sub>        | Triclorometano      | Cloroformo          |
| CHBrCl <sub>2</sub>      | Bromodiclorometano  |                     |
| CHBr <sub>2</sub> Cl     | Dibromoclorometano  |                     |
| CHBr <sub>3</sub>        | Tribromometano      | Bromoformo          |

*Fuente:* Hernández Sánchez *et al.*, 2011

### **2.1.16. Antecedentes del estudio**

Quispe *et al.*, (2017), realizaron un estudio para evaluar la eficiencia de remoción de parámetros fisicoquímicos y metales pesados, empleando la macrófita *Eichhornia crassipes* (jacinto de agua). También evaluaron el crecimiento de la macrófita en función al tiempo y adaptación al medio en la laguna de la Universidad Peruana Unión. Adaptaron la macrófita durante tres semanas hasta ver el crecimiento medio de éstas. Luego diseñaron sistemas flotantes empleando tubos PVC de dos pulgadas, mallas metálicas y mallas de

tela. Realizaron el muestreo por dos meses en función al ingreso de agua a la laguna y el tiempo de retención fue de tres a cinco días. De acuerdo a sus resultados, obtuvieron una eficiencia del 31 % de la remoción de parámetros fisicoquímicos como conductividad (Us/cm), oxígeno disuelto (mg/L), sólidos totales (mg/L), turbiedad (UNT), pH, temperatura (°C), DBO<sub>5</sub> (mg/L), DQO (mg/L), fosfato (mg/L). En cuanto al crecimiento de la macrófita, fue más rápido dentro de los sistemas flotantes en donde duplicó en 15 días la cantidad de plantas. También aumentó en tamaño debido a la alta concentración de nutrientes.

León Suárez (2017), su estudio consistió en encontrar plantas acuáticas con potencial biorremediador en ARs contaminadas con *E. coli* y coliformes totales. Realizó muestreos en río Guayas, río Daule y Estero Cedeño, en donde seleccionó las especies *Azolla caroliniana* Wild., *Eichhornia crassipes* Solms 1883, *Pistia stratiotes* L., *Salvinia auriculata* Aubl., *Spirodela intermedia* W. D. J. Koch y *Lemna minor* L. Otra de las plantas que seleccionó fue *Ceratopteris thalictroides* Brongn, El muestreo de las aguas negras consistió en cuatro puntos de muestro a lo largo de una zanja de aguas negras ubicada dentro del campus Mapasingue de la Universidad de Guayaquil, Ecuador. Las plantas seleccionadas las reprodujo *in vitro* e hizo bioensayos previos por triplicado en 0, 5 litros de agua con fertilizante (Multiflor®) al cual le inoculó cepas de *E. coli* ATCC25922, con el fin de verificar la capacidad de eliminarlas. Realizó un control negativo en donde inoculó la bacteria *E. coli* y coliformes fecales, pero sin planta. Como control positivo utilizó la planta *Lemna minor* con la muestra

de agua inoculada con *E. coli*. Después de 7 días de exposición del agua con la planta, determinó la carga bacteriana remanente mediante los análisis de *E. coli* utilizando la técnica ISO 9308-1 (APHA/AWWA/WEF). En los bioensayos de fitorremediación para *E. coli* ATCC 25922, obtuvo que las especies *S. intermedia*, *S. auriculata*, *P. stratiotes*, *E. crassipes* y *C. thalictroides*, redujeron la población en un 100 %. Por otra parte, *A. caroliniana* y *L. minor* redujeron *E. coli* en un 99 %. Realizó un análisis de los resultados de los cultivos de coliformes y encontró que *E. crassipes* obtuvo la menor tasa de eliminación de coliformes totales en comparación a las otras especies. De igual manera, *E. crassipes* realizó una reducción significativa en comparación al control. En los bioensayos con aguas negras obtuvo que todas las plantas redujeron significativamente tanto coliformes como *E. coli*. *S. auriculata* y *A. caroliniana* redujo al 100 % los coliformes fecales. Con las demás especies de plantas obtuvo porcentajes menores de eficiencia. Siguiendo el orden en forma descendente están *C. thalictroides*, *P. stratiotes*, *L. minor*, *S. intermedia* y *E. crassipes*.

Atencio *et al.*, (2024) realizaron un estudio para evaluar el potencial de remoción de fosfato de la *Salvinia mínima* empleando humedales artificiales debido al aumento desorbitado de la eutrofización en las cuencas bajas panameñas. Emplearon un TRH de 13 días. Obtuvieron una remoción de 10.60 % a 25.81 % de fosfato. Esto demuestra que el uso de plantas acuáticas es una alternativa sostenible para disminuir las concentraciones de fósforo y otros nutrientes en ARs.

Rossel Bernedo *et al.*, (2020) en su estudio evaluaron la presencia de bacterias totales y termotolerantes, en el tratamiento del agua mediante el uso de la radiación ultravioleta clase C (UV-C). Su estudio lo realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Planta de Tratamiento de Agua Potable de la EPS, EMSA Puno. Las normas vigentes exigen que las lecturas de coliformes totales y termotolerantes en el agua potable debe ser de cero UFC/100 ml, por lo que la UV-C es una alternativa para la disminución en el uso del cloro. El experimento lo llevó a cabo con una dosis de  $0.00176 \text{ W/cm}^2/\text{s}$  de radiación UV-C con una longitud de onda de 254 nm. Las muestras de agua fueron sometidas a 1, 2, 3 y 4 segundos de exposición. Para determinar la presencia bacteriana en agua optó por la metodología de filtro de membrana. El conteo de coliformes totales de acuerdo al orden del tiempo mencionado fue de 200, 165, 59 y 0 UFC/100 mL; mientras que para el conteo de coliformes termotolerantes fue de 4, 3, 1 y 0 UFC/100 mL. Concluyó que para la inactivación total de coliformes totales y termotolerantes presentes en las muestras de agua, requirió de un tiempo mínimo de 4 s de exposición a UV-C.

**CAPITULO III**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1.OBTENCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO**

#### **3.1.1.Lirio acuático**

La planta empleada fue la macrófita flotante *E. crassipes* conocida comúnmente como lirio o jacinto de agua. Estas plantas se recolectaron a orillas del Río Chiriquí Viejo, Distrito de Barú, corregimiento de Progreso. Las coordenadas del punto uno es 8°28'13" latitud norte y 82°49'52" longitud oeste; mientras que las del punto dos es 8°28'13" latitud norte y 82°49'53" longitud oeste.

Se seleccionaron plantas adultas, tomando en consideración aquellas que presentan flores. Las plantas empleadas en cada muestreo tenían un tamaño similar entre sí. Las raíces de las mismas fueron lavadas con agua corriente y luego agua destilada para quitar el exceso de materia orgánica que causaran alteración en los resultados. Se midió el pH y temperatura del agua, en cada punto de recolecta utilizando un multiparamétrico de bolsillo marca Thermo Scientific™ Eutech™ modelo PCTestr35. Así mismo, la irradiancia empleando un luxómetro marca LI-COR modelo LI-250 A. Los muestreos se realizaron tanto en época seca como lluviosa.

#### **3.1.2.Muestras de ARs**

La muestra de ARs se tomaron del tanque séptico ubicado en la parte de atrás de los laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas (FCNYE). Desde este tanque se hace la descarga directa de las ARs a la quebrada San Cristóbal. Esta quebrada se ubica al noreste de la ciudad de David, corregimiento de San Pablo Viejo, Distrito de David. Sus coordenadas son 8°25'53" latitud norte y 82°26'59" longitud oeste, con altitud de 60 m.s.n.m.

A las muestras de ARs se le realizó una previa filtración para disminuir la cantidad de S.T.D. y larvas. Para ello, se empleó un embudo al cual se le colocó doble gasa simple (4"x4"x12 capas). Al agua también se le realizó análisis de pH y temperatura. Los muestreos se realizaron entre agosto y abril lo cual comprende tanto la época seca como la lluviosa

### **Figura 1**

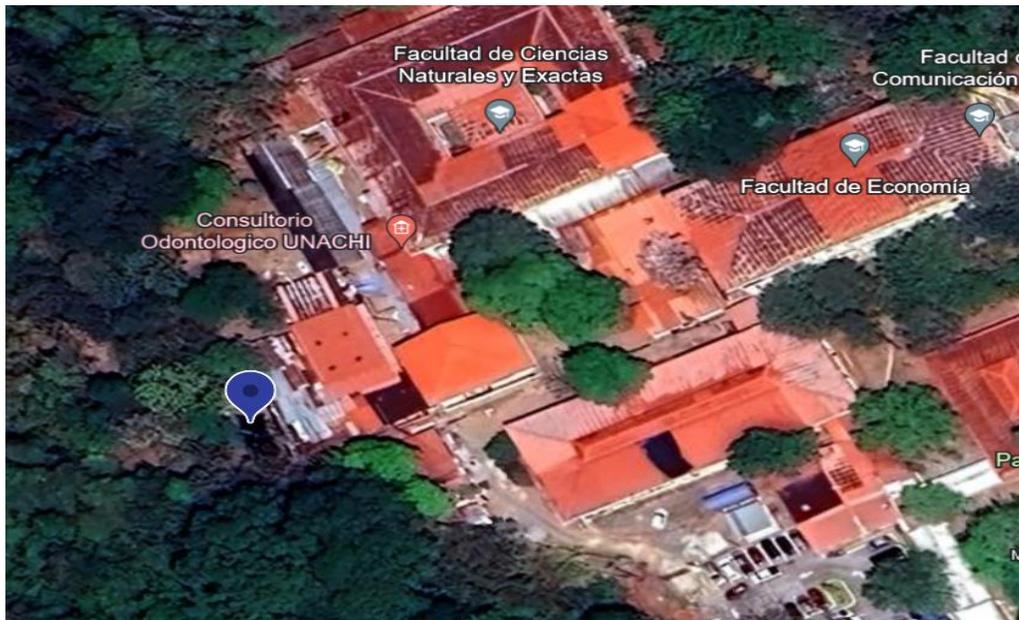
*Puntos de colecta de las plantas macrófitas*



*Nota:* Coordenadas del punto 1 (8°28'13" N 82°49'52" O) y punto 2 (8°28'13" N y 82°49'53" O)

**Figura 2**

*Punto de colecta de la muestra de AR*



*Nota:* Coordenadas 8°25'58"N y 82°27'07" O

### **3.1.3. Bioensayos preliminares.**

El estudio comprendió dos partes para facilitar el trabajo y la comprensión de los datos generados.

- **Parte A. Desinfección de ARs mediante radiación UV-C**

Se realizaron bioensayos preliminares para evaluar la capacidad de desinfección en ARs mediante análisis microbiológicos de las muestras utilizadas, y para seleccionar la dosis mínima de radiación UV-C en distintos tiempos de aplicación y distancia de la fuente de luz. También, para verificar la funcionalidad de lámparas de radiación UV-C obtenidas.

#### **Bioensayo preliminar uno**

La finalidad de este bioensayo fue determinar la radiación UV-C mínima de desinfección utilizando distintos tiempos de

aplicación para esto se utilizó una lámpara de pecera marca Coospider de 11 W modelo HUV-11 con 26 cm de largo y 2 cm de ancho. El envase donde se colocó la muestra de AR y la lámpara, tenía capacidad para dos galones (gal). A este se le agregó un gal de AR previamente filtrada. Se contabilizó una baja o casi nula cantidad de colonias en los distintos tiempos de exposición, por lo que se seleccionó 30 minutos de aplicación como la dosis mínima.

- **Bioensayo preliminar dos**

Para determinar los tiempos mínimos y máximos de radiación UV-C para desinfección se utilizó un rango de tiempo comprendido entre 15 y 30 minutos. Se utilizó la misma cantidad de AR, así como los materiales del bioensayo preliminar uno. Para cada tiempo de exposición, se realizaron bioensayos combinados de distancias de la fuente de luz para determinar la distancia mínima y máxima de efectividad de la lámpara. Los resultados de desinfección presentados en la Tabla 8, fueron similares en ambos tiempos de exposición, así como entre diferentes distancias utilizadas.

- **Parte B. Fitorremediación en combinación con la desinfección con UV-C**

Se realizaron bioensayos preliminares para evaluar la eficiencia del lirio de agua como biorremediador de ARs. También, para evaluar la capacidad de desinfección de las ARs, permitiendo optimizar las variables a implementar en los bioensayos.

- **Bioensayo preliminar uno.**

Se colocaron dos plantas por 1 gal de AR previamente filtrada. Esta se agregó en envases de plástico con capacidad para 2 gal. La muestra de AR fue expuesta durante siete días a la macrófita. Pasado este tiempo, se le realizaron análisis físico-químicos (nitratos, fosfatos, amonio, DQO, pH y temperatura) y biológicos (recuento bacteriano). Se obtuvo una disminución tanto de los parámetros físico-químicos como de la carga bacteriana.

- **Bioensayo preliminar dos.**

Se utilizaron cuatro plantas en 2.5 gal. Se emplearon los mismos materiales y análisis empleados en el bioensayo uno. El tiempo de exposición de la muestra de AR con la planta fue de 10 días. Se obtuvo mayor porcentaje de disminución de la concentración de nutrientes y carga bacteriana en comparación a los análisis realizados antes de la planta. Cada bioensayo se realizó por duplicado.

### **3.2.Diseño Experimental**

Se seleccionaron los valores de las variables que mostraron tener efecto sobre la fitorremediación y desinfección en las muestras de AR. El diseño de los ensayos se realizó de tipo factorial con tres factores y dos niveles. Esto se realizó con el software Minitab versión 19.1.01. Dicho arreglo permitió una aleatorización, donde cada bioensayo tuvo su réplica. Los factores fueron: presencia de planta, tiempo de aplicación y distancia de la luz UV-C.

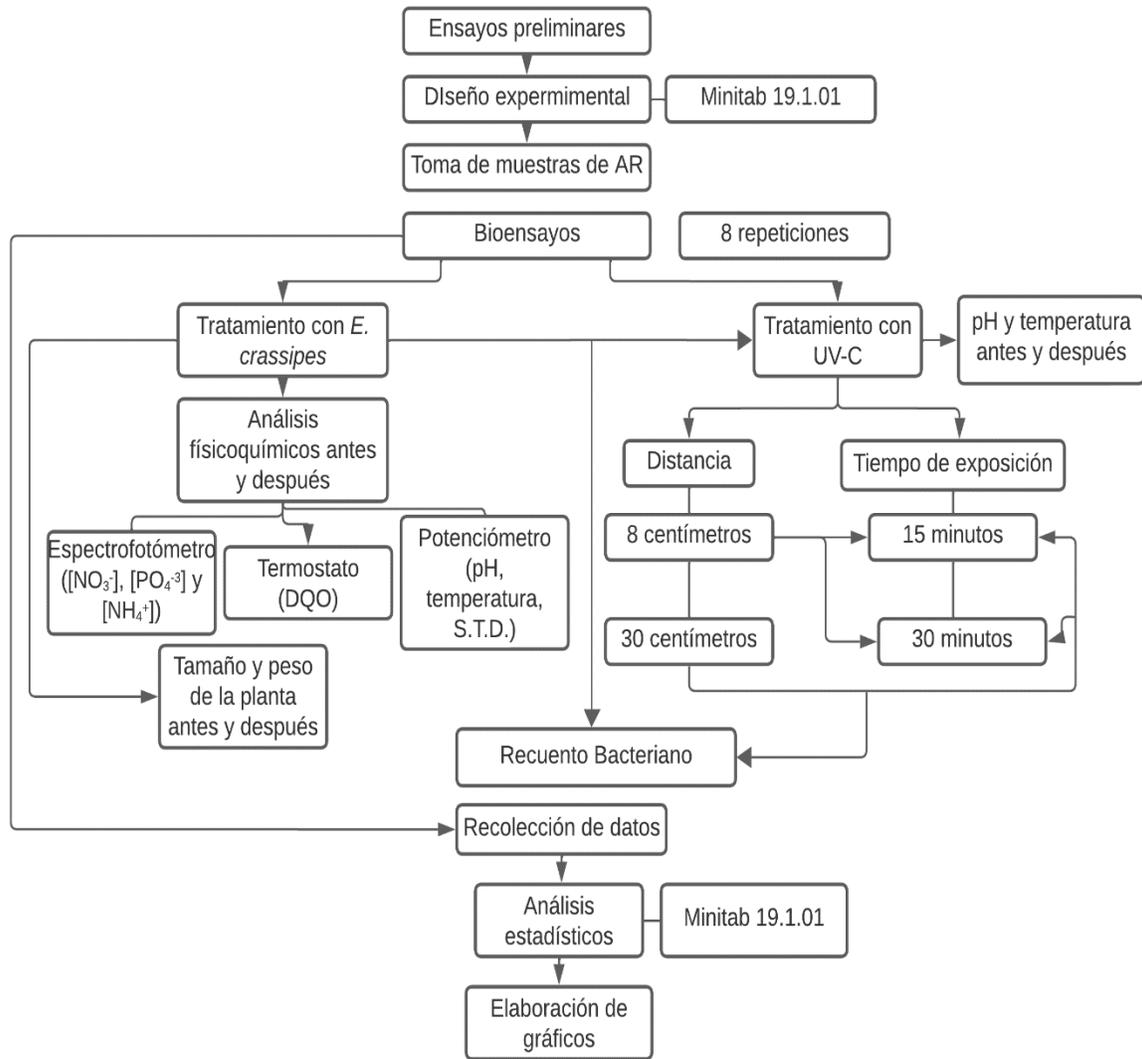
**Tabla 8**

*Matriz experimental para las combinaciones a realizar en cada bioensayo (Minitab versión 19.1.01)*

| <b>Orden Estándar</b> | <b>Orden Corrida</b> | <b>PtCentral</b> | <b>Bloques</b> | <b>Tiempo (minutos)</b> | <b>Distancia (centímetros)</b> | <b>Planta</b> |
|-----------------------|----------------------|------------------|----------------|-------------------------|--------------------------------|---------------|
| 10                    | 1                    | 1                | 1              | 30                      | 2                              | Si            |
| 13                    | 2                    | 1                | 1              | 15                      | 2                              | No            |
| 4                     | 3                    | 1                | 1              | 30                      | 8                              | Si            |
| 1                     | 4                    | 1                | 1              | 15                      | 2                              | Si            |
| 6                     | 5                    | 1                | 1              | 30                      | 2                              | No            |
| 5                     | 6                    | 1                | 1              | 15                      | 2                              | No            |
| 3                     | 7                    | 1                | 1              | 15                      | 8                              | Si            |
| 11                    | 8                    | 1                | 1              | 15                      | 8                              | Si            |
| 8                     | 9                    | 1                | 1              | 30                      | 8                              | No            |
| 14                    | 10                   | 1                | 1              | 30                      | 2                              | No            |
| 15                    | 11                   | 1                | 1              | 15                      | 8                              | No            |
| 2                     | 12                   | 1                | 1              | 30                      | 2                              | Si            |
| 9                     | 13                   | 1                | 1              | 15                      | 2                              | Si            |
| 12                    | 14                   | 1                | 1              | 30                      | 8                              | Si            |
| 16                    | 15                   | 1                | 1              | 30                      | 8                              | No            |
| 7                     | 16                   | 1                | 1              | 15                      | 8                              | No            |

**Figura 3**

*Procedimiento para los tratamientos con la macrófita y radiación UV-C*



### 3.3. Parte A. Desinfección de ARs mediante radiación UV-C

Los bioensayos finales consistieron en la combinación de las variables de tiempo de exposición y distancia de la fuente de UV-C, con las dosis mínimas obtenidas de los bioensayos preliminares. Se utilizaron los mismos materiales y volumen de ARs descritos en el bioensayo preliminar dos y tres. Se tomaron los valores de pH y temperatura tanto antes como después a la exposición de la radiación UV-C.

Para determinar las dosis aplicadas en cada bioensayo se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\text{Área lateral la lámpara (Al)} = 2\pi rh$$

$$\text{Área de las bases de la lámpara (Ab)} = 2\pi r^2$$

$$\text{Área superficial total: Al + Ab}$$

$$\text{Intensidad} = \frac{P}{A}$$

$$\text{Dosis} = I * t$$

Donde r es el radio de la circunferencia, h la altura de la lámpara, I la intensidad de la lámpara ( $\text{Ws/cm}^2$ ), P, es la potencia de la lámpara, A es el área de irradiación ( $\text{cm}^2$ ), t es el tiempo de exposición en segundos (s) (Correa *et al.*, 2020).

**Tabla 9**

*Bioensayos con las combinaciones para cada variable (Minitab 19.1.01)*

| <b>Bioensayos</b> | <b>Tiempo (min)</b> | <b>Distancia (cm)</b> |
|-------------------|---------------------|-----------------------|
| 1                 | 15                  | 2                     |
| 2                 | 30                  | 2                     |
| 3                 | 15                  | 2                     |
| 4                 | 30                  | 8                     |
| 5                 | 30                  | 2                     |
| 6                 | 15                  | 8                     |
| 7                 | 30                  | 8                     |
| 8                 | 15                  | 8                     |

### **3.4. Parte B. Fitorremediación en combinación con la desinfección con UV-C**

Se implementó la técnica de fitorremediación *ex situ*. Las variables, materiales utilizados y parámetros medidos, se seleccionaron de acuerdo a los descritos en el bioensayo preliminar dos parte B. Para la construcción de los sistemas en donde se colocaron las plantas, se utilizaron dos envases de plástico color ámbar cuyas medidas fueron 425 cm x 31 cm x 19 cm, con capacidad para 15.4 L de volumen cada uno. A cada envase se le adaptó un sistema de rejillas de plástico al cual se le realizó un corte para el sistema radicular de cada planta, de tal forma que sólo la raíz estuviera en contacto con la muestra de AR y no toda la planta, ya que en los bioensayos preliminares se observó que la planta empezaba a descomponerse. A cada borde del envase se le adaptó un tubo de 50 cm de altura con el fin de servir de soporte de la malla contra insectos, evitando la entrada de mismos y que la malla tuviera mayor contacto con las plantas.

Cada envase se colocó en muebles en donde cada uno tenía adaptado en la parte superior un tubo led lineal de 6500 K y 9 W. Con ayuda de un timer digital, se programó el encendido y apagado de las lámparas con un fotoperiodo de 12:12 durante los 10 días de exposición del AR con la planta.

Las muestras de ARs antes y después del tratamiento con planta se colocaron en envases plásticos con capacidad para 100 mL, para su análisis. También se tomó 1 gal de las muestras de AR tratada para realizar el procedimiento de la parte A. Se realizaron siete bioensayos en donde cada uno contaba con su réplica. La muestra control contó con AR filtrada sin exposición a planta.

**Tabla 10**

*Bioensayos con las combinaciones de las variables empleando UV-C y los análisis*

*físico-químicos (Minitab 19.1.01)*

| Bioensayo | Tiempo (min) | Distancia | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> | DQO | pH | Temperatura | S.T.D | UFC |
|-----------|--------------|-----------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----|----|-------------|-------|-----|
| 1         | 30           | 2         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 2         | 30           | 8         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 3         | 15           | 2         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 4         | 15           | 8         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 5         | 15           | 8         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 6         | 30           | 2         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |
| 7         | 15           | 2         | ✓                            | ✓                            | ✓                             | ✓   | ✓  | ✓           | ✓     | ✓   |

### **3.4.1. Análisis físico-químicos de la muestra de AR**

Las concentraciones de los nutrientes presentes en las muestras de agua se determinaron utilizando el espectrofotómetro marca HACH modelo DR 3900. Para el análisis de la concentración de nitratos se utilizó el método 8039 HR, para fosfatos el TNT 846 y amonio el TNT 830 y 832. También se midió el DQO empleando el método TNT 822, se preparó en el termostato marca HACH modelo DRB 200 y posteriormente se analizó en el espectrofotómetro. Los viales y métodos de análisis empleados para realizar estas pruebas fueron de la marca HACH.

Los parámetros pH y temperatura se midieron con un multiparámetro de bolsillo marca Thermo Scientific™ Eutech™ modelo PCTestr35.

### **3.4.2. Recuento de colonias**

Se utilizó el método de vertido en placa en la cual se empleó jeringuillas desechables de 5 mL para tomar 1 mL de la muestra de AR y se procedió a realizar diluciones seriadas de  $1/10^{-1}$ ,  $1/10^{-2}$ ,  $1/10^{-3}$ ,  $1/10^{-4}$ ,  $1/10^{-5}$  y  $1/10^{-6}$  en agua estéril. Este procedimiento se realizó para las muestras de AR tanto antes como después de tratamiento. La dilución se mezcló en un vortex y se sembró en platos petri estériles (90 x 14 mm). Luego se vertió 15 mL de agar BHI de la casa Condalab y se homogenizó con la muestra con movimientos suaves del plato petri sobre la superficie antes de dejar solidificar. Ésto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, para evitar contaminación. Los platos petri se colocaron en una incubadora durante 24 horas a 37° C.

Pasado el lapso de tiempo de incubación, se seleccionaron los platos petri tomando como criterio aquellos donde el número de colonias oscilaba entre 25 y 250.

El número de colonias contabilizadas en el contador de colonias, se multiplicó por el factor de dilución de los platos seleccionados, obteniendo así las UFC en 1 mL de AR

Este método se realizó en la sección A y B tanto antes y después de la muestra de AR expuesta a radiación UV-C o planta. Sin embargo, en la sección B, también se realizó con la muestra de AR tratada con planta la cual se expuso a radiación UV-C.

