



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE CARRERA: MEDIO AMBIENTE**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO EN MEDIO AMBIENTE**

**MODALIDAD:  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:  
EVALUACIÓN DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL AIREADO CON  
*Chrysopogon zizanioides* Y UN CONSORCIO MICROBIANO EN  
RESIDUAL LÍQUIDO DE UNA INDUSTRIA ATUNERA**

**AUTOR:  
CEDEÑO LÓPEZ DAMIÁN EDUARDO**

**TUTOR:  
ING. CARLOS RICARDO DELGADO VILLAFUERTE, M. Sc.**

**CALCETA, JUNIO 2018**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Yo, DAMIAN EDUARDO CEDEÑO LÓPEZ declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mí autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

---

DAMIAN E. CEDEÑO LÓPEZ

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

CARLOS RICARDO DELGADO VILLAFUERTE certifica haber tutelado el trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL AIREADO CON *Chrysopogon zizanioides* Y UN CONSORCIO MICROBIANO EN RESIDUAL LÍQUIDO DE UNA INDUSTRIA ATUNERA**, que ha sido desarrollado por DAMIAN EDUARDO CEDEÑO LÓPEZ, previo a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

ING. CARLOS R. DELGADO VILLAFUERTE, M. Sc.

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos APROBADO el trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL AIREADO CON *Chrysopogon zizanioides* Y UN CONSORCIO MICROBIANO EN RESIDUAL LÍQUIDO DE UNA INDUSTRIA ATUNERA**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por CEDEÑO LÓPEZ DAMIAN EDUARDO, previo a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

Ing. Julio Loureiro Salabarría, M.Sc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Carlos Solórzano Solórzano, M.Sc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Dra. Aída de la Cruz Balón, M. Sc.  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres por la infinita paciencia y el apoyo en la realización de este trabajo.

A mi novia Ambar por darme su apoyo emocional en momentos difíciles.

Al Ing. Julio Loureiro, mi profesor y amigo por sus siempre acertados comentarios y por su desinteresada ayuda para la realización de este trabajo.

Al personal del laboratorio de Microbiología del área Agropecuaria de la ESPAM “MFL” en especial al Ing. Piero Fajardo por las facilidades con las cepas de los microorganismos y la ayuda brindada.

A mi Tutor el Ing. Carlos Ricardo Delgado por la ayuda brindada y las facilidades para poder entrar en la empresa IROTOP.

Al personal de la planta de tratamiento de aguas residuales industriales IROTOP, por permitirme entrar a sus instalaciones y poder realizar este trabajo de investigación, por su predisposición y colaboración.

Al Señor Carlos Vivas por la ayuda con el transporte de las aguas residuales.

Al personal del Laboratorio de Aguas del Chuno, en especial al Ing. Jorge Solórzano por la ayuda con la medición de pH, y

A todas las personas que contribuyeron directa e indirectamente en la realización de este trabajo.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Marcial y Maritza quienes son los pilares que sostienen mi vida y quienes han sido los responsables de mi formación académica, moral y espiritual. Mi admiración eterna por ser siempre modelos a seguir papá y mamá, les agradezco por todo el esfuerzo que han hecho para que pueda lograr mis objetivos.

A mi hermano Marcelo, quien siempre me ha servido de ejemplo de que si se trabaja duro y se es perseverante se pueden lograr grandes cosas.

A mis sobrinos Matías y Ruki por brindarme y transmitirme su alegría.

## CONTENIDO GENERAL

CARÁTULA .....	i
DERECHOS DE AUTORÍA .....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS .....	x
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT .....	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN .....	3
1.3. OBJETIVOS .....	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
1.4. HIPÓTESIS .....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. AGUAS RESIDUALES .....	5
2.2. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES .....	5
2.3. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIA PESQUERA .....	5
2.3.1. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIA ATUNERA.....	6
2.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES .....	7
2.4.1. pH.....	7
2.4.2. Temperatura.....	7
2.4.3. Oxígeno disuelto (OD).....	7
2.4.4. Salinidad.....	8
2.4.5. Demanda bioquímica de Oxígeno (DBO) .....	8
2.4.6. Fósforo (P) .....	8
2.4.7. Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK).....	8
2.5. HUMEDALES ARTIFICIALES .....	9

2.5.1. FUNCIONAMIENTO.....	9
2.5.2. Clasificación de los humedales artificiales .....	10
2.5.2.1. Humedales artificiales de flujo superficial.....	10
2.5.2.2. Humedales de flujo subsuperficial .....	10
2.5.2.3. Humedales aireados.....	11
2.5.3.PLANTAS UTILIZADAS EN HUMEDALES ARTIFICIALES .....	11
2.5.4. Microorganismos en humedales artificiales.....	11
2.6. PASTO VETIVER (Chrysopogon zizanioides).....	11
2.6.1. Sistemas hidropónicos con pasto vetiver para tratar aguas residuales .....	13
2.7. MICROORGANISMOS PARA TRATAR AGUAS RESIDUALES.....	13
2.7.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	14
2.7.2. <i>Trichoderma Harzianum</i> .....	15
2.7.3. Consorcio microbiano.....	15
2.8. MICROORGANISMOS COMPETIDORES EN TRATAMIENTOS.....	16
2.9. TIPOS DE REACTORES .....	16
2.9.1. Reactor de flujo continuo.....	16
2.9.2. Reactor discontinuo (Batch) .....	17
2.9.3. Reactor tipo flujo pistón.....	17
2.9.4. Reactor Batch secuencial para tratamiento de aguas residuales.....	17
2.10. TIPOS DE MUESTREO DE AGUAS RESIDUALES .....	18
2.10.1. Muestra individual.....	18
2.10.2. Muestra Compuesta .....	18
2.11. Manejo y conservación de muestras .....	18
2.12. DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR.....	18
2.13. PRUEBAS ESTADÍSTICAS .....	19
2.13.1. Prueba de tukey .....	19
2.14. EFICIENCIA DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO.....	19
2.15. ANÁLISIS COSTO/BENEFICIO .....	19
2.15.1. Costos directos.....	20
2.15.2. Costos indirectos .....	20
2.16. COSTOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES .....	20
CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO .....	22

3.1. UBICACIÓN .....	22
3.2. DURACIÓN .....	22
3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS .....	22
3.3.1. Cuantitativo experimental .....	22
3.3.2. Campo .....	22
3.3.3. Bibliográfico .....	22
3.4. FACTOR EN ESTUDIO .....	22
3.4.1. Niveles .....	23
3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL .....	23
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	23
3.7. DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS .....	24
3.8. VARIABLES A MEDIR .....	24
3.8.1. Variable dependiente .....	24
3.8.2. Variable independiente .....	25
3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO .....	25
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	29
3.11. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS .....	30
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	31
4.1. CARACTERIZACIÓN DEL EFLUENTE DE LA EMPRESA IROTOP .....	31
4.2. APLICACIÓN DE PASTO VETIVER Y MICROORGANISMOS EN EL TRATAMIENTO DEL RESIDUAL LÍQUIDO DE LA EMPRESA IROTOP .....	31
4.3. MUERTE DE PASTO VETIVER EN LOS TRATAMIENTOS .....	34
4.4. COMPARACIÓN CON LA NORMATIVA DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL ECUATORIANA .....	35
4.5. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE LOS CONTAMINANTES QUÍMICOS .....	36
4.6. COSTO BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS .....	38
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	42
5.1. CONCLUSIONES .....	42
5.2. RECOMENDACIONES .....	42
BIBLIOGRAFÍA .....	43
ANEXOS .....	55

## **CONTENIDO DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS**

### **TABLAS**

Tabla 3.1. Descripción de los tratamientos. ....	23
Tabla 3.2. Esquema de ANOVA.....	24
Tabla 3.3. Distribución de los tratamientos .....	24
Tabla 3.4. Análisis y Método utilizado .....	25
Tabla 4.1. Caracterización del efluente de la empresa IROTOP.....	31
Tabla 4.2. Concentración de los contaminantes orgánicos después del tratamiento .....	32
Tabla 4.3. Comparación de los tratamientos con la normativa de legislación ambiental ecuatoriana .....	35
Tabla 4.3. Eficiencia de remoción de NTK y DBO.....	37
Tabla 4.4. Análisis costo/beneficio para cada tratamiento .....	39

### **GRÁFICOS**

Gráfico 4.1. Diagrama de cajas # de muertes por cada tratamiento .....	34
--	----

### **FIGURAS**

Figura 2.1. Proceso simplificado de la industria pesquera .....	6
---	---

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar un Humedal Artificial Aireado con *Chrysopogon zizanioides* (Pasto vetiver) y un consorcio microbiano en el residual líquido de una industria atunera. Los microorganismos utilizados fueron *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichoderma harzianum*. Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente manera: P1 (*C. zizanioides*), P1M1 (*C. zizanioides* + *S. cerevisiae*), P1M2 (*C. zizanioides* + *T. harzianum*) y P1M1M2 (*C. zizanioides* + *S. cerevisiae* + *T. harzianum*). La dosis para todos los tratamientos fue de 1,5 ml/l y la concentración de los microorganismos  $1,95 \times 10^8$  ufc/ml para *T. harzianum* y  $4,3 \times 10^8$  ufc/ml para *S. cerevisiae*. La aireación fue de 3l/min y se mantuvo constante para los 21 días de tratamiento. P1M1 y P1M1M2 obtuvieron las eficiencias de remoción más altas para Nitrógeno Total Kjeldahl 72,8% y 72,79% respectivamente. Todos los tratamientos tuvieron una remoción de DBO mayor al 99%. No se obtuvo remoción de Fósforo Total en ningún tratamiento. El pH de todos los tratamientos estuvo entre 6,1-6,3. P1M1 y P1M1M2 tuvieron la menor cantidad de muertes de pasto vetiver (2 y 2,67 respectivamente). De acuerdo al análisis costo/beneficio el tratamiento P1M1 es el más viable y su costo es 6,65 USDD.

**PALABRAS CLAVES:** *Chrysopogon zizanioides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma harzianum*, Humedal Artificial Aireado, residual líquido, industria atunera.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate an Aerated Constructed Wetland with *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver grass) and a microbial consortium in the wastewater of a tuna industry. The microorganisms used were *Saccharomyces cerevisiae* and *Trichoderma harzianum*. The treatments were distributed as follows: P1 (*C. zizanioides*), P1M1 (*C. zizanioides* + *S. cerevisiae*), P1M2 (*C. zizanioides* + *T. harzianum*) and P1M1M2 (*C. zizanioides* + *S. cerevisiae* + *T. harzianum*). The dose for all treatments was 1.5 ml/l and the concentration of the microorganisms  $1,95 \times 10^8$  cfu/ml for *T. harzianum* and  $4,3 \times 10^8$  cfu/ml for *S. cerevisiae*. Aeration was 3l/min and remained constant for 21 days of treatment. P1M1 and P1M1M2 obtained the highest removal efficiencies for Total Nitrogen Kjeldahl 72.8% and 72.79% respectively. All treatments had a BOD removal greater than 99%. No removal of Total Phosphorus was obtained in any treatment. The pH of all treatments was between 6,1-6,3. P1M1 and P1M1M2 had the lowest number of vetiver grass deaths (2 and 2,67 respectively). According to the cost/benefit analysis, the P1M1 treatment is the most viable and its cost is 6,65 USDD.

**KEY WORDS:** *Chrysopogon zizanioides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma harzianum*, Aerated Constructed Wetland, wastewater, tuna industry.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

A nivel mundial, la mayoría de las aguas residuales se liberan en el medio ambiente sin ser tratadas. Como resultado, en muchas regiones del mundo el agua contaminada se vierte en ríos y lagos y termina en los océanos (FAO, 2017). Estos cuerpos de agua han sido incapaces de absorber y neutralizar por sí mismos esta carga contaminante, y por ello han perdido sus condiciones naturales de apariencia estética y su capacidad para sustentar la vida (Rodríguez, 2017).

Más del 80% de las aguas residuales generadas en los países en desarrollo se descargan sin tratamiento a cuerpos de agua superficiales (UN, 2015). De acuerdo a UNEP (2016) unas 323 millones de personas están en riesgo de contraer enfermedades potencialmente letales como el cólera y la fiebre tifoidea debido al aumento de la contaminación del agua en Asia, África y América Latina.

La información histórica sobre efluentes industriales en la franja costera de Ecuador reporta un vertimiento de 55,2 millones de m<sup>3</sup> /año y una carga asociada de DBO<sub>5</sub> de 9,7 millones de TM/año (Carrasco y Muñoz, 1995) citado por (CPPS, 2014). Las dos terceras partes de las descargas industriales procedieron de la provincia del Guayas (65%), seguido en menor proporción por las provincias de Esmeraldas con el 15%, El Oro con el 12% y Manabí con el 8% (Hurtado, 1995) citado por (CPPS, 2014). En Manabí las principales actividades que emiten esa contaminación son: la Fabricación de productos alimenticios principalmente de la industria pesquera y la Acuicultura.

De acuerdo con registros de la Empresa Pública Aguas de Manta (EPAM) citado por (El Diario Manabita, 2016), hasta el año 2013 las fábricas descargaban sus aguas residuales directamente al cauce del río Muerto. Esto generaba impactos ambientales en la playa de Los Esteros como olores desagradables, aumento de vectores, parasitosis, dolencias gastrointestinales y respiratorias.

En el 2013 las descargas de 15 industrias fueron conectadas al sistema hidrosanitario de la ciudad, dos de ellas (Conservas Isabel Ecuatoriana S.A. y

Seafman C.A.) decidieron tratar sus aguas residuales en la empresa privada IROTOP, debido a que no contaban en sus instalaciones con el equipo necesario para darle el tratamiento.

La empresa de tratamiento de efluentes industriales IROTOP cuenta con un sistema de tratamiento primario, en el cual se acondicionan las aguas para el posterior secundario físico-químico; sin embargo, por no contar con un tratamiento biológico algunas veces se supera los límites máximos permisibles presentes en la normativa ecuatoriana de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado.

Frente a la necesidad de disminuir la carga orgánica en la planta se plantea la siguiente interrogante.

¿Se podrá disminuir los contaminantes orgánicos del residual líquido de la empresa IROTOP mediante el tratamiento con un Humedal Artificial Aireado con *Chrysopogon zizanioides* (Pasto vetiver) y un consorcio microbiano?

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

Los Humedales artificiales es un proceso de tratamiento de aguas residuales que se ha utilizado en residuales líquidos domésticos (Romero *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009) como industriales (Chen *et al.*, 2006; Chaleiros, 2009), de alta eficiencia en la remoción de contaminantes orgánicos, que se ha venido desarrollando cada vez más en los últimos años.

Estos sistemas tienen una aparente ventaja en los costos de construcción y operación frente a los sistemas de tratamiento convencionales (Zhang *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2014).

Zapater *et al.*, (2014) encontraron que cuando se airea un Humedal artificial para tratar aguas residuales aumenta la cantidad de biomasa bacteriana y presenta mayor abundancia de protozoarios, por lo cual aumenta la carga orgánica que se puede tratar con estos sistemas.

El pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) es una especie utilizada en humedales artificiales para tratar aguas residuales con un alto porcentaje de colonización en las raíces de hongos micorrízicos arbusculares de acuerdo a Choudhury *et al.*, (2010), lo que puede dar explicación a su alta capacidad para remover materia orgánica. Algunos autores han demostrado alta remoción de materia orgánica en aguas residuales utilizando pasto vetiver (Ramos *et al.*, 2017; Mudhiriza *et al.*, 2015; Badejo *et al.*, 2017 y Almeida *et al.*, 2017)

*Trichoderma harzianum* se ha utilizado para el tratamiento de aguas residuales con resultados satisfactorios como lo indica (Awasthi *et al.*, 2017; Sadhasivam *et al.*, 2010 y Hultberg y Bodin, 2017)

También se ha utilizado la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con altas eficiencias de remoción de materia orgánica en aguas residuales de la industria pesquera como lo manifiesta Kam *et al.*, (2012) y en una industria cervecera de acuerdo a Pires *et al.*, (2016).

La Constitución del Ecuador (2008) en el Título II Capítulo 2 Sección segunda Art. 15, señala: El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.

Esta investigación se acoge al Objetivo 3 del eje 1 del Plan Nacional de Desarrollo “Toda una vida”, el cual se refiere a; “Garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones”, (SENPLADES, 2017).

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1.OBJETIVO GENERAL**

Evaluar un Humedal Artificial Aireado con *Chrysopogon zizanioides* (Pasto vetiver) y un consorcio microbiano en residual líquido de una industria atunera.

#### **1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar el efluente de la empresa IROTOP.
- Aplicar combinaciones de Pasto vetiver y microorganismos en el tratamiento del residual líquido de la empresa IROTOP.
- Analizar la eficiencia y el costo/beneficio de los tratamientos.

### **1.4. HIPÓTESIS**

El tratamiento de un Humedal Artificial Aireado con Pasto vetiver y un consorcio microbiano disminuye los contaminantes orgánicos del residual líquido de la empresa IROTOP.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. AGUAS RESIDUALES**

De acuerdo a TULAS (2002) las aguas residuales son aguas de composición muy variada que provienen de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, que hayan sufrido una alteración en su calidad original. Las aguas residuales que provienen de una población son líquidos de composición variables que se pueden clasificar de acuerdo a su origen en: domésticas, industriales, de infiltración y pluviales (Metcalf y Eddy, 2003).

### **2.2. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES**

Las aguas residuales industriales resultan del uso del agua en un proceso de manufactura o alguna actividad de limpieza que tengan lugar junto a un proceso industrial (Rodriguez *et al.*, 2006).

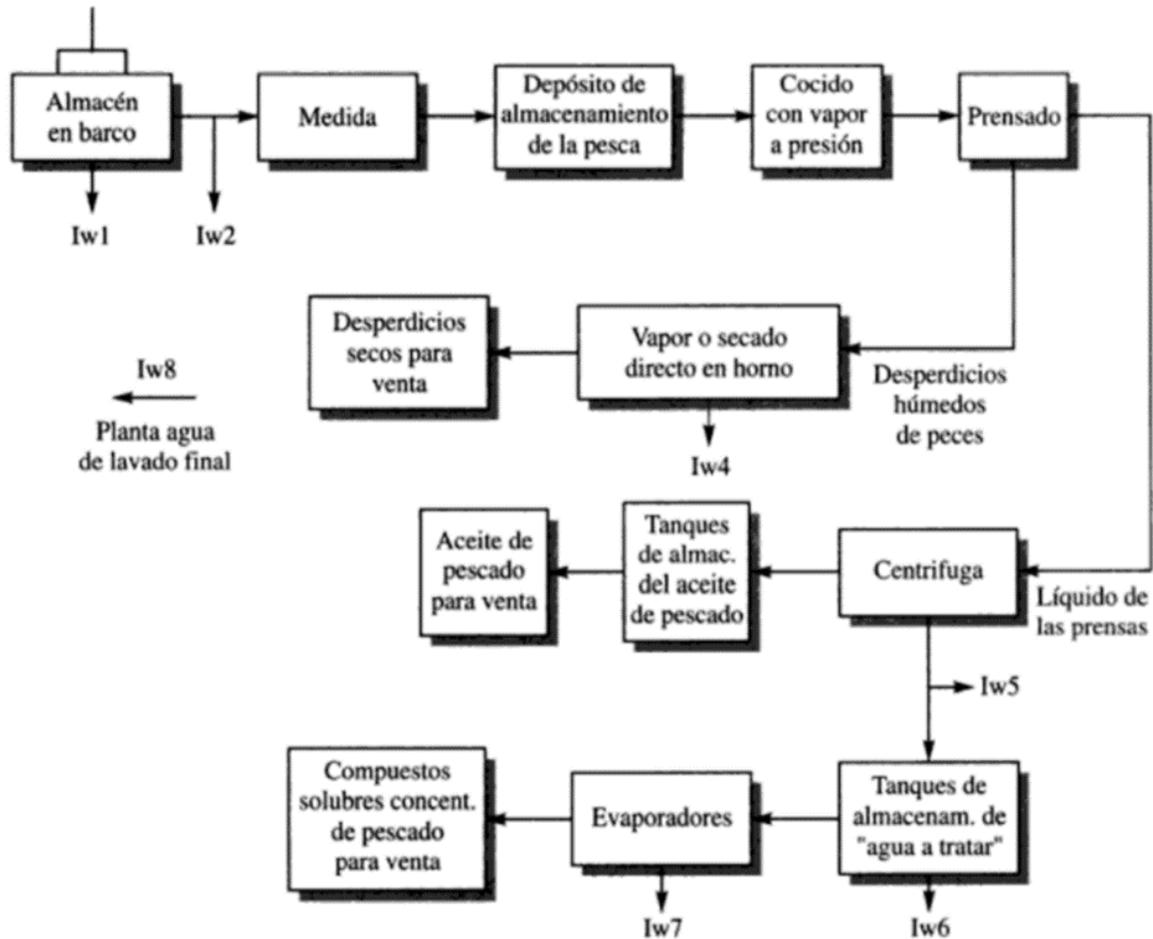
Los vertidos líquidos industriales poseen cargas contaminantes muy elevadas, por lo tanto; son uno de los principales focos de contaminación en cuerpos de agua a nivel mundial, ésta contaminación es considerablemente mayor en países en vías de desarrollo, debido a la mala regulación que se les da a los efluentes industriales por parte de las autoridades competentes (Nemerow, 1977).

Cada industria genera un residual líquido de ciertas características, específicas para cada operación industrial, estas características son uno de los principales criterios para el diseño de un sistema de tratamiento de aguas residuales (Fair *et al.*, 1999).

### **2.3. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIA PESQUERA**

De acuerdo a Garcia *et al.*, (2009) las aguas residuales de la industria pesquera o también llamadas solubles de pescado, son todos los subproductos de la industria pesquera, donde predominan los hidrosolubles. Estos solubles de pescado

proviene del agua de succión (bailwater), sanguaza (bloodwater) y agua de cola (stickwater). En el **Gráfico 2.1** se puede ver un diagrama simplificado de una planta de procesamiento de pescado típica con sus respectivas salidas de aguas residuales representadas como IW.



**Figura 2.1.** Proceso simplificado de la industria pesquera. Fuente: (Paessler, s.f.) citado por (Nemerow, 1977)

### 2.3.1. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIA ATUNERA

Son las aguas provenientes de la producción de atún, generalmente su composición es sangre partículas de pescado, escamas y espumas aceitosas. Estas aguas presentan una DBO que puede llegar a alcanzar los 100.000 mg/l (Nemerow, 1977).

## **2.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES**

### **2.4.1. pH**

El pH es igual al logaritmo negativo de la concentración de la actividad del ion hidrógeno en una solución (Cavintong *et al.*, 1985).

En aguas residuales tiene una alta importancia debido a que condiciona la actividad de la biotecnología a utilizar para su tratamiento, y por su naturaleza no lineal es fundamental controlarla en todos los procesos de tratamiento (Amaya *et al.*, 2004). La actividad biológica es desarrollada por cada especie en un intervalo de pH generalmente estricto.

Además de su efecto directo, el pH tiene un efecto indirecto, influencia la toxicidad de algunas sustancias, debido al grado de disociación que tienen a ciertos valores de pH (Espigares y Pérez, 1985).

### **2.4.2. Temperatura**

La temperatura del agua residual suele ser siempre más elevada que la del agua de suministro, hecho principalmente debido a la incorporación de agua caliente procedente de las casas y los diferentes usos industriales. La energía liberada de las reacciones bioquímicas de los microorganismos presentes en ellas es otra influencia de su temperatura.

### **2.4.3. Oxígeno disuelto (OD)**

El OD es uno de los principales indicadores de contaminación de aguas, los bajos niveles de OD son principalmente causados por la presencia de materia orgánica o de material inorgánico parcialmente oxidado, en ambos casos, se presenta una demanda de oxígeno, ya sea para la respiración de los organismos capaces de digerir la materia orgánica o por la oxidación de los compuestos inorgánicos (Mojica *et al.*, 2013).

Su solubilidad depende de algunos factores, entre ellos: la temperatura, la presión atmosférica y las características físico-químicas de las aguas residuales. En

tratamientos aerobios de aguas residuales cada microorganismo tiene necesidades mínimas de oxígeno para cumplir sus funciones metabólicas, por lo que la concentración de este, es un factor a considerar (Rodier, 1981).

#### **2.4.4. Salinidad**

La presencia de salinidad en las aguas residuales puede afectar el diseño de estaciones depuradoras de forma significativa, porque puede crear un efecto inhibitorio sobre la biocenosis del agua dulce y afectar las propiedades de sedimentación de los sólidos. Los efluentes salinos, por lo general se encuentran asociados a procesos industriales de fabricación y manufactura de conservas de productos marinos y vegetales (Soto et al., 1990)

#### **2.4.5. Demanda bioquímica de Oxígeno (DBO)**

El parámetro de contaminación orgánica más ampliamente empleado, aplicable tanto a aguas residuales como a aguas superficiales, es la DBO a 5 días (DBO5). Es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua (Aguilar, 2001).

#### **2.4.6. Fósforo (P)**

El fósforo junto con el nitrógeno, son dos de los nutrientes fundamentales de todos los seres vivos, cuando concentraciones altas de estos en las aguas pueden producir un crecimiento incontrolado de fitoplancton (Baird, 2004). En aguas residuales el fósforo está inmerso en un complejo ciclo bioquímico que implica el tránsito del elemento por medio de una serie de estados inorgánicos y orgánicos que son transformados principalmente por vía microbiana.

#### **2.4.7. Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)**

El NTK cuantifica la concentración del Nitrógeno orgánico y el amoníaco presente en las aguas residuales. El Nitrógeno es uno de los parámetros que más se utiliza en estudios medioambientales, debido a que este tiene una gran importancia

como indicador en los procesos de tratamiento de aguas residuales, control de la calidad de las aguas y en el control de las descargas de efluentes al medio. En el agua de origen residual existe amoníaco ( $\text{NH}_3^+$ ) en forma no ionizada, que es tóxico y la forma ionizada (ion amonio,  $\text{NH}_4^+$ ) relativamente no tóxico, nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) y Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) (Campíns *et al.*, 2006).

## **2.5. HUMEDALES ARTIFICIALES**

Los humedales artificiales son sistemas que simulan al ecotono comprendido entre el ambiente terrestre y el acuático, pero que se construyen con el fin de tratar aguas residuales bajo condiciones controladas (Gerba *et al.*, 1999).

El sistema consiste en el desarrollo de un cultivo de macrófitas enraizadas sobre un lecho de grava impermeabilizado. La acción de las macrófitas hace posible una serie de complejas interacciones físicas, químicas y biológicas a través de las cuales el agua residual afluyente es depurada progresiva y lentamente.

Lo componen las plantas, el sustrato y la población microbiana (Brix *et al.*, 2001). De acuerdo a Wu *et al.*, (2015) hay una gama de sustratos que se pueden utilizar, dándole a estos sistemas una gran versatilidad. Estos sistemas tienen una aparente ventaja en los costos de construcción y operación frente a los sistemas de tratamiento convencionales (Zhang *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2014).

Los Humedales artificiales se han utilizado para tratar residuales líquidos domésticos (Romero *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009) como industriales (Chen *et al.*, 2006; Chaleiros, 2009). Algunos autores han mostrado la eficacia de tratamiento de aguas residuales de características salinas con humedales artificiales (Liang *et al.*, 2016; Jesus *et al.*, 2014; Jesus *et al.*, 2017; Van der Gaag *et al.*, 2010).

### **2.5.1. FUNCIONAMIENTO**

El tratamiento con humedales artificiales se basa en tres principios básicos: la actividad bioquímica de microorganismos, el aporte de oxígeno a través de los vegetales durante el día y el apoyo físico de un lecho inerte que sirve como

soporte para el enraizamiento de los vegetales, además de servir como material filtrante. En conjunto, estos elementos eliminan materiales disueltos y suspendidos en el agua residual y biodegradan materia orgánica hasta mineralizarla y formar nuevos organismos (Kolb, 1998).

### **2.5.2. Clasificación de los humedales artificiales**

La clasificación típica es según el tipo de macrófitas que empleen en su funcionamiento: macrófitas fijas al sustrato (enraizadas) o macrófitas flotantes libres. Existen otras variantes (Huma y Ilyas, 2017; Chyan *et al.*, 2016) con recirculación, sistemas en serie, sistemas en paralelo y aireados.

#### **2.5.2.1. Humedales artificiales de flujo superficial**

Los sistemas de flujo superficial son aquellos donde el agua circula preferentemente a través de los tallos de las plantas y está expuesta directamente a la atmósfera. Este tipo de humedales es una modificación al sistema de lagunas convencionales. En términos de paisaje, este sistema es bastante recomendable por su capacidad de albergar distintas especies de peces, anfibios, aves, etcétera. Pueden constituirse, en lugares turísticos y en sitios de estudio de diferentes disciplinas por las complejas interacciones biológicas que se generan y establecen (Delgadillo *et al.*, 2010).

#### **2.5.2.2. Humedales de flujo subsuperficial**

Los sistemas de flujo subsuperficial se caracterizan por que la circulación del agua en los mismos se realiza a través de un medio granular (Wu *et al.*, 2015), con una profundidad de agua cercana a los 0,6 m. La vegetación se planta en este medio granular y el agua está en contacto con los rizomas y raíces de las plantas. Los humedales de flujo subsuperficial pueden ser de dos tipos en función de la forma de aplicación de agua al sistema: humedales de flujo subsuperficial horizontal y humedales de flujo subsuperficial vertical (Delgadillo *et al.*, 2010).

### **2.5.2.3. Humedales aireados**

Los humedales aireados usan tuberías de distribución a través del lecho del humedal para crear múltiples cortinas de burbujas gruesas a través de las cuales debe pasar el agua residual. Estos humedales son efectivos para la nitrificación incluso en climas fríos.

A los humedales artificiales tanto de flujo libre como con sustrato se les puede suministrar aire, esto hace que la eficiencia de remoción aumente considerablemente (Huma y Ilyas 2017).

### **2.5.3. Plantas Utilizadas en Humedales Artificiales**

De acuerdo a Vymazal (2013) se utilizan alrededor de 150 especies de macrófitas para el tratamiento de las aguas residuales con humedales artificiales de flujo superficial, de las cuales los géneros más comunes son: *Typha*, *Scirpus* (*Schoenoplectus*), *Phragmites*, *Juncus* y *Eleocharis*.

### **2.5.4. Microorganismos en humedales artificiales**

Ly *et al.*, (2017) ha demostrado que en los humedales artificiales las comunidades microbianas pueden ser muy variadas, y dependen del tipo de planta que se utiliza y del lugar en donde se encuentre Zhouying *et al.*, (2016). Zapater *et al.*, (2014) encontraron que los principales protozoos en humedales artificiales aireados son los rotíferos y ciliados.

## **2.6. PASTO VETIVER (*Chrysopogon zizanioides*)**

Se caracteriza por sus atributos morfológicos únicos, es una planta herbácea de la familia de las poaceas, perenne que se desarrolla en grandes macollos a partir de una masa radicular muy ramificada y esponjosa por lo que no tiene rizomas ni estolones, lo que les da la facultad de no ser invasivas. Son estériles por lo que la manera más usual de propagar la planta es separando brotes maduros de la macolla de vetiver, obteniendo hijos o también llamados “esquejes”, que deberán

ser plantados de forma inmediata en el campo o en contenedores, desarrollando tallos bien erguidos y rectos de 0,5 a 1,5m (Orihuela, 2007).

Su sistema radicular es muy fuerte y es capaz de desarrollarse verticalmente hasta una profundidad de 4 m aunque lo más frecuente es de 2m o 3m, se extiende radialmente solo unos 0,5m alrededor de la planta, sus hojas son sencillas, largas y rígidas de 0,3m – 1m de largo y de 4-10mm ancho, el vetiver puede alcanzar una altura de 2 m (Wildschut, 2013).

El vetiver una vez plantado crece muy rápido, puede desarrollarse en 6 meses una planta de 2m de altura y con raíces de 1m de largo que llegan a la madurez a los 18-24 meses con raíces de hasta 4m también se caracteriza por poseer una longevidad alta, de más de 50 años. A la vez desarrolla un sistema radicular poderoso, profundo y muy resistente por lo que tanto la parte aérea como subterránea crea una barrera eficaz (Wildschut, 2013).

Vetiver proviene de la India especialmente de los pantanos. Es tanto hidrófita, como xerófitas, una vez establecida puede resistir sequías, inundaciones y prolongados periodos de anegamiento, para su cultivo se necesita realizarlo en pleno sol por lo que requiere altos requerimientos de la luz solar y en sombra (superior a un 40%) crece más despacio o muere (Campos y Leon, 2017). La planta por su lugar de origen es de clima tropical, se desarrolla óptimamente a temperaturas de 20–30°C, aunque puede tolerar temperaturas aéreas de –15°C a +40°C (Wildschut, 2013).

En medio acuático, las raíces se desarrollan menos, pero aún presentan una masa densa de raíces finas con un diámetro promedio de 0,5-1 mm. La rizósfera ofrece de esta manera una superficie específica ( $m^2 / m^3$ ) grande para el establecimiento de una masa microbiana activa (Wildschut, 2013). El vetiver como especie propia de pantano muestra un elevado nivel de evapotranspiración que puede llegar a 30 mm/día y además un umbral de salinidad de 8 dS/m (Truong, 1999).

El pasto vetiver es una planta con altas capacidades de adaptación y soporta altas concentraciones de metales pesados (Badejo *et al.*, 2017). Por esta razón su uso

en el tratamiento de aguas residuales industriales es una alternativa a considerar (Wang *et al.*, 2009). Se ha podido demostrar en investigaciones que el pasto vetiver en condiciones hidropónicas es capaz de remover nitrógeno total de 100 mg/L a 6 mg/L (94 % de eficiencia); el fósforo total de 10 mg/L a 1 mg/L (90 %); y aumentar niveles de Oxígeno disuelto de <1 mg/L a 8 mg/L (Truong *et al.*, 2000).

Algunos autores también obtuvieron remoción de materia orgánica tratando aguas residuales con el pasto vetiver (Ramos *et al.*, 2017; Mudhiriza *et al.*, 2015; Badejo *et al.*, 2017 y Almeida *et al.*, 2017)

### **2.6.1. Sistemas hidropónicos con pasto vetiver para tratar aguas residuales**

Los sistemas hidropónicos son comúnmente usados para la producción de alimentos en un medio acuático; sin embargo, este método es utilizado para tratar aguas residuales en la tecnología conocida como Humedales Artificiales de flujo superficial, cuando la planta utilizada es terrestre y debe ser acondicionada para trabajar en condiciones acuáticas. De acuerdo a (Darajeh *et al.*, 2016; Boonsong y Chansiri, 2008 y Gerrard 2008) quienes trataron aguas residuales con pasto vetiver, se lo hace utilizando láminas de poliestireno como soporte de las plantas.

Según Santana y Santos (2016) con el pasto vetiver se puede remover contaminantes orgánicos y llegar a tener porcentajes de remoción de DBO (72.92%), nitrógeno (84.09%), fósforo (65.04%).

## **2.7. MICROORGANISMOS PARA TRATAR AGUAS RESIDUALES**

Los microorganismos se encargan de realizar el tratamiento biológico. En la zona superior del humedal, donde predomina el oxígeno liberado por las raíces de las plantas y el oxígeno proveniente de la atmósfera, se desarrollan colonias de microorganismos aerobios. En el resto del lecho granular predominarán los microorganismos anaerobios. Los principales procesos que llevan a cabo los microorganismos son la degradación de la materia orgánica, la eliminación de nutrientes y elementos traza y la desinfección (Arias, 2004).

Los principales microorganismos presentes en la biopelícula de los humedales son: bacterias, levaduras, hongos y protozoarios. La biomasa microbiana consume gran parte del carbono y muchos nutrientes. La actividad microbiana tiene la función de transformar un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas e insolubles y alterar las condiciones de potencial de reducción y oxidación del sustrato afectando así a la capacidad de proceso del humedal. Asimismo, gracias a la actividad biológica, muchas de las sustancias contaminantes se convierten en gases que son liberados a la atmósfera (Lara, 1999).

En los últimos años también se han venido utilizando micro algas (Goncalves *et al.*, 2017) y microorganismos oleaginosos (Huang *et al.*, 2017).

### **2.7.1. *Saccharomyces cerevisiae***

Es una levadura anaerobia facultativa, su uso en la industria es de los más diversos, desde la producción de alcohol (Suarez *et al.*, 2016) hasta la producción de fármacos (Pyne *et al.*, 2016). Su pH depende de la finalidad de su uso, 4,5 para producción de alcohol, Arias *et al.*, (2015) obtuvo mayor crecimiento celular en pH 6. Esta levadura presenta altas capacidades de adsorción de micotoxinas, lo que aumenta su versatilidad en la industria, siendo una alternativa el asociar esta levadura a procesos biotecnológicos. Su medio de cultivo es muy variado puede ser melazas (Aguilar *et al.*, 2015), como diversos tipos de jugos de frutas.

En aguas residuales ha sido utilizada para remover metales pesados (Amirnia *et al.*, 2015) y remoción de colorantes en aguas residuales de tintorería (Vatandoostarani *et al.*, 2017). También ha sido utilizada en la remoción de la Demanda Química de Oxígeno en Agua de cola de la industria pesquera, con eficiencias de remoción de 81,2 % (Kam *et al.*, 2012) y en aguas residuales de una industria cervecera de acuerdo a Pires *et al.*, (2016).

### **2.7.2. *Trichoderma Harzianum***

Es un hongo aerobio utilizado frecuentemente en agricultura como biosida por su capacidad antagónica contra hongos fitopatológicos (Balakrishnan *et al.*, 2017), puede crecer en temperaturas de entre 6 y 32 °C, el contenido mínimo de humedad para su esporulación es de 95% (Romero *et al.*, 2009) y puede crecer en diversos medios de cultivos desde Agar maltosa, Agar de papa y Dextrosa (PDA) (Ramada *et al.*, 2016), hasta residuos agroindustriales (Dhillon y Kaur, 2016), también se ha visto su crecimiento en aguas residuales domésticas (Libardi *et al.*, 2017). Su uso en la industria es principalmente para la producción de enzimas (Kredics *et al.*, 2005). Puede crecer en pH de entre 2 – 9, su producción enzimática depende de este, para la producción de proteasas el pH óptimo es 6 como lo indica (Kredics *et al.*, 2005 y Aissaoui *et al.*, 2017).

*T. harzianum* se ha utilizado para remover materia orgánica en el tratamiento de aguas residuales, con resultados satisfactorios como lo indica (Awasthi *et al.*, 2017; Sadhasivam *et al.*, 2010 y Hultberg y Bodin, 2017), también se lo ha usado en aguas residuales para la remoción de antibióticos y fármacos (Buchicchio *et al.*, 2016).

### **2.7.3. Consorcio microbiano**

Un Consorcio Microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás (Ochoa y Montoya, 2010).

De acuerdo a Bravo y Giler (2016) quienes utilizaron consorcios microbianos para tratar aguas residuales domésticas, se puede llegar a tener porcentajes de remoción de DBO de 95,15%.

## **2.8. MICROORGANISMOS COMPETIDORES EN TRATAMIENTOS**

Los microorganismos autóctonos en aguas residuales pueden competir con los microorganismos que se van a probar en un tratamiento, entre los principales están microalgas, lo que puede crear falsos positivos debido a que en tratamientos a escala piloto o en planta se tienen otras condiciones en donde no se prestan las condiciones para el crecimiento de estas microalgas.

Santana y Santos (2016) mencionaron crecimiento de algas a partir del octavo día en un tratamiento con pasto vetiver a escala laboratorio para la recuperación de un río. Chen *et al* (2016) evitaron el crecimiento de algas en sus tratamientos pintando los reactores de color negro.

## **2.9. TIPOS DE REACTORES**

Un reactor químico es un equipo en donde en su interior tiene lugar una reacción química, se diseña para maximizar la selectividad y conversión de una reacción al menor coste posible. Si la reacción química es catalizada por una enzima purificada o producida por un organismo se le denomina bioreactor.

Existen gran variedad de reactores, se puede clasificar en función de su flujo para reacciones homogéneas en: Flujo continuo (mezcla completa), Discontinuo (batch) y Flujo pistón.

### **2.9.1. Reactor de flujo continuo**

El reactor de flujo continuo o de mezcla completa es un reactor donde todos los puntos del reactor tienen la misma composición y en donde se asume un flujo de alimentación y salida uniforme. Por esta razón la corriente de salida tiene la misma composición y propiedades que el fluido que está dentro del reactor. La operación del reactor de flujo continuo es en estado estacionario, esto quiere decir, no existe acumulación en el interior del reactor (López y Borzacconi, 2009).

### **2.9.2. Reactor discontinuo (Batch)**

En un reactor discontinuo ideal no hay entrada ni salida de reactante. Se supone además que el reactor está perfectamente agitado, esto es, que la composición es la misma en todos los puntos del reactor para un instante de tiempo dado (López y Borzacconi, 2009).

### **2.9.3. Reactor tipo flujo pistón**

El reactor de flujo pistón se caracteriza porque el flujo del fluido en el reactor es ordenado, ningún elemento del fluido sobrepasa o se mezcla con cualquier otro elemento situado antes o después de este, esto quiere decir, no existe mezcla en la dirección de flujo (dirección axial). Como consecuencia, cada uno de los elementos del fluido posee el mismo tiempo de residencia dentro del reactor (López y Borzacconi, 2009).

### **2.9.4. Reactor Batch secuencial para tratamiento de aguas residuales**

En contraste con el sistema continuo, el agua se introduce al reactor en un tiempo establecido previamente, la degradación de la materia orgánica y la sedimentación se realizan en el mismo tanque. Las etapas del proceso son secuenciales y se repiten periódicamente, además de que se emplea aireación (proceso aerobio) o no (proceso anaerobio) de acuerdo a las necesidades de los microorganismos, para conseguir la degradación de la materia orgánica y la eliminación de nitrógeno y de fósforo (Muñoz y Ramos, 2014).

Los sistemas de reactores discontinuos tienen en común 4 etapas, las cuales se llevan a cabo en secuencia: etapa de llenado, para la adición de sustrato al reactor; etapa de reacción, en la cual el reactor se somete o no a aireación; dependiendo de las necesidades del tratamiento, etapa de sedimentación que permite la separación de sólidos para lograr un sobrenadante clarificado como efluente; y etapa de vaciado, cuyo propósito es la extracción del agua clarificada del reactor (Muñoz y Ramos, 2014).

## **2.10. TIPOS DE MUESTREO DE AGUAS RESIDUALES**

### **2.10.1. Muestra individual**

INEN 2176 menciona que una muestra individual también llamada puntual o instantánea, es la muestra que se toma de forma al azar con respecto al tiempo y/o lugar de un volumen de agua.

### **2.10.2. Muestra Compuesta**

De acuerdo a INEN 2176 es una muestra de dos o más submuestras, que se mezclan en proporciones conocidas, de la que se puede obtener un resultado promedio de una característica determinada. Los criterios para el muestreo se basan en el tiempo de muestra y en el flujo del residual.

## **2.11. Manejo y conservación de muestras**

De acuerdo a INEN 2169 el recipiente de la muestra depende del tipo de análisis que se vaya a realizar. El Análisis de pH, oxígeno disuelto y temperatura se deben realizar in situ. Para análisis biológicos se debe llenar completamente el recipiente y mantenerlo refrigerado entre 2-5 °C en un lugar oscuro, para no alterar su composición en el transporte al laboratorio.

## **2.12. DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR**

Según Castejón (2011), es el diseño más sencillo de usar, los tratamientos se establecen al azar entre las unidades experimentales. Este diseño es aplicable cuando las unidades experimentales actúan por igual, es decir, son homogéneas. La homogeneidad de las unidades experimentales ejerciendo un control adecuado sin embargo, se debe tener presente que todo material biológico, por homogéneo que sea, presenta cierta fluctuación y por lo tanto son incontrolables.

Su nombre se debe del hecho a que existe completamente una aleatorización, también se lo denomina como Diseño de una Vía. Una de las ventajas de este diseño es su flexibilidad, ya que hay una total libertad en la unidad experimental, sin embargo, en comparación con otros dispositivos experimentales donde se

puede ejercer control, es menos sensible y tiene poder analítico débil (Castejón, 2011).