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Número de colonias por placa} * \text{factor de dilución}}{\text{mL de la muestra}}$$

El agar infusión cerebro corazón (BHI) fue el medio empleado para el crecimiento general de bacterias presentes en las muestras de AR, ya que es rico en nutrientes.

### **3.5. Medios selectivos para el aislamiento e identificación de grupos de microorganismos**

Para esta sección, se utilizaron los platos petri empleados para recuento bacteriano específicamente los que contenían colonias alejadas entre sí. Se seleccionaron algunas de las colonias presentes y se realizó el método de aislamiento por rayado en placa de acuerdo al método descrito por Rodríguez (2005). Los platos se colocaron en la incubadora durante 24 horas a 37° C. Las colonias de color brillante y de aspecto mucoso se seleccionaron para realizar el estriado en agar MacConkey y agar eosina-azul de metileno (EMB); y para las colonias amarillas el agar Manitol Salado (MSA). El método de estriado mencionado anteriormente se realizó nuevamente con las colonias aisladas las cuales se utilizaron para pruebas bioquímicas para la identificación.

Las placas con los medios de cultivo fueron facilitadas por la técnica encargada del laboratorio de microbiología. Los medios de cultivo son de la casa Condalab. Para

el medio EMB utilizó 36 gramos del medio por litro de agua destilada; en agar MacConkey 50 gramos de medio en un litro de agua destilada y para MSA 111 gramos en un litro de agua destilada.

### 3.6. Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias

Las colonias aisladas de los medios MacConkey y EMB se le realizaron pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias. En la **Tabla 12** se muestran las pruebas realizadas para la identificación de las bacterias.

**Tabla 11**

*Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias*

| <b>Prueba</b>                   | <b>Repeticiones</b> | <b>Procedimiento</b>         |
|---------------------------------|---------------------|------------------------------|
| Agar Triple Azúcar Hierro (TSI) | 2                   | MacFaddin (2003)             |
| Agar Citrato de Simmons         | 2                   | MacFaddin (2003)             |
| Sulfuro Indol Movilidad (SIMS)  | 2                   | MacFaddin (2003)             |
| Ureasa                          | 2                   | MacFaddin (2003)             |
| Voges Proskauer                 | 2                   | MacFaddin (2003)             |
| Catalasa                        | 2                   | Madigan <i>et al.</i> (2009) |

### 3.7. Análisis estadístico

Se utilizó Microsoft Excel 2019 para ordenar los datos, realizar tablas y calcular porcentaje de descontaminación.

Para realizar la comparación antes y después de tratamiento, se aplicó la prueba de normalidad de Ryan-Joiner e índice de confianza (IC) para dos varianzas. Para los datos con distribución normal se aplicó la prueba paramétrica t de Student de dos muestras ( $\alpha=0.05$ ) para comparar la media antes y después de tratamiento. Para las muestras que no presentaron distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de suma de rangos de Wilcoxon. Se aplicó la prueba de ANOVA de un factor para determinar si hay diferencia significativa entre los tratamientos. En todas

las pruebas se trabajó con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$ . Se utilizó el Software Minitab versión 19.1.01.

Los gráficos, promedios  $\pm$  desviación estándar, R-cuadrado e IC simultáneos de Tukey, se realizaron ambos softwares.

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1.RESULTADOS

### 4.1.1.Bioensayos preliminares

**Tabla 12**

*Bioensayo 1. Uso de una lámpara con radiación UV-C a distintos tiempos de exposición para eliminación de bacterias.*

| Bioensayo | Tiempo de exposición (min) |    |     |
|-----------|----------------------------|----|-----|
|           | 30                         | 60 | 120 |
| 1         | ✓                          | ✓  | ✓   |

**Tabla 13**

*Bioensayo 2. Uso de lámpara de pecera con radiación UV-C a diferentes distancias y con dos tiempos de exposición*

| Tiempo de exposición (min) | Distancia (cm) |   |   |   |
|----------------------------|----------------|---|---|---|
|                            | 2              | 4 | 6 | 8 |
| 15                         | ✓              | ✓ | ✓ | ✓ |
| 30                         | ✓              | ✓ | ✓ | ✓ |

**Tabla 14**

*Máximos y mínimos de las variables de tiempo de exposición de la radiación UV-C y la distancia de La fuente de luz.*

| Tiempo de exposición (min) | Distancia (cm) |   |
|----------------------------|----------------|---|
|                            | 2              | 8 |
| 15                         | ✓              | ✓ |
| 30                         | ✓              | ✓ |

En la **Tabla 14** se muestran las combinaciones de los máximos y mínimos a implementar en cada bioensayo.

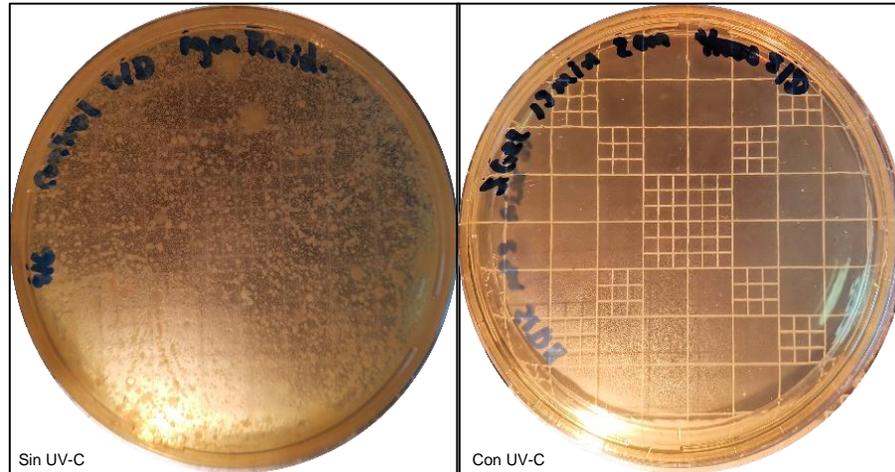
#### **4.1.2.Desinfección de ARs mediante radiación UV-C**

Se realizó el cálculo de porcentaje de desinfección en donde se obtuvo 100 % de disminución en cada tratamiento independientemente de los valores utilizados en cada una de las variables aplicadas (**Tabla 15**). En la **Figura 4** se observan los resultados obtenidos en placas petri tanto antes como después la aplicación de la radiación UV-C a la muestra de AR. La UFC disminuyeron considerablemente luego de la aplicación de la radiación, obteniendo una media de  $31 \pm 82$  UFC/mL después del tratamiento (**Tabla 16; Figura 5**). Los valores de pH y temperatura no presentaron variación considerable (**Tabla 17 y 18; Figura 6 y 7**).

Se realizó el test de normalidad a los datos obtenidos de UFC, pH y temperatura. Los datos de UFC no siguen una distribución normal, por consiguiente, se hizo la prueba de Wilcoxon para muestras emparejadas indicando que hay diferencias significativas ( $W= 36$ ;  $p= 0.014$ ). Los datos de pH y temperatura siguen una distribución normal, por lo que se les aplicó la prueba t de Student de muestras emparejadas obteniendo que para el pH no hay diferencias significativas ( $T= 0.16$ ;  $p= 0.875$ ); mientras que para la temperatura hay diferencias significativas ( $T=-4.04$ ;  $p=0.005$ ).

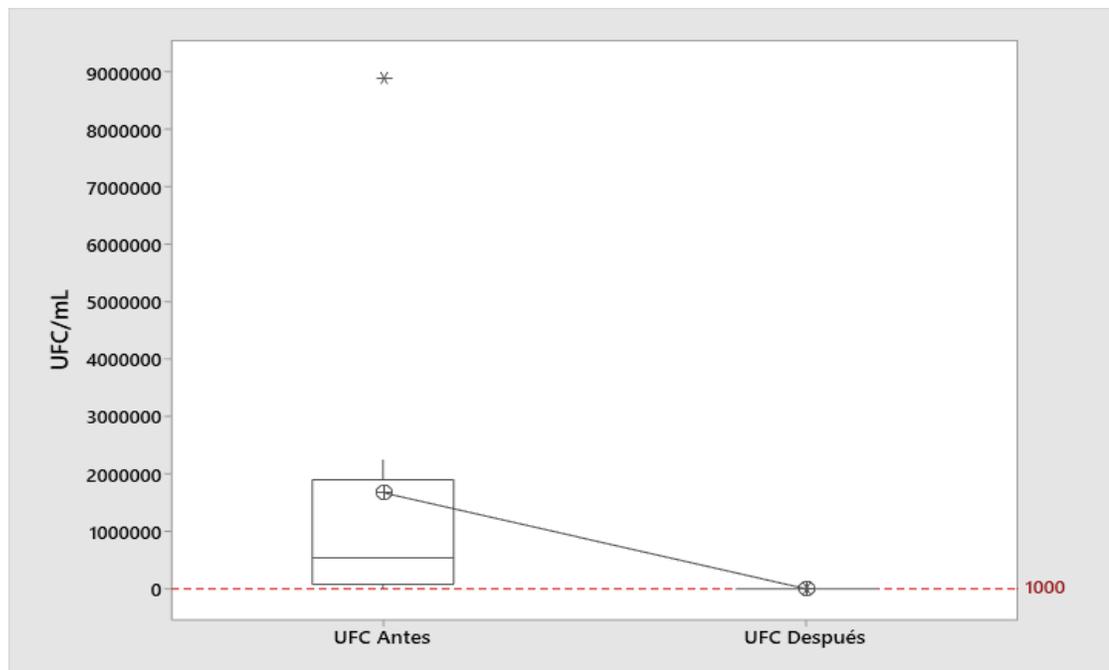
## Figura 4

Recuento bacteriano antes y después de la exposición de la AR a radiación UV-C.



## Figura 5

Gráfica de caja de las unidades formadoras de colonias (UFC) de las muestras de AR antes y después de la exposición a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)



Nota. El \* indica valor atípico. La línea roja el LMP.

**Tabla 15**

*Cálculo del porcentaje de desinfección con los distintos tratamientos con UV-C*

| <b>Bioensayos</b> | <b>UFC Pretratamiento</b> | <b>UFC posttratamiento</b> | <b>Porcentaje de desinfección (%)</b> |
|-------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| 1 (15min-2cm)     | 6.50E+03                  | 0                          | 100.00                                |
| 2 (30min-2cm)     | 8.90E+06                  | 16                         | 100.00                                |
| 3 (15min-2cm)     | 8.78E+05                  | 0                          | 100.00                                |
| 4 (30min-8cm)     | 4.5E+05                   | 235                        | 99.95                                 |
| 5 (30min-2cm)     | 2.2E+06                   | 0                          | 100.00                                |
| 6 (15min-8cm)     | 6.5E+03                   | 0                          | 100.00                                |
| 7 (30min-8cm)     | 3.0E+05                   | 0                          | 100.00                                |
| 8 (15min-8cm)     | 6.30E+05                  | 0                          | 100.00                                |
| <b>Promedio</b>   | 1.68E+06                  | 31                         | 99.99                                 |

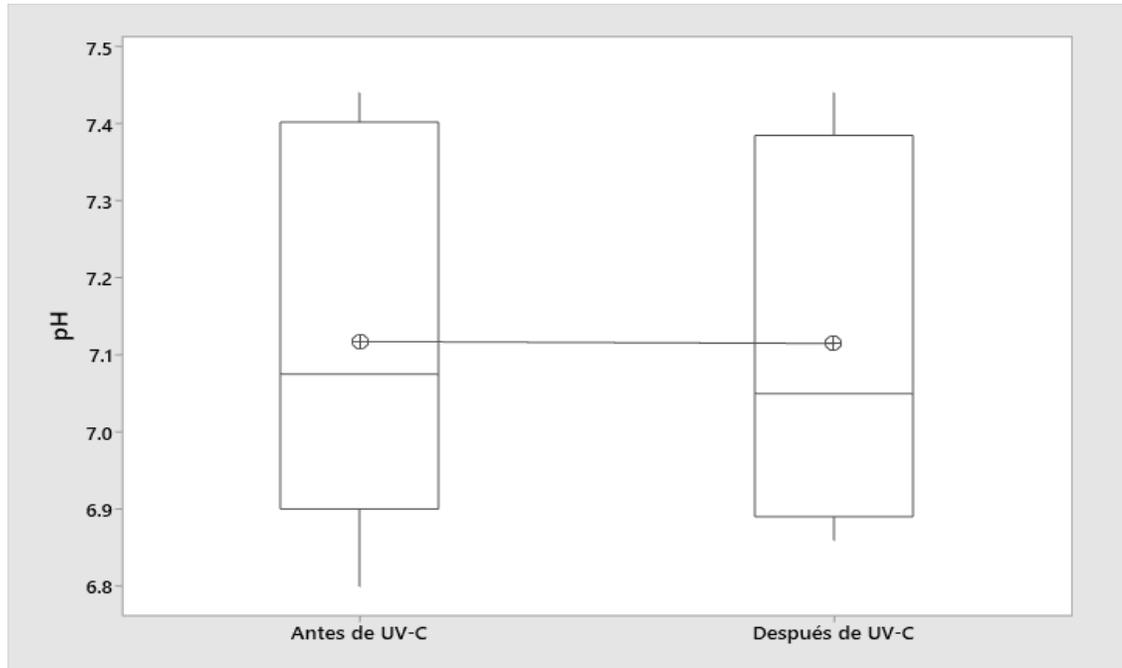
**Tabla 16**

*Estadística descriptiva de la medición de las UFC antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)*

| <b>W</b>    | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|-------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| UFC Antes   | 8        | 1676500      | 3004845          | 1062373                           |
| UFC Después | 8        | 31           | 82               | 29                                |

**Figura 6**

*Gráfica de caja del pH medido antes y después de exposición de las muestras de AR a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)*



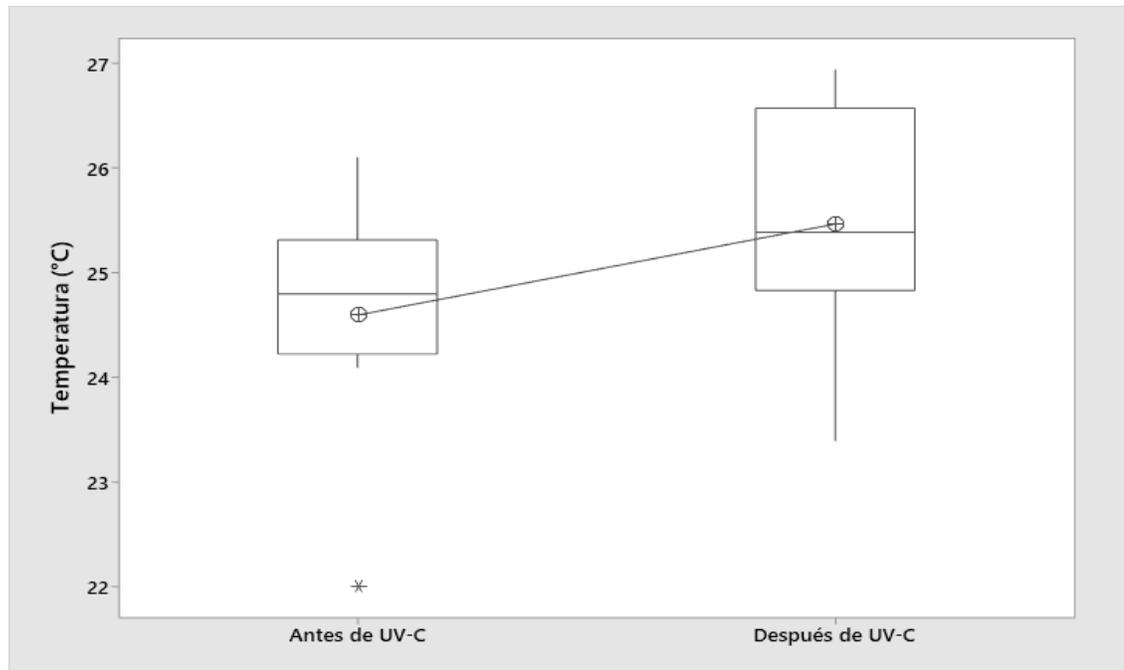
**Tabla 17**

*Estadística descriptiva del pH medido antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)*

| <b>Muestra</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|----------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| pH Antes       | 8        | 7.117        | 0.252            | 0.089                             |
| pH Después     | 8        | 7.115        | 0.242            | 0.086                             |

## Figura 7

Gráfica de caja de la temperatura medida antes y después de exposición de las muestras de AR a radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)



Nota. El \* indica valor atípico.

## Tabla 18

Estadística descriptiva de la medición de la temperatura antes y después del tratamiento con radiación UV-C (Minitab versión 19.1.01)

| Muestra             | N | Media | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|---------------------|---|-------|-----------|----------------------------|
| Temperatura Antes   | 8 | 24.60 | 1.20      | 0.43                       |
| Temperatura Después | 8 | 25.47 | 1.15      | 0.41                       |

#### **4.1.3. Fitorremediación sobre nutrientes con *E. crassipes***

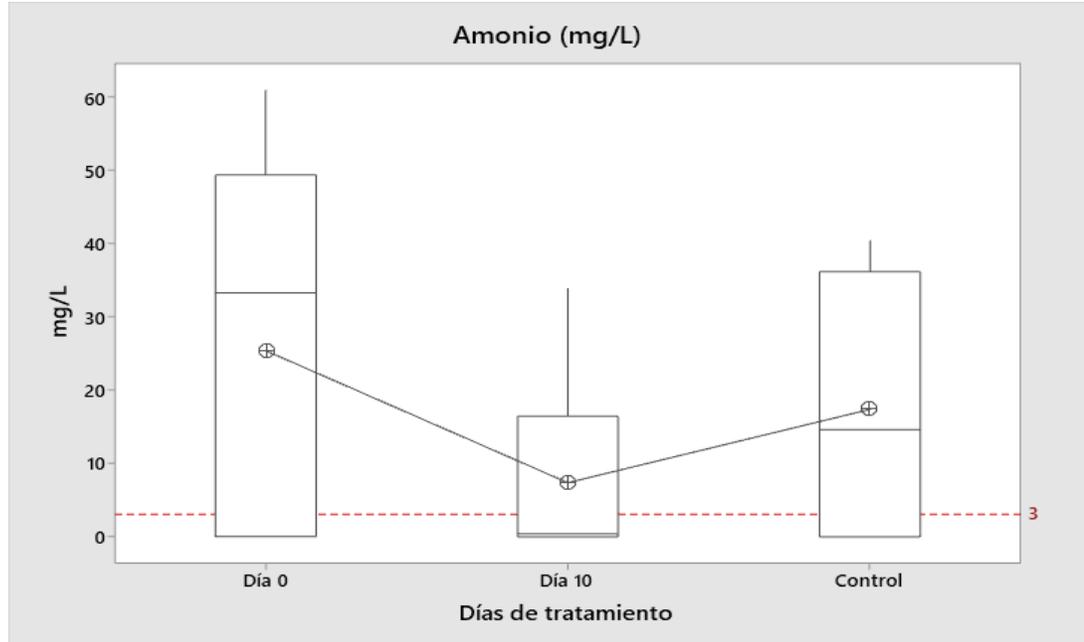
Una vez obtenidas las plantas se adaptaron a los sistemas para comprobar su eficiencia en la asimilación y disminución de los nutrientes presentes en las muestras de AR durante 10 días de exposición a la macrófita. Se realizaron siete bioensayos. A todos los datos obtenidos se les realizó test de normalidad.

Para el análisis del amonio se obtuvo una disminución del 83 % con una media después de tratamiento de  $7.4 \pm 13.10$  mg/L (**Tabla 19 y 46; Figura 8**). Se aplicó el test de Wilcoxon de muestras emparejadas en donde no se encontró diferencias significativas tanto antes como después de la aplicación de la planta ( $W=28$ ;  $p=0.156$ ). Cabe recalcar que durante los bioensayos cuatro y cinco, los análisis para amonio se realizaron semanas después por falta de reactivos. Además, en los bioensayos uno, dos y tres, las concentraciones medidas antes de tratamiento salieron por debajo del rango medible, por lo que también se hizo un análisis estadístico solo con los bioensayos seis y siete, los cuales tenían una concentración medible según el método TNT 830 y 832. Según el análisis se obtuvo un 56 % de disminución luego del tratamiento y una media de  $25.2 \pm 12.3$  mg/L (**Tabla 20 y 46; Figura 9**). Según el test realizado no presenta diferencia significativa ( $W=3$ ;  $p=0.5$ ).

Se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar si había diferencias en la concentración de amonio entre los tratamientos (**Tabla 21**). Según el test, las medianas son significativamente diferentes ( $H=12.57$ ;  $p=0.05$ ).

**Figura 8**

Gráfica de caja de la concentración (mg/L) de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) analizado antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01)



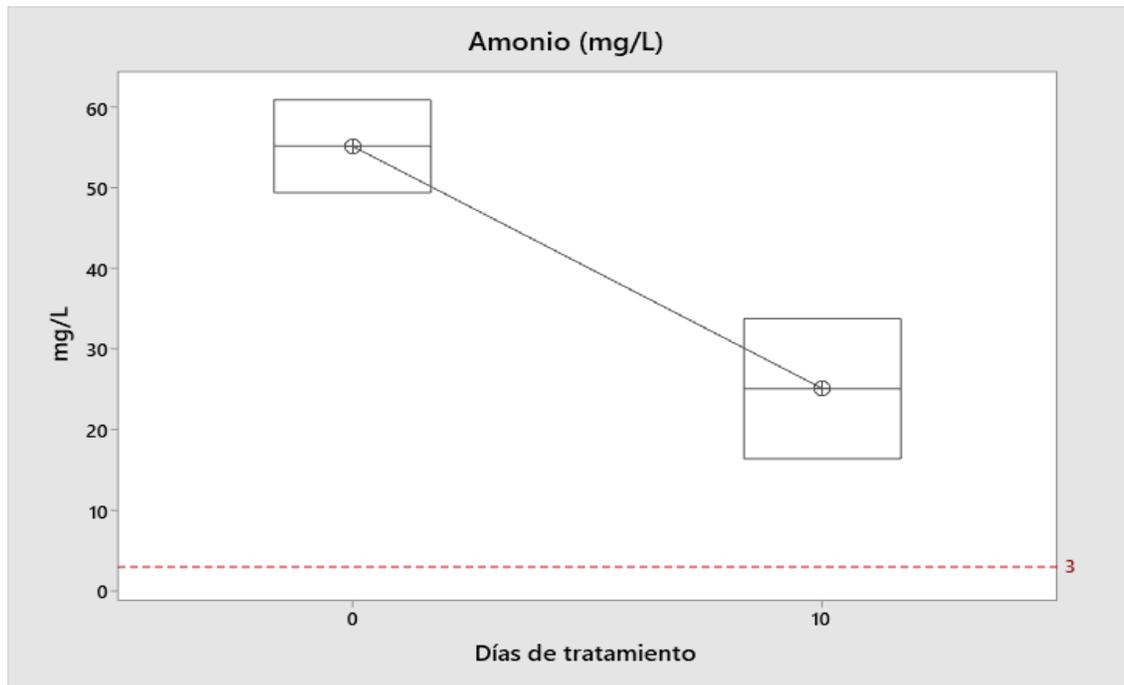
**Tabla 19**

Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de amonio antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01)

| Muestra                   | N | Media | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|---------------------------|---|-------|-----------|----------------------------|
| $[\text{NH}_4^+]$ Antes   | 7 | 25.4  | 25.5      | 9.6                        |
| $[\text{NH}_4^+]$ Después | 7 | 7.4   | 13.1      | 5.0                        |

**Figura 9**

Gráfica de caja de la concentración de amonio de analizado antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos con concentración medible según el método TNT 830 y 832 (Minitab versión 19.1.01)



**Tabla 20**

Estadística descriptiva de la concentración de amonio analizados antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos con concentración medible según el método TNT 830 y 832 (Minitab versión 19.1.01)

| Muestra                                 | N | Media | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|---|---|-------|-----------|----------------------------|
| [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] Antes   | 2 | 55.15 | 8.13      | 5.8                        |
| [NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] Después | 2 | 25.2  | 12.3      | 8.7                        |

**Tabla 21**

*Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones de amonio mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Mediana</b> | <b>Clasificación de medias</b> | <b>Valor Z</b> |
|---------------|----------|----------------|--------------------------------|----------------|
| E1            | 2        | 0.0088         | 3.5                            | -1.46          |
| E2            | 2        | 0.0045         | 1.5                            | -2.19          |
| E3            | 2        | 0.0132         | 5.5                            | -0.73          |
| E4            | 2        | 0.4158         | 8.5                            | 0.37           |
| E5            | 2        | 1.0375         | 8.5                            | 0.37           |
| E6            | 2        | 33.8250        | 13.5                           | 2.19           |
| E7            | 2        | 16.4750        | 11.5                           | 1.46           |
| General       | 14       |                | 7.5                            |                |

En los nitratos el porcentaje de descontaminación fue negativo, ya que en la mayoría de los análisis se obtuvo una mayor concentración después del tratamiento con planta. La media obtenida fue de  $152 \pm 104$  mg/L (**Tabla 22 y 46; Figura 10**). Los datos obtenidos siguen una distribución normal por lo que se aplicó el test t de Student de dos muestras emparejadas, indicando que no hay diferencias significativas ( $T = -1.02$ ;  $p = 0.347$ ). Se realizó un segundo test estadístico sin contar los bioensayos cuatro y cinco debido a que no se disponía de los reactivos los cuales se adquirieron después de varias semanas. Se obtuvo una disminución del 11 % y una media de  $114 \pm 101$  mg/L (**Tabla 23 y 46; Figura 11**). Según el test estadístico no hay diferencias significativas ( $T = 0.06$ ;  $p = 0.953$ ).

Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar si había diferencias en la concentración de nitratos entre los tratamientos (**Tabla 24**). En la **Tabla 25 y Figura 12** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Según el test, las medias son significativamente diferentes ( $F = 64.27$ ;  $p = 0.00$ ).

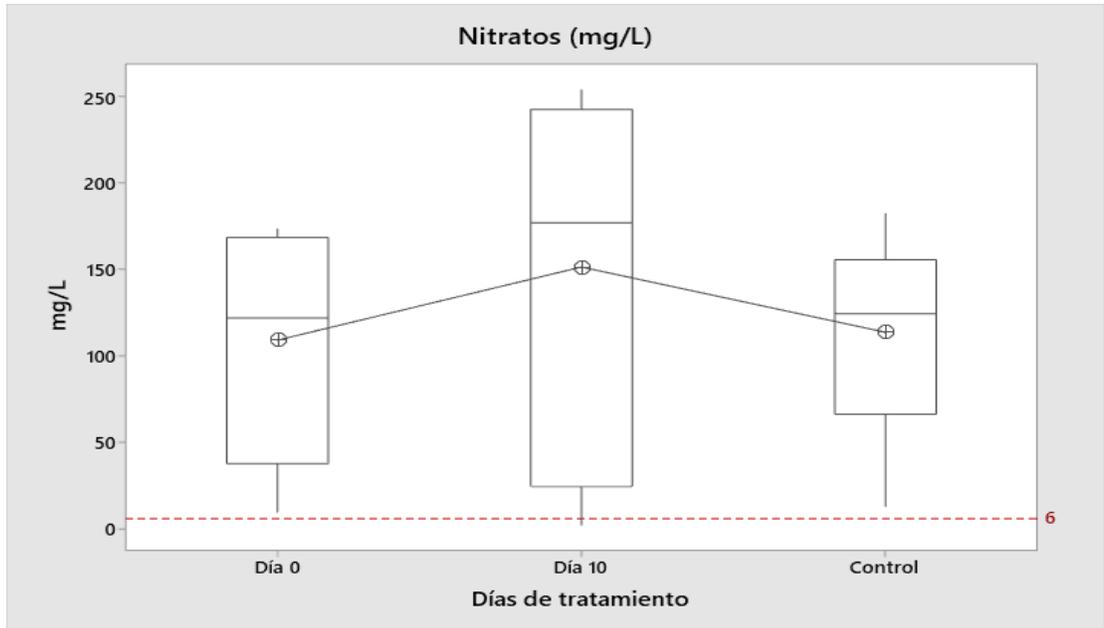
**Tabla 22**

*Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de los nitratos ( $NO_3^-$ ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| Muestra              | N | Media | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|----------------------|---|-------|-----------|----------------------------|
| [ $NO_3^-$ ] Antes   | 7 | 109.3 | 62.4      | 24                         |
| [ $NO_3^-$ ] Después | 7 | 152   | 104       | 39                         |

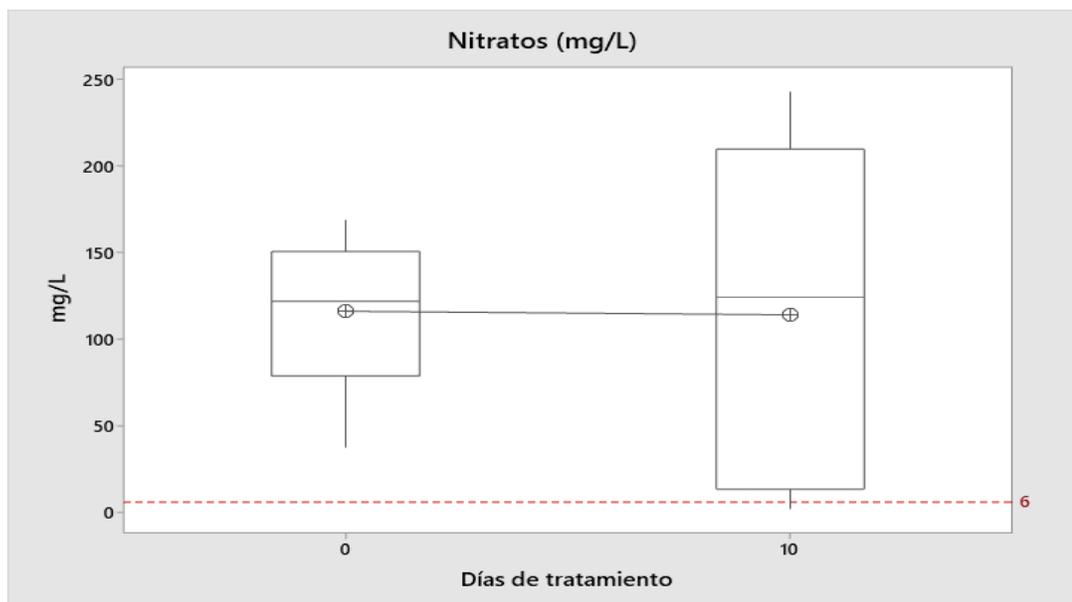
**Figura 10**

Gráfica de caja de la concentración (mg/L) de los nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)



**Figura 11**

Gráfica de caja de la concentración de nitratos analizados antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos uno, dos, tres, seis y siete (Minitab versión 19.1.01.)



**Tabla 23**

*Estadística descriptiva de la concentración de los nitratos antes y después de la aplicación de la macrófita en los bioensayos uno, dos, tres, seis y siete (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b>                          | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|---|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| [NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] Antes   | 5        | 116.3        | 47.9             | 21                                |
| [NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] Después | 5        | 114          | 101              | 45                                |

**Tabla 24**

*Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones de los nitratos (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Ensayo        | 6         | 130935           | 21822.60         | 64.27          | 0.000          |
| Error         | 7         | 2377             | 339.50           |                |                |
| Total         | 13        | 133312           |                  |                |                |

**Tabla 25**

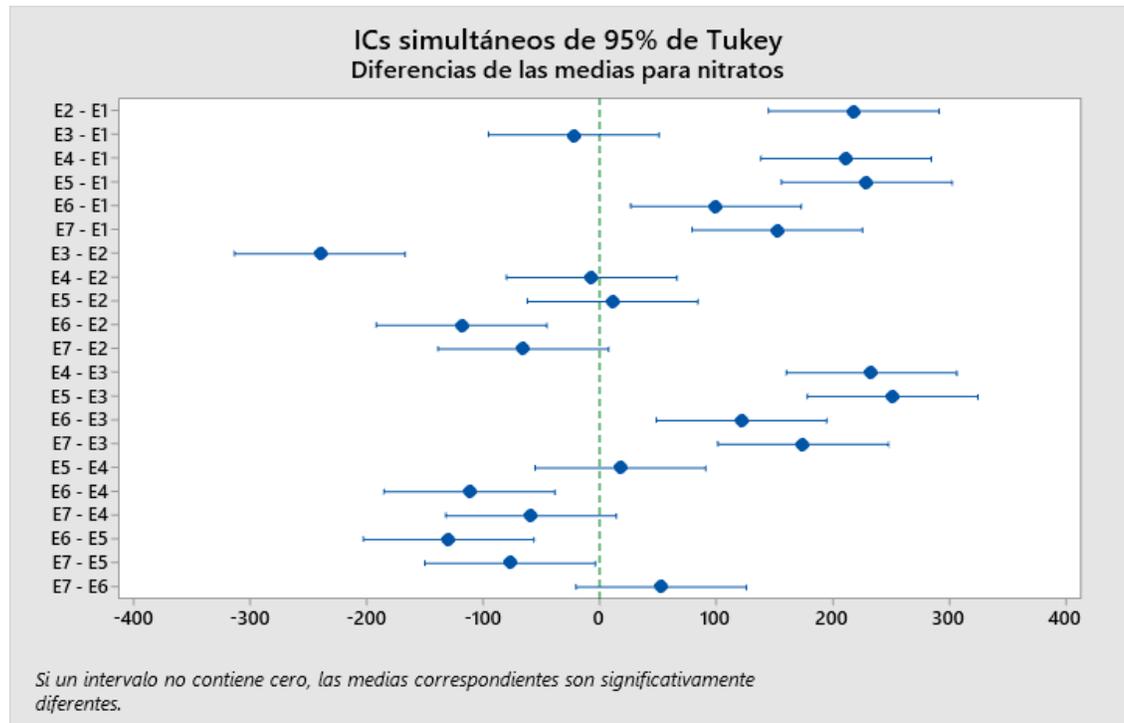
*Información agrupada de los bioensayos para las concentraciones de los nitratos empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Agrupación</b> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| E5            | 2        | 253.67       | A                 |
| E2            | 2        | 242.50       | B                 |
| E4            | 2        | 235.80       | B                 |
| E7            | 2        | 177.00       | B C               |
| E6            | 2        | 124.30       | C                 |
| E1            | 2        | 24.70        | D                 |
| E3            | 2        | 2.63         | D                 |

*Nota:* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

**Figura 12**

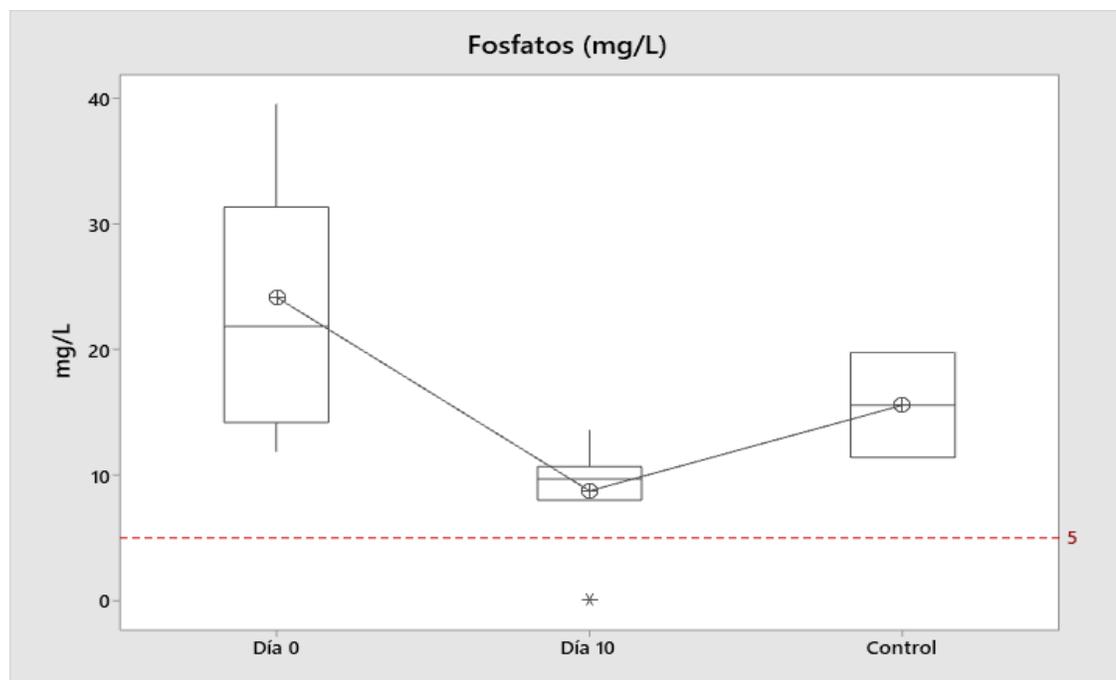
*Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para la concentración de nitratos (Minitab versión 19.1.01.)*



En el análisis de fosfatos, se obtuvo una media de  $8.75 \pm 4.20$  mg/L lo cual representó una disminución del 57 % (**Tabla 26 y 46; Figura 13**). Se aplicó la prueba paramétrica t de Student de dos muestras emparejadas la cual indicó diferencias significativas entre el antes y después de la aplicación de la planta ( $T=3.70$ ;  $p= 0.010$ ). Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar si había diferencias en la concentración de fosfatos entre tratamientos (**Tabla 27**). En la **Tabla 28 y Figura 14** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Según el test las medias son significativamente diferentes ( $F=76.76$ ;  $p=0.00$ ).

### Figura 13

*Gráfica de caja de la concentración (mg/L) de fosfatos ( $PO_4^{3-}$ ) analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*



*Nota:* El asterisco (\*) indica valor atípico

**Tabla 26**

*Estadística descriptiva de la concentración (mg/L) de fosfatos analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b>                           | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|--|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| [PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ] Antes   | 7        | 24.2         | 10.1             | 3.8                               |
| [PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ] Después | 7        | 8.75         | 4.20             | 1.6                               |

**Tabla 27**

*Análisis de varianza entre tratamientos para las concentraciones obtenidas de fosfatos (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Ensayo        | 6         | 212.03           | 35.34            | 76.76          | 0.00           |
| Error         | 7         | 3.22             | 0.46             |                |                |
| Total         | 13        | 215.256          |                  |                |                |

**Tabla 28**

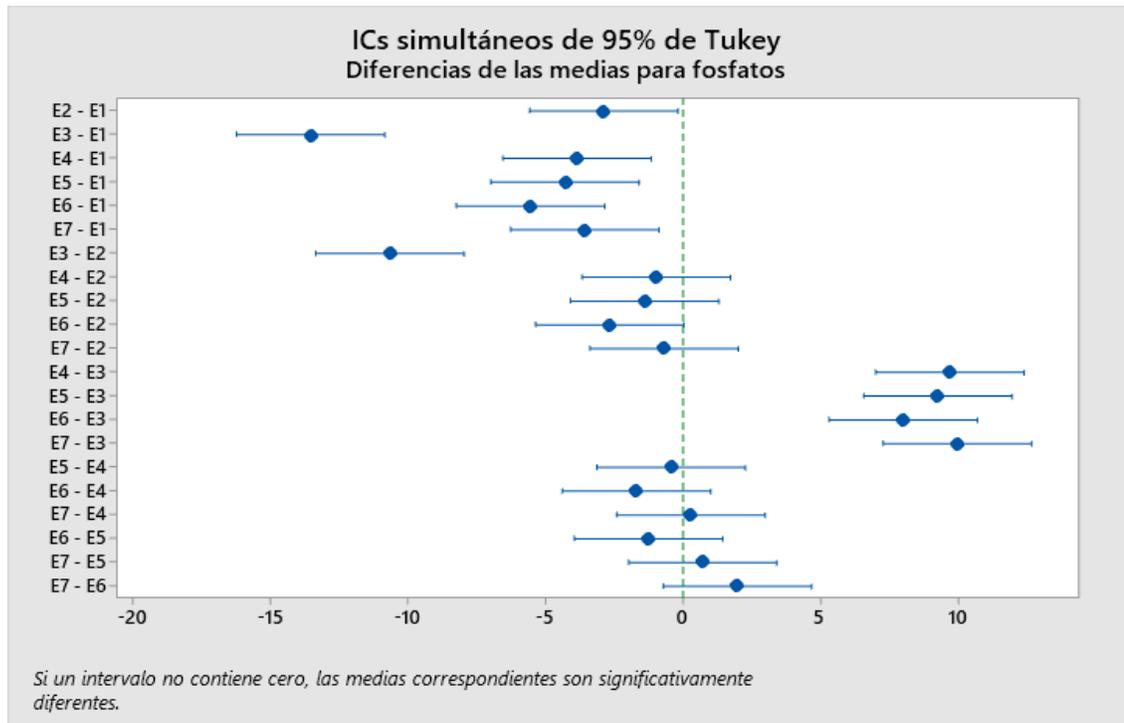
*Información agrupada de los bioensayos para las concentraciones de fosfatos empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Agrupación</b> |
|---------------|----------|--------------|-------------------|
| E1            | 2        | 13.55        | A                 |
| E2            | 2        | 10.67        | B                 |
| E7            | 2        | 9.98         | B                 |
| E4            | 2        | 9.71         | B                 |
| E5            | 2        | 9.27         | B                 |
| E6            | 2        | 8.01         | B                 |
| E3            | 2        | 0.03         | C                 |

*Nota:* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

**Figura 14**

*Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para la concentración de fosfatos (Minitab versión 19.1.01.)*



#### 4.1.4.Efecto en los parámetros físico-químicos

Se analizó la demanda química de oxígeno (DQO) para cada bioensayo en donde se obtuvo una disminución del 34 % con una media de  $267 \pm 384$  mg/L (**Tabla 29 y 46; Figura 15**). Los datos siguen una distribución normal por lo que se realizó la prueba t de Student en donde se obtuvo que no se encontraron diferencias significativas ( $T= 1.31$ ;  $p= 0.24$ ). En los bioensayos cuatro y cinco se obtuvo un bajo porcentaje de disminución los cuales coinciden cuando no se disponía de los kits para realizar los análisis. Se realizó un segundo análisis sin estos bioensayos obteniendo una disminución del 54 % del DQO (**Tabla 46**); sin embargo, al realizar el test estadístico no se encontraron diferencias significativas ( $T=1.23$ ;  $p=0.285$ ).

Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar si había diferencias del DQO entre tratamientos (**Tabla 30**). En la **Tabla 31 y Figura 16** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Según el test, las medias son significativamente diferentes ( $F=76.76$ ;  $p=0.00$ ).

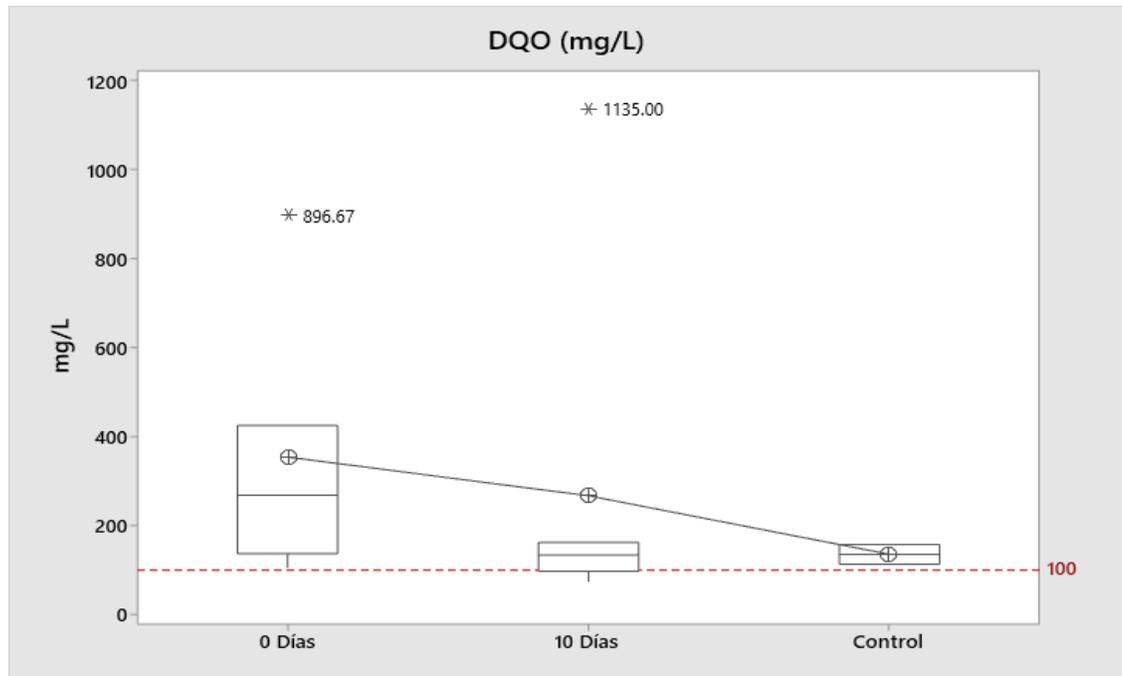
**Tabla 29**

*Estadística descriptiva del análisis del DQO antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| Muestra     | N | Media | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|-------------|---|-------|-----------|----------------------------|
| DQO Antes   | 7 | 354   | 267       | 101                        |
| DQO Después | 7 | 267   | 384       | 145                        |

**Figura 15**

Gráfica de caja para el análisis del DQO antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)



Nota: El asterisco (\*) indica valor atípico

**Tabla 30**

Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis del DQO obtenido (Minitab versión 19.1.01.)

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Ensayo | 6  | 1770646   | 295108    | 767.73  | 0.00    |
| Error  | 7  | 2691      | 384       |         |         |
| Total  | 13 | 177337    |           |         |         |

**Tabla 31**

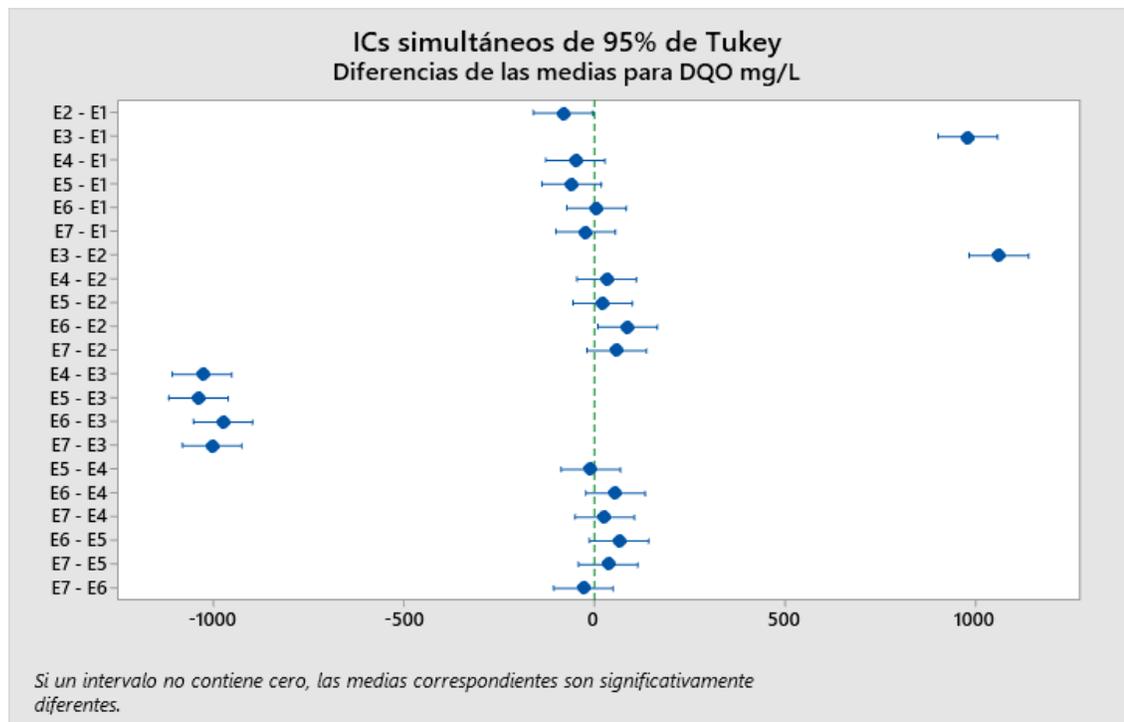
Información agrupada de los bioensayos para el análisis del DQO empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)

| Ensayo | N | Media | Agrupación |
|--------|---|-------|------------|
| E3     | 2 | 13.55 | A          |
| E6     | 2 | 10.67 | B          |
| E1     | 2 | 9.98  | B          |
| E7     | 2 | 9.71  | B C        |
| E4     | 2 | 9.27  | B C        |
| E5     | 2 | 8.01  | B C        |
| E2     | 2 | 0.03  | C          |

Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

**Figura 16**

Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para el análisis del DQO (Minitab versión 19.1.01.)