## **2.13. PRUEBAS ESTADÍSTICAS**

### **2.13.1. Prueba de tukey**

Es un test que trata de especificar una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los Test ANOVA. Compara las medias de los 16 números de niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA (Llopis, 2013)

## **2.14. EFICIENCIA DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO**

La eficiencia de las plantas de tratamiento se define como la reducción porcentual de indicadores apropiados, considerados en forma acumulativa o de determinadas sustancias. Para la determinación de la reducción se establece para el indicador específico, una relación entre la concentración de entrada de la planta y la correspondiente concentración de salida (ATV, 1994). Y la expresa la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{DBO\ entrada - DBO\ salida}{DBO\ entrada} \times 100 \quad (2.1)$$

En donde

$\eta$  = Eficiencia del sistema en porcentaje

*DBO entrada* = Demanda Bioquímica de Oxígeno que entra a la planta

*DBO salida* = Demanda Bioquímica de Oxígeno que sale de la planta

## **2.15. ANÁLISIS COSTO/BENEFICIO**

El análisis costo/beneficio se realiza para comparar la viabilidad económica asociada a la ejecución de diferentes propuestas. Se inicia desde la premisa de que un proyecto sólo debe implementarse si todos los beneficios superan los costes totales (Mas, 2016). El beneficio neto de cada opción es la diferencia entre

beneficios (ingresos) y costos (egresos), se lo calcula de acuerdo a la ecuación **2.2.**

$$Bn = \text{Beneficios} - \text{Costos} \text{ (2.2)}$$

En donde

$$Bn = \text{Beneficio neto}$$

$$\text{Beneficios} = \text{Ingresos}$$

$$\text{Costos} = \text{Egresos}$$

### **2.15.1. Costos directos**

Estos costos se asocian con el producto de una forma muy clara, sin necesidad de ningún tipo de reparto. Se producen cuando las empresas establecen mecanismos de control para conocer con exactitud la cantidad de coste que va al producto, servicio o sección. Dentro de estos, los más habituales son: materias primas y mano de obra directa (Mazuelas, 2014).

### **2.15.2. Costos indirectos**

Los costos indirectos son costos que afectan la producción pero que no pueden ser asignados directamente al producto, son costos de gran importancia ya que son necesarios para la planeación, el presupuesto, la toma de decisiones. Dentro de estos, los costos indirectos más habituales son: Mano de obra indirecta, tiempos improductivos, el arrendamiento, la depreciación, administrativos, comerciales, entre otros (Mazuelas, 2014).

## **2.16. COSTOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

De acuerdo a Quintero *et al.*, (2007) los costos de una planta de tratamiento de aguas residuales pueden ser clasificados principalmente en dos categorías: los costos de inversión inicial, y los costos de funcionamiento (administración, operación, mantenimiento).

Los costos de inversión inicial de los sistemas de tratamiento de aguas residuales están asociados con las inversiones necesarias para la construcción de la infraestructura física de la planta. En este sentido, incluye los costos de diseño, materias primas, maquinaria, equipos y mano de obra.

De acuerdo con SEYFRIED (1985) citado por Quintero *et al.*, (2007) los costos de un sistema de tratamiento de aguas residuales no son linealmente proporcionales al caudal de la planta, pues el tamaño de la misma depende también de las características del agua a tratar.

En sistemas de tratamiento de aguas residuales los costos de operación y mantenimiento están principalmente influenciados por los requerimientos de la tecnología. Estos requerimientos son: Energía eléctrica, Insumos químicos, Control de calidad del agua de proceso, Mantenimiento y reparación de equipos, Personal para operación y mantenimiento de las instalaciones y Gastos de administrativos.

## **CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO**

### **3.1. UBICACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en la parte posterior del edificio en donde se encuentran los laboratorios del área agropecuaria de la ESPAM "MFL" en las coordenadas geográficas 0°49'8.71"S; 80°10'53.73"O.

### **3.2. DURACIÓN**

Esta investigación tuvo una duración de 6 meses desde octubre de 2017 hasta marzo de 2018.

### **3.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS**

#### **3.3.1. Cuantitativo experimental**

Se tuvo en cuenta este método ya que se manipuló la variable independiente, se evaluó el efecto de la variable independiente (Humedal Artificial Aireado con Pasto vetiver y Consorcio microbiano) sobre la dependiente (contaminantes orgánicos).

#### **3.3.2. Campo**

Este método se consideró, ya que se trabajó en el lugar de donde nace el problema, el cual es la planta IROTOP.

#### **3.3.3. Bibliográfico**

Ayudó con la investigación en las definiciones de los temas relevantes de la investigación, mediante indagación de libros, revista científicas, normativas, entre otros.

### **3.4. FACTOR EN ESTUDIO**

**Factor:** Consorcio Microbiano y Pasto vetiver.

### 3.4.1. Niveles

Se utilizó diferentes combinaciones de los Microorganismos y el Pasto vetiver, quedando de la siguiente manera:

P0: Tratamiento control, sin plantas y microorganismos

P1: Pasto vetiver

P1 M1: Pasto vetiver y *Saccharomyces cerevisiae*

P1 M2: Pasto vetiver y *Trichoderma harzianum*

P1 M1 M2: Pasto vetiver, *S. cerevisiae* y *T. harzianum*

### 3.5. UNIDAD EXPERIMENTAL

El total de las combinaciones de los tratamientos fue de 5 (4 tratamientos y 1 control) y a cada uno se le realizaron 3 repeticiones, de esta manera nuestra unidad experimental fue de 15. Se utilizó para cada tratamiento 16 litros de agua residual del efluente de la empresa IROTOP.

Tabla 3.1. Descripción de los tratamientos.

Código	Combinación de los Tratamientos	Dosis		
		Pasto vetiver (# individuos)	Microorganismo (s) (mg/l)	Aire (l/min)
P0	-----	-----	-----	3
P1	Pasto vetiver	15	1,5	3
P1M1	Pasto vetiver + <i>S. cerevisiae</i>	15	1,5	3
P1M2	Pasto vetiver + <i>T. harzianum</i>	15	1,5	3
P1M1M2	Pasto vetiver + <i>S. cerevisiae</i> + <i>T. harzianum</i>	15	1,5	3

Fuente: Autor

### 3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Esta investigación fue de carácter experimental y estuvo sujeto a un Diseño Completamente al Azar (DCA), se realizaron 5 tratamientos, a cada uno se le realizaron tres réplicas, dando un total de 15 unidades experimentales. A cada replica se le realizaron los análisis de DBO, Nitrógeno Total Kjeldahl y Fósforo Total.

**Tabla 3.2.** Esquema de ANOVA.

Fuente de Variación	Grado de Libertad
Total	14
Tratamiento	4
Error experimental	10

Fuente: Autor

### 3.7. DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Después de realizar un sorteo para conocer la ubicación de cada tratamiento y sus repeticiones, la distribución quedó de la siguiente manera:

**Tabla 3.3.** Distribución de los tratamientos.

Distribución de los tratamientos		
P1 M1 M2	P1 M1 M2	P0
P1 M2	P1	P1 M1 M2
P1 M2	P1 M1	P1 M2
P1	P1	P1 M1
P0	P0	P1 M1

Fuente: Autor

### 3.8. VARIABLES A MEDIR

#### 3.8.1. Variable dependiente

Contaminantes orgánicos del residual líquido

#### Indicadores

Nitrógeno Total Kjeldahl

Fósforo Total

DBO

#### Variable complementaria

pH

### 3.8.2. Variable independiente

Humedal Artificial aireado con Pasto vetiver y Consorcio microbiano.

## 3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

El experimento se llevó a cabo en función de los objetivos planteados y se dividió en 2 fases: la fase 1 comprende el cumplimiento del primer y segundo objetivo, y la fase 2 el cumplimiento del tercer objetivo.

### Fase I. Objetivo 1. Caracterización del efluente de la empresa IROTOP

#### Actividad 1. Muestreo del efluente de la empresa IROTOP

El agua residual industrial clarificada de la empresa IROTOP fue recolectada en un tanque de 500 litros mediante un muestreo compuesto, en donde el criterio utilizado fue el intervalo de tiempo entre cada toma de muestra como lo indica el acápite **2.10.2**. Consistió en recolectar 20 litros de agua residual cada 30 minutos por un lapso de 7 horas, con esto se obtuvo una muestra representativa de un día de tratamiento.

#### Actividad 2. Análisis en el laboratorio

Se recolectó una alícuota de la muestra compuesta del agua residual clarificada de la planta y se procedió hacer la medición del pH in situ, posteriormente se envió la alícuota refrigerada de acuerdo al acápite **2.11** al laboratorio del Grupo Químico Marcos donde se realizaron los análisis de la **Tabla 3.4**.

**Tabla 3.4.** Análisis y Método utilizado.

Análisis	Método
Fósforo total	Standard Methods, Ed.22, 2012 3120B
DBO	PEE-GQM-FQ-17
Nitrógeno total Kjeldahl	PEE-GQM-FQ-42

Fuente: Grupo Químico Marcos.

## **Objetivo 2. Aplicación de *C. zizanioides* y microorganismos en el tratamiento del residual líquido de la empresa IROTOP.**

### **Actividad 3. Adaptación del pasto vetiver**

Mediante un proveedor se obtuvo un total de 500 individuos de pasto vetiver, de una edad de 6 meses y cortados a 30 cm. Se lavaron con agua potable y se los dejó en 8 cm de agua por 5 semanas para que tengan el proceso de adaptación al medio acuático. Pasado este tiempo las plantas desarrollaron nuevas raíces y estuvieron listas para utilizarse en el tratamiento de acuerdo a lo que manifiesta Darajeh *et al* (2016). Los criterios de selección de los individuos de pasto vetiver para su uso en los tratamientos fueron: tallo formado, crecimiento de nuevas raíces y altura de las raíces ( $\geq 5\text{cm}$ ). Se seleccionaron 180 individuos en total.

### **Actividad 4. Preparación de los medios de cultivo y multiplicación de los microorganismos.**

El medio de cultivo para la multiplicación de *S. cerevisiae* fue melaza al 5 % (Aguilar *et al.*, 2015), a pH 6 para propiciar su óptimo crecimiento de acuerdo a Arias *et al.*, (2017). El de *T. harzianum* fue el Agar Papa Dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) (Ramada *et al.*, 2016), a pH 6 para propiciar la producción de Proteasas de acuerdo a (Kredics *et al.*, 2005 y Aissaoui *et al.*, 2017).

Las cepas de los microorganismos se obtuvieron del laboratorio de microbiología del Área Agropecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MFL". Se sembraron en los medios para su multiplicación. El conteo de colonias fue medido mediante Cámara Neubauer, la concentración final de cada microorganismo se puede ver en el **Anexo 1**.

### **Actividad 5. Preparación del terreno**

El terreno utilizado fue de 6m de ancho x 5m de largo (área total = 30 m<sup>2</sup>), se hizo el desbroce de las malezas y se limpió el lugar, luego se niveló. Para evitar la dilución por las precipitaciones, se colocó como techo un plástico transparente de polietileno para permitir el paso de la radiación solar. Finalmente se hizo un cercamiento del tratamiento con un saram de 2mm de luz.

## **Actividad 6. Preparación del tratamiento**

De la muestra compuesta de agua residual clarificada mencionada en la **Actividad 1** se tomó 240l para el total de los tratamientos, en cada reactor se colocó 16l del agua residual.

Los tratamientos se los realizaron en reactores batch con agitación mediante aire, cada reactor es de polipropileno y su volumen 20l. Se pintaron los reactores para evitar el crecimiento de algas de acuerdo a Chen *et al* (2016), con pintura acrílica color negro de la marca Condor. Cada tanque se colocó a una distancia de 0,5m x 0,5m.

La aireación de todos los tratamientos fue continua como lo indica (Liu *et al.*, 2013; Boog *et al.*, 2014). A cada tratamiento se le suministró 3 l/min aire (Wu *et al.*, 2016), el compresor de aire utilizado fue la AIR PUMP SC-7500 MARCA JAD, se le colocó una manguera estándar 4/6 con piedra difusora de micro burbujas de aire. La aireación fue desde el fondo del reactor como indica (Zapater *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015)

Para adaptar al modelo hidropónico a los individuos de pasto vetiver, se hizo un corte de 7 cm de diámetro en el centro de una lámina de poliestireno de 3 cm de espesor de acuerdo a (Darajeh *et al.*, 2016; Boonsong y Chansiri, 2008 y Gerrard 2008), lugar en donde se dispusieron los esquejes, sujetos por la misma lámina de poliestireno cortada. En total fueron 12 modelos hidropónicos, exceptuando el tratamiento P0 donde no se utilizó pasto vetiver. Se utilizaron para cada modelo hidropónico 15 individuos de pasto vetiver que cumplieron los criterios de selección de la **Actividad 3**. De acuerdo a Zambrano *et al.*, (2016) y Darajeh *et al.*, (2016) quienes utilizaron 12 y 15 esquejes respectivamente, obteniendo resultados favorables.

## **Actividad 7. Manejo del tratamiento**

Después de mantener bajo aireación los tratamientos durante 1 día para aumentar el contenido de oxígeno disuelto, se aplicó 1,5 ml/l de *S. cerevisiae* en el tratamiento P1M1, en el P1M2 1,5ml/l de *T. harzianum* y en el tratamiento

P1M1M2 1,5 ml/l de la combinación de ambos *S. cereviciae* y *T. harzianum*. En los otros tratamientos (P0 y P1) no se aplicó ningún microorganismo como lo indica la **Tabla 3.1**.

Finalmente se cuantificó la cantidad de individuos de pasto vetiver muertos, para cada tratamiento.

#### **Actividad 8. Análisis en el laboratorio**

Al final del tratamiento (día 21) se realizó un muestreo individual para cada tratamiento de acuerdo al acápite **2.10.1**, a las cuales se les hizo la medición de pH in situ, posteriormente se llevaron refrigeradas y llenadas completamente de acuerdo al acápite **2.11**, al laboratorio del Grupo Químico Marcos, en donde se realizaron los análisis de la **Tabla 3.4**.

#### **Actividad 9. Comparación con Normativa de la Legislación Ambiental Ecuatoriana**

Se hizo una comparación con la **Tabla 9**. Límites de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público, **Tabla 10**. Límites de descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce y **Tabla 11**. Límites de descarga de efluentes a un cuerpo de agua marina en zona de rompientes del libro VI, Anexo 1 “Norma De Calidad Ambiental Y De Descarga De Efluentes: Recurso Agua” del TULSMA (2015).

#### **FASE 2. Objetivo 3. Análisis de eficiencia y costo/beneficio del tratamiento**

##### **Actividad 10. Análisis de eficiencia**

La eficiencia del tratamiento para cada variable se la obtuvo de acuerdo a la ecuación **(2.1.)** utilizada por la Asociación Alemana de abastecimiento (1994) en el tratamiento de aguas residuales.

##### **Actividad 11. Análisis costo/beneficio**

Se determinó el beneficio neto de cada opción de acuerdo a la ecuación **(2.2)**. El análisis costo/beneficio se realizó comparando la viabilidad económica para tratar  $1\text{m}^3$  de agua residual para cada uno de los tratamientos.

## Beneficios

Los beneficios asociados a cada tratamiento se hicieron en función de la tarifa por tratar 1m<sup>3</sup> de agua residual de la empresa y del cumplimiento de las Variables Demanda Bioquímica de Oxígeno, Nitrógeno Total Kjeldahl y Fósforo Total de acuerdo a las Normativas de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público, descarga a un cuerpo de agua dulce y descarga a un cuerpo de agua marina en zona de rompientes del TULSMA (2015) para cada tratamiento.