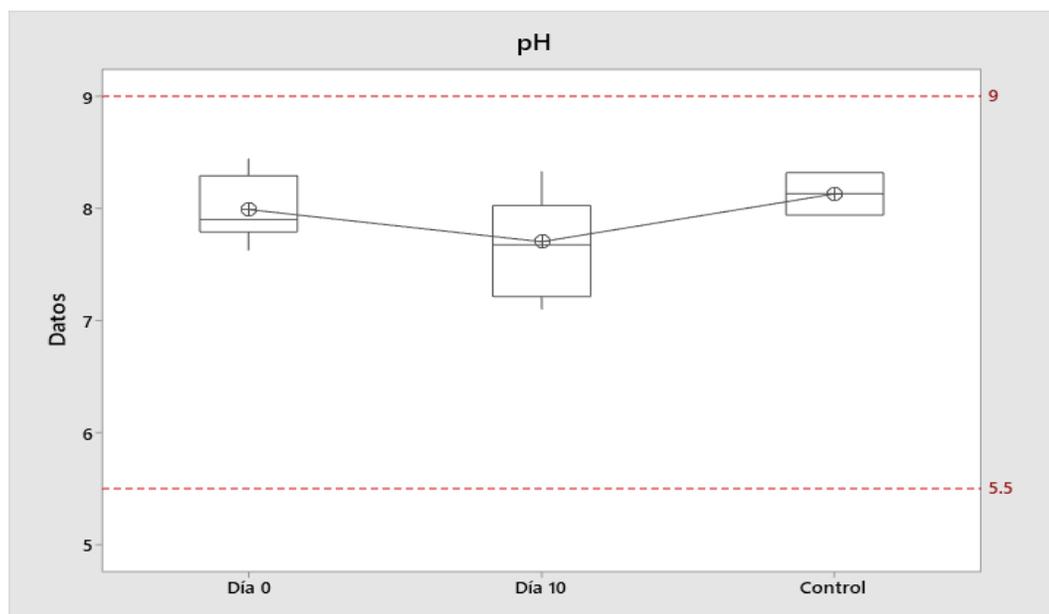


Los datos de pH siguen una distribución normal por lo que se realizó la prueba paramétrica t de Student de muestra emparejada para comparar las medias antes y después de tratamiento con la planta obteniendo que no hay diferencias significativas ( $T=1.20$ ;  $p=0.276$ ). Se obtuvo una media de  $7.70\pm 0.44$  la cual es menor al control  $8.13\pm 0.26$  representando un 4 % de disminución (**Tabla 32 y 46; Figura 17**).

Se realizó la prueba ANOVA de un factor para determinar si había diferencias de pH entre tratamientos (**Tabla 33**). En la **Tabla 34** y **Figura 18** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Las medias son significativamente diferentes ( $F=4.98$ ;  $p=0.027$ ).

### Figura 17

Gráfica de caja para el análisis del pH antes y después de la aplicación de la planta (Minitab versión 19.1.01.)



**Tabla 32**

*Estadística descriptiva del análisis del pH antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|----------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| pH Antes       | 7        | 7.990        | 0.284            | 0.11                              |
| pH Después     | 7        | 7.703        | 0.441            | 0.17                              |

**Tabla 33**

*Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis del pH (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Ensayo        | 6         | 2.3288           | 0.38813          | 4.98           | 0.027          |
| Error         | 7         | 0.5457           | 0.07796          |                |                |
| Total         | 13        | 177337           |                  |                |                |

**Tabla 34**

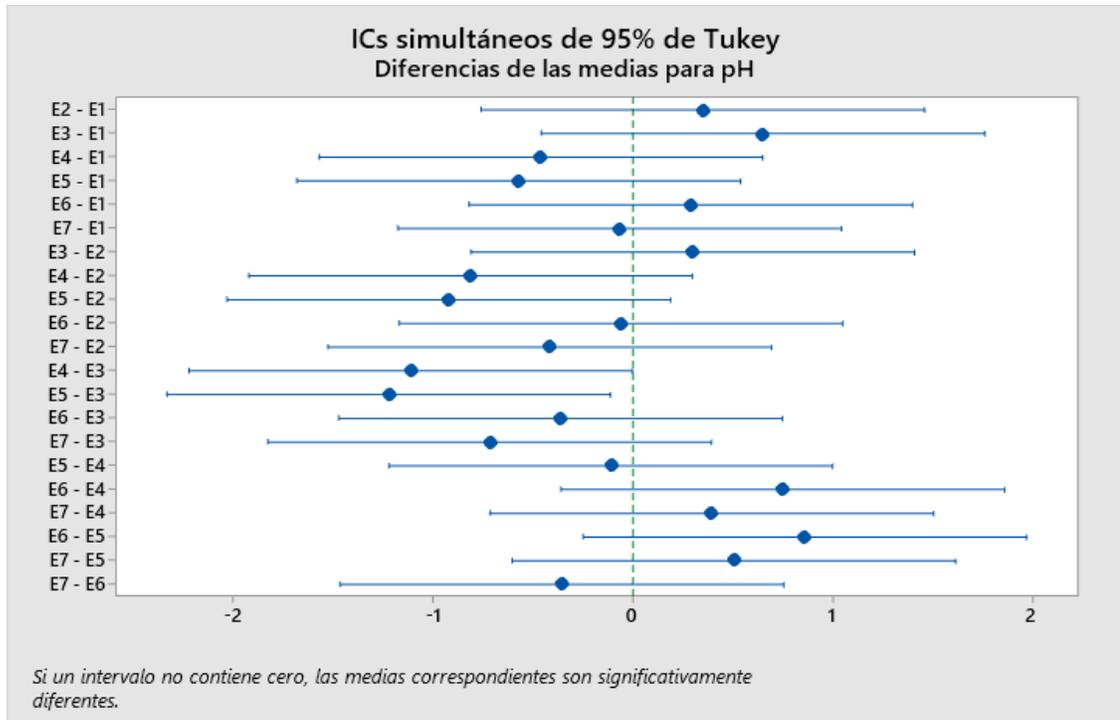
*Información agrupada de los bioensayos para el análisis del pH empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Agrupación</b> |   |
|---------------|----------|--------------|-------------------|---|
| E3            | 2        | 8.33         | A                 |   |
| E2            | 2        | 8.03         | A                 | B |
| E6            | 2        | 7.97         | A                 | B |
| E1            | 2        | 7.68         | A                 | B |
| E7            | 2        | 7.61         | A                 | B |
| E4            | 2        | 7.22         |                   | B |
| E5            | 2        | 7.11         |                   | B |

*Nota:* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

## Figura 18

Comparación múltiple de las medias obtenidas en los bioensayos para el pH (Minitab versión 19.1.01.)

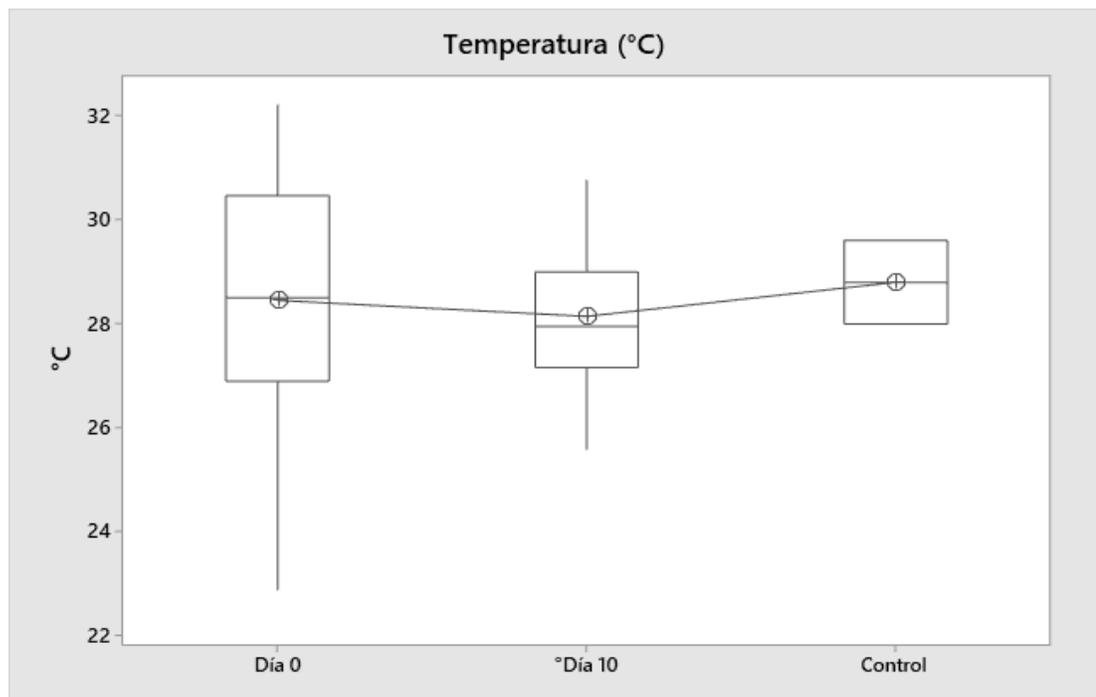


En la medición de la temperatura de la muestra de AR, se obtuvo una media de  $28.14 \pm 1.62$  °C después de tratamiento lo que representó una disminución de 1 % (**Tabla 35 y 46; Figura 19**). Los datos siguen una distribución normal por los que se realizó la prueba t de Student obteniendo que no hay diferencias significativas ( $T=0.35$ ;  $p=0.741$ ).

Se realizó el test ANOVA de un factor para determinar si había diferencias de la temperatura entre tratamientos (**Tabla 36**). En la **Tabla 37 y Figura 20** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Las medias son significativamente diferentes ( $F=30.57$ ;  $p=0.00$ ).

### Figura 19

*Gráfica de caja para la temperatura (°C) medida antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*



**Tabla 35**

*Estadística descriptiva de la temperatura medida antes y después de la aplicación de la planta (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|----------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| Temp. Antes    | 7        | 28.45        | 3.04             | 1.2                               |
| Temp. Después  | 7        | 28.14        | 1.62             | 0.61                              |

**Tabla 36**

*Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis de la temperatura (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Ensayo        | 6         | 31.385           | 5.2308           | 30.57          | 0.000          |
| Error         | 7         | 1.198            | 0.1711           |                |                |
| Total         | 13        | 32.583           |                  |                |                |

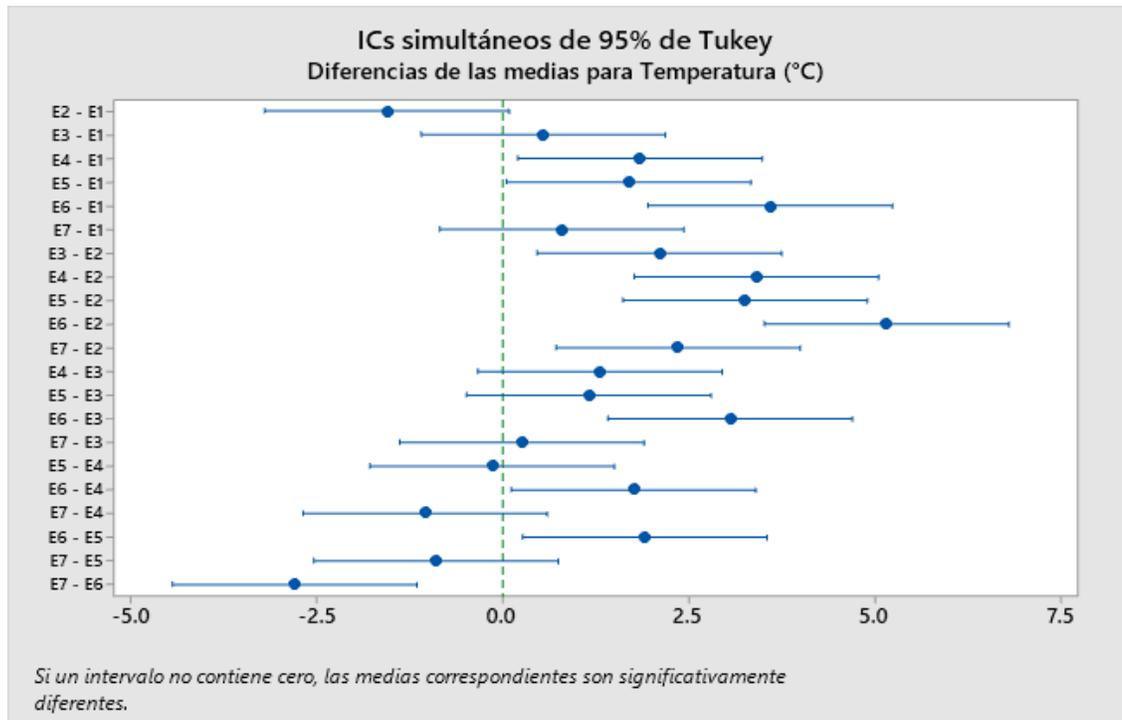
**Tabla 37**

*Información agrupada de los bioensayos para el análisis de la temperatura empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Agrupación</b> |   |     |
|---------------|----------|--------------|-------------------|---|-----|
| E6            | 2        | 30.75        | A                 |   |     |
| E4            | 2        | 29.00        |                   | B |     |
| E5            | 2        | 28.85        |                   | B |     |
| E7            | 2        | 27.95        |                   | B | C   |
| E3            | 2        | 27.70        |                   | B | C   |
| E1            | 2        | 27.16        |                   |   | C D |
| E2            | 2        | 25.60        |                   |   | D   |

## Figura 20

Comparación múltiple de las medias obtenidas entre los bioensayos para la temperatura (Minitab versión 19.1.01.)

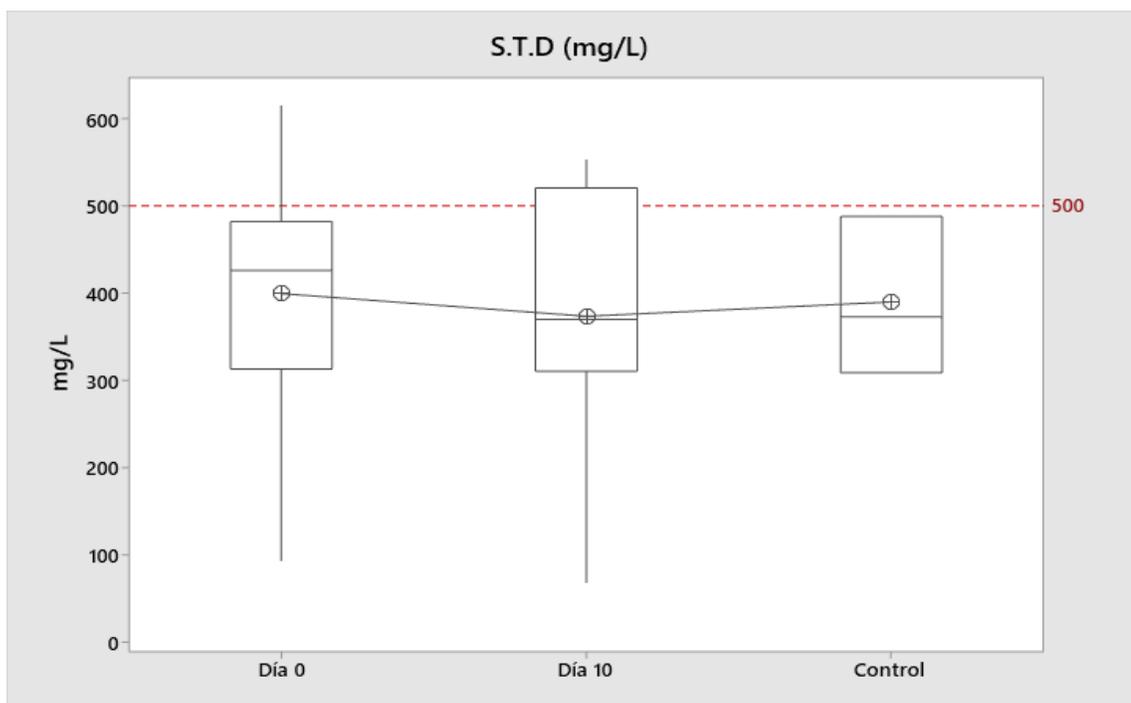


En los S.T.D. se obtuvo una media de  $399.6 \pm 162$  ppm antes de tratamiento y  $373.6 \pm 161$  ppm después de la aplicación de la planta. Esto representó un 9 % de disminución (**Tabla 38 y 46; Figura 21**). Los datos siguen una distribución normal por lo que se realizó la prueba paramétrica t de Student emparejada. No hay diferencias significativas ( $T=1.50$ ;  $p=0.185$ ).

Se realizó el test ANOVA de un factor para determinar si había diferencias en los S.T.D. entre tratamientos (**Tabla 39**). En la **Tabla 40 y Figura 22** se muestra la comparación múltiple entre las medias de los bioensayos y la información agrupada mediante el método de Tukey. Las medias son significativamente diferentes ( $F=30.57$ ;  $p=0.00$ ).

### Figura 21

*Gráfica de caja para para los S.T.D. analizados antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*



**Tabla 38**

*Estadística descriptiva de los S.T.D. medidos antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|----------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| S.T.D. Antes   | 7        | 399.6        | 162.0            | 61.2                              |
| S.T.D. Después | 7        | 373.6        | 160.8            | 60.8                              |

**Tabla 39**

*Análisis de varianza entre tratamientos para el análisis de S.T.D. (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Fuente</b> | <b>GL</b> | <b>SC Ajust.</b> | <b>MC Ajust.</b> | <b>Valor F</b> | <b>Valor p</b> |
|---------------|-----------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| Ensayo        | 6         | 309621           | 51604            | 41.31          | 0.000          |
| Error         | 7         | 8745             | 1249             |                |                |
| Total         | 13        | 32.583           |                  |                |                |

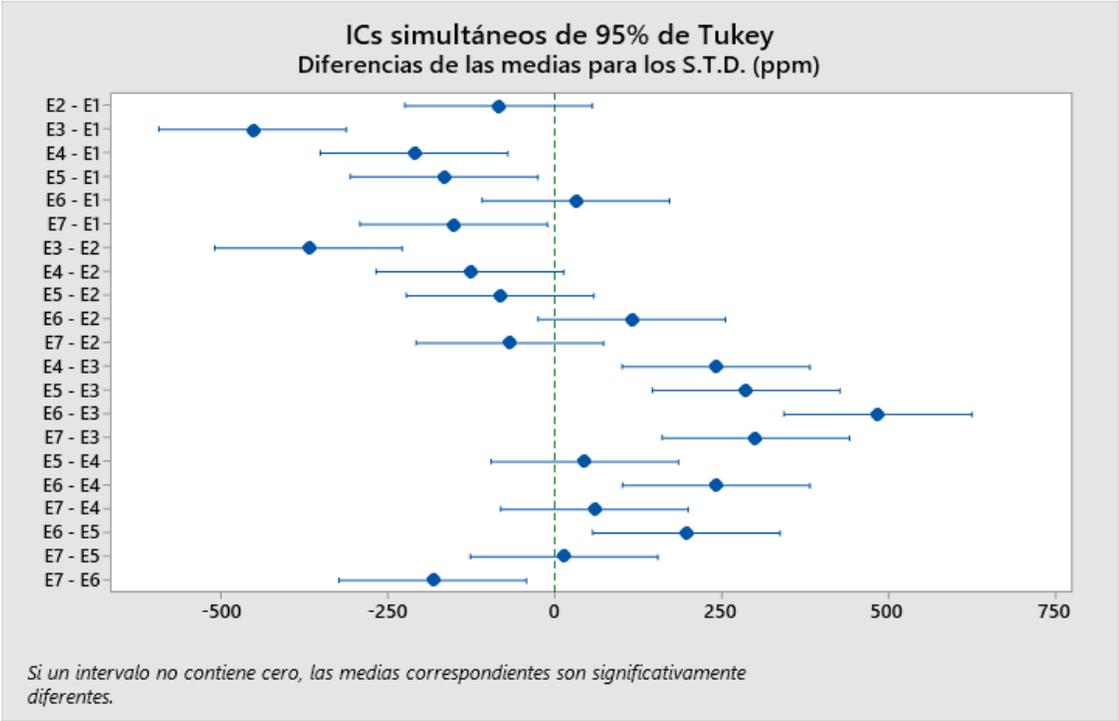
**Tabla 40**

*Información agrupada de los bioensayos para el análisis de los S.T.D. empleando el método de Tukey y una confianza de 95 % (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Ensayo</b> | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Agrupación</b> |   |
|---------------|----------|--------------|-------------------|---|
| E6            | 2        | 552.50       | A                 |   |
| E1            | 2        | 520.90       | A                 |   |
| E2            | 2        | 437.00       | A                 | B |
| E7            | 2        | 370.00       |                   | B |
| E5            | 2        | 355.50       |                   | B |
| E4            | 2        | 310.50       |                   | B |
| E3            | 2        | 69.00        |                   | C |

**Figura 22**

*Comparación múltiple de las medias obtenidas entre los bioensayos para los S.T.D. analizados (Minitab versión 19.1.01.)*



#### **4.1.5.Efecto de las plantas y posterior UV-C sobre las bacterias en AR**

En el tratamiento con planta se obtuvo una disminución del 86 % con una media de  $5.2 \times 10^{05}/\text{mL}$  UFC (**Tabla 41; Figura 23**). Se aplicó la prueba de normalidad obteniendo que los datos no siguen una distribución normal, por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon de muestras emparejadas en donde se obtuvo que hay diferencias significativas en la mediana de las UFC antes y después de la aplicación de la planta ( $W=28$ ;  $p=0.022$ ).

Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si había diferencias de UFC entre tratamientos (**Tabla 42**). Las medianas de las muestras son significativamente diferentes ( $H=12.40$ ;  $p=0.054$ ).

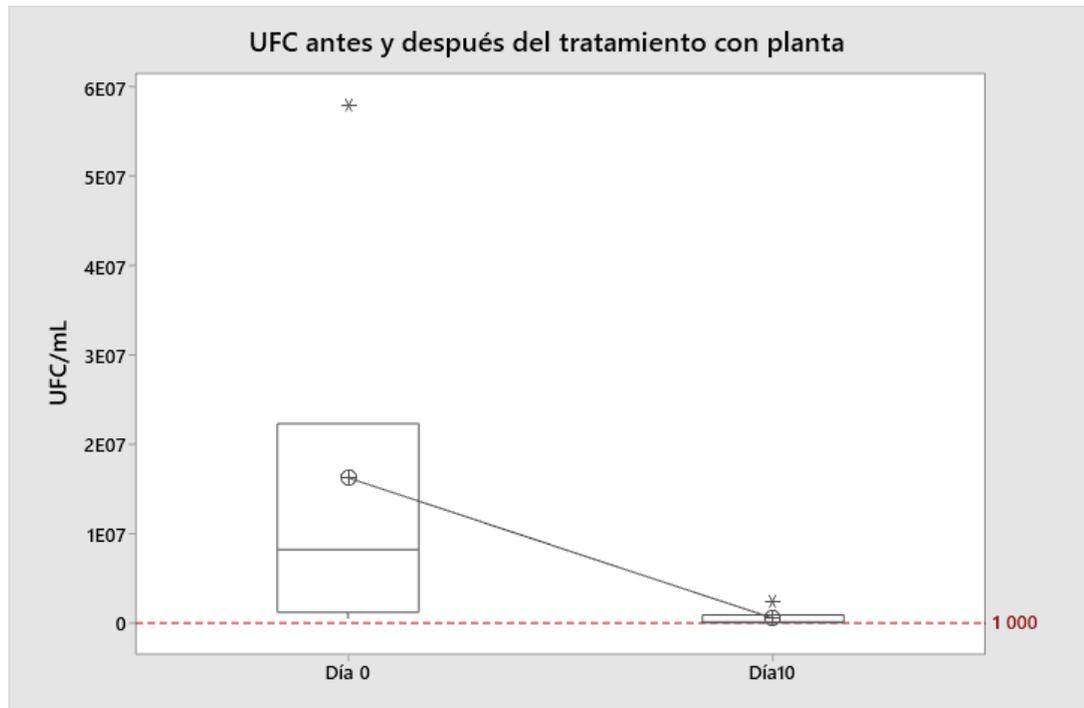
**Tabla 41**

*Estadística descriptiva para las UFC/mL calculados a partir de las muestras antes y después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b> | <b>N</b> | <b>Media</b>       | <b>Desv.Est.</b>   | <b>Error estándar de la media</b> |
|----------------|----------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|
| UFC. Antes     | 7        | $1.63 \times 10^7$ | $2.04 \times 10^7$ | $7.70 \times 10^6$                |
| UFC Después    | 7        | $5.19 \times 10^5$ | $8.76 \times 10^5$ | $3.31 \times 10^5$                |

**Figura 23**

Gráfica de caja para para las UFC calculadas a partir de las muestras tanto antes como después de la aplicación de la macrófita (Minitab versión 19.1.01.)



Nota: El asterisco (\*) indica valor atípico

**Tabla 42**

Análisis de varianza entre tratamientos para las UFC mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01.)

| Ensayo  | N  | Mediana | Clasificación de medias | Valor Z |
|---------|----|---------|-------------------------|---------|
| E1      | 2  | 2800000 | 13.5                    | 2.19    |
| E2      | 2  | 22150   | 4.5                     | -1.10   |
| E3      | 2  | 18250   | 4.5                     | -1.10   |
| E4      | 2  | 4300    | 1.5                     | -2.19   |
| E5      | 2  | 1110005 | 8.0                     | 0.18    |
| E6      | 2  | 201500  | 9.0                     | 0.55    |
| E7      | 2  | 905000  | 11.5                    | 1.46    |
| General | 14 |         | 7.5                     |         |

Luego del tratamiento con planta, a las muestras de AR se les aplicó radiación UV-C. Se realizaron ensayos empleando la combinación de las variables presentadas en la **Tabla 14**. En la muestra de AR post planta se obtuvo una media de  $5.2 \times 10^5 \pm 8.8 \times 10^5$  UFC/mL, y  $0.29 \pm 0.76$  UFC/mL con posterior radiación UV-C (**Tabla 43**; **Figura 24 y 25**). Esto representó aproximadamente 100 % de desinfección de las muestras (**Tabla 44**). Los datos no presentaron distribución normal por lo que se realizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon de muestras emparejadas. Se obtuvo diferencias significativas entre las medianas después del tratamiento con planta y posterior desinfección UV-C ( $W=28$ ;  $p=0.015$ ).

Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si había diferencias de UFC entre tratamientos (**Tabla 45**). Las medianas no son significativamente diferentes ( $H=5.42$ ;  $p=0.492$ ).

**Tabla 43**

*Estadística descriptiva para las UFC/mL calculados a partir de las muestras obtenidas post planta y después de aplicarle UV-C (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b>   | <b>N</b> | <b>Media</b>       | <b>Desv.Est.</b>  | <b>Error estándar de la media</b> |
|------------------|----------|--------------------|-------------------|-----------------------------------|
| UFC. Post planta | 7        | $5.19 \times 10^5$ | $8.8 \times 10^5$ | $3.3 \times 10^5$                 |
| UFC con UV-C     | 7        | 0.29               | 0.756             | 0.29                              |

**Tabla 44**

*Eficiencia de la radiación UV-C en las muestras de AR obtenidas luego del tratamiento con la macrófita. (Minitab versión 19.1.01.)*

| Bioensayo       | UFC/mL pre-UV-C             | UFC/mL post UV-C | Eficiencia (%) |
|-----------------|-----------------------------|------------------|----------------|
| 1               | 2.37x10 <sup>6</sup>        | 2                | 100 %          |
| 2               | 2.22x10 <sup>4</sup>        | 0                | 100 %          |
| 3               | 1.83x10 <sup>4</sup>        | 0                | 100 %          |
| 4               | 3.82 x10 <sup>3</sup>       | 0                | 100 %          |
| 5               | 1.11x10 <sup>5</sup>        | 0                | 100 %          |
| 6               | 2.02 x10 <sup>5</sup>       | 0                | 100 %          |
| 7               | 9.05 x10 <sup>5</sup>       | 0                | 100 %          |
| <b>Promedio</b> | <b>5.19 x10<sup>5</sup></b> | <b>0.29</b>      | <b>100.00%</b> |

*Nota:* El LMP es de 1000 células en 100 mL.

Estos resultados indican que en todas las combinaciones realizadas de tiempo y distancia se obtuvo una alta eficiencia de desinfección alcanzando un 100 % de mortalidad de microorganismos.

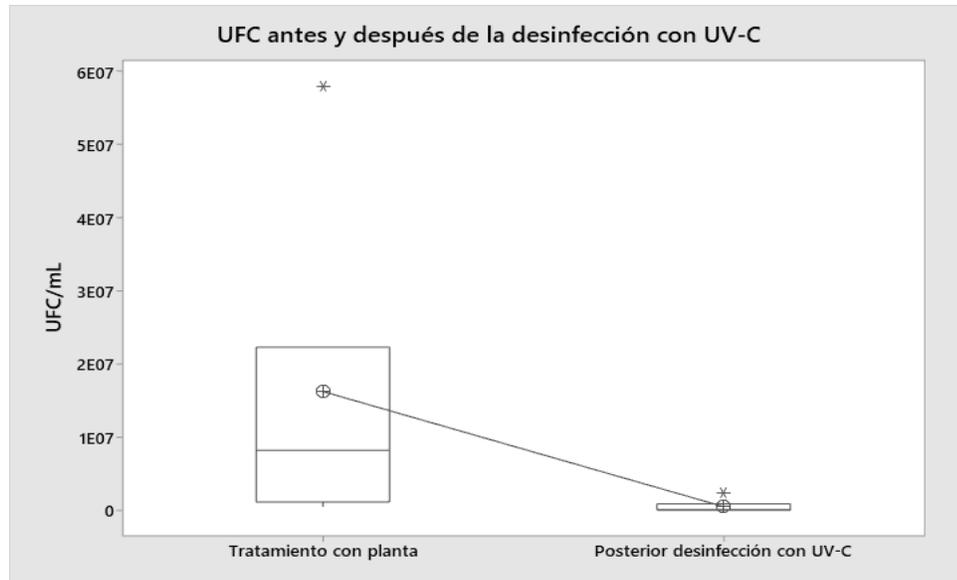
**Tabla 45**

*Análisis de varianza entre tratamientos para las UFC mediante la prueba Kruskal-Wallis (Minitab versión 19.1.01.)*

| Ensayo  | N  | Mediana | Clasificación de medias | Valor Z |
|---------|----|---------|-------------------------|---------|
| E1      | 2  | 1       | 10.00                   | 0.91    |
| E2      | 2  | 0       | 6.5                     | -0.37   |
| E3      | 2  | 1       | 10.00                   | 0.91    |
| E4      | 2  | 0       | 6.5                     | -0.37   |
| E5      | 2  | 0       | 6.5                     | -0.37   |
| E6      | 2  | 0       | 6.5                     | -0.37   |
| E7      | 2  | 0       | 6.5                     | -0.37   |
| General | 14 |         | 7.5                     |         |

## Figura 24

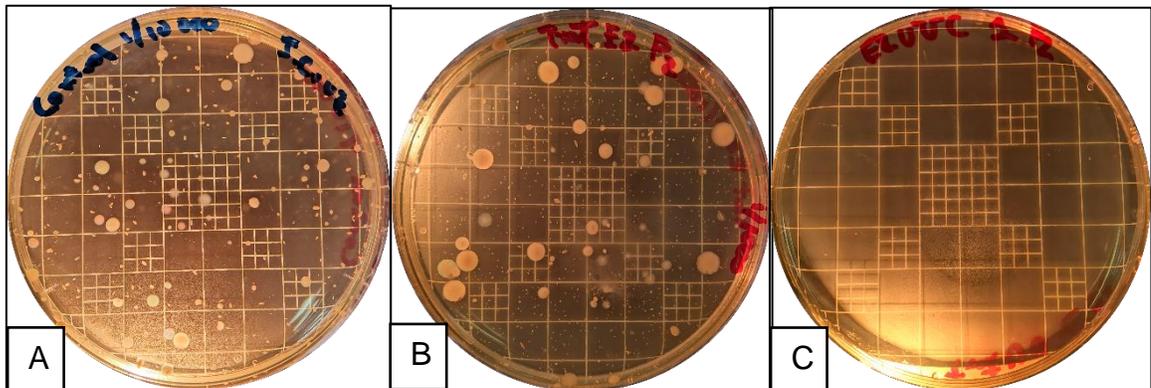
Gráfica de caja para las UFC calculadas a partir de las muestras obtenidas post planta y posterior desinfección con UV-C (Minitab versión 19.1.01.)



Nota: el asterisco (\*) denota valor atípico

## Figura 25

Recuento bacteriano de las muestras de AR antes de tratamiento con la planta (A), TRH de 10 días (B) y posterior desinfección con UV-C (C).



Nota: UFC antes y después del tratamiento con planta en dilución 1/10 000, y desinfección con UV-C con 1 mL de la muestra

**Tabla 46***Caracterización del agua con y sin tratamiento con E. crassipes (TRH= 10 días)*

| <b>Parámetros</b> | <b>Promedio inicial (n=2)</b> | <b>Promedio final (n=2)</b> | <b>Eficiencia (%)</b> | <b>Límite máximo permisible</b> |
|-------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| Amonio (mg/L)     | 25±26                         | 7±13                        | 83                    | 3                               |
|                   | 55±8**                        | 25±12**                     | 54**                  |                                 |
| Nitratos (mg/L)   | 109±62                        | 152±104                     | -338                  | 6                               |
|                   | 116±48                        | 114±101*                    | 11*                   |                                 |
| Fosfatos (mg/L)   | 24±10                         | 9±4                         | 57                    | 5                               |
| DQO (mg/L)        | 354±267                       | 267±384                     | 34                    | 100                             |
|                   | 294.43                        | 125.17*                     | 54*                   |                                 |
| pH                | 7.99±0.28                     | 7.70±0.44                   | 4                     | 5.5-9.0                         |
| Temperatura (°C)  | 28.45±3.04                    | 28.14                       | 0.37                  | -----                           |
| S.T.D. (mg/L)     | 400±162                       | 374±161                     | 8.52                  | 500                             |
| UFC /mL           | 1.63x10 <sup>7</sup>          | 5.2x10 <sup>5</sup>         | 86                    | 1000                            |

*Nota:* \*=Valores calculados haciendo excepción de los bioensayos 4 y 5.

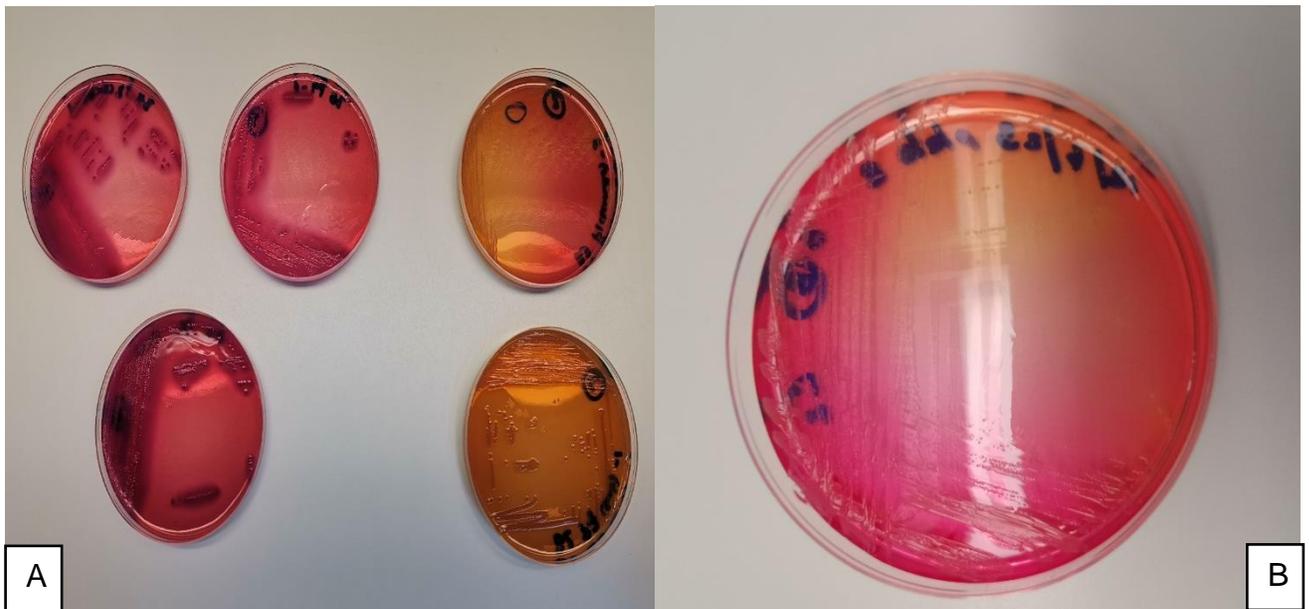
\*\*=Valores analizados estadísticamente dentro del rango medible.

#### **4.1.6. Identificación de las bacterias presentes en las muestras de AR utilizadas**

Las colonias que crecieron en medios de cultivos selectivos se les realizó pruebas confirmatorias para la identificación de las bacterias que crecieron en las placas para la prueba de recuento bacteriano de las muestras de AR utilizadas (**Figura 26, 27 y 28**). En la **Tabla 47** se muestra las especies de bacterias identificadas junto con los resultados de las pruebas realizadas. En la **Figura 26** se muestran las colonias que crecieron en agar MacConkey y en agar Manitol Salado, siendo este último selectivo para *Staphylococcus spp.* tal como se muestra.

#### **Figura 26**

*Estriado en placa con agar MacConkey (A) y agar Manitol Salado (B)*



## Figura 27

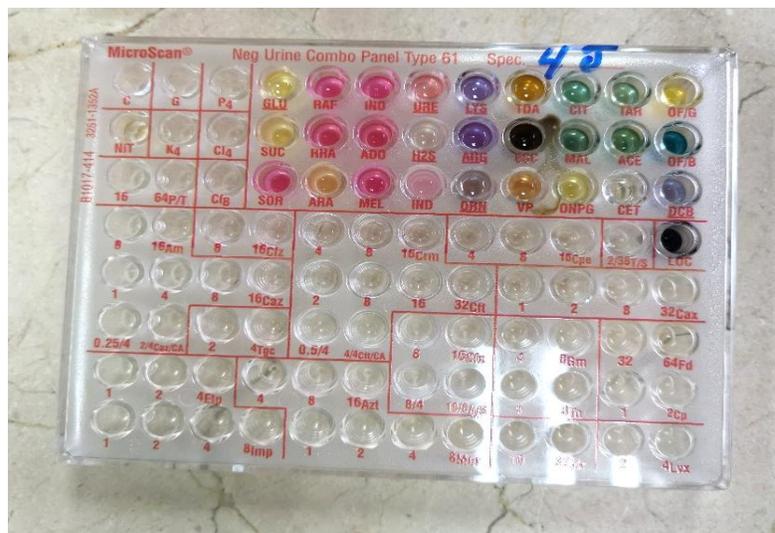
Pruebas confirmatorias empleadas para la identificación de las especies bacterianas presentes en las muestras de ARs



Nota: El orden de las pruebas confirmatorias va de izquierda a derecha: TSI, Citrato, Indol, Urea y VP.

## Figura 28

Método de MicroScan para la identificación de las especies bacterianas presentes en las muestras de ARs



**Tabla 47**

*Pruebas confirmatorias para la identificación de las especies de bacterias presentes en las muestras de AR analizadas*

| <b>Colonia<br/>(n=2)</b> | <b>TSI</b> | <b>Citrato<br/>de<br/>Simmons</b> | <b>SIM</b>     | <b>Urea</b> | <b>VP</b> | <b>Oxidasa</b> | <b>Especie<br/>identificada</b>    |
|--------------------------|------------|-----------------------------------|----------------|-------------|-----------|----------------|------------------------------------|
| 1                        | K/K        | +                                 | +MOT<br>-INDOL | -           | -         | +              | <i>Pseudomonas<br/>fluorescens</i> |
| 2                        | K/K        | +                                 | +MOT<br>-INDOL | -           | -         | +              | <i>Pseudomonas<br/>fluorescens</i> |
| 3                        | A/A        | -                                 | +MOT<br>+INDOL | -           | -         | +              | <i>Aeromonas<br/>hydrophila</i>    |
| 4                        | A/A        | +                                 | +MOT<br>-INDOL | -           | +         | -              | <i>Serratia<br/>marcescens</i>     |
| 5                        | A/A        | +                                 | +MOT<br>-INDOL | -           | +         | -              | <i>Enterobacter<br/>cloacae</i>    |
| 6                        | K/K        | +                                 | -MOT<br>-INDOL | +           | +         | -              | <i>Klebsiella<br/>pneumoniae</i>   |
| 7                        | K/K        | +                                 | +MOT<br>-INDOL | -           | -         | +              | <i>Pseudomonas<br/>fluorescens</i> |
| 8                        | K/A        | +                                 | +MOT<br>+INDOL | -           | -         | +              | <i>Aeromonas<br/>hydrophila</i>    |

#### **4.1.7.Efectos de las ARs en la macrófita *Eichhornia crassipes***

A las plantas utilizadas en cada tratamiento se le midieron y pesaron tanto antes como después de su aplicación a la muestra de AR. Se realizó la prueba de normalidad a los datos obtenidos encontrando que los datos de tamaño de las plantas siguen una distribución normal; por el contrario, los de peso no siguen una distribución normal. Para el tamaño se aplicó la prueba paramétrica t de Student emparejada en donde se obtuvo que hay diferencias significativas entre las medias ( $T=3.58$ ;  $p=0.001$ ). La media obtenida antes de tratamiento fue de  $33.62\pm 9.95$  cm y de  $31.17\pm 9.54$  cm luego de la aplicación a la muestra de AR (**Tabla 48; Figura 29**).

En el caso del peso de la planta, según el test de normalidad, los datos no siguen una distribución normal por lo que se realizó la prueba no paramétrica Wilcoxon de muestras emparejadas. Según el test, hay diferencias significativas entre las medianas ( $W= 1576.50$ ;  $p=0.000$ ). Se obtuvo una media de  $108.57\pm 40.87$  g antes de tratamiento y  $80.93\pm 93$  g luego de su aplicación (**Tabla 49; Figura 30**)

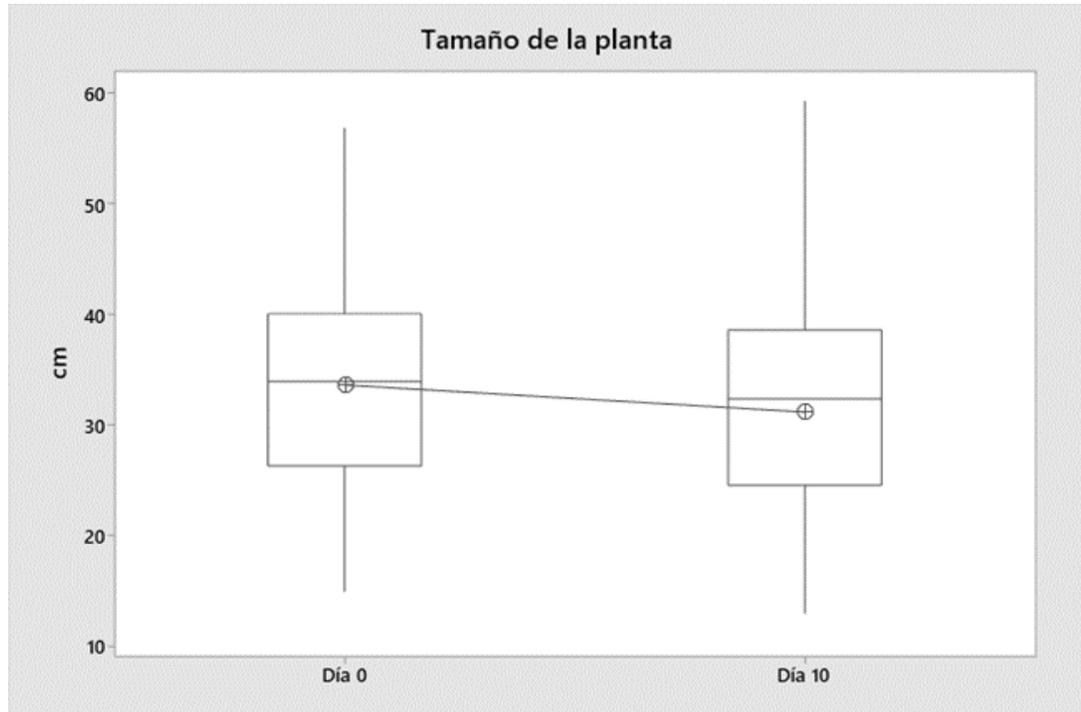
**Tabla 48**

*Estadística descriptiva para el tamaño (cm) de las plantas utilizadas tanto antes como después de la aplicación a las muestras de AR (Minitab versión 19.1.01.)*

| <b>Muestra</b>              | <b>N</b> | <b>Media</b> | <b>Desv.Est.</b> | <b>Error estándar de la media</b> |
|-----------------------------|----------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| Tamaño antes de tratamiento | 56       | 33.62        | 9.95             | 1.33                              |
| Tamaño luego de tratamiento | 56       | 31.17        | 9.54             | 1.28                              |

**Figura 29**

Gráfica de caja para el tamaño de las plantas antes y después de su aplicación a las muestras de ARs (Minitab versión 19.1.01.)



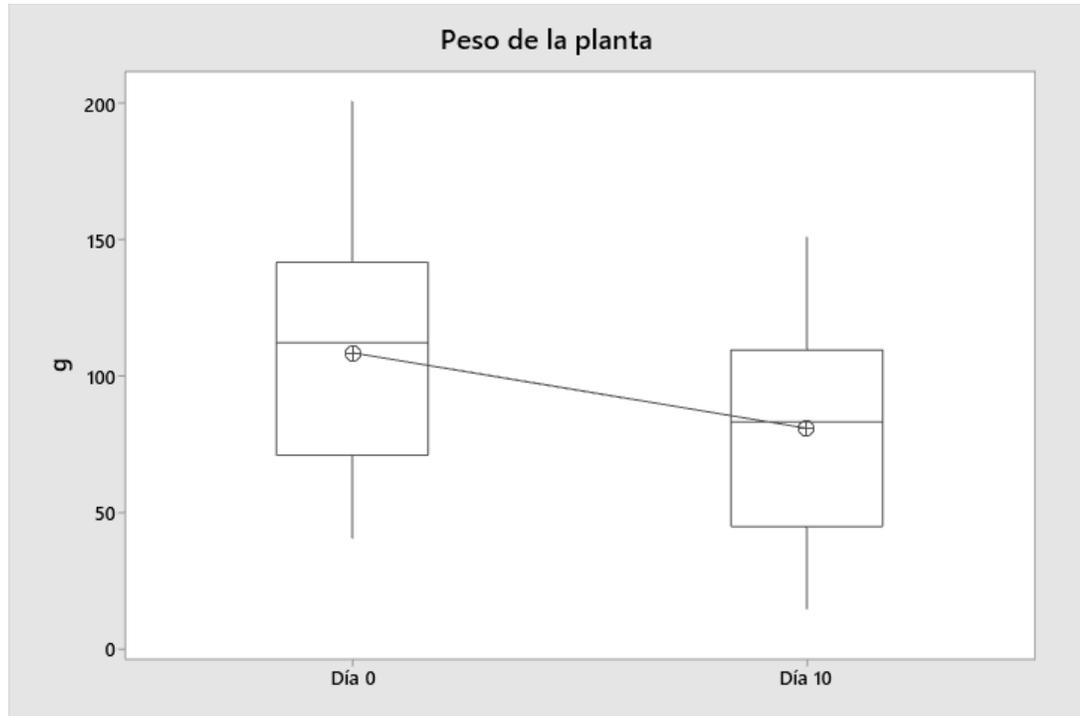
**Tabla 49**

Estadística descriptiva para el peso (g) de las plantas utilizadas tanto antes como después de la aplicación a las muestras de AR (Minitab versión 19.1.01.)

| Muestra               | N  | Media  | Desv.Est. | Error estándar de la media |
|-----------------------|----|--------|-----------|----------------------------|
| Peso pre tratamiento  | 56 | 108.57 | 40.87     | 5.46                       |
| Peso post tratamiento | 56 | 80.93  | 37.16     | 4.97                       |

### Figura 30

Gráfica de caja para el peso de las plantas antes y después de su aplicación a las muestras de ARs (Minitab versión 19.1.01.)



## 4.2.DISCUSIÓN

### 4.2.1.Desinfección del agua mediante UV-C

Al aplicar luz UV-C a las muestras de ARs utilizando la lámpara de pecera a longitud de onda de 254 nm tanto en la parte A como en la B (**ver sección 3.1.3**), se obtuvo un 100 % de desinfección empleando combinaciones de las variables de tiempo de exposición y distancia de la fuente de luz (**Tabla 15, sección 4.1.2**). La remoción de los microorganismos se debe a que la radiación UV-C es absorbida por el ADN y ARN a los 200-300 nm de longitud de onda con un pico máximo en 265 nm. Ésta causa cambios fotoquímicos y, por consiguiente, daños en la estructura del ADN. Los fotones de UV-C absorbidos rompen los enlaces de hidrógeno en las bases nitrogenadas del ADN causando modificaciones químicas de las nucleoproteínas originando enlaces covalentes entre dos moléculas de timinas adyacentes (dímero de timina). Si se forman un número crítico de dímeros de timina, esto altera la estructura de las hélices del ADN y los bloques de replicación de las bacterias, impidiendo la reproducción y ocasionando la muerte de la misma (Bolton y Cotton, 2008; Correa *et al.*, 2020).

En un estudio realizado por Rattanakul y Oguma (2018), obtuvieron una mayor tasa de inactivación de especies patógenas a 265 nm. Sin embargo, con la *E. coli* encontraron tasas de inactivación similares tanto en 265 nm UV-LED y 254 nm LPUV, siendo esta última longitud de onda la empleada en el presente estudio. Según los resultados que obtuvieron, esta longitud de onda es efectiva para las células bacterianas vegetativas de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *L. pneumophila*.

Otro estudio realizado por Rossel Bernedo *et al.*, (2020), obtuvieron una inactivación total de coliformes totales y termotolerantes en las muestras de agua a una longitud de onda dominante de 245 nm a una dosis de 0.00176 W/cm<sup>2</sup>/s con un tiempo mínimo de exposición de 4s. Sin embargo, en el presente estudio se utilizó una dosis de 58.50 mJ/cm<sup>2</sup> a 15 minutos de exposición (900 s) y 117.00 mJ/cm<sup>2</sup> a 30 minutos de exposición (1,800s) obteniendo resultados de inactivación similares a los de Rossel Bernedo *et al.*, (2020), pero con una dosis y tiempo de exposición mayor. Sin embargo, en el trabajo realizado por Acosta *et al.*, (2015) empleando una longitud de onda de 254 nm, obtuvieron la inactivación de *E. coli* y coliformes totales con valores menores a 1.1 UFC/100mL. No obstante, encontraron que la inactivación de la *E. coli* fue en un lapso de tiempo menor a la de los coliformes totales. Para *E. coli* requirió de 270 s con dosis de 9 352.8 mWs/cm<sup>2</sup> y para los coliformes totales requirió de 300 s con una dosis de 10 392 mWs/cm<sup>2</sup>. Para los mesófilos, al aplicar el mismo tiempo y dosis en los coliformes totales, obtuvieron valores menores a 100UFC/mL de un inóculo inicial con 20x10<sup>4</sup> UFC/mL, por lo que recomienda exposiciones mayores a 300 s. Según los resultados obtenidos en el presente estudio (**Tabla 15, sección 4.1.2**), en un tiempo de 900 s se logró la inactivación con valores menores a 1.0 UFC/mL de mesófilos y coliformes totales partiendo de un inóculo inicial de 1.63x10<sup>7</sup> UFC/mL. Acosta *et al.*, (2015), mencionan que aumentaron los tiempos de irradiación debido a la alta turbiedad que presentaban las muestras en donde, aún al disminuirla a 4 UNT, encontraron *E. coli* y coliformes totales, por lo que mencionaron que mientras más alta sea la turbiedad del agua, es menor la inactivación. Esto se debe a que las partículas suspendidas actúan como escudo para las bacterias evitando que tengan

contacto con el haz de luz UV-C. Al comparar los resultados con los obtenidos en el presente estudio, las muestras de agua tenían un promedio de S.T.D de 373.55 mg/L (1 122 UNT) post planta en 1 gal obteniendo una reducción mínima de UFC. El efecto germicida es proporcional a la dosis a la cual son expuestas los microorganismos (Correa *et al.*, 2020) y en donde la mayor absorción de UV-C es en longitudes de onda entre 260 y 265 nm la cual coincide con la absorbancia del ácido nucleico, por lo que la longitud de onda de 254 nm es la más próxima a la mencionada (Correa *et al.*, 2020; Rattanakul y Oguma, 2018).

En un estudio realizado por Cristiani *et al.*, (2019), en donde utilizó una lámpara de 15 W y con una radiación de 10.5 mW/cm<sup>2</sup> obtuvieron que al irradiar la muestra de agua con *E. coli* y la otra con *P. aeruginosa*, obtuvieron que entre los 18 y 30 s de exposición lograron una inactivación del 99.99 % en ambos microorganismos. Emplearon la técnica de ERIC-PCR para la detección del daño inducido por la radiación a los microorganismos de estudio. Evidenciaron que el daño fue observado como la desaparición de las bandas con mayor tamaño molecular en los geles de agarosa, siendo observado a los 12 s en *E. coli* y para *P. aeruginosa* fue a los 30 s. Sin embargo, la eficacia de inactivación dependerá de la sensibilidad de los microorganismos presentes en las muestras de agua ante la radiación UV-C, la dosis aplicada, la carga bacteriana, la turbidez, el volumen de agua, entre otros factores (Acosta *et al.*, 2015; Bolton y Cotton, 2008; Cristiani *et al.*, 2019; Rattanakul y Oguma, 2018). En nuestro estudio obtuvimos un 100 % de eficiencia de desinfección lo cual sugiere que las dosis aplicadas fueron altas para los microorganismos presentes en nuestras muestras de ARs, por ende, para determinar una dosis óptima mínima se

tendría que realizar bioensayos con menores tiempos de exposición a 15 minutos para comparar los resultados con los estudios expuestos anteriormente y otros.

#### **4.2.2. Fitorremediación de parámetros físico químicos con *E. crassipes***

Se seleccionaron plantas de la especie *E. crassipes* para comprobar su potencial biorremediador para el tratamiento de ARs (Ansari *et al.*, 2020; Vargas-Perdomo *et al.*, 2018). Se analizaron distintos parámetros para comprobar su eficiencia de remoción (**ver sección 4.1.4**). En la medición de la temperatura obtuvimos una disminución promedio de 0.31 °C en los siete bioensayos realizados. Según García (2012), la disminución de la temperatura puede deberse a que la macrófita posee hojas anchas y gruesas que abarcan una mayor superficie de la lámina de agua del estanque generándole sombra. Además, el manto que forman debido a su rápido crecimiento puede provocar una disminución de hasta de 3.9 °C. La temperatura es de gran importancia en los sistemas de tratamiento, en donde a mayor temperatura habrá una alta tasa de biodegradación (Chen *et al.*, 2008) y eficiencia en la absorción de nutrientes (García, 2012).

En algunos estudios han reportado una disminución de 0.57 °C (Ayala *et al.*, 2018), 3.33 °C (León Suárez, 2017), mientras que Quispe *et al.* (2017) reportaron un aumento de 1.1 °C.

Para el parámetro S.T.D. obtuvimos un valor promedio inicial de 400±162 mg/L el cual descendió hasta un promedio final de 374±161 mg/L representando una remoción del 8.52 % con *E. crassipes* (**Tabla 46, sección 4.1.5**). Los S.T.D. son aquellas partículas menores a 10<sup>-3</sup> de diámetro las cuales son capaces a atravesar un filtro específico (von Sperling, 2007). Según la normativa panameña DGNTI-COPANIT

35-2000 (Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000), el LMP para S.D.T. es de 500 mg/L, por lo que el promedio obtenido en nuestro estudio está dentro del LMP (**Tabla 41**).

García (2012) reportó una disminución del 65 % de la materia suspendida en trece días. Esto debido a la asimilación por parte de *E. crassipes* y por el efecto de sedimentación. También menciona que obtuvo un 52 % de remoción sin plantas acuáticas, pero hubo un aumento de la materia disuelta después de dos semanas de tiempo de retención hidráulica (TRH) (García, 2012). Por el contrario, León Suárez (2017) reportó en su trabajo un aumento en la concentración de este parámetro con *E. crassipes*; mientras que con las demás especies que utilizó la concentración disminuyó, pero las diferencias no fueron significativas. Quispe *et al.* (2017), monitorearon los sólidos totales y obtuvieron un aumento del 2 %.

Para el pH, el valor inicial promedio fue de 7.99 el cual disminuyó hasta  $7.70 \pm 0.44$  con la aplicación de la macrófita. Esto representó una reducción del 3 %.

El pH influye en diversos procesos bioquímicos, metabólicos; así como en la solubilidad, asimilación y biodisponibilidad de  $\text{CO}_2$  y nutrientes (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017). Además, el pH influye en las formas de nitrógeno  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  en donde se produce una disociación predominando el  $\text{NH}_4^+$  a valores inferiores a 9.25 y  $\text{NH}_3$  predominando en valores superiores al pH mencionado. Esto provoca una alta velocidad de remoción de N mediante la volatilización del  $\text{NH}_3$  (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

Según la normativa panameña DGNTI-COPANIT 35-2000 (Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y

subterráneas, 2000), el intervalo del potencial de hidrógeno debe estar en 5.5-9.0, por lo que el obtenido en nuestro estudio está dentro del LMP (**Tabla 46, sección 4.1.5**).

Ayala Tocto *et al.* (2018), menciona que obtuvieron una disminución de 21.41 % con *E. crassipes* haciendo que las muestras de AR se acerquen a la neutralidad. Z. García (2012), obtuvo una reducción del pH de 10.40 a un promedio de 6.86 con *E. crassipes* mientras que con *L. minor* fue hasta 9.8, siendo *E. crassipes* la más eficiente para este parámetro en sistema de flujo discontinuo. Esta disminución puede deberse a la degradación y descomposición de materiales orgánicos mediante la biodegradación aeróbica alrededor de la zona de las raíces disminuyendo el pH debido a la producción de dióxido de carbono (Chen *et al.*, 2008).

En cuanto al parámetro DQO obtuvimos un promedio inicial de  $353 \pm 267$  mg/L y luego del tratamiento con la macrófita un promedio final de  $267 \pm 384$  mg/L. Estos resultados representan una de remoción del 34 % (**Tabla 46, sección 4.1.5**). Este parámetro indica el consumo de oxígeno disuelto como resultado de la oxidación de la materia orgánica, por lo cual es un parámetro de gran importancia. Un valor alto de este parámetro indica de manera indirecta el nivel de materia orgánica presente en las muestras de AR (von Sperling, 2007). Se esperaba una reducción tal como ha ocurrido, sin embargo, la normativa panameña DGNTI-COPANIT 35-2000 (Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000), el LMP para DQO es de 100 mg/L. A pesar que obtuvimos una remoción, el valor promedio obtenido está por encima del LMP debido a la alta concentración inicial. Cabe destacar que en algunos bioensayos el valor final de DQO

disminuyó hasta un 66-70 % (**Figura A4**), pero aún superan el LMP para la descarga directa a cuerpos de agua.

En el estudio realizado por Quispe *et al.* (2017), obtuvieron un promedio inicial de 16.94 mg/L y luego del tratamiento con *E. crassipes*, una reducción del 50 % empleando sistemas flotantes con un TRH de tres a cinco días. Kumar y Deswal (2020), reportó una reducción de 72 % en 15 días de aplicación de la planta a una muestra de ARs procedentes de los molinos de arroz. Ayala *et al.* (2018) reportó una mayor eficiencia de remoción de este parámetro con *E. crassipes* obteniendo un 90.77 %, seguido de *Nasturtium officinale* con 84.77 % y *Nymphoides humboldtiana* con 82.12 %.

#### **4.2.3.Requerimientos nutricionales**

Para el parámetro de amonio se obtuvo una remoción del 83 % (**Tabla 46, sección 4.1.5**). La presencia de este parámetro deriva de la urea principalmente por lo que es un indicador de AR sin tratar, contaminación reciente en un curso de agua, en las etapas intermedias de contaminación de los cursos de agua (von Sperling, 2007). Esto coincide con el regreso de los estudiantes a clases los cuales emplean los baños de los laboratorios razón por la cual a medida que las clases se reanudaban, la concentración de amonio aumentó (**Figura A1**) como resultado del desecho de la urea a través de la orina mediante el ciclo de la urea para la eliminación del nitrógeno de las proteínas (Mathews *et al.*, 2013).

Las formas de nitrógeno amoniacal en medio acuoso están influenciadas por el pH en donde la disociación de amonio-amoniaco ocurre a partir de valores superiores a 8 (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017). La alta absorción del amonio genera H<sup>+</sup> lo cual reduce

el pH del medio acuoso (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017) resultado que se observó en los bioensayos donde hubo un descenso de la concentración de amonio, disminuía el pH (**Figura A7**). Por el contrario, en los bioensayos donde disminuía la concentración de nitratos, el pH aumentaba. Esto puede deberse a que la asimilación de  $\text{NO}_3^-$  produce  $\text{OH}^-$  (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

Fernández *et al.* (2006), mencionan que de las formas de nitrógeno amonio, nitrito, nitrato, aminoácidos, entre otros, hay una mayor asimilación de amonio como fuente de nitrógeno debido a que su absorción no requiere un alto costo energético al reducir la síntesis de enzimas para las distintas vías alternativas; también requiere menos energía para la asimilación de nitrógeno de forma orgánica. Por otra parte, reducirse la concentración de amonio, las plantas utilizan eficientemente las formas oxidadas del nitrógeno (nitratos y nitritos) (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017; Fernández *et al.*, 2006). Esto se pudo observar cuando a partir del bioensayo cuatro, se obtuvo una concentración inicial alta de amonio la cual disminuyó con el tratamiento con planta; pero la concentración de nitratos aumentó gradualmente (**Figura A1 y A2**). No obstante, en los tres primeros bioensayos donde la concentración nitratos era más alta que la del amonio, la cual estaba por debajo del rango medible TNT832, se observó una disminución de los nitratos.

La normativa panameña para la descarga de efluentes líquidos a cuerpos de agua DGNTI-COPANIT 35-2000 (Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000) menciona sobre el parámetro nitrógeno amoniacal siendo el LMP de 3 mg/L, En nuestro estudio se realizó análisis del parámetro amonio y nitratos (**Tabla 41**).

En el estudio realizado por Z. García (2012) empleando flujo continuo con dos reactores y tiempo de retención de 5 días, obtuvo una remoción de 85.7 % del nitrógeno amoniacal. Esto es equivalente a una remoción promedio de 6 mg/L. Fernández *et al.* (2006) menciona que el amonio se incorpora a los esqueletos de carbono mediante el ciclo glutamina sintetasa/glutamato sintasa en forma de L-glutamato, siendo el principal proveedor de nitrógeno para las distintas rutas biosintéticas, y también se integra en la formación de aminoácidos.

Para los nitratos se obtuvo un incremento de la concentración (**Tabla 41**). Sin embargo, se mencionó que en dos bioensayos los análisis de este parámetro se realizaron tiempo después de la toma de la muestra, ya que no se disponía de los sobres NitraVer 8039 HR marca HACH. Sin contar estos bioensayos mencionados, se obtuvo una reducción del 11 %. En medio acuoso el nitrato es la forma más oxidada y con mayor estabilidad termodinámica, por lo cual es la que predomina en el medio acuoso siendo la fuente principal de nitrógeno (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

La normativa panameña para la descarga de efluentes líquidos a cuerpos de agua DGNTI-COPANIT 35-2000 (Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000) menciona sobre el parámetro nitrógeno amoniacal siendo el LMP de 3 mg/L, En nuestro estudio se realizó análisis del parámetro amonio y nitratos (**Tabla 41**).

Para el análisis de los fosfatos obtuvimos una disminución de un promedio inicial de  $24.18 \pm 10$  mg/L a un promedio final de  $8.75 \pm 4$  mg/L. Esto representa una eficiencia de remoción del 57 % (**Tabla 41 y Figura A3**). La normativa panameña para la descarga de efluentes líquidos a cuerpos de agua DGNTI-COPANIT 35-2000 (Agua.

Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, 2000) menciona sobre el parámetro fósforo total mientras que en nuestro estudio se realizaron análisis para ortofosfatos (**Tabla 41**). Sin embargo, en nuestros resultados (**Tabla 46, sección 4.1.5**) se puede evidenciar una eficiencia en la remoción por lo que se podría emplear en ARs con altas concentraciones de fosfatos. La disminución de los fosfatos puede deberse a que la planta asimila este macronutriente principalmente como ion ortofosfato primario ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y ortofosfato secundario ( $\text{HPO}_4^-$ ) a través de las raíces (Bhattacharya, 2018). Durante la asimilación, estos son incorporados a compuestos orgánicos mediante el proceso de fosforilación en donde la mayor parte de los fosfatos son captados para la generación de adenosin trifosfato (ATP) a partir de la adenosin difosfato (ADP) (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017; Bhattacharya, 2018). Este macronutriente también es importante para la asimilación fotosintética de carbono y síntesis de proteínas (Bhattacharya, 2018).

Z. García (2012), empleando un sistema de flujo continuo, obtuvo una reducción de fosfatos de 13.5 a 8.2 mg/L hasta el primer efluente, mientras que en el segundo disminuyó hasta los 6.5 mg/L. Esto representó una eficiencia del 39.26 % y 51.85 % respectivamente. El TRH que utilizó fue de 5 días mientras que en nuestro estudio fue de 10 días empleando un sistema discontinuo. Kumar y Deswal (2020) reportó que *E. crassipes* fue la segunda planta acuática con mayor eficiencia en la remoción de fósforo durante 15 días de tratamiento a una muestra de AR en donde este parámetro lo midieron cada día.

#### **4.2.4.Observaciones visuales en *E. crassipes***

En nuestros bioensayos las hojas de las macrófitas de cada sistema empezaron tornarse amarillas y algunas llegaron a secarse. También observamos una reducción en el tamaño y peso de la planta. Para el tamaño obtuvimos un promedio inicial de  $34\pm 10$  cm y después de tratamiento un promedio final de  $32\pm 10$  cm. Para el peso los valores obtenidos fueron de un promedio inicial de  $109\pm 41$  g y luego de tratamiento,  $81\pm 37$  g. Autores como Kumar y Deswal (2020) y Quispe *et al.* (2017) mencionan que posiblemente este efecto se deba a la alta concentración de la materia orgánica y DQO, al bajo nivel de oxígeno disuelto en la muestra de AR causando estrés en la planta. En los análisis para DQO antes del tratamiento con planta obtuvimos valores altos de DQO (**Tabla 46, sección 4.1.5**) por lo que podría haber afectado a las plantas utilizadas. Por otro lado, Theeta *et al.* (2018) mencionan que algunas de las respuestas de *E. crassipes* a la presencia de metales pesados en ARs como cadmio, cromo, zinc, entre otros, pueden provocar la reducción en su crecimiento, clorosis, marchitamiento de sus hojas, necrosis, disminución de la altura y de la longitud de las raíces, hasta la muerte de las plantas a concentraciones elevadas de esos metales. Andrade *et al.* (2019), menciona que a partir de una concentración de 50mg/L de cromo hexavalente con una exposición de 10 días, *E. crassipes* muestra pérdida del tejido vegetal, reducción del 12 % en la biomasa húmeda y un decrecimiento significativo. Por lo cual sería importante realizar análisis de metales a las muestras de ARs.

#### **4.2.5.Fitorremediación de bacterias**

Para comprobar el potencial de remoción de bacterias, en nuestros bioensayos y bajo nuestras condiciones se obtuvo un porcentaje de eliminación promedio del 86

% de UFC/mL encontrando diferencias significativas con la muestra de agua antes de tratamiento y control. Las muestras de AR presentaban altas concentraciones bacterianas, pero en la mayoría de los bioensayos se logró hasta un 98-99 % de remoción; mientras que en el primer bioensayo se obtuvo el menor porcentaje con un 34.17 % lo cual puede estar relacionado con la edad y tamaño de las plantas ante la alta concentración bacteriana (**Figura A8**). En el estudio realizado por León Suárez (2017), seleccionó diferentes especies de plantas con potencial de fitorremediación sobre *E. coli* y coliformes totales. Estas plantas fueron: *Spirodela intermedia*, *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes*, *Ceratopteris thalictroides*, *Azolla caroliniana*, *Lemna minor* y *Eichhornia crassipes*, siendo esta última la planta estudio en el presente proyecto. En cada bioensayo León Suárez (2017) utilizó un tiempo de exposición de 7 días, mientras que en nuestro estudio fue de 10 días. En el bioensayo de fitorremediación sobre *E. coli* ATCC 25922 obtuvo que *E. crassipes* eliminó un 100 % de *E. coli*. Por otro lado, en el bioensayo con coliformes totales esta macrófita obtuvo la menor tasa de eliminación en comparación a las otras especies; sin embargo, en comparación al blanco, la reducción fue significativa. Para el bioensayo con aguas negras obtuvo el mismo resultado que en los dos bioensayos mencionados anteriormente, respectivamente. Solo *S. auriculata* y *A. caroliniana* alcanzaron el 100 % de eficiencia tanto para *E. coli* y coliformes totales. En otros estudios han obtenido un porcentaje de remoción del 99.90 % para *E. coli* y para coliformes termotolerantes (Huamani *et al.*, 2021). Ayala Tocto *et al.* (2018) menciona que obtuvo un 91.92 % de reducción de los microorganismos patógenos y 92.25 % para coliformes fecales con *E. crassipes*, mientras que con *N. humboldtiana* obtuvo una eficiencia del 93.46 % y 93.8%,

respectivamente, siendo esta la especie más eficiente. Estos porcentajes son similares a los obtenidos en cuatro de los siete bioensayos realizados en nuestro estudio. No obstante, la concentración bacteriana final aún supera el límite máximo permisible para descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masa de agua superficiales y subterráneas establecido por el reglamento técnico DGNTI-COPANIT 35-2000 Ayala Tocto *et al.* (2018) también mencionaron que la carga bacteriana después de tratamiento, está por encima del límite máximo permisible. Esto lo atribuyen a la alta carga inicial que presentaba la muestra de AR.

Por otro lado, en un estudio realizado por Kahol *et al.* (2018), utilizaron *E. crassipes*, como biofiltro contra coliformes debido a su actividad antimicrobiana. En la composición fitoquímica de esta especie han encontrado metabolitos secundarios bioactivos (polifenoles, flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenoides, antoquinonas entre otros) en sus extractos los cuales poseen actividad antimicrobiana, alelopática, larvicida e insecticida (Ben Bakrim *et al.*, 2022; Lalitha y Jayanthi, 2012). La actividad antimicrobiana podría deberse a la presencia de taninos en donde el mecanismo consiste en la capacidad que tienen para unirse a las proteínas, inhibiendo la síntesis de proteínas celulares (Lalitha y Jayanthi, 2012). No obstante, Kahol *et al.* (2018) obtuvieron una mayor concentración de bacterias en las muestras analizadas luego de la aplicación del biofiltro, en comparación a las muestras antes de la aplicación del biofiltro. Sin embargo, sus resultados no mostraron diferencias significativas entre ambas muestras. Cabe resaltar que las muestras obtenidas en su estudio fueron con flujo del río, mientras que en nuestro estudio se utilizaron sistemas piloto de flujo discontinuo.

#### **4.2.6. Identificación de bacterias**

En el estriado en placa con agar MacConkey permitió separar las colonias fermentadoras de lactosa (colonias rosadas y rojas) de las que no fermentadoras de lactosa (colonias blancas o incoloras) (**Figura 26A**), ya que es un medio selectivo y diferencial para enterobacterias inhibiendo el crecimiento de especies como *Staphylococcus* (Madigan *et al.*, 2009). La fermentación de la lactosa disminuye el pH alrededor de la colonia produciendo un color de indicador de pH (rojo neutro), absorción en las colonias y precipitación de sales biliares (MacFaddin, 2003).

En el estriado en medio MSA dio positivo para *Staphylococcus*. Este medio es selectivo y diferencial para la identificación de *Staphylococcus* debido a su alta concentración de cloruro de sodio (NaCl) lo cual evita el crecimiento de otras bacterias. Además, contiene manitol como fuente de carbohidrato el cual es fermentado produciendo ácido ocasionando la modificación del pH lo cual se puede observar la haber un cambio de color rojo a amarillo debido al indicador rojo fenol presente el medio (**Figura 26B**) (Rodríguez, 2005).

La prueba TSI es empleada para diferenciación de enterobacterias en base a la fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa. Los tubos con una coloración amarilla en la profundidad del mismo indica que la especie bacteriana presente solo fermenta la glucosa produciendo ácidos; mientras que las que fermentan la lactosa y sacarosa producen ácidos en la superficie inclinada. El rojo fenol es el indicador de pH (Madigan *et al.*, 2009; Scharlau Microbiología, 2022).

En la prueba en citrato de Simmons las especies que dieron positivo se observó un cambio de color de verde a azul en el medio debido al indicador de pH azul de

bromotimol. Esto indica que utilizaron el citrato como única fuente de carbono y el fosfato monoamónico como fuente de nitrógeno. (Laboratorio Britania S.A., 2021; Madigan *et al.*, 2009).

Para la prueba SIM, los tubos en donde se observó un enturbiamiento del medio indicaron la capacidad de movilidad del microorganismo. Además, los que dieron positivo para la prueba indol, se debe a la capacidad que tienen las bacterias de producir indol a partir del metabolismo del triptófano (Laboratorios Britania S.A., 2015).

En la prueba de urea, la especie *Klebsiella pneumoniae* fue la que dio positivo indicando que hidroliza la urea por medio de la enzima ureasa liberando la medio amoníaco y dióxido de carbono.

Prueba Voges Proskauer (VP), las especies que dieron positivo evidenciaron la presencia productos finales neutros derivados del metabolismo de la glucosa. Al adicionar hidróxido de potasio y alfa naftol a los cultivos, se produce una coloración rojiza debido a la oxidación del acetimetil carbonil (acetoína) a diacetilo el cual reacciona con la peptona del medio (MacFaddin, 2003; Madigan *et al.*, 2009).

Por último, en la prueba de catalasa las especies que dieron positivo indicaron su capacidad para descomponer el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Madigan *et al.*, 2009).

#### **4.2.7. Posibles mecanismos de eliminación y remoción**

*E. crassipes* posee un sistema denso de raíces que les permite absorber los nutrientes y metales necesarios para su metabolismo (Quispe *et al.*, 2017). En algunos estudios mencionan que *E. crassipes* puede tener microorganismos asociados en su sistema radical fibroso los cuales usan el oxígeno disuelto para su respiración, de esta

manera favorece la acción depuradora de parámetros físicos, remoción de compuestos orgánicos y microorganismos patógenos (Alvarado y Manayay, 2020; Ayala Tocto *et al.*, 2018; Paima y Vásquez, 2021; Quispe *et al.*, 2017). Grupos específicos de estos microorganismos asociados son responsables de procesos como la nitrificación en donde ocurre la transformación del amonio a nitratos por microorganismos que usan el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono y la desnitrificación la cual reduce los nitratos a nitrógeno gaseoso mediante microorganismos facultativos cuando la concentración de OD es menor a 0.2 mgO<sub>2</sub>/L (García, 2012; Ramírez-Muñoz *et al.*, 2023). Otro mecanismo puede ser que los microorganismos presentes en las raíces producen sólidos que flocculan los cuales llegan a sedimentarse (Quispe *et al.*, 2017).

El mecanismo de la precipitación de los fosfatos mediante la vía coprecipitación química con el Ca<sup>2+</sup> formando fosfato de calcio se sedimenta (Beltrán-Rocha *et al.*, 2017).

El TRH es un importante mecanismo en la remoción de nutrientes en donde la tasa de remoción es proporcional al tiempo de retención por lo que, a mayor exposición, mayor será la tasa de remoción (Kumar y Deswal, 2020). En nuestro estudio, se utilizó un TRH de 10, sin embargo, no se logró alcanzar los LMP en la mayoría de los parámetros por lo que habría que realizar bioensayos con un TRH mayor para lograr alcanzar los LMP para descarga directa. Además, Quispe *et al.* (2017), menciona que las plantas utilizadas en sistemas de depuración, necesitan un tiempo de adaptación, aproximadamente de 2 a 4 semanas, a la muestra de AR debido

a que antes de esto las macrófitas se encuentran estresadas y no permite una mayor captación de nutrientes.