La Empresa IROTOP tiene una tarifa de 2,80 USDD por cada m<sup>3</sup> de agua tratada.

## Costos

Como los tratamientos de esta investigación son a escala laboratorio, solo se consideraron los costos directos asociados a la operación de cada tratamiento, los cuales fueron: costo de dosificación de microorganismos, costo del pasto vetiver. No se tomó en cuenta el costo de la aireación debido a que como no se consideró el Tiempo de retención hidráulico como factor en los tratamientos, no se conoce el tiempo de estabilización para la remoción de cada variable; por lo tanto, el costo de aireación sería elevado considerando un tiempo de retención hidráulico de 21 días para todos los tratamientos.

El costo por cada bulto (500 individuos) de pasto vetiver es de 65,00 USDD. Se considera que se puede tratar 1m<sup>2</sup> por cada 15 individuos de acuerdo a Darajeh *et al.*, (2016).

De acuerdo a Fajardo (2018) el costo para producir 1litro de *S. cerevisiae* es de 6,65 USDD y de *T. harzianum* 15,00 USDD.

## 3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de las variables en estudio se realizaron las siguientes pruebas:

Análisis de varianza (ANOVA)

Prueba de diferencias honestamente significativa de Tukey (HSD) al 5% de probabilidad del error (Snedecor y Cochran, 1980).

Diagrama de Caja y bigotes.

### **3.10.1. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS**

El análisis de los datos se los efectuó por medio del software estadístico Infostat 2018.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. CARACTERIZACIÓN DEL EFLUENTE DE LA EMPRESA IROTOP

En la Tabla 4.1. se muestran los valores de la concentración de los contaminantes orgánicos y el pH del efluente de la empresa IROTOP.

**Tabla 4.1.** Caracterización del efluente de la empresa IROTOP.

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CONCENTRACIÓN
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/l	2058,3
Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/l	463,8
Fósforo Total	mg/l	3,34
pH	unidades de pH	6,3

Fuente: Grupo Químico Marcos.

La Concentración de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en el efluente de la empresa IROTOP fue de 2058,3 mg/l, la del Nitrógeno Total Keldahl 463,8 mg/l y la del Fósforo Total 3,34 mg/l. El valor del pH en el efluente de la planta fue de 6,3.

### 4.2. APLICACIÓN DE PASTO VETIVER Y MICROORGANISMOS EN EL TRATAMIENTO DEL RESIDUAL LÍQUIDO DE LA EMPRESA IROTOP.

En la **Tabla 4.2.** se puede observar la media de las concentraciones de los contaminantes orgánicos (DBO, Nitrógeno Total Kjeldahl y Fósforo Total) y el pH después de 21 días de tratamiento, ver **Anexo 2.**

**Tabla 4.2.** Concentración de los contaminantes orgánicos después del tratamiento

TRATAMIENTO	NTK FINAL	DBO FINAL	PT FINAL	pH FINAL
P0	199,51±0,82 D <sup>1</sup>	14,18±1,62 C	4,05±0,20 A	6,14±0,13 AB
P1	164,36±3,94 C	8,59±0,84 B	4,99±0,9 A	6,13±0,08 AB
P1M1	133,25±2,65 B	5,35±0,79 A	4,73±0,48 A	6,13±0,06 AB
P1M2	121,58±3,83 A	6,66±0,87 AB	4,41±0,41 A	6,34±0,09 B
P1M1M2	121,49±3,86 A	5,82±0,18 A	4,95±0,23 A	6,12±0,02 A

± Es la desviación estándar de la media para cada tratamiento.

<sup>1</sup> Prueba de Tukey al 5% de confianza. Ver **Anexo 4**.

Fuente: Autor

La concentración de Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) descendió en todos los tratamientos, con rangos entre 199,51 – 121,49 mg/l, desde una concentración inicial de 463,8 mg/l coincidiendo con Ilias y Masih (2017) quienes mencionan que utilizando humedales artificiales el contenido de Nitrogeno Total Kjeldahl desciende.

El tratamiento P1M1M2 tuvo la concentración más baja de Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) y no tuvo diferencias significativas con el tratamiento P1M2, por lo que se puede asociar el aplicar *T. harzianum* en estos tratamientos, debido a que este hongo tiene la capacidad de producir proteasas como lo manifiestan Kredics *et al.*, (2005) y comprobado por Aissaoui *et al.*, (2017) quienes cuantificaron la cantidad de proteasas producidas por *T. harzianum* creciendo en un medio líquido a base de residuos de pescado, estas proteasas por medio de hidrolisis enzimática hacen que las proteínas se desdoblén en péptidos más pequeños y aminoácidos, lo que aumenta el Nitrógeno Biodisponible que puede ser consumido para crecimiento de las plantas y la producción de nuevas células, lo que conlleva a una reducción de Nitrógeno en el agua residual.

Las medias de la concentración de DBO disminuyó en donde todos los tratamientos que tienen pasto vetiver con rangos entre 5,35 – 8,59 mg/l, Ramos *et al.*, (2017) también registraron disminución en la DBO utilizando Pasto Vetiver.

La concentración más baja de la Demanda Bioquímica de Oxígeno se dio en el tratamiento P1M1; sin embargo, no muestra diferencias significativas con el

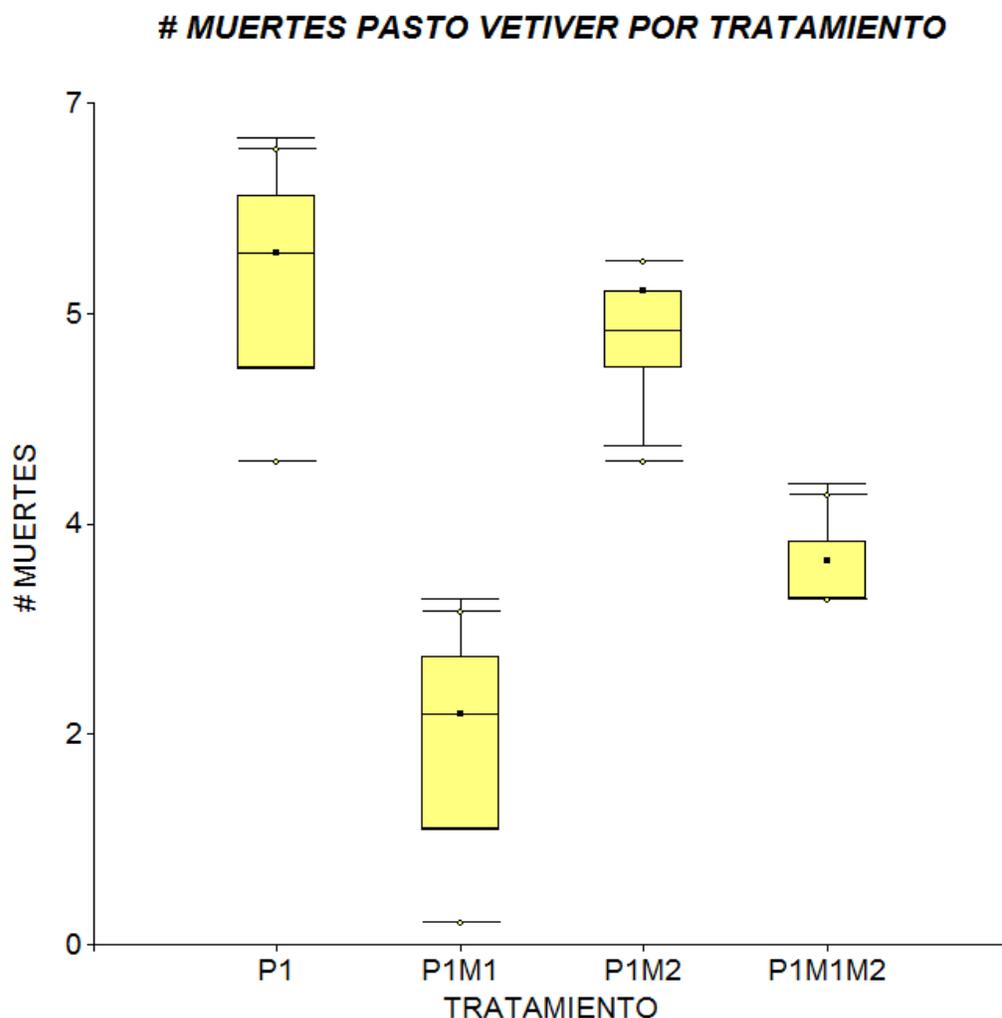
tratamiento P1M1M2 por lo que se asocia a la capacidad de *S. cerevisiae* de utilizar como fuente de carbono la materia orgánica del agua residual, en la producción de nuevas células de acuerdo a Kam *et al.*, (2012) quienes obtuvieron 5,06 g/l de biomasa por litro de agua residual pesquera tratada. El tratamiento P1M2 también bajó considerablemente la concentración de DBO coincidiendo con los datos obtenidos por Hultberg y Bodin (2017) quienes obtuvieron un descenso en la concentración de DBO partiendo de 5567 mg/l hasta 1221 mg/l utilizando *T. Harzianum*.

Hubo un aumento de Fósforo total para todos los tratamientos desde una concentración inicial de 3,34 mg/l hasta entre 4,05 – 4,99 mg/l, en contra posición con lo que manifiesta Almeida *et al.*, (2017) quienes no obtuvieron ninguna variación de Fosforo total en el tratamiento con pasto vetiver. De acuerdo a Cárdenas *et al.*, (2012) para que haya una remoción de Fósforo debe haber un tratamiento anaerobio previo a la aireación, lo que coincide Cui *et al.*, (2009) quienes mencionan que en reactores batch para que los organismos acumuladores de fosforo disminuyan la concentración de este en agua residual se debe considerar utilizar secuencias aerobias/anaerobias en el tratamiento. De acuerdo a Muñoz y Ramos (2014) la relación C:N:P (carbóno:nitrógeno:fósforo) es también una variable a considerar en la remoción de fósforo en agua residual.

El pH descendió ligeramente para la mayoría de los tratamientos de 6,3 a entre 6,12- 6,14 la excepción fue el tratamiento P1M2 que se mantuvo prácticamente igual en 6,34. Mudhiriza *et al.*, (2015) tampoco encontraron cambios considerables de pH en los tratamientos que tenían pasto vetiver y su control, la variación osciló de 7,44 – 7,64 de un pH inicial de 7,62. Parecido a los datos encontrados por Badejo *et al.*, (2017) quienes utilizaron el vetiver con aireación y en donde su pH estuvo entre 6,94 – 7,23 partiendo de 7,40

### 4.3. MUERTE DE PASTO VETIVER EN LOS TRATAMIENTOS

En el **Gráfico 4.1.** se muestran la distribución de los datos para la muerte de pasto vetiver en todos los tratamientos a excepción del tratamiento P0 (control) en donde no se utilizó pasto vetiver.



**Gráfico 4.1.** Diagrama de cajas # de muertes por cada tratamiento.

Fuente: Autor.

La mayor cantidad de muertes fue la del tratamiento P1 en donde solo se utilizó pasto vetiver, lo que puede ser debido a las micotoxinas producidas por hongos que se pueden encontrar en aguas residuales Gromatzka *et al.*, (2015).

El tratamiento P1M1 obtuvo el menor número de muertes, el tercer cuartil del tratamiento estuvo en 2 muertes, seguido de P1M1M2, por lo que se puede

asociar a la utilización de pasto vetiver junto a *S. cerevisiae* ya que ambos no muestran diferencias significativas entre sí **Anexo 5e**, lo que de acuerdo a Vila *et al.*, (2018) puede ser debido a la capacidad de esta levadura para adsorber micotoxinas que afectan a las plantas, lo que coincide con Ying *et al.*, (2018) quienes manifiestan que en la pared celular de estas levaduras son adheridas las micotoxinas.

#### 4.4. COMPARACIÓN CON LA NORMATIVA DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL ECUATORIANA

En la **Tabla 4.3.** se muestran las medias de las concentraciones finales de los contaminantes orgánicos (DBO, Nitrógeno Total Kjeldahl y Fósforo Total) y el pH, comparados con la normativa de descargas de efluentes al sistema de alcantarillado público, descargas a un cuerpo de agua dulce y descargas a un cuerpo de agua marina en zona de rompientes.

**Tabla 4.3.** Comparación de los tratamientos con la normativa de legislación ambiental ecuatoriana.

TRAT.	NTK <sup>1</sup>	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE (mg/l)			DBO <sup>1</sup>	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE (mg/l)			PT <sup>1</sup>	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE (mg/l)			pH	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE (Unid. de pH)		
		NTK <sup>2</sup>	NTK <sup>3</sup>	NTK <sup>4</sup>		DBO <sup>2</sup>	DBO <sup>3</sup>	DBO <sup>4</sup>		PT <sup>2</sup>	PT <sup>3</sup>	PT <sup>4</sup>		pH <sup>2</sup>	pH <sup>3</sup>	pH <sup>4</sup>
P0	199,5	60	50	40	14,2	250	100	200	4,1	15	10	----	6,1	6-9	6-9	6-9
P1	164,4	60	50	40	8,6	250	100	200	4,9	15	10	----	6,1	6-9	6-9	6-9
P1M1	133,3	60	50	40	5,4	250	100	200	4,7	15	10	----	6,1	6-9	6-9	6-9
P1M2	121,6	60	50	40	6,7	250	100	200	4,4	15	10	----	6,3	6-9	6-9	6-9
P1M1M2	121,5	60	50	40	5,8	250	100	200	4,9	15	10	----	6,1	6-9	6-9	6-9

1 Concentraciones medias iniciales en mg/l

2 Normativa de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público.

3 Normativa de descarga de efluentes a un cuerpo de agua dulce.

4 Normativa de descarga de efluentes a un cuerpo de agua marina en zona de rompientes.

Fuente: TULSMA (2015) y Autor.

Todos los tratamientos superan los límites máximos permisibles del Nitrógeno Total Kjeldahl a los 3 destinos de descarga; sin embargo, el tratamiento P1M1M2 en donde se utilizó al pasto vetiver junto a *S. cerevisiae* y *T. harzianum* mostró la mayor respuesta en la disminución de esta variable con una media de 121,5 mg/l, seguido por P1M2 en donde sólo se utilizó al pasto vetiver y *T. harzianum* alcanzando una concentración final de 121,6 mg/l. De acuerdo a Ilias y Masih

(2017) si la aireación en el Humedal artificial se opera por ciclos de aireación/no aireación, se puede aumentar la eficiencia de Remoción de Nitrógeno Total Kjeldahl, por lo cual se debería integrar este modo de operación al tratamiento P1M1M2, con lo que se evitaría la descarga al sistema de alcantarillado público y se optaría por una de las otras opciones de descargas, lo que beneficiaría económicamente a la empresa.

La Demanda Bioquímica de Oxígeno está por debajo del límite máximo permisible de los 3 destinos de descarga, las concentraciones después de 21 días estuvo en los rangos de 5,4 – 14,2 mg/l para todos los tratamientos, por lo que en función de esta variable, se podría considerar enviar el efluente directamente al mar o al alcantarillado pluvial.

El contenido de Fósforo Total estuvo entre 4,1-4,9 mg/l, y fue otra de las variables que su concentración después de los 21 días de tratamiento estuvo por debajo del límite máximo permisible a los 3 destinos de descargas de efluentes con los que se comparó en la **Tabla 4.3**.

Todos los tratamientos se encuentran en el rango de pH permisible para las 3 normativas de descargas, el valor del pH de todos los tratamientos osciló de 6,1 – 6,3.

#### **4.5. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE LOS CONTAMINANTES QUÍMICOS**

La **Tabla 4.4**. muestra las medias de la eficiencia de remoción de Nitrógeno Total Kjeldahl y la Demanda Bioquímica de Oxígeno para cada tratamiento después de 21 días de tratamiento, ver **Anexo 3**.

**Tabla 4.4.** Eficiencia de remoción de NTK y DBO.

TRATAMIENTO	NTK INICIO (mg/l)	%REMOCIÓN NTK	DBO INICIO (mg/l)	%REMOCIÓN DBO
P0	463,8	56,98±0,18	2058,29	99,31±0,08
P1		64,56±0,85		99,58±0,04
P1M1		71,27±0,57		99,74±0,04
P1M2		73,79±0,83		99,68±0,04
P1M1M2		73,8±0,83		99,72±0,01

± Es la desviación estándar de la media de cada tratamiento.

Fuente: Autor.

Los tratamiento en donde se obtuvieron la remoción más alta de Nitrogeno Total Kjeldahl fue el P1M1M2 y P1M2 en los que coincide el uso de *T. harzianum*, la eficiencia de remoción fue de 73,8 y 73,79% respectivamente. Una eficiencia más alta a la obtenida por Hultberg y Bodin (2017) quienes tuvieron una reducción de NTK del 52,16% tratando un agua residual con *T. harzianum*. El tratamiento P1M1 tuvo una media de remoción de 71,27%, dato parecido al obtenido por Pires *et al.*, (2016) quienes tuvieron una remoción de 66,70% en el contenido de Nitrógeno Total Kjeldahl tratando aguas residuales con dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

El porcentaje de remoción de Nitrogeno Total Kjeldahl osciló entre 64,56 - 73,8%, coincidiendo con Wang *et al.*, (2015) quienes obtuvieron una remoción de Nitrógeno Total Kjeldahl del 67% utilizando humedales artificiales con aireación continua desde el fondo del reactor. En contraposición con lo encontrado por Boog *et al.*, (2014) y Zapater *et al.*, (2014) quienes obtuvieron remoción en rangos de 34 – 41%. Ilias y Masih (2017) mencionan que utilizando intermitencia en la aireación se pueden lograr eficiencias de remoción de Nitrógeno Total Kjeldahl de entre 80 – 90%.

La remoción más alta de DBO fue la del tratamiento P1M1 en donde se utilizó a *S. cerevisiae* con una eficiencia de 99,74%, en contra posición con lo obtenido por Kam *et al.*, (2012) quienes obtuvieron una remoción de 81,2% en el tratamiento de una agua residual de la industria pesquera con *S. cerevisiae*. Seguido por el tratamiento P1M1M2 y P1M2 en donde se utilizó a *T. harzianum* alcanzando una

remoción de 99,68%, dato parecido al obtenido por Sadhasivam *et al.*, (2010) quienes obtuvieron una remoción de DBO del 91,16% en el tratamiento de agua residual con *T. harzianum*. Awasthi *et al.*, (2017) tuvieron una remoción de la DBO de 86,09% en el tratamiento de agua residual proveniente del tratamiento de residuos sólidos (lixiviados) utilizando *T. harzianum*.

La remoción de DBO para todos los tratamientos presentó una alta eficiencia con valores que oscilan entre 99,31 y 99,72%, esta alta eficiencia puede ser debido a la aireación continua durante los 21 días que duró el tratamiento. Dato parecido al obtenido por Fan *et al.*, (2013) quienes obtuvieron una eficiencia de remoción del 97% para los tratamientos con aireación continua desde el fondo del reactor. Ambos datos se oponen a los obtenidos por (Liu *et al.*, 2013 y Zapater *et al.*, 2014) quienes encontraron eficiencias de remoción en el rango de 82 - 86% en estas condiciones.

No se consideró al fósforo debido a que no se removió la concentración de fósforo para ningún tratamiento, ver **Anexo 2**. Lo que contradice a Mudhiriza *et al.*, (2015) quienes tuvieron remoción de fósforo al día 21 de tratamiento con pasto vetiver del 62,26%.

#### **4.6. COSTO BENEFICIO DE LOS TRATAMIENTOS**

En la **Tabla 4.5**. se muestra el análisis costo/beneficio para tratar 1m<sup>3</sup> de Agua residual para cada tratamiento.

**Tabla 4.5.** Análisis costo/beneficio para cada tratamiento.

DESCRIPCIÓN	TRATAMIENTO				
	CONTROL	P1	P1M1	P1M2	P1M1M2
<b>BENEFICIO (CUMPLE NORMATIVA)</b>					
<b>CUMPLE NORMATIVA DE DESCARGA AL SISTEMA DE ALCANTARILLADO PÚBLICO</b>					
FÓSFORO TOTAL	SI	SI	SI	SI	SI
DBO	SI	SI	SI	SI	SI
NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL	NO	NO	NO	NO	NO
<b>CUMPLE NORMATIVA DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA DULCE</b>					
FÓSFORO TOTAL	SI	SI	SI	SI	SI
DBO	SI	SI	SI	SI	SI
NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL	NO	NO	NO	NO	NO
<b>CUMPLE NORMATIVA DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA MARINA EN ZONA DE ROMPIENTES</b>					
FÓSFORO TOTAL	SI	SI	SI	SI	SI
DBO	SI	SI	SI	SI	SI
NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL	NO	NO	NO	NO	NO
<b>EGRESOS</b>					
DOSIFICACIÓN MICROORGANISMO (USSD)	0	0	6,65	15	10,825
Pasto vetiver (USSD)	0	1,95	1,95	1,95	1,95
<b>TOTAL EGRESOS (USSD)</b>	0	1,95	8,6	16,95	12,775
<b>INGRESOS</b>					
PAGO POR TRATAMIENTO	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
<b>TOTAL INGRESOS (USSD)</b>	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
<b>UTILIDAD</b>	2,8	0,85	-5,8	-14,15	-9,975

Fuente: Autor

En función del beneficio de los tratamientos, el P1M1M2 es en donde más eficiencia de remoción se obtuvo; sin embargo, el costo de dosificación de este tratamiento es muy elevado (10,825 USSD), por lo cual de acuerdo al costo, el tratamiento P1M1 es el tratamiento más viable por su media de remoción cercana a la obtenida en el tratamiento P1M1M2 de acuerdo a la **Tabla 4.4** y por su inferior coste de dosificación 6,65 USSD. Aunque este precio está muy por encima de los ingresos de la planta, no se asemeja a la realidad, debido a que los costos de un sistema de tratamiento de aguas residuales no son linealmente proporcionales al caudal del tratamiento de acuerdo con SEYFRIED (1985) citado por Quintero *et al.*, (2007). Teniendo esto en cuenta, el precio por tratar 1m<sup>3</sup> a una escala mayor tenderá a bajar o a subir de acuerdo a la sofisticación del tratamiento.

La empresa IROTOP deberá tener en cuenta que aunque el costo del tratamiento P1M1 supera sus ingresos, es una opción a considerar debido a que si sigue operando su planta como hasta ahora, puede verse sometida a multas por no cumplir la normativa de descargas e incluso suspender parcial o totalmente su actividad.

El costo del pasto vetiver es sólo para la implantación del tratamiento por lo cual los costos que deberán considerarse en el siguiente escalado (piloto) serán los de mantenimiento del Humedal Artificial, en especial la poda del pasto vetiver, que es lo que estimula la remoción de contaminantes.

Los tratamientos P1M1, P1M2 y P1M1M2 representan un déficit para la planta en función de la tarifa por el tratamiento de cada m<sup>3</sup> de agua residual. Por lo cual se deberá tener en cuenta lo siguiente:

Habrá que considerar el uso del Humedal Artificial con periodos de aireación intermitentes, ya que así se puede reducir el NTK hasta un 90% de acuerdo a Ilias y Masih (2017), con lo cual se podría cumplir con la normativa de descarga de efluentes y lo que representaría un menor costo frente a tecnologías convencionales de nitrificación/desnitrificación.

Libardi *et al.*, (2017) mencionan que el agua residual es un estimulante para la producción de celulasa en *T. harzianum*, por lo cual se tendrá que hacer una valoración enzimática en los tratamientos P1M2 y P1M1M2, porque de encontrar altos contenidos de celulasa, representaría un ingreso extra, debido a que las enzimas aisladas tienen un costo muy elevado en el mercado.

De acuerdo a Dhillon y Kaur (2016) *T. harzianum* puede ser multiplicado en residuos de naranjas, lo que disminuirá los costos de dosificación de este hongo si se concibe este medio de cultivo.

De acuerdo a Kam *et al.*, (2012) quienes obtuvieron crecimiento y producción de biomasa de 5,06 g/l a partir de agua residual de la industria pesquera de la cual 45,55% de la biomasa es proteína. Se deberá considerar la producción de proteína en los sedimentos de los tratamientos P1M1 y P1M1M2 debido a que se

puede utilizar estas proteínas como suplemento alimenticio, lo que podría representar ingresos a la planta.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- La remoción más alta de Nitrógeno Total Kjeldahl fue de 72,8% para P1M2, todos los tratamientos tuvieron una remoción de DBO mayor al 99%, no se obtuvo remoción de Fósforo Total para ningún tratamiento, el pH de todos los tratamientos estuvo entre 6,1-6,3.
- Todos los tratamientos cumplen con los límites máximos permisibles de las 3 normativas de descargas para las variables DBO, Fósforo Total y pH; sin embargo ningún tratamiento cumplió para el Nitrógeno Total Kjeldahl, el tratamiento que tuvo la menor concentración fue el P1M1M2 121,49 mg/l.
- En el tratamiento P1M1 y P1M1M2 se obtuvo la menor cantidad de muertes (2 y 2,67 respectivamente).
- De acuerdo al análisis costo/beneficio el tratamiento P1M1 es el más viable, y su costo es 6,65 USDD.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Experimentar considerando el tiempo de retención hidráulico como factor, para conocer el tiempo donde se estabiliza la curva de remoción de DBO y Nitrógeno Total Kjeldahl.
- Considerar intermitencia en la aireación, lo que reducirá la concentración de Nitrógeno Total Kjeldahl y a la vez los costos, por menores tiempos de aireación y por evitar su descarga en el alcantarillado público.
- Hacer una valoración enzimática en los sedimentos de los tratamientos en los que se utilizó *T. harzianum* P1M2 y P1M1M2.
- Cuantificar la producción de proteína por *S. cerevisiae* en los sedimentos de los tratamientos P1M1 y P1M1M2.
- Analizar el efecto de *S. cerevisiae* y *T. harzianum* en la diversidad de las comunidades microbianas de los tratamientos P1M1, P1M2 y P1M1M2.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., Ávila, I., García, A., Julca, J. & Linares, G. (2015). Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo. *Agroindustrial Science*, 5(1), 37-47. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en DOI: 10.17268/agroind.science.2015.01.04
- Aguilar, M. 2001. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO5) Y RESIDUALES TRATADAS. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-028-SCFI-2001.pdf>
- Aissaoui, N., Chobert, J. M., Haertlé, T., Marzouki, M. N., & Abidi, F. (2017). Purification and biochemical characterization of a neutral serine protease from *Trichoderma harzianum*. Use in antibacterial peptide production from a fish by-product hydrolysate. *Applied biochemistry and biotechnology*, 182(2), 831-845. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en DOI: 10.1007/s12010-016-2365-4
- Almeida, A., Carvalho, F., Imaginário, M. J., Castanheira, I., Prazeres, A. R., & Ribeiro, C. (2017). Nitrate removal in vertical flow constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*: Effect of hydraulic load. *Ecological engineering*, 99, 535-542. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.069>
- Amaya, W., & Cañón, Ó., & Avilés, Ó. (2004). Control de ph para planta de tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, (14), 1-6. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.18359/rcin.1271>
- Amirnia, S., Ray, M. B., & Margaritis, A. (2015). Heavy metals removal from aqueous solutions using *Saccharomyces cerevisiae* in a novel continuous bioreactor–biosorption system. *Chemical Engineering Journal*, 264, 863-872. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.12.016>
- Arias, Johanna M., Lara, Cecilia, Salgado, Rodrigo, Torregroza, Angélica M., Torregroza, Ana C., CHARACTERIZATION OF A WILD STRAIN OF *Saccharomyces cerevisiae* FOR OBTAINING A BIOPREPARATION WITH PROBIOTIC PROFILE. *Bioagro*. (En línea). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85752807005>
- Arias, O. 2004. Estudio de la biodegradación de la materia orgánica en humedales construidos de flujo subsuperficial. *Universitat Politècnica de Catalunya*.