La reducción de la alta carga bacteriana puede deberse a la muerte natural de las bacterias debido a que los coliformes al abandonar el huésped y llegar a muestras de AR, se reduce un 30 % de *E. coli*, por lo que al agregar plantas como *E. crassipes* a muestras de ARs, generan un déficit de nutrientes y causa la alteración de parámetros físico-químicos como la temperatura, pH, sedimentación, entre otros, de esta manera afectando la población bacteriana (Huamani *et al.*, 2021; León Suárez, 2017; Wu *et al.*, 2016). En el trabajo realizado por León Suárez (2017), encontró que al descender la concentración de S.T.D. mediante precipitación, la población bacteriana también descendía, obteniendo valores en el control de 647 ppm de S.T.D y de coliformes fecales de  $524 \times 10^8$  UFC/100; mientras que con la macrófita obtuvo 418 mg/L de S.T.D. y de coliformes totales de  $1 \times 10^2$  UFC/100 mL.

La adsorción es otro mecanismo que influye en la eliminación de bacterias debido a su adhesión a las raíces de las plantas en donde la fuerza de interacción dependerá de las propiedades adhesivas y de la composición iónica del medio (Wu *et al.*, 2016). Sin embargo, las raíces de la macrófita pueden saturarse por lo que la máxima eliminación ocurriría en los comienzos operativos del proceso de fitorremediación (Wu *et al.*, 2016), pero no se descarta que una vez saturada la macrófita ésta regule las poblaciones adheridas a su raíz mediante la liberación de sustancias activas alelopáticas (Nezbrytska *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2016). León Suárez (2017) reportó que *E. crassipes* eliminó algunas especies bacterianas, pero otras proliferaron al estar adheridas al rizoma formando un clúster o biopelícula encontrando

coliformes totales y fecales asociados de manera natural a la raíz de la macrófita. Carreño (2020), menciona que la asimilación de nutrientes como el fósforo y nitrógeno, se debe en gran parte a la intervención de las bacterias asociadas al sistema radicular fibroso de la macrófita en donde estas convierten los compuestos orgánicos, nitrogenados y fosforados en formas más simples lo cual facilita a la planta asimilarlos. Por ejemplo, el ortofosfato soluble es la forma más aprovechable por los microorganismos, transformándolos en fósforo inorgánico soluble, siendo esta última forma la asimilable por la planta para su metabolismo (Carreño, 2020; Kumar y Deswal, 2020).

Mediante pruebas confirmatorias para la identificación de las bacterias de las muestras de AR se identificó la especie *Pseudomonas fluorescens* la cual se puede encontrar asociada al sistema radicular de la planta y está relacionada con los procesos de nitrificación y desnitrificación biológica (Carreño, 2020; Sol *et al.*, 2020), lo cual estaría relacionado con los valores atípicos en los bioensayos cuatro y cinco debido al análisis tardío de la muestra de AR tratada. También se identificaron *K. pneumoniae* y *E. cloacae* las cuales han sido reportadas asociadas a las raíces de *E. crassipes* (Rojas, 2005).

**CAPÍTULO V**  
**CONSIDERACIONES FINALES**

## 5.1.CONCLUSIONES

- Empleando *E. crassipes* a escala piloto mediante el sistema discontinuo y con un TRH de 10 días, se obtuvo una remoción de parámetros físico-químicos como el amonio, ortofosfatos, DQO, pH, temperatura y S.T.D. No obstante, se obtuvo un aumento en la concentración de los nitratos.
- El tratamiento con *E. crassipes* disminuyó las UFC/mL, sin embargo, no se pudo comparar este valor al no estar especificado el LMP en el reglamento técnico DGNTI-COPANIT 35-2000 para la descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de aguas superficiales
- A pesar de obtener una gran eficiencia de remoción en la mayoría de los parámetros físico-químicos y microbiológicos empleando solo la macrófita, sólo el pH se encuentra dentro de los LMP establecidos, debido a la alta concentración inicial en todos los parámetros analizados.
- La presencia de bacterias asociadas al sistema radical de *E. crassipes* como *Pseudomonas fluorescens*, puede facilitarle la absorción de fósforo mediante la transformación del fósforo orgánico a inorgánico.
- La desinfección bacteriana mediante la aplicación de radiación UV-C ( $250\pm 10$  nm) fue efectiva obteniendo un 100 % de desinfección en los bioensayos combinados de distancia de la

fuentes de luz de 2 y 8 cm, y con tiempos de exposición de 30 y 15 min. La dosis aplicada en 30 minutos de exposición fue de 117.0 Ws/cm<sup>2</sup> y para 15 minutos, 58.5Ws/cm<sup>2</sup>.

- Al aplicar radiación UV-C al remanente bacteriano luego del tratamiento con *E. crassipes*, se obtuvo un 100 % de desinfección aplicando la combinación de variables de tiempo y distancia descritas, por lo que se obtendría una AR libre de microorganismos patógenos.

## 5.2.RECOMENDACIONES

- Realizar bioensayos con sistemas de flujo continuo para comparar los resultados con los obtenidos en el presente proyecto.
- Durante los bioensayos se observó que la macrófita mostraba síntomas de clorosis, necrosis, entre otros, por lo que se recomienda realizar análisis de metales para verificar si están presentes en las muestras de AR a tratar.
- Realizar un proceso de adaptación a las macrófitas con las muestras de AR a tratar y emplear otros TRH para verificar su capacidad biorremediadora.
- Algunos autores han reproducido *in vitro* las macrófitas a utilizar para que estas tengan la misma edad y condiciones antes de tratamiento, para tratar de evitar variaciones significativas entre las réplicas como sucedió en nuestros bioensayos en donde cada planta era distinta en edad, tamaño de la planta y sistema radicular, ya que fueron las que se muestrearon.
- Realizar pruebas con otros tipos de ARs para evaluar la eficiencia de remoción y su adaptación a estas.
- Se recomienda utilizar otras macrófitas con potencial biorremediador y llevarlo a escala de humedales artificiales con aquellas que tienen una alta eficiencia de remoción de parámetros físico-químicos y microbiológicos.

- Desarrollar estudios empleando biofilms monoespecie y multiespecie para determinar la influencia en la captación y asimilación de nutrientes en *E. crassipes*.
- Realizar bioensayos de desinfección con radiación UV-C realizando variaciones de tiempo menor a 15 minutos que fue el tiempo mínimo de desinfección empleado en nuestro estudio y en onde se obtuvo 100 % de eficiencia.

### 5.3.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, P., Caro, C., & Perico, N. (2015). Análisis de interferencia de parámetros físicos del agua, en desinfección por radiación UV. *Revista de Tecnología*, 14(2), 105–112.
- Agua. Descarga de efluentes líquidos directamente a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas, Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 35-2000 59 (2000).
- Alade, G. A., & Ojoawo, S. O. (2009). Purification of domestic sewage by water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *International Journal of Environmental Technology and Management*, 10(3–4), 286–294. <https://doi.org/10.1504/IJETM.2009.023735>
- Alvarado, J., & Manayay, J. (2020). Uso de la *Eichhornia Crassipes* (Jacinto de agua) para el tratamiento de aguas residuales domésticas en humedales artificiales [Universidad César Vallejo]. En *Repositorio Institucional - UCV*. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/60126>
- Andrade Avalos, M. L., Borja Mayorga, D. F., & García Veloz, M. J. (2021). Diseño y cotización de una planta de tratamiento de aguas residuales para parroquias rurales del Cantón Riobamba - Provincia de Chimborazo-Ecuador. *Conciencia Digital*, 4(2), 198–214. <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v4i2.1659>
- Andrade, C., Cáceres, A., Vera, A., & Morales, E. (2019). Tolerancia de las plantas acuáticas *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes* al cromo hexavalente en medio acuoso. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*, 36(4), 343–365.

- Ansari, A. A., Naeem, M., Gill, S. S., & AlZuaibr, F. M. (2020). Phytoremediation of contaminated waters: An eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(4), 371–376. <https://doi.org/10.1016/J.EJAR.2020.03.002>
- Atencio, I., Castro, V., Miranda, K., González, Y., & Franco, V. D. de. (2024). Evaluación de la capacidad de remoción de fosfato del helecho de agua (*Salvinia minima*) en humedales artificiales. *Revista de Iniciación Científica*, 10(1), 21–28. <https://doi.org/10.33412/REV-RIC.V10.1.3999>
- Auchterlonie, J., Eden, C. L., & Sheridan, C. (2021). The phytoremediation potential of water hyacinth: A case study from Hartbeespoort Dam, South Africa. *South African Journal of Chemical Engineering*, 37, 31–36. <https://doi.org/10.1016/J.SAJCE.2021.03.002>
- Ayala, R., Calderón, E., Rascón, J., & Collazos, R. (2018). Fitorremediación de aguas residuales domésticas utilizando las especies *Eichhornia crassipes*, *Nymphoides humboldtiana* y *Nasturtium officinale*. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 2(3), 48–53. <https://doi.org/10.25127/APS.20183.403>
- Ayanda, O. I., Ajayi, T., & Asuwaju, F. P. (2020). *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms: Uses, Challenges, Threats, and Prospects. *Scientific World Journal*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3452172>
- Beltrán-Rocha, J. C., Guajardo-Barbosa, C., Barceló-Quinta, I. D., & López-Chuken, U. J. (2017). Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO<sub>2</sub>.

*Revista de biología marina y oceanografía*, 52(3), 417–427.

<https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000300001>

Ben Bakrim, W., Ezzariai, A., Karouach, F., Sobeh, M., Kibret, M., Hafidi, M., Kouisni, L., & Yasri, A. (2022). *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms: A Comprehensive Review of Its Chemical Composition, Traditional Use, and Value-Added Products. *Frontiers in Pharmacology*, 13.

<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.842511/FULL>

Bhattacharya, A. (2018). Changing climate and resource use efficiency in plants. En *Changing Climate and Resource use Efficiency in Plants* (1a ed.). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/C2017-0-04681-5>

Bohórquez-Ballén, J., Fernando, J., Mogollón, P., & -Ballén, B. (2007). Radiación ultravioleta. *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular*, 5(9), 97–104.

<https://doi.org/https://doi.org/10.19052/sv.1520>

Bolaños-Alfaro, J. D., Cordero-Castro, G., Segura-Araya, G., Bolaños-Alfaro, J. D., Cordero-Castro, G., & Segura-Araya, G. (2017). Determinación de nitritos, nitratos, sulfatos y fosfatos en agua potable como indicadores de contaminación ocasionada por el hombre, en dos cantones de Alajuela (Costa Rica). *Revista Tecnología en Marcha*, 30(4), 15–27. <https://doi.org/10.18845/TM.V30I4.3408>

Bolton, J. R., & Cotton, C. A. (2008). *The ultraviolet disinfection handbook* (1st ed.). American Water Works Association.

Bracho, N., Castillo, J., Vargas, L., & Morales, R. (2009). Formación de trihalometanos durante el proceso de desinfección en la potabilización de agua. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 32(3), 231–237.

- Brañez Sánchez, M., Gutiérrez, R., Pérez, R., Uribe, C., & Valle, P. (2018). Contaminación de los ambientes acuáticos generados por la industria textil. *Revista Campus*, 23(26). <https://doi.org/10.24265/campus.2018.v23n26.03>
- 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. *Ecosistemas*, 16(2).
- Carreño, U. F. (2020). “*Buchón de agua*” (*Eichhornia Crassipes*): impulsor de la fitorremediación (1a ed.). Fundación Universitaria Los libertadores.
- Castillo-Araya, J. G. (1990). El uso del lirio acuático *Eichhornia crassipes* en el tratamiento de aguas residuales. *Tecnología en marcha*, 10(3), 23–28.
- Castillo-Valenzuela, J., Martínez-Guerra, E., & Gude, V. G. (2017). Wetlands for Wastewater Treatment. *Water environment research*, 89(10), 1163–1205. <https://doi.org/10.2175/106143017X15023776270269>
- Chen, S. W., Kao, C. M., Jou, C. R., Fu, Y. T., & Chang, Y. I. (2008). Use of a Constructed Wetland for Post-Treatment of Swine Wastewater. *Environmental Engineering Science*, 25(3), 407–417. <https://doi.org/10.1089/EES.2007.0004>
- Chowdhary, P., Bharagava, R. N., Mishra, S., & Khan, N. (2020). Role of Industries in Water Scarcity and Its Adverse Effects on Environment and Human Health. En V. Shukla & N. Kumar (Eds.), *Environmental Concerns and Sustainable Development* (pp. 235–256). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-5889-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-13-5889-0_12)
- Correa, M., Mera, S., Guacho, F., Villarreal, E., & Valencia, S. (2020). Desinfección mediante el uso de luz UV-C germicida en diferentes medios como estrategia

preventiva ante la COVID-19. *Minerva*, 1(2), 46–53.  
<https://doi.org/10.47460/minerva.v1i2.11>

Cortázar, A., Coronel, C., Escalante, A., & González, C. (2009). Contaminación generada por colorantes de la industria textil. *Vida Científica Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 4*, 2(3).  
<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa4/article/view/1862/5730>

Cristiani, M., Brandi, R., Tedeschi, F., Zalazar, F., & Labas, M. (2019). Desinfección de agua con UV-C: Estudio del daño al ADN de dos indicadores de Calidad Agua mediante ERIC-PCR. *Contaminación Atmosférica e Hídrica en Argentina*, 532–540.

Delvalle-Borrero, D. M., Medina, J. R., & Fuentes, K. (2022). Humedales artificiales flotantes y su valor paisajista en ríos urbanos - Ciudad de Panamá. *Prisma Tecnológico*, 13(1), 3–9. <https://doi.org/10.33412/PRI.V13.1.2871>

Diaconu, L. I., Covaliu-Mierlă, C. I., Păunescu, O., Covaliu, L. D., Iovu, H., & Paraschiv, G. (2023). Phytoremediation of Wastewater Containing Lead and Manganese Ions Using Algae. *Biology*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY12060773>

Ecomar. (2020). *¿Qué son las aguas residuales?* <https://fundacionecomar.org/que-son-las-aguas-residuales/>

Fábrega, J., Flores, E., Zárate, M., Morán, M., Delvalle, D., Ying, A., Diéguez, M., Deago, E., & Broce, K. (2019). Panamá. En G. Roldán, J. Tundisi, B. Jiménez, K. Vammen, H. Vaux, G. Ernesto, & M. Doria (Eds.), *Calidad del agua en las Américas: Riegos y oportunidades* (IANAS, pp. 501–532).

- Fernández, E., Galván, A., & Quesada, A. (2006). Nitrogen Assimilation and its Regulation. En J. D. Rochaix, M. Goldshmidt-Clermont, & S. Merchant (Eds.), *The Molecular Biology of Chloroplasts and Mitochondria in Chlamydomonas* (pp. 637–659). Kluwer Academic Publishers. [https://doi.org/10.1007/0-306-48204-5\\_33](https://doi.org/10.1007/0-306-48204-5_33)
- Fibras y Normas de Colombia S.A.S. (s/f). *Aguas residuales: Clasificación y características*. Recuperado el 26 de noviembre de 2023, de <https://blog.fibrasynormasdecolombia.com/aguas-residuales-clasificacion-y-caracteristicas/>
- Fuentes, R., Ramos, J., Jiménez, M., & Esparza, M. (2015). Caracterización de la materia orgánica disuelta en agua subterránea del Valle de Toluca mediante espectrofotometría de fluorescencia 3D. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 31(3), 253–264.
- García, R. (2019). *La materia orgánica disuelta en los ambientes dulceacuícolas: Efectos en los ecosistemas, transferencia y transformación*.
- García, Z. (2012). Comparación y evaluación de tres plantas acuáticas para determinar la eficiencia de remoción de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas [Universidad Nacional de Ingeniería]. En *Universidad Nacional de Ingeniería*. <https://repositorio.uni.edu.pe/handle/20.500.14076/1292>
- Gianoli, A., Hung, A., & Shiva, C. (2018). Relación entre coliformes totales y termotolerantes con factores fisicoquímicos del agua en seis playas de la bahía de Sechura-Piura 2016-2017. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 6(2), 62–71. <https://doi.org/10.20453/stv.v6i2.3460>

- Girdhar, M., Sharma, N. R., Rehman, H., Kumar, A., & Mohan, A. (2014). Comparative assessment for hyperaccumulatory and phytoremediation capability of three wild weeds. *3 Biotech*, *4*(6), 579–589. <https://doi.org/10.1007/S13205-014-0194-0/FIGURES/4>
- Grupo IDP. (s/f). *Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas de Ciudad David (Panamá) - IDP*. <https://www.idp.es/proyectos-nuevos/planta-de-tratamiento-de-aguas-residuales-urbanas-de-ciudad-david-panama/>
- Grupo PLODESA. (s/f). *Plantas Tratamiento*. <https://www.plodesa.com/nuestros-proyectos/>
- Guldhe, A., Kumari, S., Ramanna, L., Ramsundar, P., Singh, P., Rawat, I., & Bux, F. (2017). Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. *Journal of environmental management*, *203*(Pt 1), 299–315. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2017.08.012>
- Hernández Sánchez, C., González, L., Rubio, A. C., Caballero Mesa, J., Ben-Charki, N., & Hardisson de la Torre, A. (2011). Trihalometanos en aguas de consumo. *Revista de Toxicología*, *28*(2), 109–114.
- Huamani, E., Huayta, D., & Ortega, D. (2021). Eficiencia de remoción de la especie *Hydrocotyle bonariensis* (redondita de agua) y *Eichhornia crassipes* (jacinto de agua) en las aguas residuales del río Shullcas - 2021 [Universidad Continental].  
En *Universidad Continental*.  
<https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/11100>
- iAguá. (2018). *Eliminación del nitrógeno en las aguas residuales*. <https://www.iagua.es/noticias/aema/eliminacion-nitrogeno-aguas-residuales>

- Jia, J., Xiao, H., Peng, S., & Zhang, K. (2023). Study on Purification Efficiency of Novel Aquatic Plant Combinations and Characteristics of Microbial Community Disturbance in Eutrophic Water Bodies. *Water* 2023, Vol. 15, Page 2586, 15(14), 2586. <https://doi.org/10.3390/W15142586>
- Kahol, Y. V., Ningrum, N. S., Retnaningrum, E., & Darmasiwi, S. (2018). Effectivity of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) as bio filter for microbiological water quality in Purwomartani Housing, Kalasan, Sleman, DIY. *Earth and Environmental Science*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/308/1/012008>
- Kumar, S., & Deswal, S. (2020). Phytoremediation capabilities of *Salvinia molesta*, water hyacinth, water lettuce, and duckweed to reduce phosphorus in rice mill wastewater. *International Journal of Phytoremediation*, 22(11), 1097–1109. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1731729>
- Laboratorio Britania S.A. (2021). *Agar Citrato de Simmons*. [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_607092758cfa8.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607092758cfa8.pdf)
- Laboratorios Britania S.A. (2015). *SIM Medio*.
- Lahora Cano, A., Ayuso García, L., & Martínez López, S. (2019). *Subproductos de la desinfección de aguas residuales con hipoclorito: cloratos y trihalometanos*. [www.tecnoaqua.es](http://www.tecnoaqua.es)
- Lalitha, P., & Jayanthi, P. (2012). Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(2), 115–122.

- Larrea-Murrell, J., Rojas-Badía, M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, M., & Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, *44*(3), 24–34.
- León Suárez, R. J. (2017). *Inventario de plantas recomendadas para fitorremediación de coliformes fecales en aguas negras*. Universidad de Guayaquil.
- Lin, L., Yang, H., & Xu, X. (2022). Effects of Water Pollution on Human Health and Disease Heterogeneity: A Review. *Frontiers in Environmental Science*, *10*, 880246. <https://doi.org/10.3389/FENVS.2022.880246/BIBTEX>
- Liu, F., Li, S., Yu, Y., Sun, M., Xiang, J., & Li, F. (2020). Effects of ammonia stress on the hemocytes of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere*, *239*, 124759. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.124759>
- MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3ª ed.) [Book]. Editorial Médica Panamericana.
- Madigan, M., Guerrero, R., Barrachina, C., & Ruiz, B. F. (2009). *Brock biología de los microorganismos* (Pearson Educación, Ed.; 12a ed.).
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Appling, D. R., & Spencer J. Anthony-Cahil. (2013). *Bioquímica: Vol. 4 edición* (PEARSON EDUCACIÓN). 2013.
- McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, *14*(3), 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(03\)00060-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00060-0)
- Meeinkuirt, W., Saengwilai, P., Pichtel, J., Taepayoon, P., & Sricoth, T. (2018). Aquatic plants for phytostabilization of cadmium and zinc in hydroponic experiments.

- Enviromental Science and Pollution Research*, 25, 14964–14976.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-1714-y>
- MiAmbiente. (2013). *Informe de Monitoreo de la Calidad de Agua 2009-2012*.
- Microlab Industrial. (2017). *Las formas múltiples del Nitrógeno (amónio-nitrito-nitrato-nitrificación-desnitrificación)*. AguasResiduales.  
<https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/las-formas-multiples-del-nitrogeno>
- Ministerio de Comercio e Industria. (1999). Agua. Reutilización de las aguas residuales tratadas. En *Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 24- 99*.
- Ministerio de Gobierno. (2022). *Avanza proyecto de aguas residuales ecológicas en Los Algarrobos*. <https://www.mingob.gob.pa/avanza-proyecto-de-aguas-residuales-ecologicas-en-los-algarrobos/>
- Monroy Hermosillo, O. (2021). Problemática de las Aguas Residuales. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 12(2), 40–44.
- Nezbrytska, I., Usenko, O., Konovets, I., Leontieva, T., Abramiuk, I., Goncharova, M., & Bilous, O. (2022). Potential Use of Aquatic Vascular Plants to Control Cyanobacterial Blooms: A Review. *Water 2022, Vol. 14, Page 1727, 14(11), 1727*.  
<https://doi.org/10.3390/W14111727>
- Nunez, C. (2022). *La contaminación del agua constituye una crisis mundial creciente. Esto es lo que hay que saber*. National Geographic.  
<https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/contaminacion-del-agua>
- Organización Mundial de la Salud [OMG]. (2022, diciembre 7). *Arsénico*.  
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>

- Paima, R., & Vásquez, C. E. (2021). *Remoción de parámetros físicos y microbiológicos utilizando Jacinto de Agua o Microorganismos de Montaña en efluentes del camal de Zapatero* [Universidad Peruana Unión]. <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/4564>
- Prihatini, N. S., & Soemarno. (2023). Role of Plant-Bacteria Association in Constructed Wetlands for the Removal of Iron (Fe) from Contaminated Water. *Aquatic Macrophytes: Ecology, Functions and Services*, 297–311. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-3822-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-99-3822-3_14)
- Programa Saneamiento de Panamá. (s/f). *Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Ciudad de Panamá*. <https://saneamientodepanama.gob.pa/planta-de-tratamiento-de-aguas-residuales-de-la-ciudad-de-panama/>
- Proyectos Generales S. A. (2022). *Plantas de Tratamiento*. <https://www.proyectosgenerales.com/plantas-de-tratamiento>
- Quispe, L., Arias, J., Martínez, C., & Cruz, M. (2017). Eficiencia de la especie macrófita *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua) para la remoción de parámetros fisicoquímicos, metal pesado (Pb) y la evaluación de su crecimiento en función al tiempo y adopción al medio en una laguna experimental. *Revista de Investigación Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 3(1), 79–93. <https://doi.org/10.17162/rictd.v1i1.899>
- Ramírez-Muñoz, J., Oltehua-López, O., Cuervo-López, F., & Texier, A. (2023). Diversidad y flexibilidad metabólica de consorcios nitrificantes y desnitrificantes usados en el tratamiento de aguas residuales. *Hidrobiológica*, 33(3), 339–351.

- Rattanakul, S., & Oguma, K. (2018). Inactivation kinetics and efficiencies of UV-LEDs against *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, and surrogate microorganisms. *Water research*, 130, 31–37. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2017.11.047>
- Rodríguez, E. (2005). *Bacteriología general: principios y prácticas de laboratorio* (Editorial UCR, Ed.; 1. ed.).
- Rodríguez, K., & Zarronandia, G. (2016). Reuso del agua residual tratada en la laguna de oxidación de la ciudad de David, Provincia De Chiriquí. *Plus (+) Economía*, 4(1), 19–24.
- Rodríguez Pimentel, H. (2017, marzo 13). *Las aguas residuales y sus efectos contaminantes*. iAgua. <https://www.iagua.es/blogs/hector-rodriguez-pimentel/aguas-residuales-y-efectos-contaminantes>
- Rodríguez-Lara, J., Cervantes-Ortiz, F., Arámbula-Villa, G., Mariscal-Amaro, L., Aguirre-Mancilla, C., & Andrio-Enríquez, E. (2022). Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*): una revisión. *Agronomía Mesoamericana*, 33(1), 1–12.
- Rojas, J. (2005). *Diversidad bacteriana en el perifiton de raíces de eichhornia sp, pistia sp. y azolla sp., en un humedal artificial de la Universidad Earth*. [Instituto Tecnológico de Costa Rica]. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/460>
- Rojas-Sandoval, J., & Acevedo-Rodríguez, P. (2022). *Eichhornia crassipes (jacinto de agua)*. Centro Internacional de Biociencia y Agricultura [CABI].
- Rossel Bernedo, L. J., Rossel Bernedo, L. A., Ferro Mayhua, Ferro Gonzales, A. L., Zapana Quispe, R. R., Rossel Bernedo, L. J., Rossel Bernedo, L. A., Ferro Mayhua, Ferro Gonzales, A. L., & Zapana Quispe, R. R. (2020). Radiación

- ultravioleta-c para desinfección bacteriana (coliformes totales y termotolerantes) en el tratamiento de agua potable. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(1), 68–77. <https://doi.org/10.18271/RIA.2020.537>
- Ryan, K. J., & Ray, C. (2017). Enterobacterias. En *Sherris. Microbiología médica* (pp. 1–33). 2017.
- Saldaña-González, I. D., & Franco-Ávila, H. (2022). Evaluación de la concentración de compuestos trihalometanos en el agua potable distribuida en la Ciudad David, Panamá y sus riesgos a la salud humana. *I+D Tecnológico*, 18(2), 65–76. <https://doi.org/10.33412/IDT.V18.2.3554>
- Sánchez, J. de D. A., Irigoín, N. C., Sánchez, J. de D. A., & Irigoín, N. C. (2021). Contaminación agrícola por uso de aguas residuales. *Alfa Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinaria*, 5(13), 65–77. <https://doi.org/10.33996/REVISTAALFA.V5I13.98>
- Scharlau Microbiología. (2022). *TSI (Triple Sugar Iron) Agar*.
- Sol, G., Saboya, A., Pinchi, X., Asesor, G., Henry, M., & Carbajal, M. (2020). Eficiencia de las macrófitas Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) y repollo de agua (*Pistia stratiotes*) en la remoción de nutrientes en las aguas contaminadas de la laguna Ricuricocha por los efluentes de la ganadería del Águila [Universidad Peruana Unión]. En *Universidad Peruana Unión*. <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/3120>
- Theeta, S., Weeradej, M., Patompong, S., John, P., & Puntaree, T. (2018). Aquatic plants for phytostabilization of cadmium and zinc in hydroponic experiments.

- Environmental science and pollution research international*, 25(15), 14964–14976.  
<https://doi.org/10.1007/S11356-018-1714-Y>
- Tuholske, C., Halpern, B. S., Blasco, G., Villasenor, J. C., Frazier, M., & Caylor, K. (2021). Mapping global inputs and impacts from of human sewage in coastal ecosystems. *PLOS ONE*, 16(11), 1–16.  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0258898>
- Tuser, C. (2021). *What is Wastewater?* Wastewater Digest.  
<https://www.wwdmag.com/wastewater-treatment/article/10938418/what-is-wastewater>
- Uggetti, E. (2021). General Aspects of Phytoremediation Resumen. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 12(2), 45–49.
- UNESCO. (2021). *Datos y cifras Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2021*. [www.unesco.org/water/wwap](http://www.unesco.org/water/wwap).
- Vargas-Perdomo, C. M., Oviedo-Salazar, A., Montañez-Velásquez, M. N., & Polania-Patiño, A. (2018). Estado del arte, del uso de la *Eichhornia crassipes* en la fitorremediación de aguas residuales industriales. *Ingenio Magno*, 9(2), 105–130.
- Vásquez, J. (2015). Salud en riesgo por colapso de alcantarillado en David | Panamá América. *Panamá América*.  
<https://www.panamaamerica.com.pa/provincias/salud-en-riesgo-por-colapso-de-alcantarillado-en-david-991415>
- Verdejo, E., Palmerín, J. A., Aibar, J., Cirujeda, A., Taberner, A., & Zaragoza, C. (2006). *El lirio de agua Eichhornia crassipes (Martius) Solms & Laubanch*.

- von Sperling, M. (2007). *Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal* (IWA Publishing, Vol. 1).
- We Are Water. (2019, septiembre 18). *Contaminantes naturales del agua, una amenaza silenciosa*. [https://www.wearewater.org/es/contaminantes-naturales-del-agua-una-amenaza-silente\\_320991](https://www.wearewater.org/es/contaminantes-naturales-del-agua-una-amenaza-silente_320991)
- Wu, S., Carvalho, P. N., Müller, J. A., Manoj, V. R., & Dong, R. (2016). Sanitation in constructed wetlands: A review on the removal of human pathogens and fecal indicators. *Science of The Total Environment*, 541, 8–22. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.09.047>
- Xiao, J., Wang, L., Deng, L., & Jin, Z. (2019). Characteristics, sources, water quality and health risk assessment of trace elements in river water and well water in the Chinese Loess Plateau. *The Science of the total environment*, 650(Pt 2), 2004–2012. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.09.322>
- Zhang, T. X., Li, M. R., Liu, C., Wang, S. P., & Yan, Z. G. (2023). A review of the toxic effects of ammonia on invertebrates in aquatic environments. *Environmental Pollution*, 336, 122374. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2023.122374>

## 5.4.ANEXOS

### 5.4.1.Gráficas de los promedios obtenidos en los análisis de cada bioensayo

Figura 1.

Análisis del amonio para cada bioensayo tanto antes como después del tratamiento con *E. crassipes*

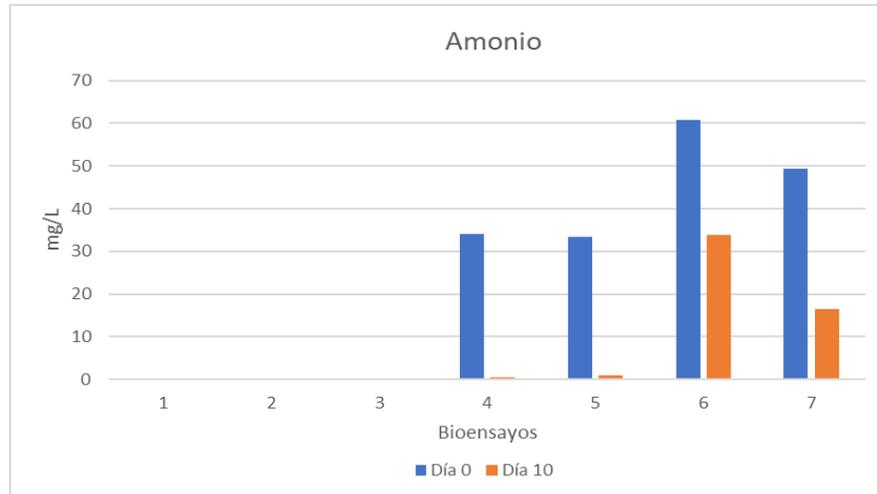
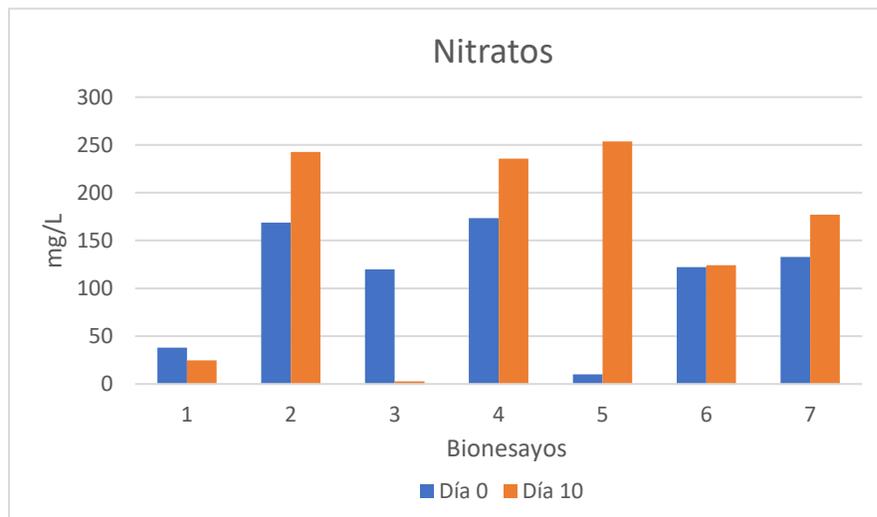


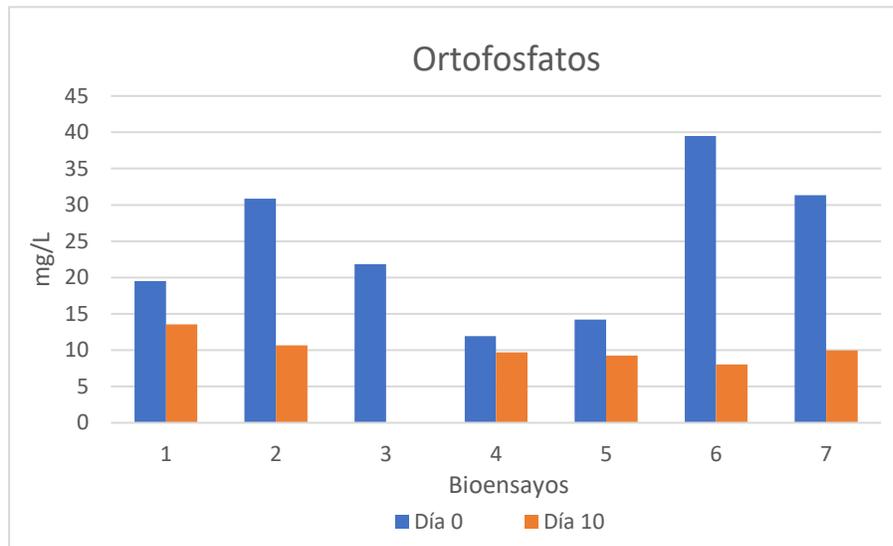
Figura 2.

Análisis de los nitratos para cada bioensayo tanto antes como después del tratamiento con *E. crassipes*



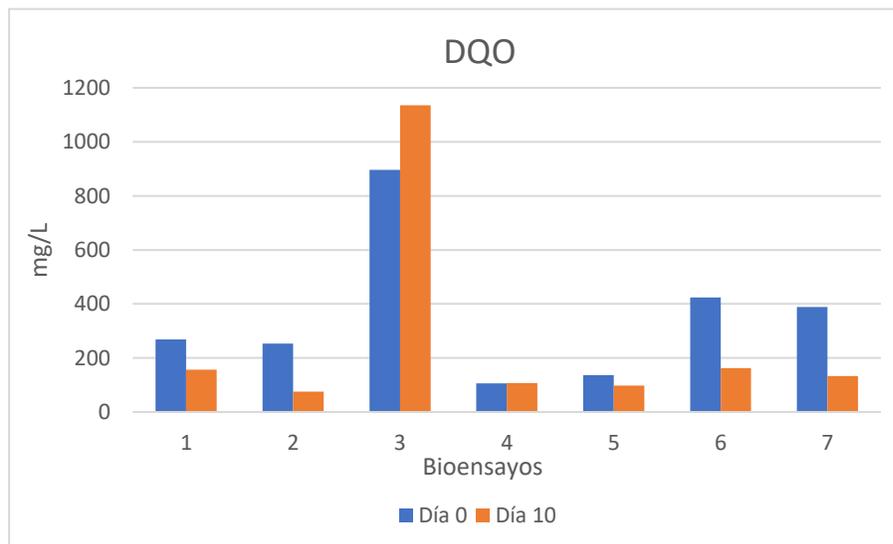
**Figura 3**

*Análisis de los ortofosfatos para cada bioensayo tanto antes como después del tratamiento con E. crassipes*



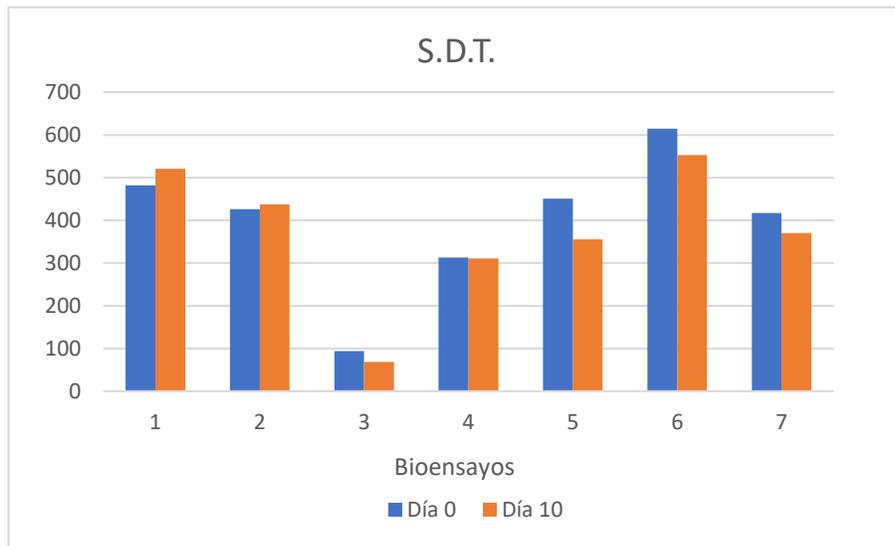
**Figura 4**

*Análisis del DQO para cada bioensayo tanto antes como después del tratamiento con E. crassipes*



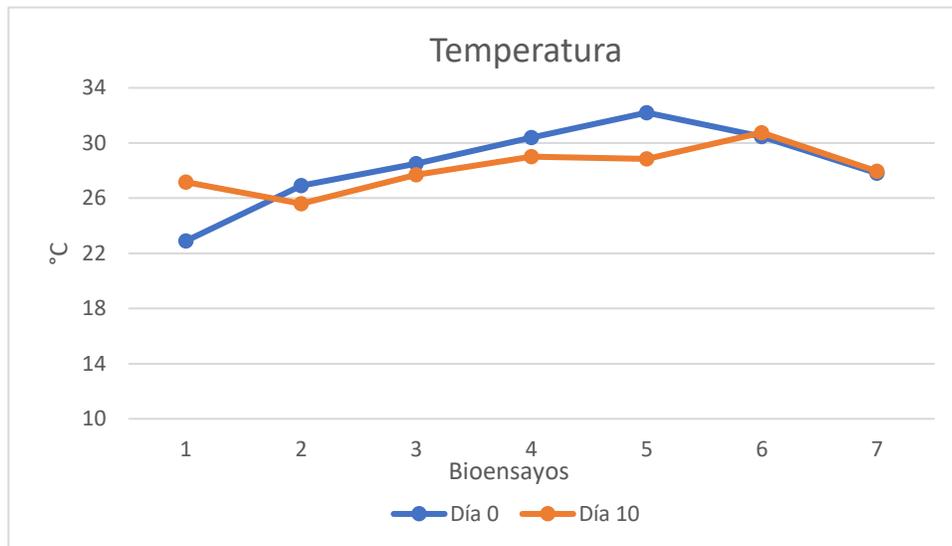
**Figura 5.**

*Análisis de los S.D.T. para cada bioensayo tanto antes como después del tratamiento con E. crassipes*



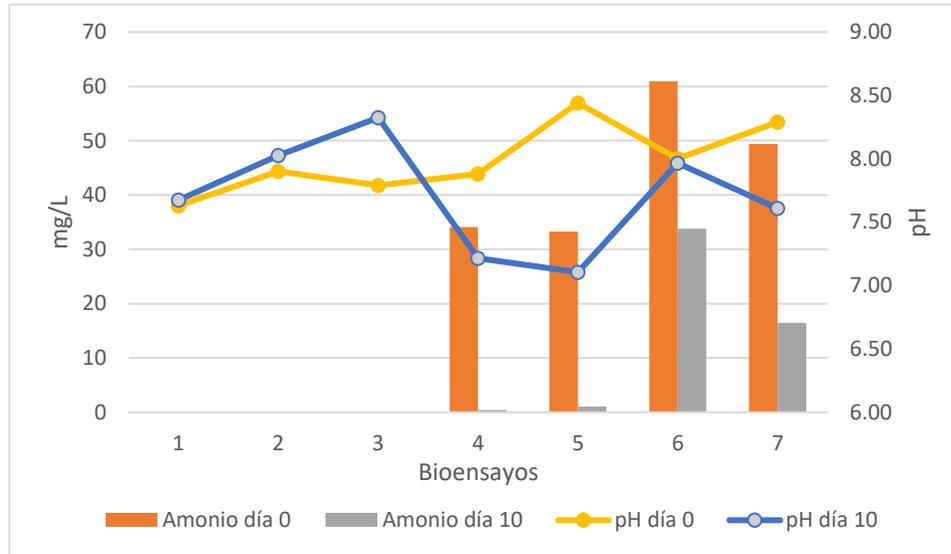
**Figura 6**

*Análisis de la temperatura en cada bioensayo antes y después del tratamiento con E. crassipes*



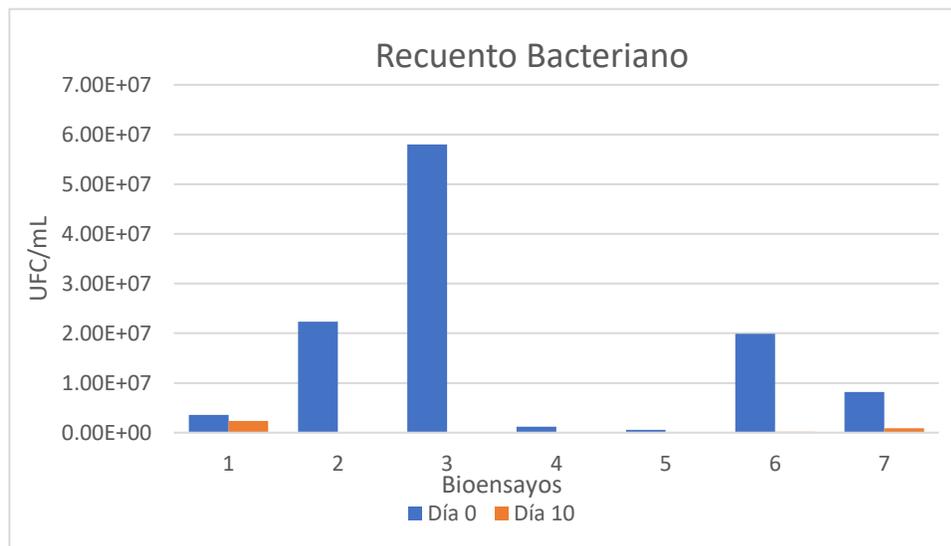
**Figura 7**

Análisis del pH en función de la concentración del amonio en cada bioensayo tanto antes y después del tratamiento con *E. crassipes*



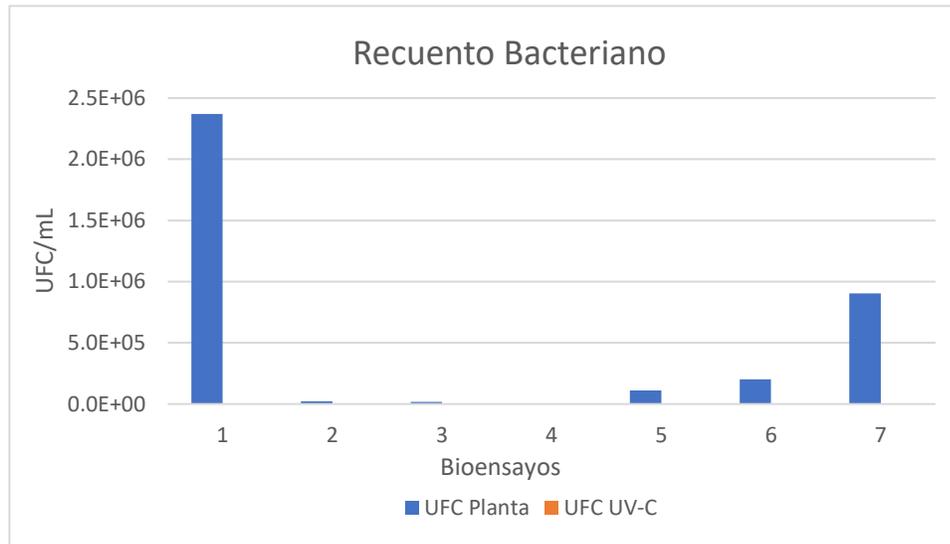
**Figura 8**

Recuento bacteriano de las UFC/mL en cada bioensayo antes y después del tratamiento con *E. crassipes*



## Figura A9

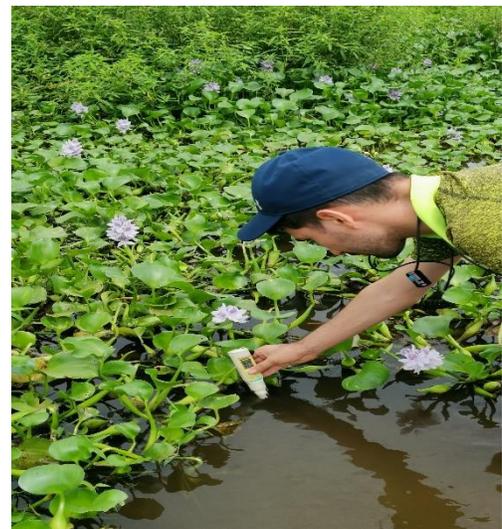
Recuento bacteriano de las UFC/mL del remanente del tratamiento con *E. crassipes* y posterior desinfección con radiación UV-C



### 5.4.2.Registro fotográfico



**Figura A10.** Colecta de las macrofitas



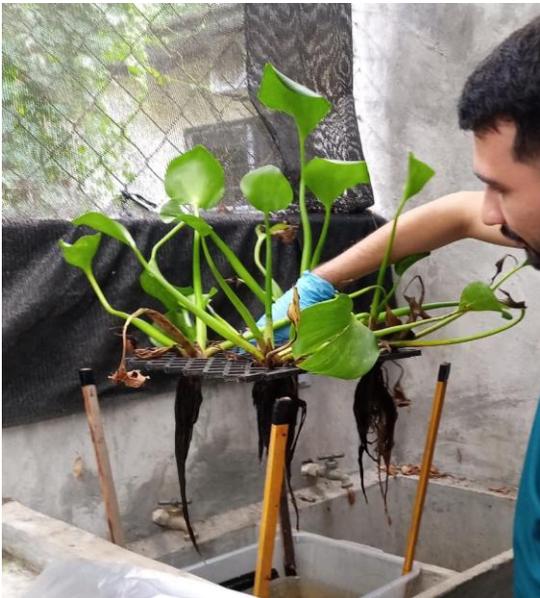
**Figura A11.** Medición del pH, temperatura y S.T.D. con el multiparamétrico de bosillo Thermo Scientific™ Eutech™ modelo PCTestr35



**Figura A12.** Inicio de los bioensayos con *E. crassipes*



**Figura A13.** Inicio de los bioensayos con *E. crassipes* con su réplica y un fotoperiodo de 12:12



**Figura A14.** Desmontaje de los sistemas para el posterior análisis de las plantas y muestras de AR.



**Figura A15.** Gravimetría de cada planta utilizada en los bioensayos



**Figura A16.** Preparación de las muestras de ARs mediante la técnica de vertido en placa y diluciones seriadas en factor 1:10 para su posterior recuento bacteriano



**Figura A17.** Placas con agar BHI con 1 mL de la muestra de AR y sus diluciones correspondientes del control y tratamiento; B. muestra de AR tratada con radiación UV-C



**Figura A18.** Conteo de colonias viables y separar las que están dentro de rango establecido en el proyecto



**Figura A19.** Preparación de las muestras de ARs para su posterior análisis de nitratos empleando sobre NitraVer 8039 HR y el espectrofotometro HACH DR 3900



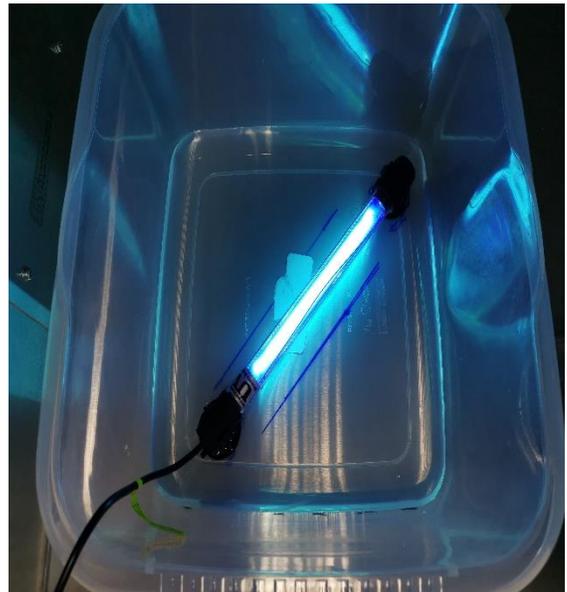
**Figura A20.** Análisis de nitratos empleando sobre NitraVer 8039 HR y el espectrofotómetro HACH DR 3900



**Figura A21.** Análisis de ortofosfatos empleando viales TNT 846 y el espectrofotómetro HACH DR 3900



**Figura A22.** Muestras de AR en el termostato marca HACH modelo DRB 200 para su posterior análisis en el espectrofotómetro



**Figura A23.** Envase de plástico con la lámpara de pecera marca Coospider de 11 W modelo HUV-11