Departament d'Enginyeria Hidràulica, Marítima i Ambiental. Tesina, Barcelona. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <http://hdl.handle.net/2099.1/3339>

- ATV (Asociación Alemana de abastecimiento). 1994. Determinación del grado de eficiencia de plantas de tratamiento de aguas residuales. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org>
- Bravo, R. y Giler, M. 2016. Eficiencia de consorcios microbianos (in vitro) en el tratamiento de aguas residuales domésticas de la ciudad de Calceta. Tesis Ingeniería Ambiental. (En línea). Consultado, 16 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/297>
- Awasthi, A. K., Pandey, A. K., & Khan, J. (2017). Potential of fungus *Trichoderma harzianum* for toxicity reduction in municipal solid waste leachate. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(9), 2015-2022. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en DOI 10.1007/s13762-017-1271-9
- Badejo, A. A., Omole, D. O., Ndambuki, J. M., & Kupolati, W. K. (2017). Municipal wastewater treatment using sequential activated sludge reactor and vegetated submerged bed constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*. *Ecological Engineering*, 99, 525-529. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.012>
- Badejo, A. A., Omole, D. O., Ndambuki, J. M., & Kupolati, W. K. (2017). Municipal wastewater treatment using sequential activated sludge reactor and vegetated submerged bed constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*. *Ecological Engineering*, 99, 525-529. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.012>
- Baird, C. 2004. Química ambiental. Contaminación de aguas superficiales por fosfatos. 2 ed. Editorial Reverté, S.A. Barcelona. ES. p 491
- Balakrishnan, S., Parthasarathy, S., Kamalakannan, A., & Senthil, K. (2017). Evaluation of antagonistic activity and plant growth promotion by paste formulation of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6), 355-360. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.385>
- Boog, J., Nivala, J., Aubron, T., Wallace, S., van Afferden, M., Müller, R.A., 2014. Hydraulic characterization and optimization of total nitrogen removal in an aerated vertical subsurface flow treatment wetland. *Bioresour. Technol.* 162, 166e174. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.100>

- BOONSONG, K and CHANSIRI, M. (2008). Domestic wastewater treatment using vetiver grass cultivated with floating platform technique. Assumption Univ. J. Technol. 12 73-80. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en [http://www.journal.au.edu/au techno/2008/oct08/12\(2\)\\_Article01.pdf](http://www.journal.au.edu/au techno/2008/oct08/12(2)_Article01.pdf)
- Brix, H; Arias, C y Bubba, M. 2001. Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. Water Sci. Technol. 44, 47-54. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11804137>
- Buchicchio, A., Bianco, G., Sofo, A., Masi, S., & Caniani, D. (2016). Biodegradation of carbamazepine and clarithromycin by *Trichoderma harzianum* and *Pleurotus ostreatus* investigated by liquid chromatography–high-resolution tandem mass spectrometry (FTICR MS-IRMPD). *Science of the Total Environment*, 557, 733-739. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.119>
- Buhmann, A., & Papenbrock, J. 2013. Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: basic principles, current uses and future perspectives. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 122-133. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.005>
- C. O. García-Sifuentes, R. Pacheco-Aguilar, S. Valdez-Hurtado, E. Márquez-Rios, M. E. Lugo-Sánchez & J. M. Ezquerro-Brauer (2009) Impacto del agua de cola de la industria pesquera: tratamientos y usos, *CyTA - Journal of Food*, 7:1, 67-77. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en DOI: 10.1080/11358120902850412
- Calheiros, C; Duque, A; Moura, A; Henriques, I; Correia, A; Rangel, O y Castro, P. 2009. Changes in the bacterial community structure in two-stage constructed wetlands with different plants for industrial wastewater treatment. *Bioresource Technology*, Vol 100 (13). p 3228-3235. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.033>.
- Campíns, P; Molins, C; Meseguer, S and Moliner, Y. 2006. *TrAC Trends in Analytical Chemistry: A guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis*. Vol. 25. 3 ed. p 282
- Campos Lozano, P. F., & León Díaz, M. Y. (2017). Evaluación del Pasto Vetiver (*Chrysopogon Zizanioides*) para la Estabilización de un Suelo Erosionado en la Finca el Limonar, Vereda Alto de la Palma, Melgar Tolima (Doctoral dissertation). Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <http://hdl.handle.net/123456789/953>
- Cárdenas, Carmen, Yabroudi, Suher Carolina, Benítez, Andreina, Páez, Katiuska, Perruolo, Tomás, Angulo, Nancy, Araujo, Ismenia, & Herrera, Lenín.

- (2012). Desempeño de un reactor biológico secuencial (RBS) en el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 111-120. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-34752012000200012&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752012000200012&lng=en&tlng=es).
- Castejón, O. 2011. *Diseño y Análisis de Experimentos con Statistix*. Venezuela. Universidad Rafael Urdaneta. p 27 y 69.
- Chen, T; Kao, C; Yeh, T; Chien, H y Chao, A. 2006. Application of a constructed wetland for industrial wastewater treatment: A pilot-scale study. *Chemosphere*, Vol 64, (3). p 497-502. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.11.069>.
- Chen, Z. J., Tian, Y. H., Zhang, Y., Song, B. R., Li, H. C., & Chen, Z. H. (2016). Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 92, 243-250. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.04.001>
- Choudhury, B., Kalita, M. C., & Azad, P. (2010). Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in marshy and shoreline vegetation of Deepar Beel Ramsar Site of Assam, India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(11), 1965-1971. Consultado, 16 Abr. 2018. Formato PDF. Disponible en DOI 10.1007/s11274-010-0377-8
- Chyan, J. M., Lin, C. J., Lin, Y. C., & Chou, Y. A. (2016). Improving removal performance of pollutants by artificial aeration and flow rectification in free water surface constructed wetland. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 146-154. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.034>
- Constitución de la República del Ecuador. 2008. Título II. Capítulo segundo. Sección primera y segunda. Artículo 12 y 14. p 24. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.asambleanacional.gov.ec>
- Corsino, S., Capodici, M., Morici, C., Torregrossa, M., & Viviani, G. 2016. Simultaneous nitrification–denitrification for the treatment of high-strength nitrogen in hypersaline wastewater by aerobic granular sludge. *Water research*, 88, 329-336. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.10.041>
- Cortés, C., González, A., Smidt, H., González, J., & Rodelas, B. 2016. Influence of salinity on fungal communities in a submerged fixed bed bioreactor for wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 285, 562-572. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.009>

- Covington, A. K., Bates, R. G., & Durst, R. A. (1985). Definition of pH scales, standard reference values, measurement of pH and related terminology (Recommendations 1984). *Pure and Applied Chemistry*, 57(3), 531-542.
- CPPS (Comisión Permanente del Pacífico Sur). 2014. Estado del medio ambiente marino y costero del pacífico sudeste: fuentes industriales Ecuador. Consultado, 02 de mayo 2017. Formato PDF. Disponible en <http://cpps.dyndns.info>
- Cristóvão, R. O., Botelho, C. M., Martins, R. J., Loureiro, J. M., & Boaventura, R. A. 2016. Fish canning industry wastewater treatment for water reuse—a case study. *Journal of Cleaner Production*, 87, 603-612. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.057>
- Cui, Y., Wang, S. & Li, J. (2009). On-line Monitoring for Phosphorus Removal Process and Bacterial Community in Sequencing Batch Reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 17 (3), pp. 484- 92.
- Darajeh, N., Idris, A., Masoumi, H. R. F., Nourani, A., Truong, P., & Sairi, N. A. (2016). Modeling BOD and COD removal from Palm Oil Mill Secondary Effluent in floating wetland by *Chrysopogon zizanioides* (L.) using response surface methodology. *Journal of environmental management*, 181, 343-352. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.060>
- Delgadillo, O; Camacho, A; Pérez, L y Andrade, M. 2010. Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales.
- Dhillon, G. S., & Kaur, S. (Eds.). (2016). *Agro-industrial wastes as feedstock for enzyme production: apply and exploit the emerging and valuable use options of waste biomass*. Academic Press.
- El Diario Manabita. 2016. Manta... 3 ríos y un problema. (En línea). Consultado, 02 de mayo 2017. Formato HTML. Disponible en <http://www.eldiario.ec>
- Espigares García, M. y Pérez López, JA. Aspectos sanitarios del estudio de las aguas. Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada. 1985.
- Fair, G. M., Geyer, J. C., & Okun, D. A. (1999). *Ingeniería sanitaria y de aguas residuales: Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales (Vol. 2)*. Limusa.
- Fajardo, P. 2015. Técnica de replicación de bacterias en melaza al 5%. (Entrevista). Calceta-Manabí. EC, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Área Agropecuaria. Laboratorio de microbiología.

- Fan, J., Liang, S., Zhang, B., Zhang, J., 2013. Enhanced organics and nitrogen removal in batch-operated vertical flow constructed wetlands by combination of intermittent aeration and step feeding strategy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 2448e2455. DOI: 10.1007/s11356-012-1130-7
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2017. Las aguas residuales, una oportunidad desaprovechada. (En línea). Consultado, 02 de mayo 2017. Formato HTML. Disponible en <http://www.fao.org>
- Gerba, C; Thurston, L; Falabi, J; Watt, P y Kar-piscak, M. 1999. Optimization of artificial wetlands design for removal of indicator microorganisms and pathogenic protozoa. *Wat. Sci. Tech.* 40, 363–368. . (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00519-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00519-3)
- GERRARD, M. (2008). The ability of vetiver grass to act as a primary purifier of waste water; an answer to low cost sanitation and fresh water pollution. The Vetiver Network International, Texas. URL: [http://www.vetiver.org/SA\\_phytoremediation.pdf](http://www.vetiver.org/SA_phytoremediation.pdf)
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C., & Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403-415. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>
- Gromadzka, K., Waśkiewicz, A., Świetlik, J., et al. (2015). The role of wastewater treatment in reducing pollution of surface waters with zearalenone. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 66(2), pp. 159-164. Retrieved 23 Apr. 2018, from doi:10.1515/aiht-2015-66-2606
- Huang, C., Luo, M. T., Chen, X. F., Xiong, L., Li, X. M., & Chen, X. D. (2017). Recent advances and industrial viewpoint for biological treatment of wastewaters by oleaginous microorganisms. *Bioresource technology*. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.055>
- Hultberg, M., & Bodin, H. (2017). Fungi-based treatment of brewery wastewater—biomass production and nutrient reduction. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(11), 4791-4798. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8185-9>
- Huma, I y Ilyas, M. 2017. The performance of the intensified constructed wetlands for organic matter and nitrogen removal: A review, *Journal of Environmental Management*, Volume 198, Part 1, 1. Pages 372-383, . (En línea). Consultado, 30 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.098>.
- Ilyas, H., & Masih, I. (2017). The performance of the intensified constructed wetlands for organic matter and nitrogen removal: A review. *Journal of*

environmental management, 198, 372-383.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.098>

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. Norma 2169: Agua. calidad del agua. muestreo. manejo y conservación de muestras.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. Norma 2169: Agua. calidad del agua. muestreo. Técnicas de muestreo.

Jesus, J. M., Calheiros, C. S., Castro, P. M., & Borges, M. T. 2014. Feasibility of *Typha latifolia* for high salinity effluent treatment in constructed wetlands for integration in resource management systems. *International journal of phytoremediation*, 16(4), 334-346. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1080/15226514.2013.773284>

Jesus, J. M., Cassoni, A. C., Danko, A. S., Fiúza, A., & Borges, M. T. 2017. Role of three different plants on simultaneous salt and nutrient reduction from saline synthetic wastewater in lab-scale constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 579, 447-455. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.074>

Kam S.B., Abedian A.M., Younesi H.A. 2012. Production Of Single Cell Protein From Stickwater Of Fish Meal Production Factories By *Chlorella Sp.*, *Pseudomonas Aeruginosa* And *Saccharomyces Cerevisiae*. *Iranian Journal Of Biology*. Volume 25, Number 2, 158-71.

Kolb, P. 1998. Design of a constructed wetland (pilot plant) for the reclamation of the river Besós, Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades Diplomingenieur, Universität für Bodenkultur.

Kredics, L., Antal, Z., Szekeres, A., Hatvani, L., Manczinger, L., Vágvölgyi, C. S., & Nagy, E. (2005). Extracellular proteases of *Trichoderma* species. *Acta microbiologica et immunologica hungarica*, 52(2), 169-184. <https://doi.org/10.1556/AMicr.52.2005.2.3>

Lara B., J.A. 1999 Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales, Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Cataluña - Instituto Catalán de Tecnología, Barcelona.

Liang, Y., Zhu, H., Bañuelos, G., Yan, B., Zhou, Q., Yu, X., & Cheng, X. (2016). Constructed wetlands for saline wastewater treatment: A review. *Ecological Engineering*. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.005>

Libardi, N., Soccol, C. R., Góes-Neto, A., de Oliveira, J., & de Souza Vandenberghe, L. P. (2017). Domestic wastewater as substrate for cellulase production by *Trichoderma harzianum*. *Process*

Biochemistry, 57, 190-199.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.03.006>

- Liu, L., Zhao, X., Zhao, N., Shen, Z., Wang, M., Guo, Y., Xu, Y., 2013. Effect of aeration modes and influent COD/N ratios on the nitrogen removal performance of vertical flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 57, 10e16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.04.019>
- Liu, L., Zhao, X., Zhao, N., Shen, Z., Wang, M., Guo, Y., Xu, Y., 2013. Effect of aeration modes and influent COD/N ratios on the nitrogen removal performance of vertical flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 57, 10e16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.04.019>
- Llopis, J. 2013. La estadística: Una orquesta hecha instrumento. Test HSD de Tukey (En línea). Consultado, 14 de agosto de 2017. Disponible en <https://estadisticaorquestainstrumento.wordpress.com>
- López, I. y Borzacconi. (2009). Introducción Al Diseño De Reactores. <https://www.fing.edu.uy>
- Lv, T; Zhang, Y; Carvalho, P; Zhang, L y Button, M. 2017. Microbial community metabolic function in constructed wetland mesocosms treating the pesticides imazalil and tebuconazole, *Ecological Engineering*, Volume 98, January 2017, Pages 378-387. (En línea). Consultado, 30 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.07.004>.
- Mas, J. y Melgarejo, J. (2016). Análisis coste/beneficio aplicado a los procesos de depuración y reutilización. <https://iuaca.ua.es>
- Mathew, M., Sebastian, M., & Cherian, S. M. 2016. Effectiveness of Vetiver System for the Treatment of Wastewater from an Institutional Kitchen. *Procedia Technology*, 24, 203-209. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.028>
- Mazuelas, J. 2014. Costes directos y costes indirectos. <http://www.elderecho.com>
- Metcalf y Eddie. 2003. Ingeniería de las Aguas residuales: Tratamiento y reúso: McGraw Hill. 4ed.
- Mojica, D; Pino, N y Bustamante, C. 2013. Establecimiento de índices de calidad ambiental de ríos con bases en el comportamiento del oxígeno disuelto y de la temperatura: Aplicación al caso del río Medellín, en el valle de aburrá en Colombia. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0012-73532013000500021&lang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532013000500021&lang=es)
- Mudhiriza, T, Mapanda, F, Mvumi, BM, & Wuta, M. (2015). Removal of nutrient and heavy metal loads from sewage effluent using vetiver grass,

*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. *Water SA*, 41(4), 457-463. <https://dx.doi.org/10.4314/WSA.V41I4.04>

- Muñoz Paredes, J., & Ramos Ramos, M. (2014). Reactores discontinuos secuenciales: Una tecnología versátil en el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 24(1), 49-66. <http://www.scielo.org.co/pdf/cein/v24n1/v24n1a03.pdf>
- Nemerow, N. (1977). *Aguas residuales industriales: teorías, aplicaciones y tratamiento*. H. Blume Ediciones.
- Ochoa, D. y Montoya, A. 2010. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. (En línea). CO. Consultado, 15 de ago. 2017. Formato PDF. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfce/v18n2/v18n2a04.pdf>
- Orihuela, J. 2007. Manual sobre el uso y manejo del pasto vetiver (*Chrysopogon zizanioides*). (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en [www.vetiver.com](http://www.vetiver.com)
- P.Vila-Donat., S. Marín, V., Sanchis, A. and J, Ramos. 2018. A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 114, p 246-259 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.044>. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.006>
- Pires, J. F., Ferreira, G. M., Reis, K. C., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2016). Mixed yeasts inocula for simultaneous production of SCP and treatment of vinasse to reduce soil and fresh water pollution. *Journal of environmental management*, 182, 455-463.
- Pyne, M. E., Narcross, L., Fossati, E., Bourgeois, L., Burton, E., Gold, N. D., & Martin, V. J. J. (2016). Reconstituting plant secondary metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* for production of high-value benzylisoquinoline alkaloids. In *Methods in enzymology* (Vol. 575, pp. 195-224). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.02.011>
- Quintero, D. S., Zapata, M. A., & Guerrero, J. (2007). Modelo de costos para el tratamiento de las aguas residuales en la Región. *Scientia et Technica*, 1(37). <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/4191-2643-1-PB.pdf>
- Ramada, M. H. S., Steindorff, A. S., Bloch, C., & Ulhoa, C. J. (2016). Secretome analysis of the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* ALL 42 cultivated in different media supplemented with *Fusarium solani* cell wall or glucose. *Proteomics*, 16(3), 477-490.
- Ramos, Nilton de Freitas Souza, Borges, Alisson Carraro, Gonçalves, Gustavo Castro, & Matos, Antonio Teixeira de. (2017). Tratamento de águas residuárias de suinocultura em sistemas alagados construídos, com *Chrysopogon zizanioides* e *Polygonum punctatum* cultivadas em leito

de argila expandida. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 22(1), 123-132. Epub October 13, 2016. <https://dx.doi.org/10.1590/s1413-4152201687067>

- RODIER, J. *Análisis de Aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar*. Omega, Barcelona, 1981.
- Rodríguez, A., Letón, P., Rosal, R., Dorado, M., Villar, S., & Sanz, J. (2006). *Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. Informe de vigilancia tecnológica de la Universidad de Alcalá del Círculo de Innovación en Tecnologías Medioambientales y Energía (CITME)*, España.
- Rodriguez, H. 2017. *Las aguas residuales y sus efectos contaminantes*. (En línea). Consultado, 03 Jul. 2017. Formato HTML. Disponible en <https://www.iagua.es>
- Romero, M; Colín, A; Sánchez, E y Ortiz, M. 2009. *Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica*. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(3), 157-167. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato HTML. Disponible en <http://www.scielo.org.mx>
- Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Huato, D., Angel, M., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). *Características de Trichoderma harzianum, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles*. *Revista colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151.
- Sadhasivam, S., Savitha, S., & Swaminathan, K. (2010). *Deployment of Trichoderma harzianum WL1 laccase in pulp bleaching and paper industry effluent treatment*. *Journal of Cleaner Production*, 18(8), 799-806. doi:10.1016/j.jclepro.2009.11.014
- Santana, X. y Santos, J. 2016. *Eficiencia del pasto vetiver (Chrysopogon zizanioides) ex – situ en la remoción de contaminantes orgánicos, caso de estudio río muerto, cantón Manta*. Tesis Ingeniería en Medio ambiente. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/281>
- SENPLADES (Secretaría Nacional de Planificación y desarrollo). 2017. *Plan Nacional de Desarrollo “Toda una vida”: objetivo 3*. Quito, Ec. (En línea). Consultado, 15 Mar. 2018. Formato PDF. Disponible en [www.buenvivir.gob.ec](http://www.buenvivir.gob.ec)
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. 1980. *Statistical Methods*, 7th ed. Ames, IA: Iowa State Press, p. 180.
- Soto, m.; Méndez, R & Iema, j.M. (1990). *Efluentes residuales en la industria de procesamiento de productos marinos*. *Ingeniería Química*. 203-209.

- Suárez-Machín, C., & Garrido-Carralero, N., & Guevara-Rodríguez, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 50 (1), 20-28.
- Truong, P. 1999. Vetiver Grass Technology for Mine Rehabilitation. Pacific Rim Vetiver Network Technical Bulletin Nº 2. Vetiver Conf. TH. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.vetiver.com/>
- Truong, P. 2009. Aplicaciones del sistema vetiver manual técnico de referencia. 1 ed. Bangkok, Tailandia. P 127.
- Truong, P; Mason, F; Waters, D. and Moody, P. 2000. Application of Vetiver Grass Technology in off-site pollution control. I. Trapping agrochemicals and nutrients in agricultural lands. Vetiver Conf. TH. (En línea). (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.vetiver.com/>
- TULAS (Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria). 2002. Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua.
- UN (United Nations). 2015. Water and sustainable development. (En línea). Consultado, 02 de mayo 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.un.org>
- UNEP (United Nations Environment Programme). 2016. A Snapshot of the World's Water Quality: Towards a global assessment. (En línea). Consultado, 02 de mayo 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.wwqa-documentation.info>
- Van der Gaag, J., Paulissen, M., Slim, P. 2010. Halophyte filters as saline treatment wetlands; applications and constrains. Alterra-Report 2115. Alterra, Wageningen, The Netherlands, p. 45. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://library.wur.nl>
- Vatandoostarani, S., Lotfabad, T. B., Heidarinasab, A., & Yaghmaei, S. (2017). Degradation of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125, 62-72. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.08.009>
- Vymazal, J. (2013). Emergent plants used in free water surface constructed wetlands: a review. *Ecological engineering*, 61, 582-592. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.023>
- Wang, X., Tian, Y., Zhao, X., Peng, S., Wu, Q., Yan, L., 2015. Effects of aeration position on organics, nitrogen and phosphorus removal in combined oxidation pond/deconstructed wetland systems. *Bioresour. Technol.* 198, 7e15. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.150>

- Wang, X; Han,B; Shi, Y y Pang, Z. 2009. Advanced wastewater treatment by integrated vertical flow constructed wetland with vetiveria zizanioides in north China. *Procedia Earth and Planetary Science*. Vol 1 (1). p 1258-1262. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.proeps.2009.09.194>
- Wildschut, L. 2013. Mercados potenciales de tecnologías de biorremediación con vetiver. 1 ed. Madrid. ES. (En línea). Consultado, 07 Ago. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.eoi.es>
- Wu, H., Fan, J., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W., Hu, Z., Lv, J., 2016. Optimization of organics and nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: effects of aeration time and aeration rate. *Int. Biodeterior. Biodegr.* 113, 139e145. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.031>
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S.,& Liu, H. 2015. A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: design and operation. *Bioresource technology*, 175, 594-601. (En línea). Consultado, 15 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.068>
- Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R., 2014. Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: a nitrogen and organic matter targeted review. *Water Res.* 57C, 40–55. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.020>
- Ying, Luo., Xiaojiao, Liubc and Jianke, Li. (2018). Updating techniques on controlling mycotoxins-A review. *Food Control*. Vol 89, p 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.016>
- Zapater-Pereyra, M., Gashugi, E., Rousseau, D.P.L., Alam, M.R., Bayansan, T., Lens, P.N.L., 2014. Effect of aeration on pollutants removal: biofilm activity and protozoan abundance in conventional and hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Environ. Technol.* 35 (16), 2086e2094. DOI: 10.1080/09593330.2014.893024
- Zhang, D.Q., Tan, S.K., Gersberg, R.M., Zhu, J., Sadreddini, S., Li, Y., 2012. Nutrient removal in tropical subsurface flow constructed wetlands under batch and continuous flow conditions. *J. Environ. Manage.* 96, 1–6. (En línea). Consultado, 16 May. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.10.009>
- Zhouying, X. U., Yihui, B. A. N., JIANG, Y., ZHANG, X., & Xiaoying, L. I. U. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi in wetland habitats and their application in constructed wetland: a review. *Pedosphere*, 26(5), 592-617. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60067-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60067-4).

# **ANEXOS**

### Anexo 1. Concentración de los microorganismos

Microorganismo	Concentración (ufc/ml)
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,95x10 <sup>8</sup>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4,3x10 <sup>8</sup>

### Anexo 2. Base de datos del inicio y fin de tratamiento

TRATAMIENTO	REPETICIONES	NTK INICIO (mg/l)	NTK FINAL (mg/l)	DBO INICIO (mg/l)	DBO FINAL (mg/l)	PT INICIO (mg/l)	PT FINAL (mg/l)	pH INICIO	pH FINAL	MUERTES (Pasto vetiver)
P0	P0R1	463,80	199,34	2058,29	15,60	3,34	4,19	6,30	6,28	----
P0	P0R2	463,80	198,78	2058,29	12,41	3,34	3,82	6,30	6,11	----
P0	P0R3	463,80	200,40	2058,29	14,52	3,34	4,14	6,30	6,03	----
<b>MEDIA P0</b>		463,80	199,51	2058,29	14,18	3,34	4,05	6,30	6,06	6,14
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,82	0,00	1,62	0,00	0,20	0,00	0,04	0,13
P1	P1R1	463,80	164,25	2058,29	8,60	3,34	5,97	6,30	6,05	7,00
P1	P1R2	463,80	160,48	2058,29	9,42	3,34	4,19	6,30	6,14	5,00
P1	P1R3	463,80	168,35	2058,29	7,74	3,34	4,81	6,30	6,2	6,00
<b>MEDIA P1</b>		463,80	164,36	2058,29	8,59	3,34	4,99	6,30	6,13	6,13
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	3,94	0,00	0,84	0,00	0,90	0,00	0,01	0,08
P1M1	P1M1R1	463,80	130,45	2058,29	5,82	3,34	5,28	6,30	6,07	3,00
P1M1	P1M1R2	463,80	133,59	2058,29	4,44	3,34	4,45	6,30	6,15	2,00
P1M1	P1M1R3	463,80	135,71	2058,29	5,78	3,34	4,45	6,30	6,18	1,00
<b>MEDIA P1M1</b>		463,80	133,25	2058,29	5,35	3,34	4,73	6,30	6,16	6,13
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	2,65	0,00	0,79	0,00	0,48	0,00	0,02	0,06
P1M2	P1M2R1	463,80	117,26	2058,29	7,62	3,34	4,43	6,30	6,32	5,00
P1M2	P1M2R2	463,80	124,54	2058,29	5,94	3,34	3,99	6,30	6,35	7,00
P1M2	P1M2R3	463,80	122,95	2058,29	6,42	3,34	4,81	6,30	6,36	5,00
<b>MEDIA P1M2</b>		463,80	121,58	2058,29	6,66	3,34	4,41	6,30	6,34	6,34
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	3,83	0,00	0,87	0,00	0,41	0,00	0,02	0,02
P1M1M2	P1M1M2R1	463,80	117,35	2058,29	6,00	3,34	4,98	6,30	6,04	5,00
P1M1M2	P1M1M2R2	463,80	122,14	2058,29	5,64	3,34	5,17	6,30	6,11	3,00
P1M1M2	P1M1M2R3	463,80	124,99	2058,29	5,83	3,34	4,71	6,30	6,21	2,00
<b>MEDIA P1M1M2</b>		463,80	121,49	2058,29	5,82	3,34	4,95	6,30	6,07	6,12
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	3,86	0,00	0,18	0,00	0,23	0,00	0,04	0,09

### ANEXO 3. Base De Datos % Remoción De DBO y Nitrógeno Total Kjeldahl

TRATAMIENTO	REPETICIONES	NTK INICIO (mg/l)	%REMOCIÓN NTK	DBO INICIO (mg/l)	%REMOCION DBO
P0	P0R1	463,80	57,02	2058,29	99,24
P0	P0R2	463,80	57,14	2058,29	99,40
P0	P0R3	463,80	56,79	2058,29	99,29
<b>MEDIA P0</b>		463,80	56,98	2058,29	99,31
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,18	0,00	0,08
P1	P1R1	463,80	64,59	2058,29	99,58
P1	P1R2	463,80	65,40	2058,29	99,54
P1	P1R3	463,80	63,70	2058,29	99,62
<b>MEDIA P1</b>		463,80	64,56	2058,29	99,58
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,85	0,00	0,04
P1M1	P1M1R1	463,80	71,87	2058,29	99,72
P1M1	P1M1R2	463,80	71,20	2058,29	99,78
P1M1	P1M1R3	463,80	70,74	2058,29	99,72
<b>MEDIA P1M1</b>		463,80	71,27	2058,29	99,74
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,57	0,00	0,04
P1M2	P1M2R1	463,80	74,72	2058,29	99,63
P1M2	P1M2R2	463,80	73,15	2058,29	99,71
P1M2	P1M2R3	463,80	73,49	2058,29	99,69
<b>MEDIA P1M2</b>		463,80	73,79	2058,29	99,68
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,83	0,00	0,04
P1M1M2	P1M1M2R1	463,80	74,70	2058,29	99,71
P1M1M2	P1M1M2R2	463,80	73,67	2058,29	99,73
P1M1M2	P1M1M2R3	463,80	73,05	2058,29	99,72
<b>MEDIA P1M1M2</b>		463,80	73,80	2058,29	99,72
<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>		0,00	0,83	0,00	0,01

**ANEXO 4. Prueba Anova para todos los tratamientos**

## Anexo 4a. Nitrógeno total Kjeldahl final

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
NTK FINAL (mg/l)	15	0,99	0,99	2,19

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	13615,75	4	3403,94	322,77	<0,0001
TRATAMIENTO	13615,75	4	3403,94	322,77	<0,0001
Error	105,46	10	10,55		
Total	13721,22	14			

## Anexo 4b. Demanda Bioquímica de Oxígeno final

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DBO FINAL (mg/l)	15	0,94	0,92	11,99

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	156,00	4	39,00	41,17	<0,0001
TRATAMIENTO	156,00	4	39,00	41,17	<0,0001
Error	9,47	10	0,95		
Total	165,47	14			

## Anexo 4c. Fósforo Total final

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
PT FINAL (mg/l)	15	0,42	0,19	11,06

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,88	4	0,47	1,80	0,2053
TRATAMIENTO	1,88	4	0,47	1,80	0,2053
Error	2,62	10	0,26		
Total	4,50	14			

## Anexo 4d. pH final

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH FINAL	15	0,62	0,47	1,32

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,11	4	0,03	4,13	0,0313
TRATAMIENTO	0,11	4	0,03	4,13	0,0313
Error	0,07	10	0,01		
Total	0,17	14			

**ANEXO 5. Prueba de Tukey**

## Anexo 5a. Nitrógeno total Kjeldahl final

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,72646**

Error: 10,5461 gl: 10

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
P1M1M2	121,49	3	1,87	A
P1M2	121,58	3	1,87	A
P1M1	133,25	3	1,87	B
P1	164,36	3	1,87	C
P0	199,51	3	1,87	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5b. Demanda Bioquímica de oxígeno final

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,61535**

Error: 0,9473 gl: 10

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
P1M1	5,35	3	0,56	A
P1M1M2	5,82	3	0,56	A
P1M2	6,66	3	0,56	A B
P1	8,59	3	0,56	B
P0	14,18	3	0,56	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5c. Fósforo Total final

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,37448**

Error: 0,2616 gl: 10

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
P0	4,05	3	0,30 A
P1M2	4,41	3	0,30 A
P1M1	4,73	3	0,30 A
P1M1M2	4,95	3	0,30 A
P1	4,99	3	0,30 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5d. pH final

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,21820**

Error: 0,0066 gl: 10

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
P1M1M2	6,12	3	0,05 A
P1	6,13	3	0,05 A B
P1M1	6,13	3	0,05 A B
P0	6,14	3	0,05 A B
P1M2	6,34	3	0,05 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5e. Supervivencia de pasto vetiver

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,13490**

Error: 0,6667 gl: 8

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
P1M1	2,00	3	0,47 A
P1M1M2	3,33	3	0,47 A
P1M2	5,67	3	0,47 B
P1	6,00	3	0,47 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )