

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL

**ESTUDIO DE REMOCIÓN DE CAFEÍNA DE AGUAS SINTÉTICAS
UTILIZANDO HUMEDALES SUBSUPERFICIALES DE FLUJO
VERTICAL**

**ESTUDIO DE LA REMOCIÓN DE CAFEÍNA MEDIANTE EL USO DE
HUMEDALES SUBSUPERFICIALES DE FLUJO VERTICAL
UTILIZANDO BAGAZO DE CAÑA COMO MEDIO DE SOPORTE**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA AMBIENTAL**

JENNYFER DAYANNA PULLA MULLO

jennyfer.pulla@epn.edu.ec

DIRECTORA: MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL

maria.aldas@epn.edu.ec

DMQ, julio de 2024

CERTIFICACIONES

Yo, JENNYFER DAYANNA PULLA MULLO declaro que el trabajo de integración curricular aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

JENNYFER DAYANNA PULLA MULLO

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por JENNYFER DAYANNA PULLA MULLO, bajo mi supervisión.

MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL
DIRECTORA

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el (los) producto(s) resultante(s) del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

JENNYFER DAYANNA PULLA MULLO

DIRECTORA: MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL

COLABORADOR(ES): RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA Y SALOMÉ ALEJANDRA MELO ZAMORA

DEDICATORIA

A todas las personas que apoyaron mi formación académica y fueron parte de mi vida universitaria, a aquellas que estuvieron desde el inicio y a las que llegaron en el transcurso.

A mi madre, Olga, por ser el incesante apoyo que ha sido durante toda mi vida, por inspirarme a trabajar duro y buscar la excelencia. Por ser la persona que siempre está atenta a mis debilidades, para alentarme a no desfallecer por estas, y, por estimular y fortalecer mis habilidades para alcanzar nuevos hitos. Por creer siempre en mí y recordarme que, con esfuerzo, puedo superar cualquier desafío que se atraviese.

A mi padre, Leonardo, por demostrarme que siempre estará a mi lado apoyándome, incluso frente a los retos más desafiantes, a las decisiones difíciles y frente a los tropiezos de mi vida.

A mi hermana, Johanna, por ser como un manto cálido en mi vida. Por ser mi confidente y amiga, por saber escuchar mis problemas y ofrecerme sus consejos, y así también por ayudarme a darme cuenta de que hay una salida a mis problemas. Por ser incluso a veces esa mano firme que me ayudo a no desviar mi enfoque.

A mis amigas que conocí en la universidad, quienes fueron muchas veces mi inspiración para esforzarme más, y por ser la fuente principal de diversión y de los mejores recuerdos que me llevo de la EPN.

Y a todas las personas que me ofrecieron una palabra de aliento y apoyo genuino, sin críticas destructivas, y que siempre confiaron en mí. Espero ser merecedora de su confianza y nunca defraudarles.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a mi familia, pues sin ellos esto no sería posible. Han sido mi base, mi tronco y trampolín, pues me ofrecieron un apoyo firme para dar mis primeros pasos, me dieron estabilidad cuando había momentos donde todo parecía desmoronarse y fueron ese impulso para seguir luchando y creyendo en mí.

Agradezco a la Escuela Politécnica Nacional, a la Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental, y a los docentes que contribuyeron a mi formación académica, ya que ellos fueron los pilares y cimientos para desarrollar mis conocimientos y habilidades. A todos aquellos que de verdad mostraron pasión por compartir su sabiduría y alentar a sus estudiantes a ser los mejores.

Agradezco a todas las personas que conocí durante mis prácticas preprofesionales y prácticas de vinculación; gracias por ser pacientes y enseñarme todo lo que conocían. Gracias por compartir su conocimiento no solo académico sino también de la vida, genuinamente y sin reproches. Les recordaré siempre como aquellas personas que me dieron la primera oportunidad de desenvolverme en un ambiente laboral y que me ofrecieron un espacio para encontrar a maravillosas personas que incluso se convirtieron en bonitas amistades.

Además, extiendo un sincero agradecimiento a mi tutora María Belén Aldás, por su paciencia y dedicación en todo el proceso de creación de este trabajo, por nunca abandonarnos y apoyarnos en todo lo que era posible. Gracias también a la presión y a la motivación constante para que este trabajo llegue a culminarse.

Así también, agradezco a mis amigas, Ruth y Salomé, con quienes desarrollé este proyecto de cerca, gracias por compartir y ayudar a afrontar esta responsabilidad. Por todos los altibajos que pasamos y supimos afrontarlos, sé que serán excelentes profesionales y colegas. Espero siempre tenerlas en mi vida.

Finalmente, a mí. Agradezco todo lo que hice para llegar a donde estoy ahora, por todas las desveladas y los esfuerzos que hice, por todo el trabajo arduo y por saber que di todo lo que pude ofrecer. Por buscar mi paz mental en todo lo que me gusta, ya sea la música, el baile, en mi artista favorito, o simplemente disfrutando de las pequeñas cosas. ¡Gracias por no darte por vencida cuando todo se veía incierto, sigámoslo intentando!

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIONES	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO	1
1.1. Objetivo general.....	3
1.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Alcance	3
1.4. Marco teórico	5
1.4.1. Contaminantes Emergentes.....	5
1.4.2. Cafeína	6
1.4.2.1 Consumo de Cafeína.....	7
1.4.2.2 Cafeína en cuerpos de agua.....	8
1.4.2.3 Problemática de la cafeína en cuerpos de agua	9
1.4.2.4 Métodos de eliminación de Cafeína.....	10
1.4.3. Humedales Artificiales	11
1.4.3.1 Componentes de los Humedales Artificiales	12
1.4.3.1.1. Medio de soporte/ lecho filtrante	12
1.4.3.1.2. Microorganismos	13
1.4.3.2 Tipos de Humedales Artificiales.....	13
1.4.3.2.1. Humedal de Flujo Superficial (HAFS).....	13
1.4.3.2.2. Humedal de Flujo Subsuperficial (HAFSS).....	13
1.4.1. Bagazo de Caña de azúcar (BCA).....	15
2. METODOLOGÍA.....	16
2.1. Tipo y Diseño de Investigación.....	16
2.2. Ámbito Temporal y Espacial.....	17
2.2.1. Ámbito Temporal	17
2.2.2. Ámbito Espacial.....	17
2.3. Fases del Proyecto	18
2.3.1. Fase 1: Planeamiento y pruebas preliminares	18
2.3.1.1 Especies vegetales.....	18
2.3.1.2 Pruebas fitotoxicológicas.....	19

2.3.1.2.1.	Curva de calibración de Cafeína	19
2.3.1.2.2.	Preparación y acondicionamiento de las especies vegetales	20
2.3.1.2.3.	Selección de especies vegetales	21
2.3.1.2.4.	Prueba Fitotoxicológica en la <i>Dracaena Fragrans</i>	21
2.3.1.2.5.	Selección de dosis de cafeína a usarse en los humedales.....	22
2.3.2.	Fase 2: Implementación del Proyecto.....	22
2.3.2.1	Preparación del Bagazo de Caña	23
2.3.2.1.1.	Clasificación y triturado	23
2.3.2.1.2.	Caracterización del Bagazo de Caña triturado	26
2.3.2.1.3.	Tamizado	27
2.3.2.1.4.	Lavado final	27
2.3.2.1.5.	Secado final	29
2.3.2.1.6.	Análisis de Propiedades	30
2.3.2.2	Preparación de material de soporte	31
2.3.2.2.1.	Tamizado y lavado	31
2.3.2.2.2.	Caracterización por granulometría	32
2.3.1.	Fase 2: Instalación de humedales artificiales	32
2.3.1.1	Preparación de la <i>Dracaena fragrans</i>	32
2.3.1.2	Construcción de los humedales	33
2.3.1.2.1.	Instalación de sistema de alimentación y drenaje, y plantación de especie vegetal	34
2.3.2.	Fase 3: Realización de Pruebas y Análisis de Resultados	35
2.3.2.1	Tipo de reactor a simular.....	35
2.3.2.2	Variación de caudales y tiempos de retención (TR).....	36
2.3.2.3	Monitoreo de eficiencia en remoción de cafeína	36
2.3.2.1	Monitoreo de parámetros físicos y químicos	37
2.3.2.2	Análisis de resultados.....	38
3.	RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
3.1.	Pruebas preliminares	39
3.1.1.	Selección del área para pruebas	39
3.1.2.	Curva de Calibración de Cafeína	39
3.1.3.	Pruebas fitotoxicológicas.....	41
3.1.3.1	Efectos sobre el bambú de la suerte (<i>Dracaena reflexa</i>).....	41
3.1.3.2	Efectos sobre la mala madre (<i>Chlorophytum comosum</i>)	41
3.1.3.3	Efectos sobre el tronco de la felicidad (<i>Dracaena Fragrans</i>)	42
3.1.3.3.1.	Primera Prueba.....	42
3.1.3.3.2.	Segunda Prueba.....	42

3.1.4.	Remoción de cafeína en la segunda prueba toxicológica con la <i>Dracaena fragrans</i>	45
3.1.5.	Resultados de la caracterización del bagazo de caña	47
3.1.6.	Caracterización del medio granulado	48
3.1.6.1	Grava gruesa	48
3.1.6.2	Grava fina	49
3.1.7.	Resultados del monitoreo de la concentración de cafeína	49
3.1.7.1	Concentraciones durante las semanas de monitoreo	49
3.1.8.	Eficiencias de remoción de cafeína	51
3.1.8.1	Análisis estadístico	53
3.1.8.1.1.	Prueba de Normalidad	53
3.1.8.2	Diferencias significativas entre HA sobre la remoción de cafeína	54
3.1.8.2.1.	Humedales J1 y J2	54
3.1.8.2.2.	Humedales J3 y J4	54
3.1.8.3	Comparativa de los HA con especie vegetal y HC (sin especie vegetal)	55
3.1.9.	Parámetros físicos y químicos	57
3.1.9.1	Remoción de turbiedad	58
3.1.9.2	Remoción de DQO	59
3.1.9.3	Remoción de sólidos suspendidos	60
3.1.9.1	Remoción de DBO ₅	62
3.2.	Conclusiones	63
3.3.	Recomendaciones	64
4.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
5.	ANEXOS	73
	ANEXO I	73
	ANEXO II	73
	ANEXO III	74
	ANEXO IV	76
	ANEXO V	77
	ANEXO VI	77
	ANEXO VII	80
	ANEXO VIII	81
	ANEXO IX	81

RESUMEN

La cafeína, alcaloide común en la dieta y productos de uso personal del ser humano, es uno de los contaminantes emergentes (CE) más consumidos mundialmente. La falta de tratamientos específicos para su remoción en las plantas para el tratamiento de aguas ha provocado su alta presencia en varios cuerpos de agua. Este estudio busca evaluar la eficiencia de los humedales artificiales como tratamiento, y del bagazo de caña como medio de soporte, para la remoción de la cafeína y otros parámetros (DBO₅, DQO, SST y Turbidez) de aguas residuales artificiales. Se inicio el estudio determinando la especie vegetal idónea para usarla en los humedales mediante pruebas toxicológicas a especies ornamentales de interiores: *Dracaena reflexa*, *Dracaena Fragrans* y *Chlorophytum comosum*. Posteriormente, se construyeron cuatro humedales, dos con la planta seleccionada y dos en ausencia de esta, que sirven como control para determinar la influencia del vegetal en la remoción. Se probaron dos tiempos de retención hidráulicos de 1 hora y 24 horas, y se realizó un análisis estadístico para determinar las diferencias significativas entre los humedales. El estudio mostro que, aunque hay remoción de la cafeína después de atravesar los humedales, la influencia del vegetal en esta remoción no es significativa. Sin embargo, no se obtuvo una buena remoción de los demás parámetros, exceptuando los SST. Además, se mostró que a menor tiempo de retención hidráulico aumenta la eficiencia. En conclusión, este tratamiento es eficiente para la remoción de cafeína, pero presenta limitaciones con otros parámetros fisicoquímicos.

PALABRAS CLAVE: Cafeína, humedal artificial, bagazo de caña, eficiencia, remoción.

ABSTRACT

Caffeine, a common alkaloid in the diet and personal products of humans, is one of the most consumed emerging contaminants (EC) worldwide. The lack of specific treatments for its removal in water treatment plants has caused its high presence in several water bodies. This study seeks to evaluate the efficiency of artificial wetlands as a treatment, and sugarcane bagasse as substrate, for the removal of caffeine and other parameters (BOD₅, COD, TSS and Turbidity) from artificial wastewater. The study began by determining the ideal plant species to be used in wetlands through toxicological tests on indoor ornamental species: *Dracaena reflexa*, *Dracaena Fragrans* and *Chlorophytum comosum*. Subsequently, four wetlands were built, two with the selected plant and two in its absence, which serve as control to determine the influence of the plant on the removal. Two hydraulic retention times of 1 hour and 24 hours were tested, and a statistical analysis was performed to identify significant differences between the wetlands. The study showed that, although there is caffeine removal after passing through the wetlands, the influence of vegetation on this removal is not significant. However, good removal of the other parameters was not obtained, except for TSS. In addition, it was shown that a shorter hydraulic retention time increases efficiency. In conclusion, this treatment is efficient for caffeine removal, but has limitations with other physicochemical parameters.

KEYWORDS: Caffeine, artificial wetland, sugarcane bagasse, efficiency, removal.

1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO

La presencia de contaminantes en el ambiente ha ido aumentando y diversificándose a medida que el ser humano desarrolla nuevos productos para su vida diaria, entre los más alarmantes, son los productos farmacéuticos y los de uso personal para el cuidado que se mercantilizan a nivel mundial, y son conocidos como contaminantes emergentes (CE). Entre los CE, uno de los más conocidos por su consumo directo y habitual, o por ser un componente frecuente de ciertos fármacos es la cafeína (Alean Flórez et al., 2021)

La cafeína, estimulante para el sistema nervioso central, es consumido globalmente debido a su presencia habitual en bebidas energizantes, productos de cuidado personal y productos farmacéuticos, además de estar presente naturalmente en más de 60 especies de plantas (Gonçalves et al., 2017). Generalmente, luego de ser ingerida y metabolizada, aproximadamente 3% de la cafeína consumida es desechada en forma de sus metabolitos o en su forma original directamente a las aguas residuales domésticas, lo que resulta en una concentración notable en las aguas superficiales (Álvarez-Torrellas et al., 2017). Por esto se ha propuesto y estudiado la factibilidad del uso de la cafeína como un indicador de contaminación antropogénica para aguas superficiales (Peteffi et al., 2019), e incluso permite conocer el comportamiento de la población y hacer una estimación de la población flotante en épocas de mayor actividad turística (Bega et al., 2021). Según Santos et al. (2023) se ha detectado concentraciones de cafeína en todos los medios por los que podría atravesar el recurso, se ha divisado en aguas residuales tratadas ($55\text{--}303,6 \mu\text{g.L}^{-1}$), en agua potable ($3,39 \mu\text{g.L}^{-1}$), en aguas subterráneas ($0,01\text{--}0,683 \mu\text{g.L}^{-1}$), en ríos ($0,01\text{--}49,6 \mu\text{g.L}^{-1}$), en lagos ($0,02\text{--}174 \mu\text{g.L}^{-1}$) y en agua de lluvia ($5,4 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Esto indica que, la notable presencia de cafeína en los medios acuáticos podría alterar a los organismos presentes en este ecosistema. En análisis toxicológicos realizados a distintos organismos entre acuáticos y terrestres, animales y vegetales, se han detectado efectos sobre, el comportamiento, a nivel de movimiento locomotor y funciones fisiológicas; crecimiento e inhibición, interacciones sociales, etc. (Montes et al., 2014; Santos et al., 2023). Por ejemplo, se observó que la cafeína causa estrés en los corales al suprimir significativamente el crecimiento de una de las especies endosimbiontes más importantes para este ecosistema, la *Symbiodinium goreau*, con una concentración mínima de 30000 $\mu\text{g/L}$ durante la fase logarítmica; por lo cual, la alteración en el crecimiento de las algas podría significar una afección directa al bienestar de los corales generando un blanqueamiento, lo cual, presenta un problema importante para los ecosistemas acuáticos, que pueden ser gravemente alterados (Ramírez & Rivera, 2017).

En consecuencia, se han investigado varios métodos para la eliminación y degradación de la cafeína, como la adsorción con materiales de residuos lignocelulósicos impregnados con nanopartículas de dióxido de titanio o magnetita, la oxidación avanzada usando peróxido de hidrógeno y cloro seguida de la exposición a radiación ultravioleta UV, el uso de ferrato de potasio, fotocatalisis heterogénea, entre otros (Almeida et al., 2020; León, 2018; Sánchez, 2018; Vela, 2020). Sin embargo, existen otros sistemas de tratamiento no convencionales que permiten implementarse a los tratamientos de aguas residuales y que no contribuyen a la adición de más químicos al agua, como por ejemplo los humedales construidos o artificiales. Estos han atraído mucho la atención, y su uso es frecuentes en la purificación de agua en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) al ser una tecnología amigable con el ambiente, sostenible y menos costosa que otros métodos de tratamientos (Fan et al., 2021; Tang et al., 2009).

Dada la presencia de cafeína en los efluentes de las PTARs, es necesario incorporar tratamientos adicionales que eliminen este contaminante. Por lo general, los humedales artificiales (HA) se han mostrado como medios efectivos en la remoción de otros polutantes de las aguas residuales. Por lo cual, extender sus funciones a la eliminación de contaminantes emergentes como la cafeína es significativo (Gallegos-Rodríguez et al., 2018). Entre sus diversas clasificaciones, los humedales de flujo subsuperficial, en los cuales el agua fluye únicamente por el medio de soporte donde se fijan las plantas, se ha probado que tienen una mayor capacidad de tratamiento y menor riesgo de que aparezcan insectos por lo que su uso ha incrementado (García, 2021).

En este sentido, uno de los materiales que puede usarse como medio de soporte es el bagazo de caña de azúcar. En el Ecuador, hasta 2008 se generaba 1.3 millones de toneladas de bagazo de caña (CINCAE, 2013), lo que representaba una generación excesiva de desechos, y por esto, se le planea darle una nueva funcionalidad al utilizarse como medio de soporte en los humedales artificiales.

En este contexto, se propone realizar un estudio sobre la aplicación de un tratamiento no convencional para remover de cafeína de aguas residuales sintéticas mediante la construcción de humedales artificiales subsuperficiales con flujo vertical a escala de laboratorio, usando como medio de soporte al bagazo de caña, lo que permitirá establecer un uso alternativo a este subproducto de la industria panelera. Adicionalmente, se seleccionará una especie vegetal entre el bambú de agua (*Dracaena reflexa*), tronco de la felicidad (*Dracaena Fragrans*) y la mala madre (*Chlorophytum comosum*), a través de

pruebas toxicológicas, para determinar la especie que mejor se adapte a las condiciones ambientales y a la exposición del contaminante, para luego ser plantada en los humedales artificiales. De esta forma se construirá los HA que serán los responsables de la remoción de la cafeína y se determinará la eficiencia de esta a través de la caracterización del efluente y afluente.

1.1. Objetivo general

Determinar la remoción de la cafeína de aguas residuales sintéticas mediante el análisis del afluente y el efluente de un humedal artificial subsuperficial de flujo vertical para identificar la eficiencia en el uso de bagazo de caña como medio de soporte del humedal.

1.2. Objetivos específicos

1. Realizar pruebas de toxicidad a diferentes especies vegetales mediante la exposición a distintas concentraciones de cafeína con el fin de determinar la especie que sea más resistente para ser usada en el humedal artificial.
2. Instalar los humedales artificiales subsuperficiales de flujo vertical a escala laboratorio mediante la construcción del sistema de tuberías para la distribución homogénea del flujo de ingreso y, de la celda que contendrá el bagazo de caña como medio de soporte, con el fin de tener el medio para determinar la remoción de la cafeína al atravesar por el mismo.
3. Determinar la remoción de cafeína mediante el análisis de la concentración de cafeína en el afluente y efluente del humedal para calcular la eficiencia de remoción.
4. Caracterizar el afluente y efluente del humedal mediante el análisis de parámetros de calidad: DQO, DBO₅, turbidez y sólidos suspendidos totales para determinar la eficiencia en la remoción de otros contaminantes.
5. Determinar la influencia de la especie vegetal enraizada en el humedal en la remoción de la cafeína mediante la comparación de la cantidad de contaminante removido en el humedal plantado y en un humedal de control sin plantar la especie vegetal, con el fin de encontrar la contribución de la planta usada en la eficiencia de la remoción.

1.3. Alcance

La cafeína es un contaminante emergente muy consumido a nivel mundial, por lo que su concentración en varios cuerpos de agua es cada vez más perceptible y, por tanto, induciendo a mayores daños a los organismos acuáticos. Es por esto, que el presente

proyecto tiene como fin determinar la eficiencia de eliminación de cafeína en aguas residuales artificiales mediante un tratamiento amigable con el ambiente, que son los humedales artificiales subsuperficiales de flujo vertical, que eviten la adición de químicos a los procesos de tratamiento.

De esta forma el alcance de este proyecto será:

1. En la fase de planeamiento se hará una revisión bibliográfica para establecer y profundizar en el problema, conocer criterios necesarios en la construcción de los HA, establecer el método para la detección de cafeína en solución e identificar las especies vegetales más factibles para el estudio. Por lo cual, se realizarán pruebas de fitotoxicidad por una semana donde se determinen los efectos a la exposición de cafeína a diferentes concentraciones, para las especies vegetales: bambú de la suerte (*Dracaena reflexa*), tronco de agua (*Dracaena Fragrans*) y mala madre (*Chlorophytum comosum*). Al finalizar la fase de pruebas de toxicidad, se podrá determinar la especie que mejor se haya adaptado a esta exposición y será seleccionada como el vegetal que se plantará en los humedales.

2. Para la fase de implementación se procederá con la construcción de dos humedales de flujo vertical subsuperficial a escala de laboratorio, por duplicado, es decir serán cuatro HA en total. Estos tendrán el medio de soporte al bagazo de caña de azúcar, con la diferencia de que, uno tendrá la especie vegetal y el segundo será usado como control sin hacer uso de esta. Estos humedales trabajarán con una concentración inicial de cafeína de 30 mg/L, siendo una concentración superior a las encontradas en algunos cuerpos de agua; sin embargo, esta fue seleccionada debido a la limitación en el equipo de laboratorio usado (Espectrofotómetro UV-VIS) para la detección de cafeína, a concentraciones bajas. Además, se realizará un monitoreo de los parámetros DQO, sólidos suspendidos totales y turbidez cada 15 días, y de DBO₅ de manera mensual, debido a la limitación en los insumos de laboratorio como reactivos y equipos para realizar el monitoreo más continuo. Finalmente, se establecen los tiempos de retención hidráulica en alrededor de 1 hora y de 24 horas para determinar la remoción de cafeína.

3. Para la fase de pruebas y análisis de resultados se procederá al estudio de la eficiencia de la remoción de cafeína mediante la caracterización del afluente y efluente para cada tiempo de retención probado con el espectrofotómetro UV-Visible. Asimismo, se analizará los resultados de las mediciones tomadas de los parámetros de calidad de agua obtenidos durante el monitoreo quincenal, y del DBO₅ mensual, para considerar la influencia de la

presencia del vegetal y el tiempo de retención, en la remoción de la cafeína y los demás parámetros fisicoquímicos.

Es importante considerar que este proyecto presenta ciertas limitaciones, tales como el uso de agua residual artificial, que se compone únicamente de una concentración específica de cafeína en solución de agua envejecida. No se llevará a cabo ninguna prueba a mayor escala que la planteada en el actual trabajo. En la misma línea, la eficiencia en la remoción de cafeína se determinará únicamente a través del análisis de las concentraciones de cafeína en el afluente y efluente de los humedales, sin realizar análisis en los componentes de las plantas que participen activamente en la remoción de cafeína, ni sobre la capacidad de adsorción del medio de soporte (bagazo de caña de azúcar), ni sobre la influencia de los microorganismos presentes en las raíces de las plantas. Finalmente, no se alterarán las condiciones ambientales para determinar su influencia en la eficiencia de remoción del contaminante, por lo que, todas estas variaciones podrían considerarse para estudios de futuros trabajos de investigación.

1.4. Marco teórico

1.4.1. Contaminantes Emergentes

Los nuevos hábitos del ser humano contemporáneo no solo tienen un impacto a nivel social, cultural y económico, sino también sobre el ambiente. En este sentido, no es extraño que haya una incesante aparición de nuevos químicos en algunos cuerpos de agua, lo que establece nuevas prioridades en los campos de investigación (Marques et al., 2013). Los estudios e investigaciones de lo que se conoce como contaminantes emergentes (CE) ha ido creciendo y provocando un desafío para las agencias reguladoras (Sauvé & Desrosiers, 2014). El término de CE generalmente se usa para referirse a compuestos de origen y naturaleza química diferentes, y que en general, no se encuentran en el ambiente, o su concentración no es significativa. Sin embargo, en la actualidad muchos de estos compuestos comienzan a ser ampliamente detectados y tienen la capacidad de provocar impactos ecológicos (Janet Gil et al., 2012). Años atrás, los CE no eran estudiados explícitamente y apenas se están conociendo mejor gracias a la nueva tendencia en la investigación, por lo que, aún la información es ciertamente limitada acerca de los efectos sobre el ambiente, las implicaciones sobre la salud del ser humano e incluso sus métodos de análisis (Abdulrazaq et al., 2021). Por lo que en los últimos años su estudio ha traído atención debido a los impactos adversos emergentes y potenciales sobre el ambiente que se han detectado. Los contaminantes emergentes aún tienen distintas

definiciones, dependiendo desde el enfoque que se los aborde, pero en lo que se acuerda es que comprende todas aquellas sustancias químicas tanto naturales como sintéticas que están presentes en su forma original, o transformados en otros compuestos, en varios cuerpos de agua alrededor del mundo (Abdulrazaq et al., 2021). Estos compuestos incluyen a aquellos que generalmente están usados en la vida diaria mediante productos de cuidado personal, plastificantes, productos farmacéuticos, pesticidas, drogas ilícitas, tensioactivos, etc., que generalmente tienen un origen antropocéntrico (Taheran et al., 2018).

De entre los mencionados, los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCP) representan la mayor preocupación dado su uso regular el manejo de enfermedades en el ser humano y animales a través de la prevención, el control y la cura de estas, por lo que el ingreso de estos compuestos al ambiente, y principalmente a ecosistemas acuáticos se da mediante las aguas residuales domésticas (Alean Flórez et al., 2021).

1.4.2. Cafeína

Como lo menciona el Consejo Europeo de Información sobre la Alimentación (EUFIC, por sus siglas en inglés), la cafeína o 1,3,7-trimetilxantina, de fórmula molecular ($C_8-H_{10}-N_4-O_2$) y estructura molecular como se muestra en la Figura 1, "es un compuesto alcaloide del grupo de las xantinas presente en varias plantas como en los granos de café y cacao, hojas de té, bayas de guaraná y nuez de cola" (EUFIC, 2007). Pero también, es componente de una variedad de medicamentos, que incluyen analgésicos, medicamentos para el resfriado, estimulantes cerebrales, cardiacos y respiratorios, e incluso, es usado como suplemento dietético "energético" a diversos refrescos (Gonçalves et al., 2017).

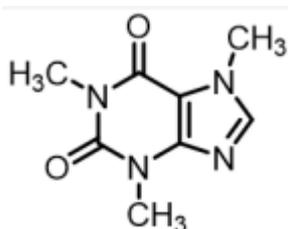


Figura 1. Estructura Molecular de Cafeína

Fuente: Faudone et al. (2021)

La cafeína es un alcaloide, que es sintetizado en algunas especies vegetales desde la adenosina, y al ser ingeridos por el ser humano, esta llega a ser metabolizada por la enzima citocromo P450 para transformarse en metabolitos; siendo la paraxantina el principal con un 84%, seguido de la teobromina en un 12% y la teofilina en un 4%, Figura 2. Usualmente, tiene una vida media entre el rango de 4 a 9 horas, pero puede variar según la influencia

de varias circunstancias; disminuye en individuos que fuman cigarrillo y aumenta para mujeres en estado de gestación o en aquellas que consumen anticonceptivos orales (Espinosa Jovel & Sobrino Mejía, 2017).

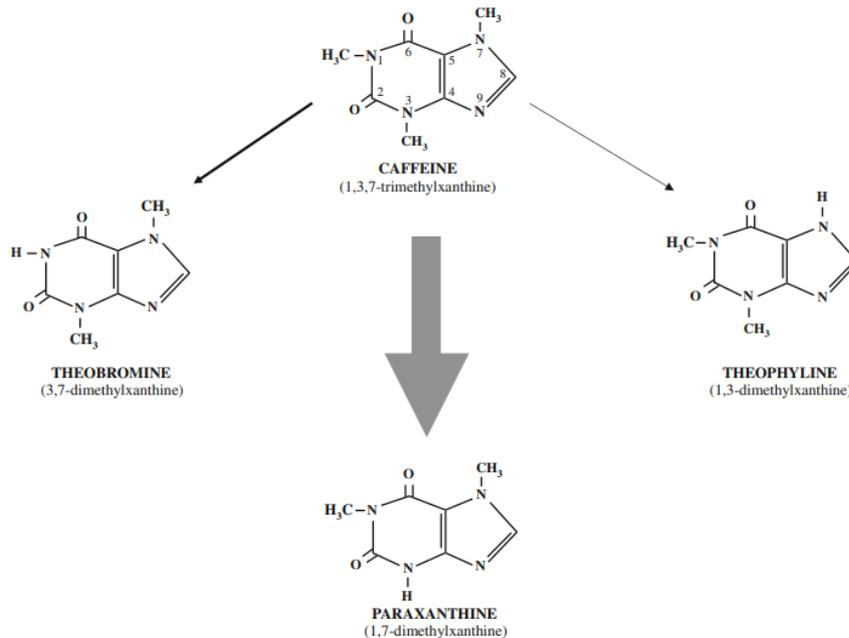


Figura 2. Estructura de la Cafeína y sus metabolitos en humanos

Fuente: James (2011)

Es así como la cafeína, es uno de los CE de mayor uso común en la vida de las personas, y al ser un estimulante del sistema nervioso central (SNC), se la ha calificado como la droga legal de mayor uso en todo el mundo por la frecuencia de su consumo, y como un compuesto de actividad farmacéutica de gran ubicuidad en el entorno natural (Alean Flórez et al., 2021).

1.4.2.1 Consumo de Cafeína

Según la USFDA, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos, determinó que el consumo promedio de cafeína desde todas las fuentes es cerca de 70 mg/ persona y por día. Además, casi el 90% de los adultos reportan un uso regular, siendo las fuentes principales las bebidas como, el café (71 %), refrescos (16 %) y té (12 %); con una ingesta diaria promedio de 227 mg (Nehlig, 2018). Además, según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), entre adultos de 18-65 años, la ingesta diaria de cafeína varía entre los 37-319 mg; y establece que el nivel de consumo de cafeína seguro para un adulto es de 200 mg en una sesión, y de 400 mg a lo largo de un día (EFSA, 2015).

Se entiende entonces la clara dependencia al consumo de dicho estimulante, no solo en las bebidas sino también como parte de los medicamentos, incluso cuando los patrones de consumo cambien según las fuentes principales a lo largo de la vida de una persona. Es decir, si un individuo detiene el consumo de refrescos o bebidas energizantes que consumía de infante para pasar al consumo de café durante su vida adulta, la exposición a la cafeína es básicamente de por vida para la gran mayoría de las personas lo cual lo presenta como una sustancia altamente consumida a nivel mundial (James, 2011).

1.4.2.2 Cafeína en cuerpos de agua

La cafeína luego de ser ingerida puede llegar a ser eliminada del estómago en aproximadamente 20 minutos, mientras que la concentración plasmática máxima que se alcanza puede ser entre 40-45 minutos; además, dicha concentración alcanzada en sangre se relaciona con las que están en distintas partes del cuerpo (en el cerebro, saliva, semen, leche materna, etc.) ya que se distribuye fácilmente. En los adultos, la cafeína se transforma habitualmente por completo en el hígado, y menos del 2% del compuesto ingerido se recupera en la orina (James, 2011). Al ser parcialmente excretado en la orina, ha provocado que el alcaloide sea omnipresente en ríos y aguas costeras pues se lo considera como una sustancia capaz de servir como trazador de contaminación de aguas residuales. Estudios actuales han mostrado que la cafeína se encuentra más del 50% de 1.052 sitios de muestreo en 258 ríos de todo el mundo (Mowbray, 2022). Además, se debe tener en cuenta que la adición de cafeína al ambiente no es solo luego de que atraviese el organismo del ser humano, sino que también es introducido al ambiente cuando se descarga el café, té o refrescos no consumidos a los desagües directamente e incluso cuando se da el enjuague de cafeteras y tazas (Gonçalves et al., 2017).

Es por esto, que se han realizado estudios para encontrar las concentraciones de cafeína en distintos cuerpos de agua y determinar qué tan extendido y presente se encuentra el compuesto en el ambiente. Como por ejemplo, en el Distrito de Federal Brasileño, se encontró concentraciones de cafeína en el agua superficial del Lago Paranoá, que es un reservorio que se usaría como fuente de agua para el uso de agua potable, con un promedio de 53 ng L⁻¹, con un máximo de 228 ng L⁻¹ durante la época seca, mientras que en el agua potable de consumo se detectó 8.6 ng L⁻¹ (Sodré et al., 2018); en otro estudio en el mismo Lago Paranoá pero en los años 2009 y 2012 se demostró que la cafeína fue el contaminante emergente más abundante en el lago en concentraciones entre 68-212 ng L⁻¹, mientras que los efluentes de las PTARs cercanas al lago tenían 1056.7 y 3190. ng L⁻¹ en las PTARs Sur y Norte, respectivamente (Mar da Costa et al., 2016). En la ciudad de Mentería, Colombia, se estudiaron las aguas residuales del canal de descarga

encontrándose una concentración máxima de cafeína de $43.38 \mu\text{L}^{-1}$, pero no se encontraron concentraciones en las aguas superficiales del río Sinú ni en el agua de consumo humano de la ciudad de Montería (Alean Flórez et al., 2021). En otro estudio se encontraron concentraciones en el rango entre 0.01 a 7.80 mg L^{-1} en la subcuenca del Arroyo sin Nombre, de la Isla Soltera, que recibe descargas de toda la superficie pluvial generada en la subcuenca, con tendencia a tener mayores concentraciones en épocas de lluvias (Bega et al., 2021).

En España se realizó una recopilación de algunos estudios sobre la detección de la cafeína en distintos lugares en el territorio en muestras originarias de aguas afluentes y efluentes de plantas de tratamiento de agua residual (PTAR), aguas superficiales y de aguas potables, y se encontró que los valores más prominentes de cafeína se ubicaron en la provincia de Madrid con una concentración de 13167 ng L^{-1} (presentada en el agua superficial del río Manzanares, luego estaría la provincia de Sevilla con 3840 ng L^{-1} en el agua superficial del río Tajo y después la provincia de Toledo con 1558 ng L^{-1} y la provincia Huelva con 1060 ng L^{-1} sobre el área de Doñana; para los efluentes de PTAR/EDAR la máxima concentración se encontró en Madrid con 5690 ng L^{-1} , seguido por Barcelona con 797 ng L^{-1} del efluente ubicado en el río Llobregat y luego por Sevilla con 700 ng L^{-1} ; y en cuanto a las concentraciones de cafeína en el agua potable, las máximas concentraciones se encontraron en Madrid con 75 ng L^{-1} , siendo el muestreo en Alarcón al sur de la capital, y en Toledo con 70 ng L^{-1} , siendo las muestras de Talavera de la Reina (Ramírez & Rivera, 2017).

En otros estudios de Brasil se encontró cafeína, en el Río Palmital (Cuenca del Alto Iguazú) con la mayor concentración de $20.13 \mu\text{g L}^{-1}$, siendo el punto de muestreo a orillas del río en una región de viviendas irregulares, mientras que las concentraciones más bajas de $8.90 \mu\text{g L}^{-1}$ serían cerca de las zonas menos pobladas; en la Bahía de Guanabara (Cuenca Leopoldina) se encontraron concentraciones entre 160 y $357 \mu\text{g L}^{-1}$ y en el río Paquequer (Teresópolis, Rio de Janeiro) se obtuvo entre 0.16 y $47.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Bega et al., 2021). Además, a pesar de que las concentraciones en las aguas superficiales suelen estar bajo el $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, la concentración máxima en Europa fue de $39.8 \mu\text{g.L}^{-1}$ en Bélgica (Zhou et al., 2019). Por su parte, en Costa Rica se encontró una concentración máxima de $1100 \mu\text{g.L}^{-1}$, una alta concentración debido posiblemente a las instalaciones de producción de granos de café aguas arriba del punto de muestreo (Spongberg et al., 2011).

1.4.2.3 Problemática de la cafeína en cuerpos de agua

Debido a la evidente presencia de cafeína en los medios acuáticos, este compuesto puede alterar a los organismos presentes, y han sido mostrados en algunos estudios (Cervený

et al., 2022). En un estudio llevado a cabo por Pennington (2017), los resultados reportados mostraron que la exposición a cafeína ($0.5-18.0 \mu\text{g L}^{-1}$) por el periodo de 28 días causó el 8.3, 12.5 y 22.2% de mortalidad en los *Hediste diversicolor*, *Diopatra neapolitana* y *Arenicola marina*, respectivamente; estas son especies de poliquetos con una buena propiedad bioindicadora de las condiciones ambientales (Alean Flórez et al., 2021). En organismos mayores como el pez cebra adulto de tipo salvaje se ha detectado que a concentraciones de $1.5-300 \mu\text{g.L}^{-1}$ induce el comportamiento agresivo y ansioso, las concentraciones de cafeína disminuyen la actuación del pez cebra y su audacia, y es probable que los peces expuestos a $300 \mu\text{g.L}^{-1}$ tuvieron una pérdida de peso debido a los cambios en el metabolismo necesarios para hacer frente al estrés químico pero se necesitan más estudios que corroboren dicha información pues es el primero en su tipo (Santos et al., 2023). En cuanto a organismos vegetales, se realizó un estudio donde se detectó los efectos en el enraizamiento de esquejes del hipocótilo de frijol mungo (*Phaseolus aureus*), en donde a concentraciones más bajas a $1000 \mu\text{M}$ el potencial de enraizamiento no se vio afectado, pero si hubo una disminución significativa en el número y la longitud de las raíces, mientras que a una concentración de $2000 \mu\text{M}$ no se produjo formación de raíces (Batish et al., 2008). Por lo anterior, se evidencia efectos sobre diferentes elementos en los ecosistemas acuáticos.

1.4.2.4 Métodos de eliminación de Cafeína

Se han estudiado diferentes métodos de eliminación y degradación de la cafeína para tratar de realizar un manejo de esta. La cafeína no puede ser degradada de manera eficiente si solo se usa irradiación UV-Vis cercana por lo que se han probado tratamientos fotocatalíticos que incrementen la tasa de degradación, mediante el uso de nanotubos de carbono multipared y de materiales de TiO_2 (Marques et al., 2013); otro método que se ha experimentado es la adsorción utilizando materiales compuestos de residuos lignocelulósicos de bambú, laurel y moringa, impregnados con nanopartículas de dióxido de titanio con un área específica de $160 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ obteniendo altas eficiencias de remoción 98.9% (León, 2018). También se probó otras técnicas como, la oxidación avanzada con peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta obteniendo una eliminación del 70% a los 2 minutos de una solución acuosa; y la bioadsorción con carbón activado como adsorbente logrando una eliminación del 100% con una concentración baja de adsorbente (2 g L^{-1}) (Sánchez, 2018). Asimismo, otra técnica es usar el Ozono activado por un nanocompuesto de cobalto/carbono magnético y reciclable derivado de ZIF-67 para degradar la cafeína para múltiples ciclos (Lin & Chen, 2021). También, se puede realizar la adsorción acoplada sobre carbón activado y el proceso electro-Fenton, con una degradación de la cafeína de

hasta el 95%, 100% y 100%, y una mineralización de hasta el 70%, 72% y 76% para agua pura, aguas residuales simuladas y aguas residuales de efluente, respectivamente, entre otros (Gadi et al., 2022).

Sin embargo, existen otros sistemas de tratamiento no convencionales que permiten implementarse a los tratamientos de aguas residuales y que no contribuyen a la adición de más químicos al agua, los cuales son las tecnologías de biodegradación como biorreactores híbridos, biofiltros y los humedales (Fan et al., 2021).

1.4.3. Humedales Artificiales

Los humedales son ecosistemas que combinan características de entornos terrestres y acuáticos, gracias al elevado grado de humedad, y que generalmente, tienen la presencia de abundante vegetación; por tanto, estos medios reúnen características biológicas, físicas y químicas que los convierten en hábitats óptimos para llevar a cabo procesos de depuración (Llagas & Gómez, 2006).

Los humedales artificiales (HA) o construidos (HC, o CW por su nombre en inglés) son medios de tratamiento altamente efectivos para la remoción de metales y metaloides, y otros contaminantes característicos de la calidad del agua; además, gracias a que combinan técnicas de fitorremediación y remediación microbiana, se presenta como un tratamiento amigable con el ambiente, sostenible y mejor posicionada en cuanto a costo-beneficio (Fan et al., 2021).

Especialmente los humedales construidos han atraído mucho la atención, y su uso es frecuentes en la purificación de agua en plantas de tratamiento de aguas residuales al ser una tecnología que permite ser más amigable con el ambiente. Por lo cual, se han construido distintos humedales para ser sistemas de tratamiento de aguas residuales a nivel mundial, mostrando altas eficiencias en la remoción de contaminantes comunes como DBO5, sólidos sedimentables, DQO, turbidez, detergente, etc. como medios de tratamiento en PTAR (Vargas, 2021).

Los HA imitan los procesos naturales que se dan en un humedal a través de la vegetación de macrófitas que se enraíza a un medio de soporte (generalmente arena), y la presencia de microorganismos en las raíces (Gallegos-Rodríguez et al., 2018). Sin embargo, existen limitaciones debido a la baja tasa de carga hidráulica y a la necesidad de grandes áreas de terreno, por lo cual se han desarrollado los humedales de flujo vertical (Xu et al., 2016). En los humedales verticales, la influencia del flujo superficial o subsuperficial es significativa en el tratamiento. Los componentes principales que influyen en el sistema corresponden a

los microorganismos que se adhieren a las superficies de los sustratos, el mismo material de soporte o medio filtrante que generalmente es arena, zeolita y grava, y a la vegetación que se usa en el humedal (Guan et al., 2015), Figura 3.

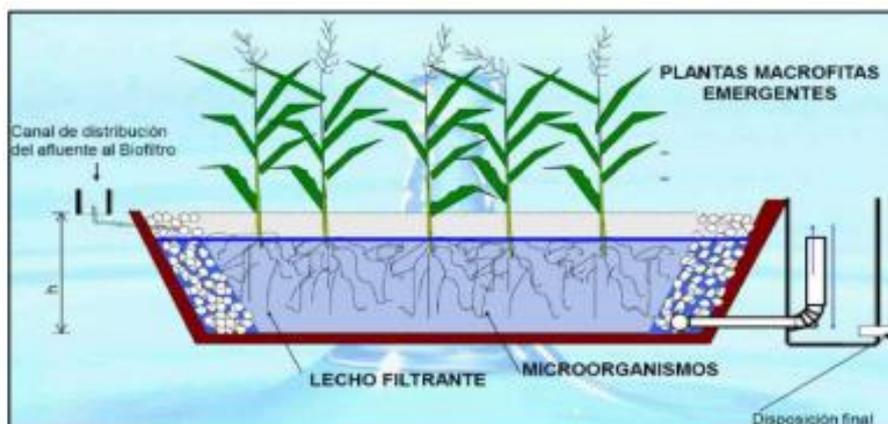


Figura 3. Componentes principales de los humedales artificiales

Fuente: (Pérez L et al., 2011).

1.4.3.1 Componentes de los Humedales Artificiales

1.4.3.1.1. Medio de soporte/ lecho filtrante

Corresponde al lugar en donde se enraízan las especies vegetales y ocurren diversas reacciones físicas, químicas y biológicas a través de las cuales el agua residual es tratada para su depuración. Asimismo, proporciona una extensa superficie donde se facilita el crecimiento bacteriano y a su vez funciona como un medio filtrante (García Ocaña et al., 2019).

La arena gruesa o la grava fina son los medios más comunes en la construcción de los humedales artificiales. Los tamaños pueden variar y oscilan entre diámetros de 3 y 52 mm, y para la zona de entrada se usan de tamaño de 50 mm, esto con el fin de disminuir el potencial de obstrucción. Sin embargo, se han usado otros medios como roca triturada, arena, y materiales plásticos. Pero se recomienda que sobre una cama de grava sea usada una capa de medio más fino como arena; para otorgar una mayor estabilidad y arraigo de las macrófitas al medio (Villegas, 2018). Sin embargo, se han probado otros medios de soporte; inorgánicos, como la grava de canto redondo, cuarcita, zeolita, bauxita arcilla expandida, la grava de brecha sedimentaria, ladrillo, etc., y orgánicos, como las astillas de madera, las conchas de ostras (García Ocaña et al., 2019; Huang et al., 2015; Nava-Rojas et al., 2023). Además, al ser un lecho filtrante, que en los HA funcionan además como medio de soporte, es preciso mencionar algunos materiales que han sido usados como material orgánico filtrante para la biofiltración y que pueden ser probados en un sistema

más complejo como lo son los HA, como son la turba, la corteza de coníferas, casahuate, jacaranda, tabachín, bagazo de caña de azúcar, fibra de coco, etc.(Garzón et al., 2012).

1.4.3.1.2. Microorganismos

Su principal función es la de llevar a cabo la actividad biodegradadora, gracias a que se encuentran en comunidades de biopelículas. Los microorganismos emplean el oxígeno disponible para llevar a cabo diferentes reacciones que descomponen la materia orgánica, y también este consumo de oxígeno permite que ocurran los procesos involucrados en la nitrificación (Delgadillo et al., 2010).

1.4.3.2 Tipos de Humedales Artificiales

Los humedales tienen una clasificación por el tipo de vegetación que se cultive para su funcionamiento (Macrófitas), las cuales pueden ser flotantes o enraizadas, y dentro de esta última se encuentra la clasificación en base al tipo de flujo. Cuando el sistema es de flujo superficial o libre (HAFS), y cuando el flujo es subsuperficial (García, 2021).

1.4.3.2.1. Humedal de Flujo Superficial (HAFS)

Conocidos por su nombre en inglés como *surface flow constructed wetlands* o *free water Surface constructed wetlands* este tipo de humedal permite que las características de las plantas estén expuestas a la atmósfera, el agua fluye sobre el sustrato o medio de soporte donde están enraizadas las plantas y, por ende, dicho suelo debe tener ciertas características de impermeabilización (García, 2021), Figura 4.

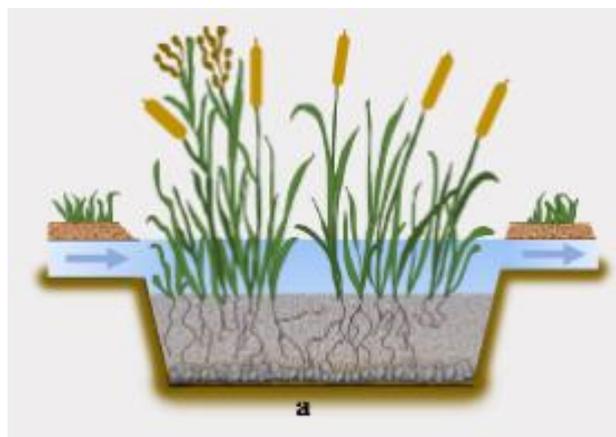


Figura 4. Humedal Artificial de Flujo superficial

Fuente: Montenegro et al. (2019)

1.4.3.2.2. Humedal de Flujo Subsuperficial (HAFSS)

También conocido como *subsurface flow constructed wetland* por su nombre traducido al inglés, son sistemas donde el agua fluye a través del medio de soporte donde se encuentran enraizadas las plantas, y por lo general, se usa un sustrato poroso como la

grava u otros tipos de suelo con textura gruesa, y se clasifican en humedales de flujo horizontal y de flujo vertical según el ingreso del afluente y como se dé la dirección del flujo, como se presenta en la Figura 5 (Vargas, 2021).

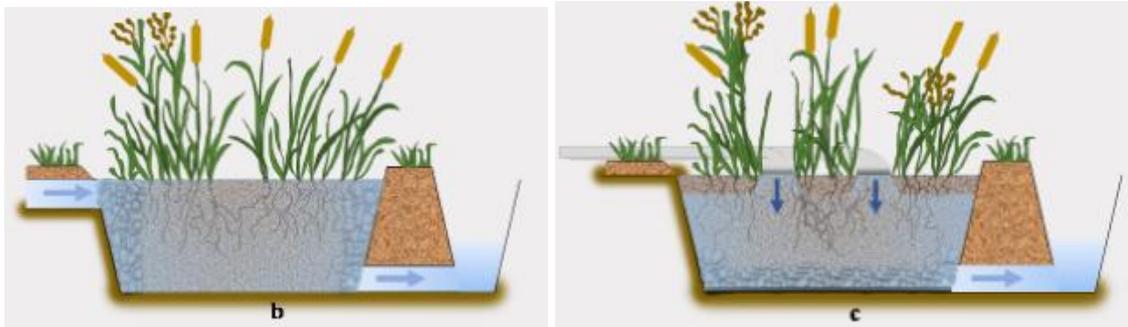


Figura 5. Humedal Artificial de Flujo subsuperficial Horizontal (a) y Vertical (b)

Fuente: Montenegro et al. (2019)

Debido a la presencia de cafeína en varios cuerpos de agua, en afluentes y efluentes de PTAR, es necesario tratamientos de este contaminante que eliminen de las aguas superficiales del ambiente, por lo cual, los HA se muestran como sistemas óptimos y de bajo costo para la remoción del mismo pues los HA imitan los procesos que se dan naturalmente en un humedal a través de la vegetación de macrófitas que se enraíza a un medio de soporte, y mediante la presencia de microorganismos que se encuentran en las raíces (Gallegos-Rodríguez et al., 2018).

Clasificación de los humedales artificiales de flujo subsuperficial

- **Humedales de Flujo Horizontal (HASS)**

Este humedal se caracteriza por tener una alimentación de flujo permanente, y el cual fluye lentamente a través del medio poroso siguiendo una dirección horizontal de un extremo a otro (L. García, 2021).

- **Humedales de Flujo Vertical (HFVSS)**

Los tratamientos de depuración de flujo subsuperficial son recargados de manera intermitente, a través de pulsos logrando periodos de saturación y descanso. Este tipo de humedales permite un flujo de arriba hacia abajo, en el cual el agua ingresa por el área superficial gracias a un sistema de tuberías que vierte el agua por goteo o en chorros, y que luego es recogida en el fondo del medio filtrante mediante tuberías de drenaje (Bizarra & Portillo, 2021).

1.4.1. Bagazo de Caña de azúcar (BCA)

La caña de azúcar es el cultivo más grande del mundo, se cultiva en aproximadamente 23,8 millones de hectáreas con una cosecha total de alrededor de 1.690 millones de toneladas en 2010. Después de exprimir las cañas para obtener azúcar, los materiales restantes, generalmente llamados bagazo, se obtienen como coproductos. Alrededor del 30 al 32 % en peso de la caña se produce como coproductos. El bagazo es un material lignocelulósico que consta de 45 a 55 % de celulosa, 20 a 25 % de hemicelulosa y 18 a 24 % de lignina (Reddy & Yang, 2014).

Según un estudio del CINCAE, en el Ecuador, hasta 2008 se generaba 1.3 millones de toneladas de bagazo de caña, lo que quiere decir que existe una producción exorbitante de coproductos y si no se le da un segundo uso, representaría una generación de desechos, y por esto que se le pretende dar un nuevo uso al ocuparse al bagazo como medio de soporte en los humedales artificiales.

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y Diseño de Investigación

El desarrollo del estudio se llevó a cabo por métodos racionales a través de los cuales pueden ser usados para la elaboración de conocimientos, entre estos se destaca el método deductivo que históricamente ha sido efectivo para el avance del juicio científico en las ciencias naturales y exactas, junto con el inductivo; y parte del razonamiento que pasa del conocimiento general a un conocimiento particular (Rodríguez Jiménez & Pérez Jacinto, 2017).

El tipo de trabajo que se manejó es el de una investigación experimental en el cual se manipula de manera intencional una variable independiente de investigación con el objetivo de determinar el impacto sobre una variable dependiente (Ramos-Galarza, 2021). Por lo que, en este sentido, el estudio en la remoción de cafeína de aguas artificiales se basó en el uso de humedales artificiales (HA) donde se considera una especie vegetal, y de humedales control (HC) donde hay ausencia de la dicha especie.

Además, el enfoque considerado fue el mixto ya que los datos recolectados, analizados y vinculados, son cuantitativos y cualitativos que corresponden a una misma investigación de base, y que son analizados con el fin de responder a un planteamiento. Los dos métodos usados (cuantitativo y cualitativo) se entrelazan en varias etapas, por lo que el análisis paralelo y combinado es conveniente para obtener información que permita una comprensión e interpretación, lo más amplia posible, del cualquier objeto de estudio (Guelmes Valdés & Nieto Almeida, 2015).

En este sentido, el enfoque cualitativo se llevó a cabo principalmente en la interpretación de los efectos provocados por la exposición a varias dosis de cafeína para las distintas especies vegetales, observando las estructuras de las plantas. Por otro lado, el cuantitativo tiene lugar ya que se hizo un análisis de parámetros físicos y químicos a la muestra inicial, antes de ingresar a los humedales artificiales y de control, además de las muestras quincenales durante el funcionamiento de los humedales para evaluar la eficiencia del sistema de tratamiento en la remoción de los demás parámetros fisicoquímicos considerados. Asimismo, se realizó un análisis de la concentración de cafeína que ingresa a los HAFVSS y de los efluentes que salen luego de los tiempos de retención establecidos, los cuales fueron recolectados semanalmente por 10 semanas. A partir de estos datos se empleó el programa Excel y ORIGIN PRO para los respectivos análisis estadísticos.

Para terminar, se realizó un análisis deductivo basado en la recopilación de resultados, utilizando la medición numérica, el conteo y la estadística para crear modelos de comportamiento en una población o para verificar hipótesis y teorías. (G. Vega et al., 2014).

2.2. Ámbito Temporal y Espacial

2.2.1. Ámbito Temporal

El presente proyecto de investigación “Estudio de la Remoción de Cafeína mediante el uso de Humedales Subsuperficiales de Flujo Vertical utilizando Bagazo de Caña de Azúcar como medio de soporte” se llevó a cabo a través de varias etapas como se muestra en Figura 6, las cuales tuvieron lugar a escala temporal de julio 2023 - julio 2024.

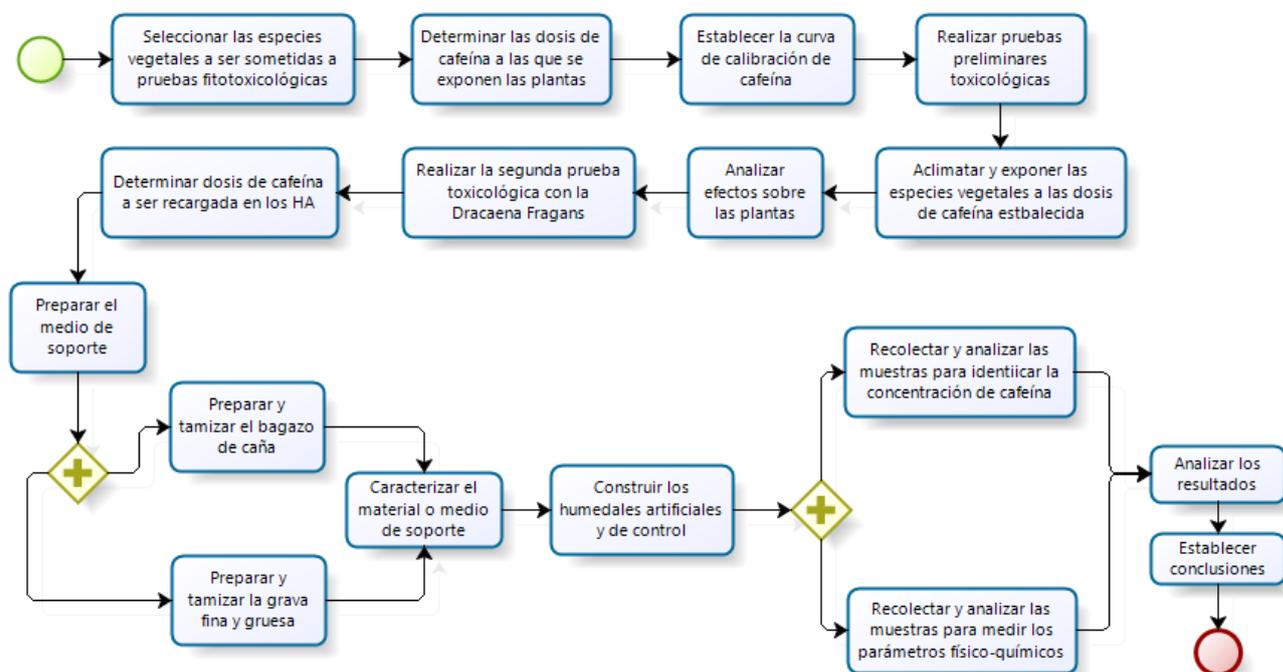


Figura 6. Flujograma de actividades planteadas en el proyecto de investigación.

Fuente: Autora

2.2.2. Ámbito Espacial

El estudio se realizó a escala de laboratorio, por lo cual, los humedales artificiales se instalaron en el Laboratorio de Estudios Hidráulicos del edificio N°10 Hidráulica de la Escuela Politécnica Nacional localizada en Quito, Ecuador (40°45'36"N y 73°59'2.4"O). El centro urbano de la ciudad se encuentra a 2.580 msnm, con un promedio anual de precipitación de 1.204 mm y la temperatura promedio anual de 13.4 °C (Zambrano-Barragán et al., 2011).

Previo a designar el área donde se colocarían los HA y HC, se realizó un monitoreo de las condiciones de humedad y temperatura dentro del laboratorio con el fin de determinar el mejor lugar que permita llevar un control de los humedales. Por tanto, se escogió tres sitios a ser monitoreados durante una semana que se muestran en la Figura 7.

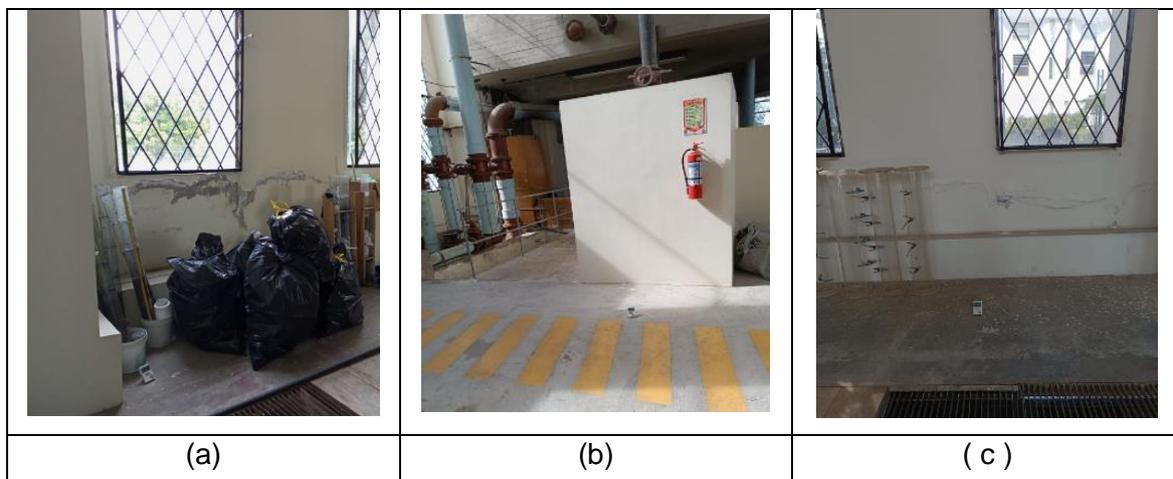


Figura 7. Áreas para el monitoreo de humedad y temperatura. (a) *Sitio 1:* parte frontal del laboratorio, lado derecho; (b) *Sitio 2:* parte posterior del laboratorio, en el centro de este; y (c) *Sitio 3:* parte posterior del laboratorio, lado derecho.

Las tres zonas fueron monitoreadas durante el día y la tarde para determinar la variabilidad de las condiciones ambientales. Esto se realizó mediante el uso de un Termohigrómetro digital, marca Boeco Germany.

2.3. Fases del Proyecto

2.3.1. Fase 1: Planeamiento y pruebas preliminares

2.3.1.1 Especies vegetales

En julio de 2023 se realizó la selección de las plantas que pondrían en ensayo para las pruebas preliminares toxicológicas. Se han usado vegetación forrajera como el *Chrysopogon zizanioides* o pasto; el alimenticio como la *Oriza sativa* o arroz; e incluso la ornamental como el *Eichhornia crassipes* o jacinto de agua, *Zantedeschia aethiopica* o alcatraz, *Canna spp.* e *Iris spp* (Mendoza & Párraga, 2021; Morales et al., 2013).

Por tanto, se eligió tres plantas ornamentales de interiores para realizar las pruebas preliminares y decidir la mejor especie que se adaptaría a las condiciones que presenta el laboratorio donde fueron puestos los humedales artificiales. Se escogió al bambú de la suerte (*Dracaena reflexa*), al tronco de agua (*Dracaena fragrans*) y a la mala madre (*Chlorophytum comosum*), Figura 8.

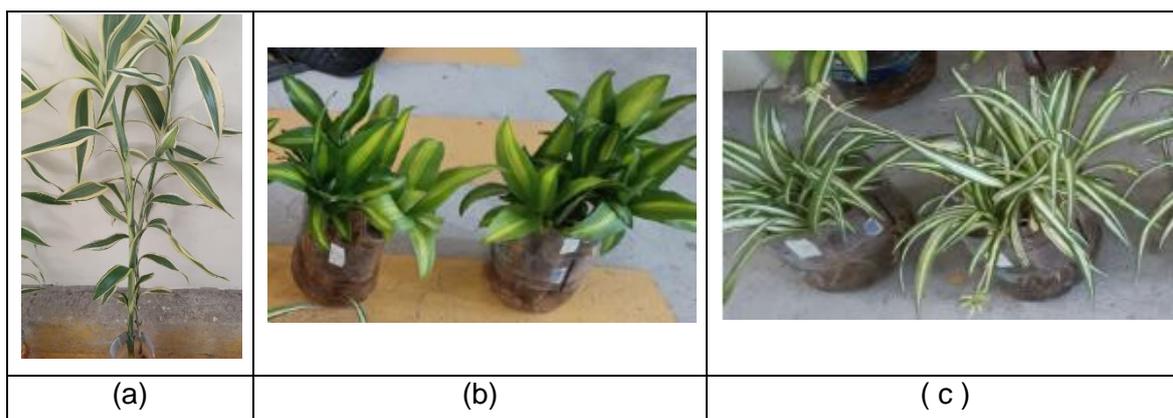


Figura 8. Especies vegetales para pruebas toxicológicas preliminares. (a) *Dracaena reflexa*, (b) (*Dracaena Fragrans* y (c) *Chlorophytum comosum*

Estas plantas fueron seleccionadas por su facilidad en la adquisición y por ser plantas de interiores. Sin embargo, presentan características específicas para cada una de ellas que se muestran en Tabla 1.

Tabla 1. Especies vegetales y características

Planta (Nombre Científico)	<i>Dracaena reflexa</i>	<i>Dracaena Fragrans</i>	<i>Chlorophytum comosum</i>
Nombre común	Bambú de la suerte/ Dracena	Palo o Tronco de agua	Mala Madre
Humedad	Alta	De moderada a alta	Intermedia a Alta
Temperatura (°C)	16 - 32	16 - 24	15 - 27
Exposición a radiación solar	Bajas condiciones de luz	Luz indirecta, tolera la luz parcial y la sombra	Exposición al sol indirecta, semisombra
Precio (\$/ planta)	0.15	0.35	0.4
Raíces	Extensivas que se propagan	Varias, no existe una principal	Raíces carnosas y tuberculosas

Fuentes: Asif et al. (2017); Maraver & Romero (2007); Ochoa, (2021); Surita & Vargas, (2015)

2.3.1.2 Pruebas fitotoxicológicas

2.3.1.2.1. Curva de calibración de Cafeína

Se realizó concentraciones de 0.5, 1, 2, 5, 10, 25 y 50 mg. L⁻¹ a partir del producto químico Cafeína anhidra de pureza del 99% de la marca Lobachemie con agua destilada preparadas en el Laboratorio de Docencia de Ingeniería Ambiental (LDIA) de la Escuela Politécnica Nacional (EPN), Tabla 9.

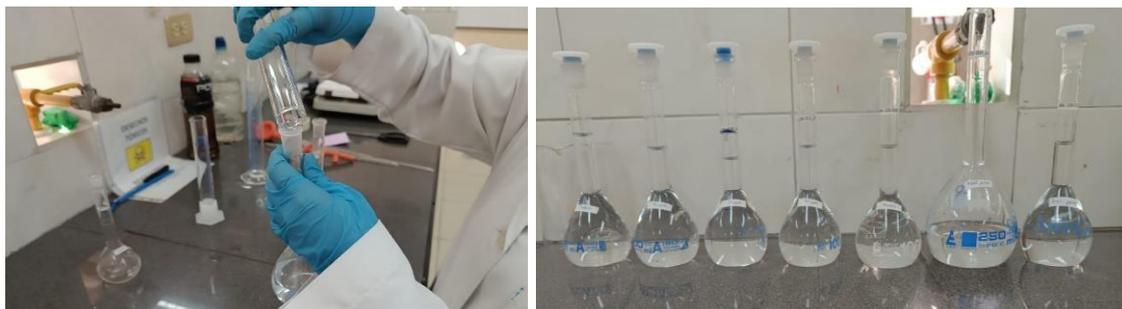


Figura 9. Preparación de concentraciones de cafeína

Estas concentraciones fueron luego medidas en el equipo Espectrofotómetro de Fluorescencia y Absorbancia UV-VIS-NIR, marca Duetta, capaz de adquirir un espectro completo de 250 nm a 1.100 nm de la empresa HORIBA (HORIBA Scientific, s/f). Este equipo se encuentra en el Laboratorio de Termodinámica de la Facultad de Ingeniería Química de la EPN, donde se determinó las absorbancias respectivas a cada concentración, estableciendo una configuración de longitud de onda de 230 a 320 nm, con un incremento de 2 nm y un tiempo de integración de 0.5 s, en la longitud de onda de 272 nm, y se creó una curva Absorbancia vs Concentración (ppm). El uso de este equipo es una opción óptima para detectar la cafeína en agua pura y diclorometano, siendo un método rápido y barato (Belay et al., 2008).

2.3.1.2.2. Preparación y acondicionamiento de las especies vegetales

Los organismos vegetales fueron adquiridos en viveros localizados en la parroquia rural del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), Nayón. Luego de ser adquiridas se transportaron a la EPN con el fin de comenzar el acondicionamiento.

Luego de seleccionar el sitio adecuado para la realización del experimento, fueron colocadas en Laboratorio de Estudios Hidráulicos y se dejó que se climaticen al entorno; ya que los factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa y la radiación solar, influyen en el estado fisiológico de una planta, su susceptibilidad a herbicidas, su adaptabilidad, etc., (Varanasi et al., 2016).

Por tanto, se realizó una transición paulatina del medio, de suelo a agua. Inicialmente se colocó las plantas en recipientes grandes con agua, conservando el suelo con el que venían para que se adapten al cambio. Se mantuvo por una semana saturado con agua para después retirar el sustrato y lavar completamente las raíces con abundante agua, este proceso de acondicionamiento fue adaptado de Aguilar & Cornejo (2021). Finalmente, fueron colocadas en botellas con agua como se muestra en la Figura 10, por otra semana hasta iniciar las pruebas toxicológicas.



Figura 10. Especies vegetales con agua como medio

2.3.1.2.3. Selección de especies vegetales

Las 18 plantas de cada especie de *Dracaena reflexa*, *Dracaena Fragrans* y *Chlorophytum comosum* fueron expuestas a las concentraciones de cafeína de blanco (0 ppm), 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm, preparadas en una solución de 500 ml de agua envejecida que fueron hechas por triplicado para cada concentración, Figura 11. A partir de esta prueba preliminar, y durante un mes de monitoreo, se observó los cambios cualitativos sufridos en los organismos y determinar los efectos causados por estos.

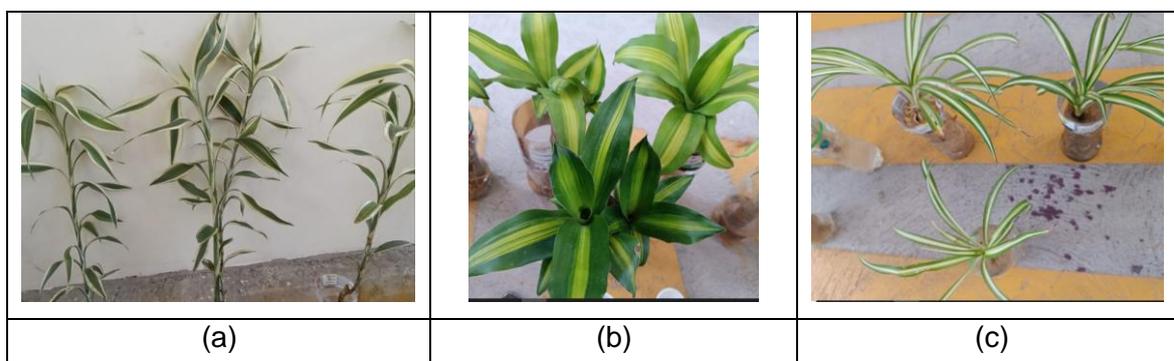


Figura 11. Vegetación expuesta a concentraciones de cafeína: (a) *Dracaena reflexa*, (b) *Dracaena Fragrans* y (c) *Chlorophytum comosum*.

2.3.1.2.4. Prueba Fitotoxicológica en la *Dracaena Fragrans*

Observando los resultados conseguidos con las primeras pruebas se decidió repetir la prueba fitotoxicológica, y afinar las concentraciones que se podían leer con el equipo de Espectrómetro UV-VIS mediante la detección de las absorbancias, las cuales fueron decididas como las siguientes: 5 mg. L⁻¹, 10 mg. L⁻¹, 25 mg. L⁻¹ y 50 mg. L⁻¹. A concentraciones muy altas como 75 y 100 mg. L⁻¹, el equipo presentó problemas de detección.

Además, se realizó una clasificación inicial de las plantas en grupos y se hizo un conteo de raíces y hojas, y se midió el tamaño de la raíz más grande y pequeña al igual que la hoja más grande y pequeña como se muestra en el

ANEXO I. Para la prueba toxicológica se escogió las plantas con mejores características y se agruparon en grupos de tres organismos que presentaban similitudes en su morfología para cada concentración según se muestra en la Tabla 2. Se midió las hojas y raíces al inicio y al final de la prueba para determinar los efectos al contaminante.

Tabla 2. Organismos vegetales usados para cada concentración de cafeína

DOSIS	ESPECIE VEGETAL		
Blanco	1C	4B	5B
5 mg/L	2B	2A	4A
10 mg/L	5C	1A	3B
25 mg/L	6B	3C	4C
50 mg/L	6C	1B	5A

2.3.1.2.5. Selección de dosis de cafeína a usarse en los humedales

Al finalizar la semana de exposición a las distintas concentraciones, se tomaron muestras para medir la concentración final de la cafeína. Además, se determinó el impacto de las diferentes dosis de cafeína sobre las hojas y raíces, y la capacidad de la *Dracaena Fragrans* de asimilarla. En estas se observó una disminución en la concentración de cafeína en todas las muestras, para todas las dosis. Para las dosis de 5 mg. L⁻¹ y 10 mg. L⁻¹, el Espectrómetro UV-VIS detectó absorbancias mínimas que representa concentraciones de cafeína muy bajas.

Se determinó una concentración de 30 mg. L⁻¹ para ser aplicada en los humedales artificiales para probar la eficiencia en la remoción, pues a pesar de que no es una concentración que se haya encontrado en el ambiente naturalmente sirve para determinar si el sistema de humedales artificiales planteado es efectivo en la remoción de contaminantes y, además, ha sido usado como dosis de prueba para determinar los efectos de la cafeína sobre organismos acuáticos (Pollack et al., 2009). Adicional a esto, se consideró una buena elección debido a que permite trabajar en un rango de absorbancias detectables en el Espectrómetro UV-VIS, ya que a concentraciones superiores a los 50 mg. L⁻¹ se presentaban curvas planas en las gráficas entregadas por el programa, y no se podía detectar un pico en 272 nm.

2.3.2. Fase 2: Implementación del Proyecto

Luego de designar la especie vegetal a ser usada en los humedales artificiales, siendo el tronco de agua (*Dracaena Fragrans*), y la dosis a la que serán expuestos, de 30 mg. L⁻¹,

se procedió a la construcción de los humedales artificiales y de control considerando los demás componentes.

2.3.2.1 Preparación del Bagazo de Caña

El bagazo de caña de azúcar se obtuvo de los residuos generados del trapiche para caña que usan varios comerciantes en el Quinche, Pichincha, para obtener el jugo y ser comercializado en el mercado principal del Quinche. Los residuos de bagazo se encontraban en una zona de almacenamiento donde eran colocados previamente antes de ser desechados al recolector municipal. Por tanto, se recogió una cierta cantidad de estos en costales, escogiendo aquellos que tengan mejor aspecto y estaban más frescos, Figura 12.



Figura 12. Bagazo de caña amontonado como residuo en un trapiche

2.3.2.1.1. Clasificación y triturado

Luego de juntar el bagazo de caña, este fue traído a la ciudad de Quito en donde fue clasificado (Figura 13) para eliminar aquellos que se encontraban con mayor degradación o presencia de hongos.



Figura 13. Clasificación del bagazo de caña

Si presentaban un color negro, estos eran separados y desechados, ya que el BCA fresco estaba mezclado con residuos antiguos que habían estado por un periodo de tiempo largo, y los cuales ya habían empezado con la descomposición, Figura 14.



Figura 14. Bagazo de caña en descomposición

El BCA seleccionado fue lavado con abundante agua para ser luego dispuesto sobre un plástico y dejado a secar por 20 días con una exposición directa al sol, cuidando de que no se moje por si se presentaba un día lluvioso, esto con el fin de reducir su humedad a un 23.4% (Galarza, 2020; H. García, 2019). Después, el BCA seco fue recogido en 5 sacos de polipropileno para ser transportados al Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la EPN para realizar la trituración, Figura

15

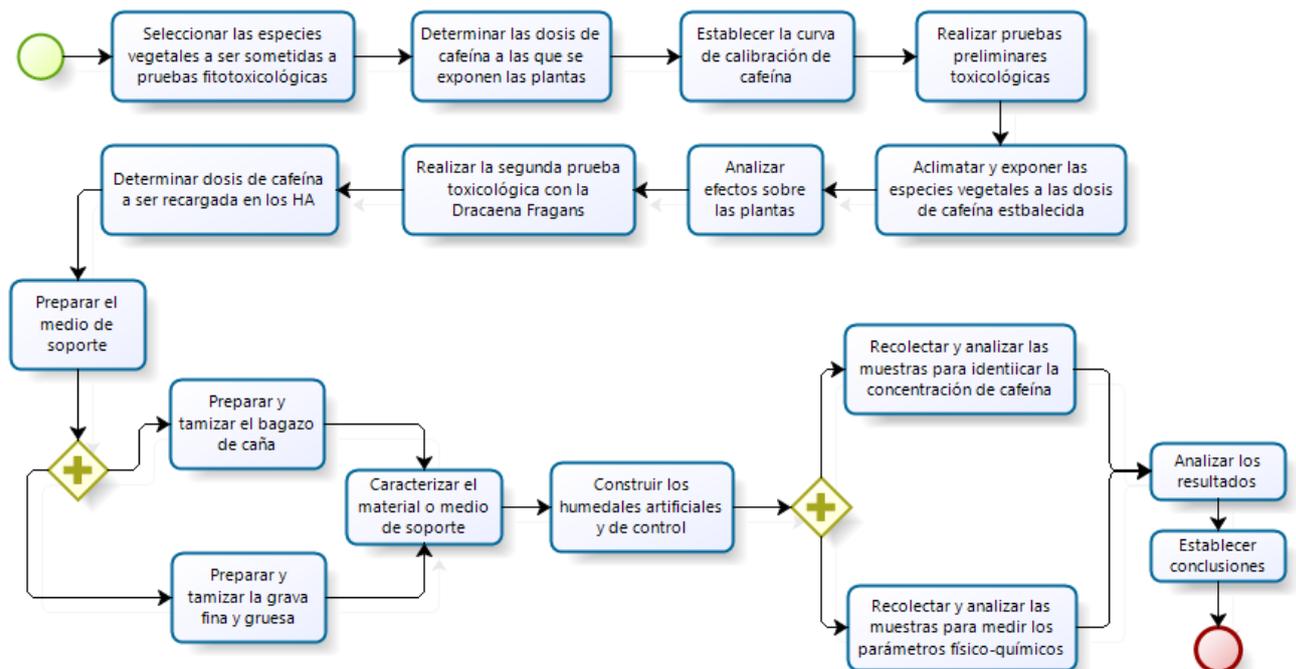




Figura 15. BCA seco llevado al laboratorio

En el laboratorio, se usó el Molino de Martillos de la Marca Karl Korb. Para el ingreso del material a la tolva del equipo, fue necesario recortar el bagazo a tiras de aproximadamente 25 cm, y se procedió a triturar el BCA para reducir su tamaño, gracias al principio de trituración por impacto dado por el múltiple golpeteo de los martillos sobre el producto. En el equipo, el material que se está triturando permanece en la cámara de trituración hasta que se haya alcanzado el grado de finura requerido, para que luego pase a través de la rejilla de descarga (SIEBTECHNIK TEMA B.V., 2020).

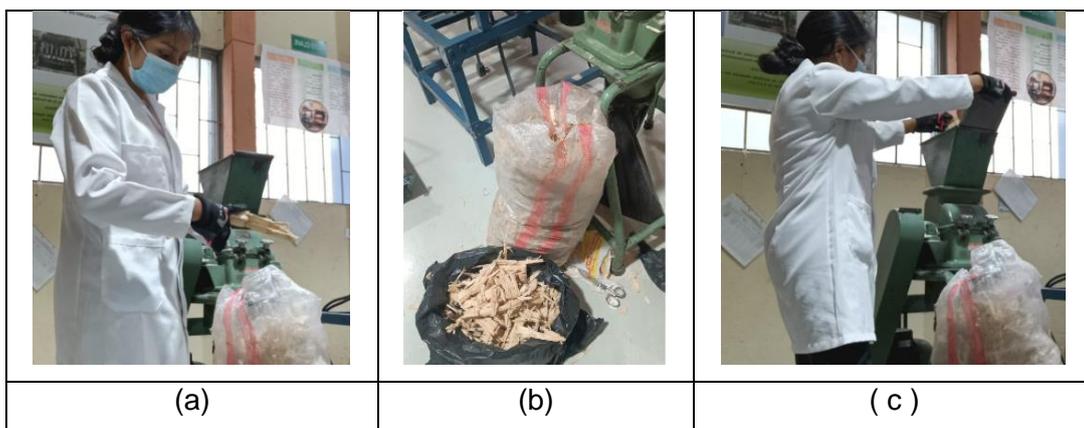


Figura 16. Proceso de Trituración en el Molino de Martillos. (a) Corte en tiras del BCA, (b) Material cortado, (c) Alimentación a la cámara del molino

Para recoger el material triturado se coloca una bolsa plástica en la abertura de descarga y al finalizar la trituración, se obtuvo un tamaño de partícula entre 2 – 7 mm, Figura 17.



Figura 17. Material triturado recogido

2.3.2.1.2. Caracterización del Bagazo de Caña triturado

Luego de triturar el material se realizó una caracterización del tamaño de partícula para determinar la cantidad de material aprovechable para el humedal y la cantidad que deberá eliminarse mediante la granulometría. Esta caracterización se realizó en el Laboratorio de Ensayo de Materiales, Mecánica de Suelos y Rocas (LEMSUR) de la Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental (FICA) de la EPN donde se usó un sistema de tamices impulsada por vibración automática, la tamizadora usada es la Automatic sieve shaker D407 de la marca Controls. En esta se usó los tamices, N°4 (4.75 mm), N°10 (2 mm), N°16 (1.18 mm), N°20 (850 μm), N°30 (600 μm) y la bandeja. Se probó tres tiempos para la vibración, por lo que inicialmente se pesó 40 g del material triturado y se colocó en la torre de tamices para luego ser colocado a una vibración en periodos de 5 min, 10 min y 15 min, realizando el pesaje de cada tamiz y de la bandeja para cada uno de los periodos probados.

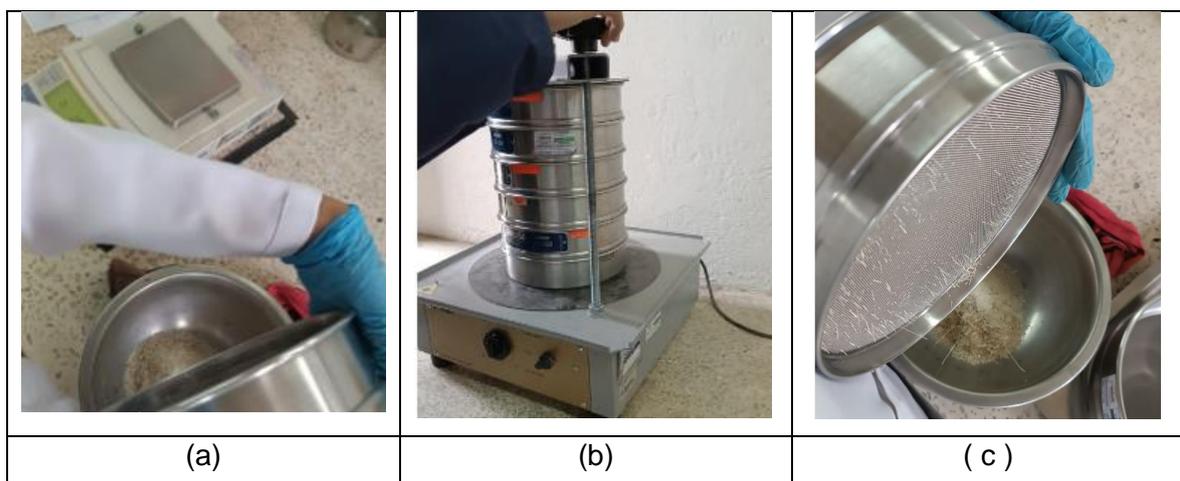


Figura 18. Proceso de granulometría. (a) Pesaje del BCA, (b) Ajuste de la torre de tamices a la vibradora automática, (c) Pesaje de cada tamaño de partícula retenida en cada tamiz.

Al observar que existe mejor distribución del material en los tamices cuando se realizaba la vibración por 15 min, se procedió a realizar el tamizaje por triplicado en este tiempo.

2.3.2.1.3. Tamizado

Como consecuencia al impacto continuo y directo sobre el bagazo, se generó grandes cantidades de polvo que se evidenció en la caracterización del material por la granulometría. Además, debido a su tamaño, estas partículas pueden crear interferencia en la medición de cafeína al ensuciar las muestras de agua por la presencia de sólidos suspendidos. Por lo cual, con un tamiz de metal, de tamaño de poro de 1.5 mm de diámetro, se procedió a retirar el polvo y todo el material sobrante que fue separado se depositó sobre un huerto para que sirva como abono, mientras que el material retenido se recogió en fundas, Figura 19.



Figura 19. Tamizado del material particulado fino. (a) Presencia de material extrafino, y (b) Separación del material mediante tamiz metálico

2.3.2.1.4. Lavado final

Para evitar que el material se degrade rápidamente por el contenido de sacarosa, azúcares invertidos, proteínas residuales remanente en la fibra, se realizó un lavado final. Naturalmente, el almacenamiento de bagazo provoca efectos inevitables de deterioro generando un oscurecimiento de las fibras debido a la actividad de hongos y provocando una prehidrólisis ácida de los materiales celulósicos. Conservar el material en condiciones de humedad representa un sustrato rico en nutrientes para el desarrollo de microorganismos y también para dar paso a varias reacciones simultáneas (Aguilar-Rivera N, 2011).

Por esto, se buscó eliminar el jugo de caña remanente; este jugo tiene un valor normal de pH entre 5.3 y 5.5, por la presencia de ácidos orgánicos como el ácido aconítico; mientras que en otros estudios mencionan que el pH del jugo de caña de una planta madura normal esta entre 4,73 y 5,63 (Cobeña & Loor, 2016; Vega, 2021). Es decir, tiene un carácter ácido que se puede extraer al colocar el bagazo de caña a un proceso continuo de tres hervidos

por 5 minutos con el fin de extraer dicho jugo y obtener finalmente que el agua hervida donde se introduce el BCA con un pH neutro como lo aplica Vargas (2017).

Debido a la gran cantidad de material que se debe lavar y a la disponibilidad de solo una estufa y un recipiente metálico de gran tamaño, se optó por un hervido de 15 minutos removiendo continuamente para asegurar que todo el material sea hervido. Para evidenciar la extracción del jugo se realizó pruebas de pH al agua hervida tomando muestras al inicio (previo a la adición del bagazo), y a los 1, 5, 10 y 15 minutos. Luego, se dejó que se enfríen las muestras y se procedió a la medición con tiras de pH, evidenciando la disminución del pH a uno ácido mientras se deja mayor tiempo a hervir, Figura 20.

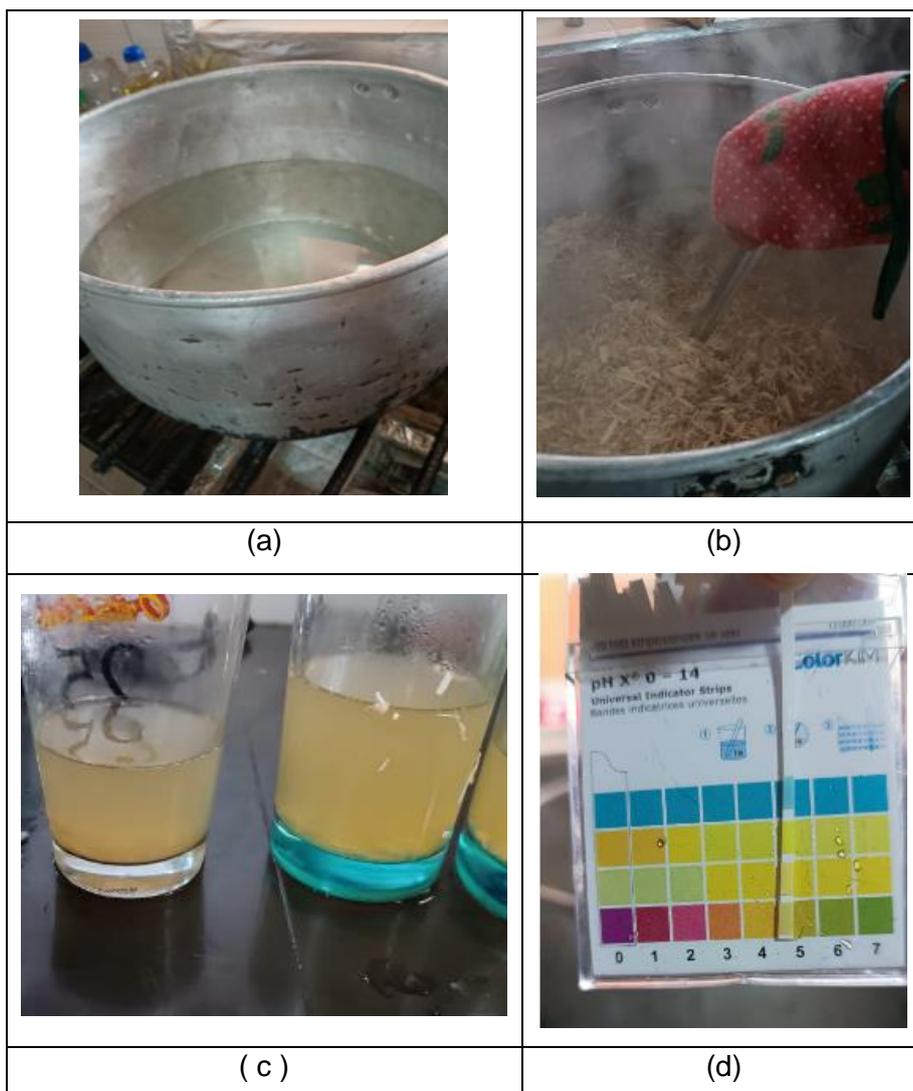


Figura 20. Proceso de eliminación del jugo remanente. (a) Agua inicial antes de colocar el BCA, (b) Movimiento del material en el agua hervida, (c) Muestras de agua obtenidas luego de hervir el material, y (d) Medición del pH.

Después se extendió el bagazo de caña lavado sobre telas y se dejó al sol por alrededor de dos semanas a temperatura ambiente con exposición directa al sol para eliminar la humedad, Figura 21.



Figura 21. Secado al aire libre del BCA tratado con agua hervida

2.3.2.1.5. Secado final

Para eliminar el exceso de agua de la fibra que no se elimina con el secado al aire ambiente (humedad intrínseca), se realizó un secado adicional con 4 estufas, debido a la gran cantidad de material que se debía cubrir para la instalación de los humedales, todos a una temperatura de 105 - 110 °C, por 2 h y 30 minutos (Zamora et al., 2016). Se ocupó las estufas de los laboratorios de la EPN, una del Departamento de Metalúrgia Extractiva (DEMEX) con la estufa de la marca MMM Venticel Std, y tres del LDIA con las estufas de secado de las marcas: POL-EKO Aparatura Serie SLW, Estufa Binder BD115, y el Horno de Laboratorio UM 100 de Memmert. En estas se colocó el BCA sobre bandejas hechas de papel aluminio y se colocó sobre las rejillas de cada estufa, Figura 22.





Figura 22. Secado final del BCA en las cuatro estufas de laboratorio

Al finalizar, se dejó enfriar el material por 20 minutos y se guardó en fundas plásticas para poder ser usadas en la instalación de los humedales.

2.3.2.1.6. Análisis de Propiedades

En el LEMSUR se realizaron pruebas para analizar las propiedades del BCA según normativa. Se determinó la densidad aparente de una muestra suelta según la norma ASTM C29 / INEN 858, donde se llenó el molde a rebose con el BCA con una pala, desde una altura inferior a 50 mm sobre la parte superior del molde, luego se niveló la superficie con alguna varilla o regleta para equilibrar los vacíos mayores en la superficie y por debajo del molde. Se pesó el molde, con y sin el contenido, para determinar la masa del BCA, y finalmente se determinó el volumen del recipiente, Figura 23.



Figura 23. Determinación de densidad aparente de agregados

Para la densidad aparente de una muestra compactada se siguió lo que se establece la norma ASTM C29 / NTE INEN 858, donde se sigue el mismo procedimiento antes descrito con la variabilidad de que, se llenó el molde inicialmente con una tercera parte y con la varilla se compactó el material mediante 25 golpes uniformes, luego se llenó las dos terceras partes y se repitió la compactación; finalmente, se llenó el molde a rebosar y se compactó nuevamente. Para terminar, se niveló la superficie con la varilla equilibrando los vacíos mayores, se pesó el molde, con y sin el contenido, y se determinó el volumen del recipiente.

Para determinar la absorción de agregados se realizó el procedimiento descrito en la norma ASTM C 128 / NTE INEN 856 / ASTM C 127 / NTE INEN 857, donde se dejó la muestra en agua por un período de $24 \text{ h} \pm 4 \text{ h}$ a condiciones de temperatura ambiente, luego se retiró de este medio, y fue colocado sobre un paño absorbente, con el cual se fregó hasta que se elimine toda lámina visible de agua, y finalmente, se procedió a determinar la masa de la muestra de ensayo en condición saturada pero con una superficie aparentemente seca. A continuación, se puso la muestra en el horno a una temperatura de $110 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$, y se dejó que esta se enfriase a temperatura ambiente para luego determinar su masa seca con el pesaje.

2.3.2.2 Preparación de material de soporte

El sustrato usado fue la grava gruesa y una más fina con la que se creó varias capas permitiendo que tanto el bagazo de caña como las plantas tengan un medio de soporte o medio de amortiguación.

2.3.2.2.1. Tamizado y lavado

Se adquirió la grava mezclada de diferentes tamaños de partículas en ferreterías aledañas por facilidad en la adquisición y transporte, y por precio. Se adquirió tres costales del material y se procedió a la separación según tamaño con una malla metálica de 12 mm de abertura. De esta manera se obtuvo la grava gruesa y fina, Figura 24.



Figura 24. Tamizado inicial de la grava

Para eliminar el polvillo que venía en los costales y eliminar cualquier residuo que pudo adquirir en la cantera durante la extracción del material, se lavó el material granular con abundante agua, y finalmente se dejó secar al sol.

2.3.2.2.2. Caracterización por granulometría

- Grava Gruesa

Con el material más grueso que se obtuvo del primer tamizado, se procedió a realizar un análisis granulométrico en el LEMSUR de acuerdo con la norma ASTM C136, ASTM C33. En este análisis se identificó el tamaño máximo nominal de 25 mm, y en base al mismo se escogió los tamices idóneos que fueron 1 ½ in (37.5 mm), 1 in (25 mm), ¾ in (19 mm), ½ in (12.5 mm), 3/8 in (9.5 mm), N° 4 (4.75 mm) y N°8 (2.36 mm), además de la bandeja. Para la selección del material se colocó sobre una bandeja metálica una cantidad de material de grava gruesa y se realizó una mezcla con pala para luego hacer un cuarteo y escoger dos cuartos representativos para ser colocados en la torre de tamices y proceder con el proceso. Finalmente se pesó el material retenido en cada tamiz y la bandeja.

- Grava fina

De la misma manera que con la grava fina se procedió a realizar un análisis granulométrico en el LEMSUR de acuerdo con la norma ASTM C136, ASTM C33. En este análisis se identificó el tamaño máximo nominal de 12.5 mm, y en base al mismo se escogió los tamices idóneos que fueron ¾ in (19 mm), 1/2 in (12.5 mm), 3/8 in (9.5 mm), N°4 (4.75 mm), N°8 (2.36 mm), N°16 (1.18 mm) y N°50 (0.3 mm), además de la bandeja. Para la selección del material se colocó sobre una bandeja una cantidad de material y se realizó una mezcla para luego hacer un cuarteo y escoger dos cuartos representativos para ser colocados en la torre de tamices. Finalmente se pesó el material retenido en cada tamiz y la bandeja.

2.3.1. Fase 2: Instalación de humedales artificiales

2.3.1.1 Preparación de la *Dracaena fragrans*

Se adquirió un nuevo lote de plantas de los viveros de Nayón que fueron llevados al Laboratorio de Hidráulica, se repitió el proceso de acondicionamiento antes descrito en la Fase 1 y se realizó una clasificación de los organismos vegetales a usar. Posteriormente, se realizó el conteo de hojas, y la medición del tamaño de la hoja más grande y pequeña por cada individuo.

Para la selección de las plantas se reunió dos grupos de 4 organismos vegetales que serán usados para cada humedal artificial y se colocó una marca en el tronco de cada especie, Figura 25.



Figura 25. Selección de organismos vegetales y etiquetado

2.3.1.2 Construcción de los humedales

Para realizar el estudio a escala laboratorio las dimensiones de los humedales fueron consideradas en altura, ancho y largo de cada HFVSS en 40, 35 y 52 cm respectivamente, que corresponden a recipientes plásticos de polipropileno. En cada humedal de flujo vertical (HFV), la capa de medio principal (bagazo de caña de azúcar) tenía 15 cm de profundidad, se asentó sobre dos capas de grava, de forma ascendente, primero la grava gruesa (3 cm de profundidad) y seguida de la grava fina (2 cm de profundidad) y, sobre el bagazo, se colocó otra capa de grava fina (2 cm de profundidad) con el fin de que el medio principal no se levante al momento de que el agua ingrese, Figura 26.

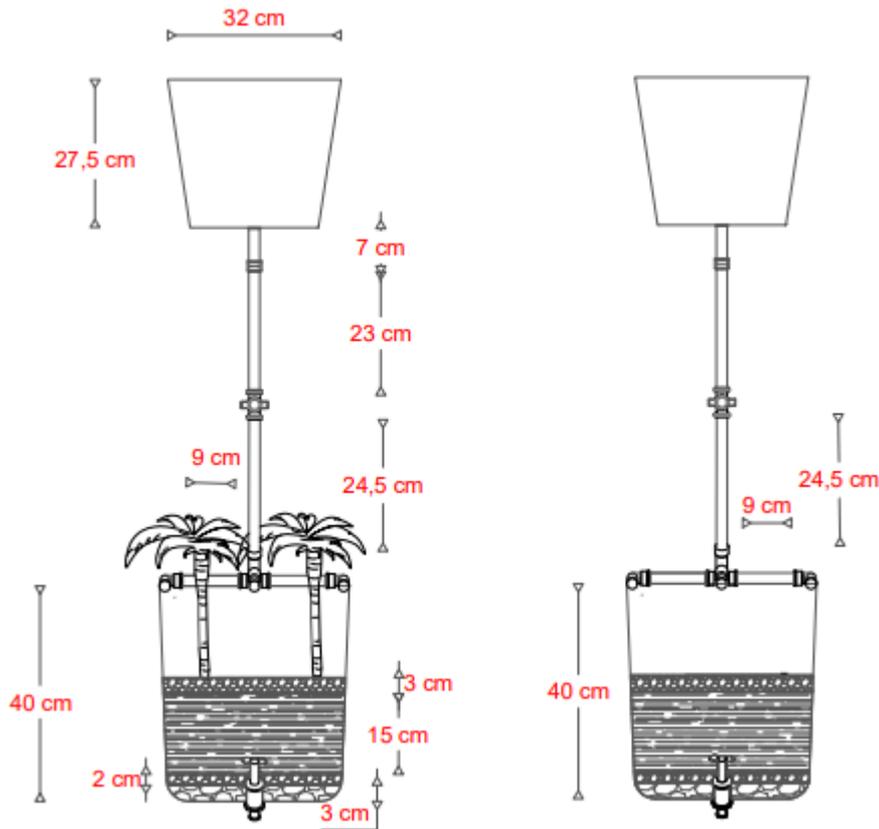


Figura 26. Plano frontal de la instalación de los humedales artificiales y de control

Elaboración: Autora

Los humedales se asentaron sobre palets permitiendo una altura del suelo de 5cm con el fin de facilitar la toma de muestras, y además se consideró una pendiente del 5%, que generó un desnivel y facilitó la salida del efluente.

2.3.1.2.1. Instalación de sistema de alimentación y drenaje, y plantación de especie vegetal

A cada humedal se le adaptó un sistema de alimentación por donde ingresa el agua artificial con la concentración de cafeína determinada. Este sistema consiste en un balde de 16 L apoyado sobre una estructura metálica de 1.2 m de altura con lo que facilita la caída de flujo por acción de la gravedad. Al tanque se añadió un adaptador de tanque en su parte inferior unido a una unión rosca lisa de ½ pulgada, esta se unió a una tubería de pvc de forma horizontal de 23 cm de longitud para unirse a otra tubería de 24.5 cm de longitud mediante una válvula de bola que permite regular el flujo de entrada según la abertura.

En la parte inferior se unirá por un codo de 90° a una tubería vertical de 18 cm de longitud que a su vez se une a una cruz de 20 mm, de esta se extienden dos tuberías laterales de 9 cm de longitud a cada lado que tienen en sus extremos codos de 90° para finalmente unir a las tuberías horizontales de 52.5 cm de longitud que tienen en sus extremos tapones

hembra. Esta tubería final se encuentra perforada por 5 orificios en cada una de las tres tuberías horizontales con el fin de que la alimentación del humedal sea por goteo, por lo cual, el diámetro de los orificios es de aproximadamente 1-1.5 mm y tienen una separación de 10 cm, siendo la inicial de 8 cm.

Para la salida de la solución, se empleó otro adaptador de tanque y una llave plástica para facilitar la recolección de la muestra a analizar. El sistema se muestra en la Figura 27.

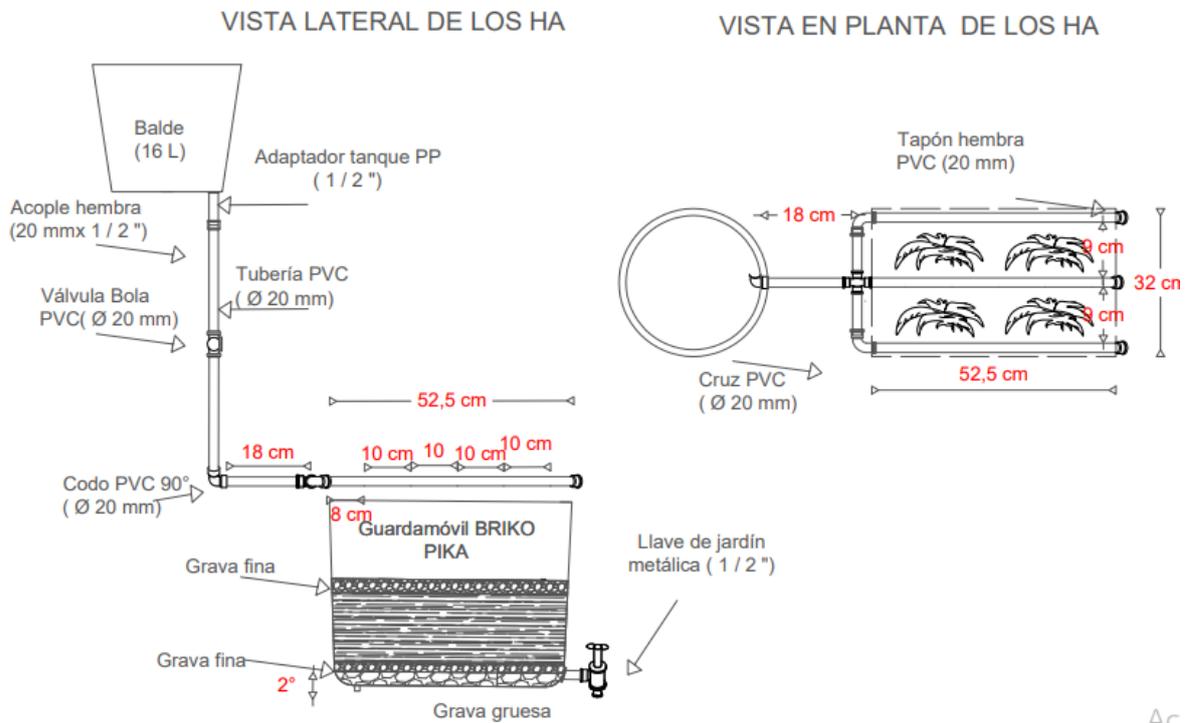


Figura 27. Sistema de alimentación y drenaje

Elaboración: Autora

En los HFVSS se plantan los troncos de agua a una densidad de 23 plantas/m², que está dentro del rango usado en otros estudios (Fan et al., 2021; Guan et al., 2015; Zhang et al., 2016); entonces, con una superficie de 0.168 m² se añadieron 4 troncos a cada humedal, 8 en total, y se omitieron en los humedales de control para que cumplan su propósito.

2.3.2. Fase 3: Realización de Pruebas y Análisis de Resultados

2.3.2.1 Tipo de reactor a simular

En el estudio de los HFVSS se realizan simulando reactores batch, es decir, donde se recarga el agua sintética por un tiempo establecido según el volumen y caudal, y luego se hace el drenaje a través del sistema de drenaje.

La solución de cafeína dosificada fue dispuesta inicialmente a partir de la preparación de 52 L de agua envejecida, que se dejó previamente durante una semana al sol, para añadir

la masa de cafeína respectiva de 1.62 g y luego se procedió con la agitación mediante un palo de madera hasta evidenciar que se haya disuelto por completo el reactivo, Figura 28.



Figura 28. Recipiente donde se preparada la dosis de cafeína a ser alimentada a los HA

2.3.2.2 Variación de caudales y tiempos de retención (TR)

Inicialmente se recargó los 4 humedales HFVSS, dos que poseen la *Dracaena Fragrans* (J1 y J2) y dos que corresponden a los humedales de control en ausencia de esta (J3 y J4), con 15 L del agua sintética con la dosis de 30 mg. L⁻¹ de cafeína pura a un caudal de 0.003 L/s a cada uno. Sin embargo, a partir de siguiente semana se recargó con 12 L, ya que, al ser un humedal de flujo subsuperficial, la altura de agua debe ser inferior a la última capa de grava fina superior, pero debido a la saturación del medio fue necesario reducir el volumen de recarga para que el agua no sobrepase la barrera de las capas de grava.

Por otro lado, al inicio del estudio se determinó los tiempos de retención de 1 día, 4 días y 7 días que fueron probados la primera semana (Li et al., 2017; Singh & Vaishya, 2022). Sin embargo, se presentaron dificultades en la lectura de las absorbancias en el Espectrofotómetro UV-VIS debido a la expulsión de color de parte de los humedales y generando interferencias, por lo cual, fue necesario una reestructuración a otros TR de 1h y 24 h, que son tiempos probados en otros estudios (Li et al., 2017; Na-Ayuthaya et al., 2022; Phuong et al., 2022; Sekarjannah et al., 2023; Travaini-Lima & Sipaúba-Tavares, 2012), y se realizó las recargas de los humedales dos veces a la semana, los martes y viernes.

2.3.2.3 Monitoreo de eficiencia en remoción de cafeína

Se realizó entonces un monitoreo de 9 semanas en donde se midió la concentración de cafeína luego de cada tiempo de retención (TR) establecido. Es decir, a la semana se

cogen muestras de los humedales en cuatro días; los martes con 1 h de TR y los miércoles transcurridos las 24 h; y nuevamente, los viernes luego de transcurrir 1h y los sábados, después de las 24 h de la recarga.

Para el análisis de las muestras en el Laboratorio de Termodinámica de la EPN previas a medir la cafeína en el Espectrofotómetro UV-VIS, las muestras fueron centrifugadas a 15000 rpm por 10 minutos para reducir las interferencias por presencia de sólidos suspendidos en la centrifugadora Super Speed Centrifuge, de la marca Hermle.

2.3.2.1 Monitoreo de parámetros físicos y químicos

Los parámetros físicos, sólidos suspendidos y turbiedad, y el parámetro químico, DQO, fueron analizados cada 15 días en el LDIA para determinar el comportamiento de los humedales a medida que se realizaban las continuas recargas y descargas.

El parámetro químico DBO fue analizado cada cuatro semanas en el Centro de Investigación y Control Ambiental (CICAM) de la EPN para determinar el comportamiento del humedal con respecto a la materia orgánica biodegradable de manera mensual. Los métodos aplicados para cada parámetro se detallan en Tabla 3.

Tabla 3. Tabla de los ensayos seguidos para el monitoreo de los parámetros

<i>Parámetros Físicoquímicos</i>	<i>Ensayo (Standard Methods)</i>	<i>Procedimiento</i>
Turbidez	2130 B Nephelometric Method	Se usó un turbidímetro calibrado, en donde se colocó 10 ml de las muestras previamente homogenizadas en dos celdas y se midió.
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	2450 D Total Suspended Solids Dried at 103-105 °C	Se empleó el equipo de filtración Kitasato y filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro. Se realizó la tara de las capsulas y filtros en la estufa a 105°C por 24 h, luego se filtró 50 ml de muestra homogenizada y se envió nuevamente a la estufa por 24 h, y finalmente se hizo el pesaje de la cápsula con el filtro.
DQO	5220 D Close Reflux Calorimetric Method	Se usaron viales de rango alto de DQO que contiene dicromato de potasio y ácido sulfúrico. Se añadió 2 ml de la muestra en cada vial y se puso en el digestor por 2h a 150°C.

DBO	5210 D Respirometric Method	Con el dato de la DQO se estableció la cantidad de muestra necesaria y se agregó al equipo OxiTop añadiendo un agitador magnético, el inóculo con bacterias y el inhibidor de nitrificación. Luego se colocó el capuchón con las pastillas de hidróxido de sodio y se cerró las botellas con el cabezal que contiene el manómetro. Se llevó las botellas a una base magnética en una incubadora a temperatura constante y se dejó por cinco días de lectura.
-----	-----------------------------------	--

2.3.2.2 Análisis de resultados

Se establece la eficiencia en la remoción de la cafeína y otros parámetros físicos y químicos al obtener el porcentaje de eliminación de estos en las muestras analizadas con el fin de determinar la capacidad de los HFVSS que usan el bagazo de caña como medio de soporte para retener a los contaminantes comunes y al contaminante emergente. Además, se realizará una comparación entre los porcentajes de remoción de los humedales que tienen la presencia de la *Dracaena Fragrans* y de los humedales de control, para resaltar la influencia de la especie vegetal.

Se hace un análisis estadístico para determinar la influencia de la especie vegetal y el TR en la depuración del CE a través el uso de los softwares ORIGINPRO (Analysis y Graphin) y Microsoft Excel, junto al complemento XRealStats. Mediante estos se determinó las diferencias estadísticas significativas entre el valor de las medias del grupo de datos de eficiencias de remoción para cada HA y así se estableció influencia en la especie vegetal y el TR. Inicialmente, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk con un nivel de significancia del 95% ($p=0.05$) para verificar la normalidad de los datos. Posteriormente, se determinó la existencia de diferencias significativas entre los HA mediante la aplicación de la prueba *t de student* con un nivel de significancia del 95%, si los datos eran paramétricos, o por su parte, la prueba *U de Mann-Whitney* con un nivel de significancia del 95%, si los datos son no paramétricos. Este análisis permitirá determinar que humedales fueron más eficientes y qué porcentajes.

3. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1. Pruebas preliminares

3.1.1. Selección del área para pruebas

Los tres sitios presentaron las condiciones presentadas en la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones ambientales de tres áreas del laboratorio de Hidráulica

	SITIO 1		SITIO 2		SITIO 3	
MAÑANA						
<i>Fecha</i>	Temp (°C)	HR (%)	Temp (°C)	HR (%)	Temp (°C)	HR (%)
3/7/2023	20	53	21	51	20	52
5/7/2023	20	54	21	53	21	53
7/7/2023	20	51	20	51	20	51
Promedio	20.0	52.7	20.7	51.7	20.3	52.0
TARDE						
<i>Fecha</i>	Temp (°C)	HR (%)	Temp (°C)	HR (%)	Temp (°C)	HR (%)
3/7/2023	22	55	22	55	22	54
5/7/2023	20	55	20	56	20	56
7/7/2023	22	43	22	48	22	49
Promedio	21.3	51.0	21.3	53.0	21.3	53.0

Como se observa en la Tabla 4, en la tarde se presenta un ligero incremento en las condiciones ambientales, esto se debe principalmente a que hay presencia de luz solar que ingresa por las ventanas laterales al lado izquierdo del laboratorio, mientras que en la mañana no hay mucha exposición ya que existe un edificio contiguo que evita el ingreso de los rayos solares directos. Entre los tres sitios, el sitio 2 conserva una menor variación de temperatura en ambas jornadas, por lo que se mantiene a una temperatura casi constante. En cuanto a la humedad, todos los sitios presentan una humedad similar y con variaciones de 1% en ambas jornadas, por tanto, los sitios mantienen condiciones ambientales similares.

Dado el espacio necesario, la poca variación en humedad y una temperatura constante, se considera que el Sitio 2 es la mejor opción para ubicar los HA y realizar las pruebas preliminares toxicológicas pues coinciden con las condiciones idóneas en las que se desarrollan las especies vegetales que se mostraron en la Tabla 1.

3.1.2. Curva de Calibración de Cafeína

Se determinó la curva de calibración a partir de las dosis de cafeína preparadas y las absorbancias medidas en el equipo Espectrofotómetro de Fluorescencia y Absorbancia,

marca Duetta, UV-VIS-NIR, que se presentan en la Tabla 5, a partir de esta se creó la Figura 29 para determinar la tendencia lineal.

Tabla 5. Absorbancias de las concentraciones de cafeína

Absorbancia	C (mg. L ⁻¹)
0.01213	0.5
0.05735	1
0.1467	2
0.21919	5
0.4668	10
1.1775	25
2.2523	50

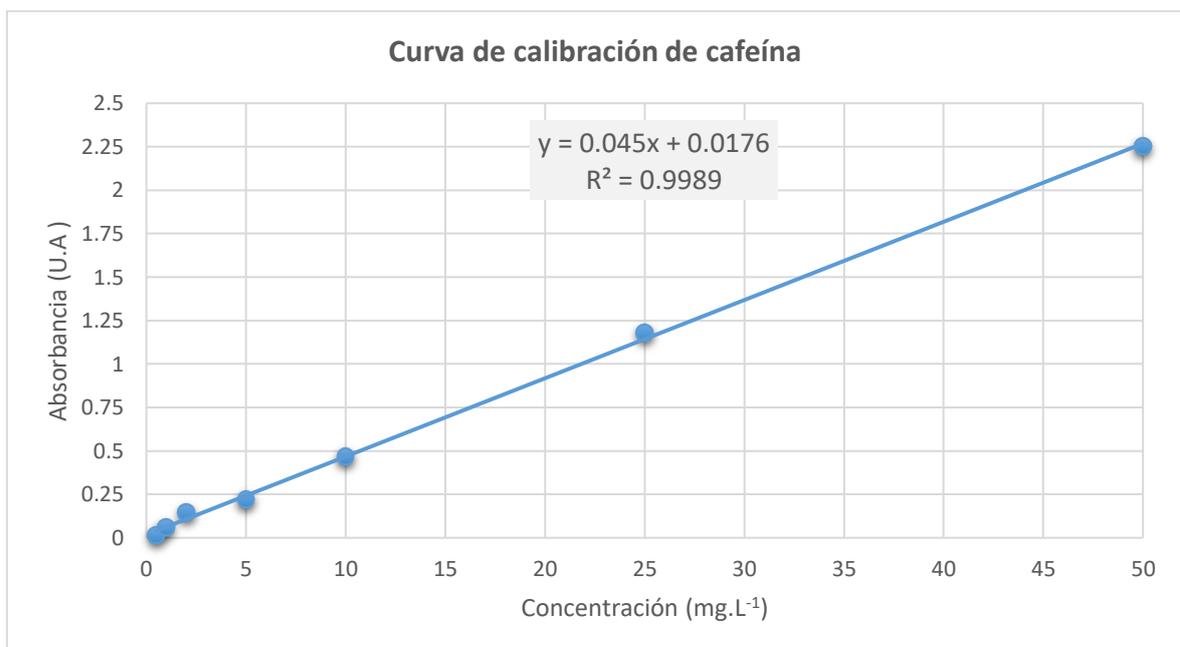


Figura 29. Absorbancia vs concentración de Cafeína (mg. L⁻¹)

Como se ve en la Figura 29, se determinó la línea de tendencia lineal del conjunto de datos con el fin de identificar la ecuación que relacione ambas variables. Asimismo, el coeficiente de correlación lineal (R^2) es de 0.9989, y mientras más se acerque a 1, mayor es la fuerza de la asociación entre las variables independiente (concentración) y dependiente (absorbancia) (Dagnino, 2014). Por lo tanto, se obtiene la Ecuación 1.

$$y = 0.045 x + 0.0176 \quad (1)$$

Ecuación 1. Relación lineal de las variables

A partir de esta se determina la relación entre absorbancia y concentración.

$$\text{Absorbancia} = 0.045 * \text{Concentración (mg.L}^{-1}\text{)} + 0.0176 \quad (2)$$

De (2) se obtiene la ecuación para la determinación de las concentraciones de cafeína presentes en el humedal dependiendo del tiempo de retención probado.

3.1.3. Pruebas fitotoxicológicas

3.1.3.1 Efectos sobre el bambú de la suerte (*Dracaena reflexa*)

Los 18 individuos que fueron expuestos a las concentraciones de cafeína en 0 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm. Tras una semana de exposición, se cogieron muestras, sin embargo, no fue posible la detección de cafeína pues el agua estaba muy turbia y blanquecina. Luego de este período se observó la formación de una capa de aspecto gelatinoso de color blanco en la parte superficial del agua que se presume corresponde a una capa de biofilm (Figura 30), la cual podrían ser hongos o bacterias pero que no se analizaron biológicamente para su distinción. Esta capa de biopelícula podría provocar problemas futuros, pues su presencia puede ser responsable de una amplia gama de problemas de calidad del agua como el aumento de los niveles bacterianos, la reducción del oxígeno disuelto, los cambios de sabor y olor, etc. La biopelícula también crea el ambiente necesario para la aparición de más algas y especies invasoras (LeChevallier, 1999).



Figura 30. Formación de biofilm en el bambú de agua

3.1.3.2 Efectos sobre la mala madre (*Chlorophytum comosum*)

De la misma manera como en la *Dracaena reflexa*, los 18 individuos de la especie de mala madre presentaron la formación de una capa de aspecto gelatinoso de color blanco en la parte superficial del agua podría corresponder a una capa de biopelícula, Figura 31. Tras una semana de exposición, se tomaron muestras, sin embargo, tampoco fue posible la

detección de cafeína pues el agua estaba muy turbia y blanquecina, lo que alteraba las muestras.



Figura 31. Formación de biofilm en la mala madre

3.1.3.3 Efectos sobre el tronco de agua (*Dracaena Fragrans*)

3.1.3.3.1. Primera Prueba

Por su parte, la *Dracaena Fragrans* no presentó la formación de biofilm en la superficie de agua de los 18 individuos (dosis de cafeína por triplicado) que fueron expuestos.

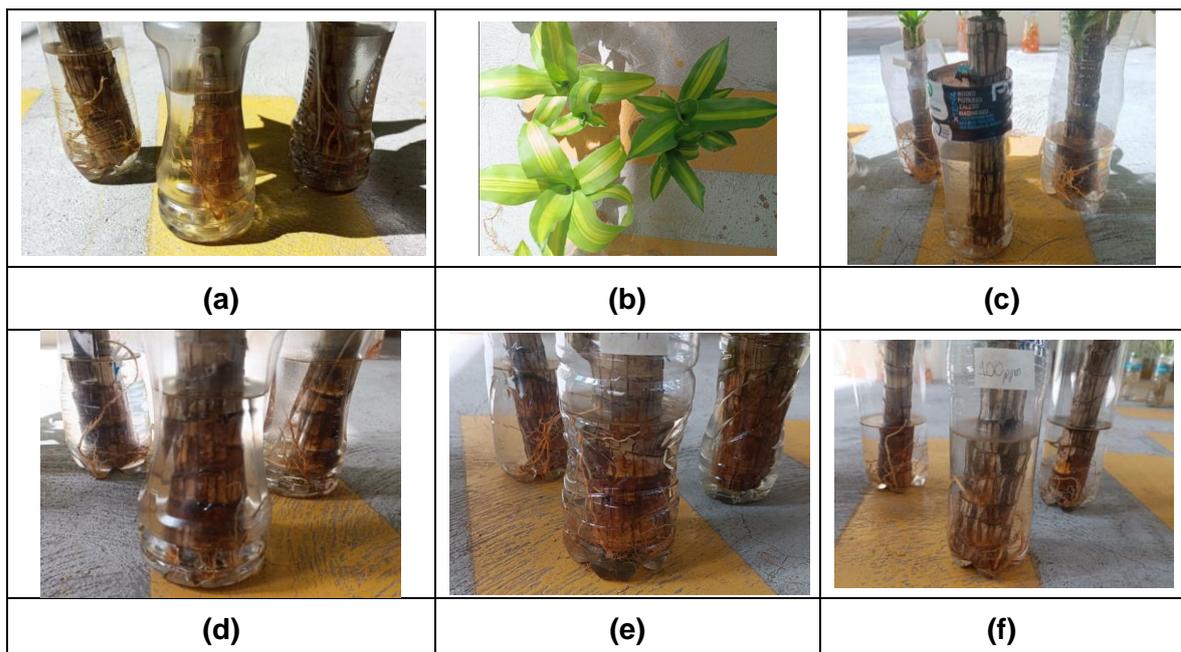


Figura 32. Superficie del agua sobre la que están las *Dracaena Fragrans* para (a) 0 ppm, (b) 10 ppm, (c) 25 ppm, (d) 50 ppm, (e) 75 ppm y (f) 100 (ppm)

3.1.3.3.2. Segunda Prueba

En la segunda prueba fitotoxicológica se consideró usar únicamente la *Dracaena fragrans* dada su resistencia a las condiciones expuestas en el acondicionamiento y al ambiente del

laboratorio, pero se modificó las dosis de cafeína a las que fueron expuestas, estas fueron: 0 mg. L⁻¹, 5 mg. L⁻¹, 10 mg. L⁻¹, 25 mg. L⁻¹ y 50 mg. L⁻¹ únicamente ya que las concentraciones finales luego de ser expuestas a 75 mg. L⁻¹ y 100 mg. L⁻¹ no fueron detectables en la primera prueba. Por consiguiente, se adquirió 17 nuevos individuos que fueron acondicionados al ambiente del laboratorio de hidráulica según se mencionó en la metodología. Se midió el tamaño de la raíz mayor y menor, así como el de la hoja más grande y pequeña, valores que se detallan en el ANEXO II.

Dadas las concentraciones, se seleccionó los 15 mejores individuos que compartan características similares para realizar la prueba por triplicado para cada dosis, por lo que fueron agrupados según se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Agrupación de especies vegetales por dosis de cafeína a exposición

DOSIS	ESPECIE VEGETAL		
Blanco	1C	4B	5B
5 mg/L	2B	2A	4A
10 mg/L	5C	1A	3B
25 mg/L	6B	3C	4C
50 mg/L	6C	1B	5A

Luego de una semana de exposición (del 23/03/2024 al 30/03/2024) a las dosis de cafeína, se identifica los efectos sobre el tamaño de las estructuras de la planta. Los mismos se presentan en la Tabla 22 y Tabla 23, en ANEXO III. A partir de las tablas anteriores se determina la media de la variación de tamaños para cada concentración de cafeína expuesta que se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. Crecimiento de estructuras de la *Dracaena fragrans*

Cl (ppm)	Crecimiento de raíz				Crecimiento de las hojas			
	Pequeña (cm)	Grande (cm)	PROMEDIO	Desv. Esta (±)	Pequeña (cm)	Grande (cm)	PROMEDIO	Desv. Esta (±)
0	0.600	1.000	0.800	0.283	1.267	0.933	1.100	0.236
5	0.300	0.500	0.400	0.141	1.433	0.600	1.017	0.589
10	0.300	0.600	0.450	0.212	1.567	0.633	1.100	0.660
25	0.767	0.933	0.850	0.118	1.667	0.467	1.067	0.849
50	0.667	0.767	0.717	0.071	1.800	1.200	1.500	0.424

A partir de Tabla 7, se realiza los gráficos comparativos para una mejor visualización de los crecimientos. Como se puede ver en la Figura 33, existe mayor crecimiento en la raíz grande en todas las dosis, sin embargo, es mayor cuando no existe exposición (0 ppm), lo que muestra que existe un impacto sobre las raíces grandes. Por otro lado, en la raíz

pequeña existe un mayor crecimiento cuando estuvo expuesta a 25 ppm lo que muestra que sirvió como un estimulante para la raíz más pequeña. En promedio, se observa que a 25 ppm de cafeína las raíces presentaron un mayor crecimiento que los de control (0.05 cm) mientras que hubo una inhibición del crecimiento en las demás concentraciones, esto coincide con lo que muestra Batish et al. (2008) en su estudio con el *Phaseolus aureus* donde a pesar de que el enraizamiento no se vio afectado por concentraciones de cafeína menores a 1000 μM , si hubo un descenso en el número y longitud de las raíces, y a la exposición a 1000 μM hubo un decrecimiento del 68% en el número de raíces y de 80% en el largo de las mismo.

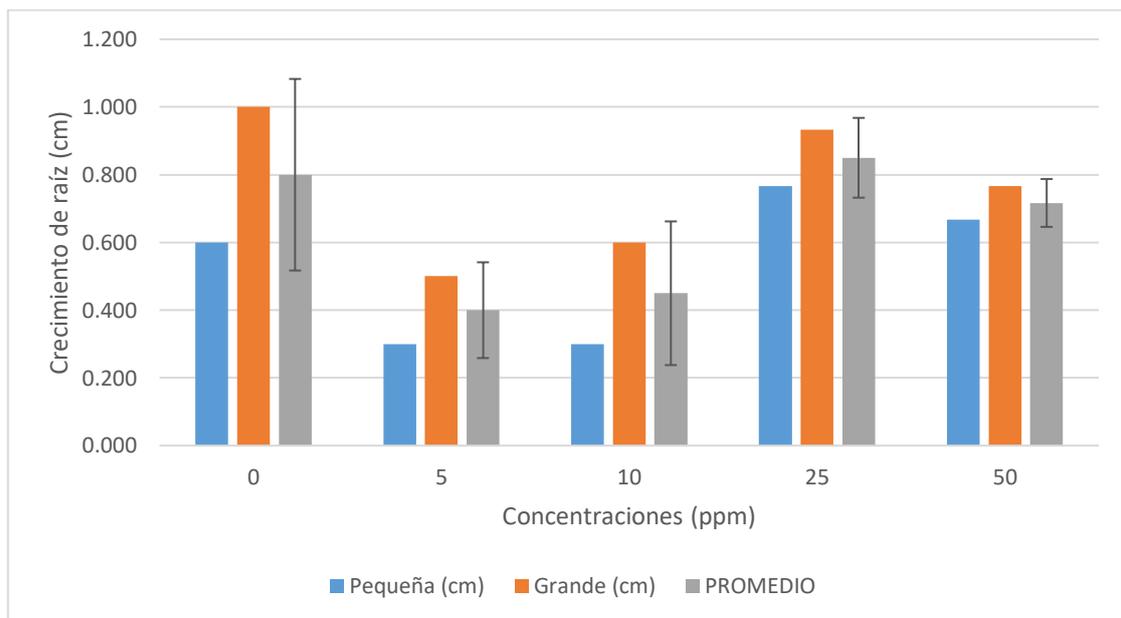


Figura 33. Comparativa del crecimiento de raíces según dosis de cafeína expuesta

Por otro lado, como se observa en la Figura 34, el crecimiento de las hojas para cada dosis de cafeína, excepto con 50 ppm, no dista mucho del crecimiento normal presentado en el en las muestras de control, por lo que, en base a estas pruebas no se puede afirmar con certeza que existe una inhibición o estimulación en el crecimiento de las hojas de la planta.

Es importante mencionar que a pesar de que a 50 ppm hubo un mayor crecimiento de las hojas, grande y pequeña, en comparación con el control, no se puede afirmar que a esta concentración la planta la acepte como fertilizante o estimulante pues en otros estudios se ha mostrado que, si una determinada cantidad de cafeína impulsa el crecimiento de la planta, esto podría ocurrir solo durante un tiempo específico y luego continuar con el retardo por lo que no es determinante (Diaz, 2021). En su lugar, si se toma en cuenta las demás concentraciones se puede observar que no difiere mucho de la muestra de control. Se

puede destacar que la hoja pequeña presentó una tendencia de mayor crecimiento a comparación de la hoja grande.

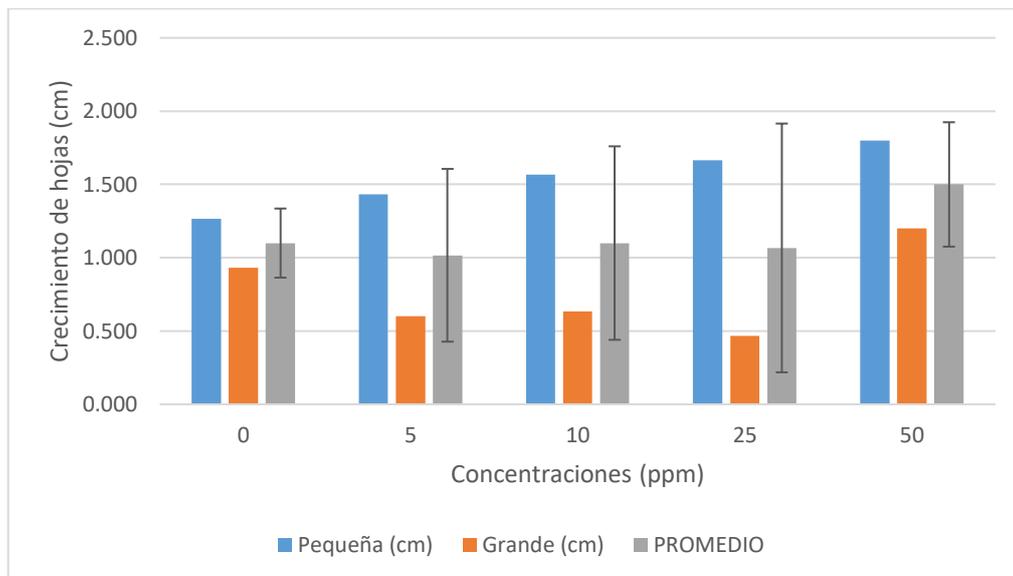


Figura 34. Comparativa del crecimiento de hojas según dosis de cafeína expuesta

Por su parte la cafeína puede fomentar ambos comportamientos en las plantas. Por ejemplo, en un estudio con té vietnamita (*Camellia sinensis* L. Kuntze), se encontró que la cafeína inhibe el crecimiento de la radícula de plántulas de lechuga en un 50% a una concentración de 0.12 mg de hojas secas por ml de agar (Pham et al., 2019); mientras que en otro estudio se mostró que la cafeína promovió el crecimiento de las plantas al mejorar los compuestos antioxidantes luego de una aplicación foliar sobre la *Spinacia oleracea* L (Emanuil et al., 2022). Por tanto, hay que considerar que hay varios estudios que han investigado los efectos de la cafeína en el crecimiento de las plantas, pero hay varios que han tenido resultados contradictorios, esto podría haber sucedido debido a diferentes concentraciones de cafeína, diferentes tipos de plantas y diferentes tipos de mediciones que provocan variables que influyen en el comportamiento (Ferguson, 2015).

3.1.4. Remoción de cafeína en la segunda prueba toxicológica con la *Dracaena fragrans*

Por su parte, las eficiencias de remoción durante los 4 días fueron los siguientes que se presentan en el ANEXO IV. A partir de este se presenta los promedios con sus desviaciones estándar en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración promedio durante prueba toxicológica con la *Dracaena fragrans*

	Día 1	Día 2		Día 3		Día 4		Día 5		Remoción total
CI	C (ppm)	C (ppm)	S (±)	C(ppm)	S (±)	C(ppm)	S (±)	C(ppm)	S (±)	
5 ppm	4.797	4.633	0.074	4.364	0.183	1.695	0.906	0.683	1.118	86%
10 ppm	10.784	10.272	0.265	9.485	0.888	8.253	1.196	6.904	1.966	36%
25 ppm	25.763	25.541	0.151	25.009	0.155	21.896	1.814	18.597	3.225	28%
50 ppm	49.615	49.206	0.170	49.050	0.125	46.661	1.027	44.393	1.928	11%

C (Concentración)

S (Desviación estándar)

A partir de la tabla se construye la gráfica presentada en la **Figura 35**.

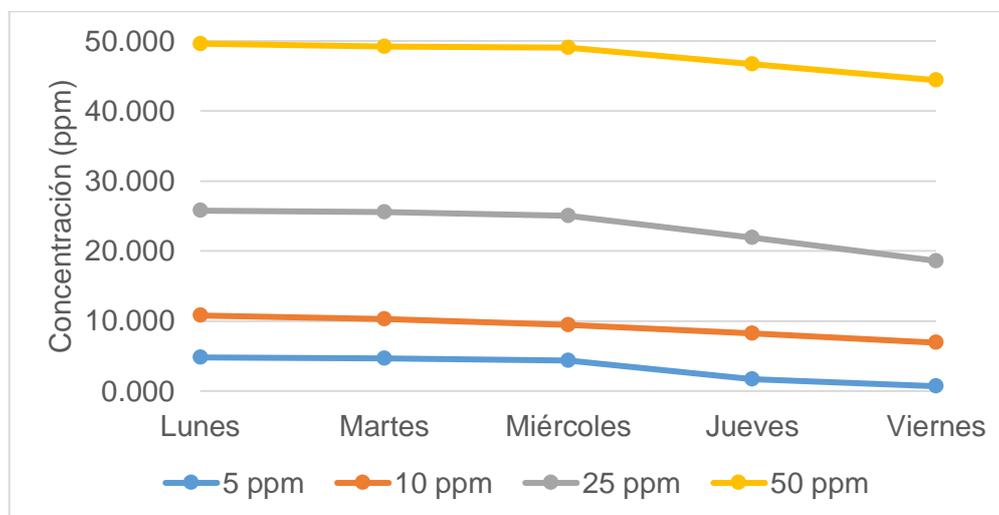


Figura 35. Concentración de cafeína durante la exposición sobre la *Dracaena fragrans*

Como se observa en Figura 35, durante la semana de exposición a las distintas concentraciones de cafeína hubo una remoción constante, y a partir del día 4 hubo mayor remoción para todas las dosis expuestas. Además, si se compara con la cantidad de contaminante removido diariamente se puede mostrar una tendencia que se muestra en la Figura 36.

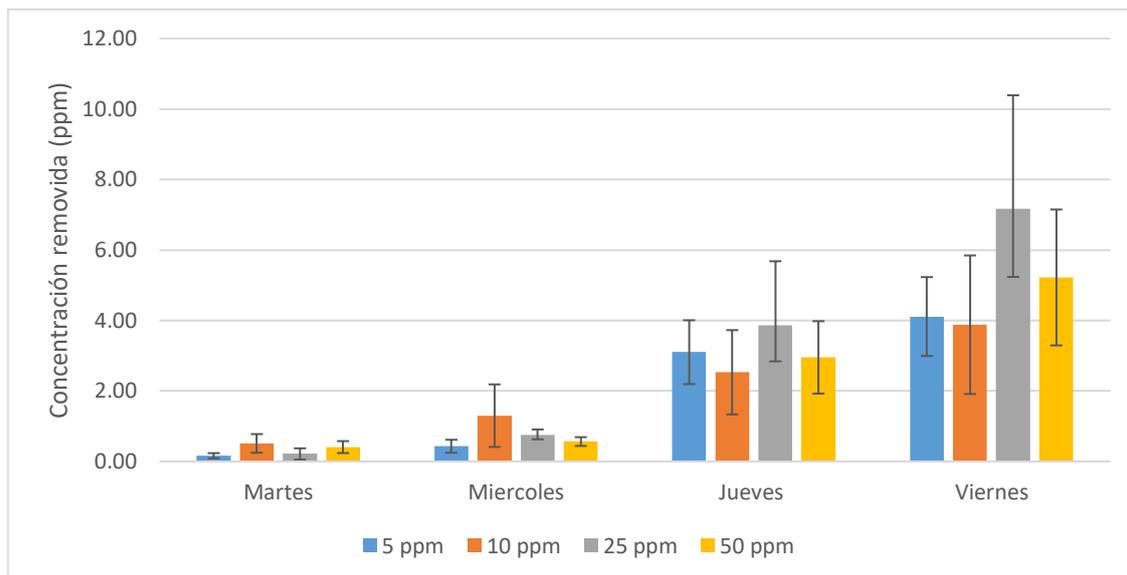


Figura 36. Cantidad de cafeína removida diariamente para cada concentración expuesta

Según la Figura 36, hubo mayor remoción los últimos días de la prueba, siendo la concentración de 25 ppm la que fue mayormente removida por la *Dracaena fragrans* el día 5. Sin embargo, a nivel general hubo una mayor remoción (86 %) a una concentración de 5 ppm, por lo que, existe una buena adaptación de la especie vegetal a la cafeína cuando las dosis son pequeñas.

Por tanto, se considera que, al atravesar el humedal artificial, habrá una remoción de cafeína por parte de la planta y también por el medio de soporte, ya que influye en la remoción de contaminantes mediante los mecanismos fisicoquímicos de adsorción y desorción que se dan en este, por lo que disminuiría su concentración (Merina, 2017).

Entonces, para que el equipo Espectrofotómetro UV-VIS sea capaz de detectar las absorbancias durante el monitoreo de los humedales se tomará en cuenta una concentración superior, de 30 ppm, que según las pruebas toxicológicas será removido en un rango de 11 – 28% por acción del organismo vegetal.

3.1.5. Resultados de la caracterización del bagazo de caña

Bajo la normativa especificada en la metodología se determinó que el bagazo de caña presenta una capacidad de absorción de agua de 576.03%; una densidad aparente de muestra suelta en 40 kg/m³ y densidad aparente de muestra compacta de 70 kg/m³.

Se colocó bagazo de caña en los humedales artificiales en un volumen de 0.0252 m³ (0.525 m x 0.32 m x 0.15 m), por lo que, considerando su densidad aparente de muestra suelta, corresponde a una masa de 1.008 kg para cada humedal artificial.

3.1.6. Caracterización del medio granulado

3.1.6.1 Grava gruesa

Siguiendo la normativa antes mencionada se establece la granulometría de la grava gruesa donde se muestra que existe una tendencia creciente a medida que aumenta la abertura del tamiz, por lo que el tamaño de partícula se concentra en los tamices de mayor tamaño, superior a ½ in (12.2 mm) como se muestra en la Figura 37.



Figura 37. Curva granulométrica para la grava gruesa

Además, para determinar visualmente la cantidad de material que se retiene en cada tamiz, se presenta Figura 38, donde se evidencia que el material presenta mayormente partículas de un tamaño superior al 12.5 mm, por lo que se usó como base este tamaño para considerar al material que servirá para colocarlo en los HA como material grueso y capa inicial, que coincide con el rango de diámetro de grava gruesa usado en el estudio de Fan et al. (2021).

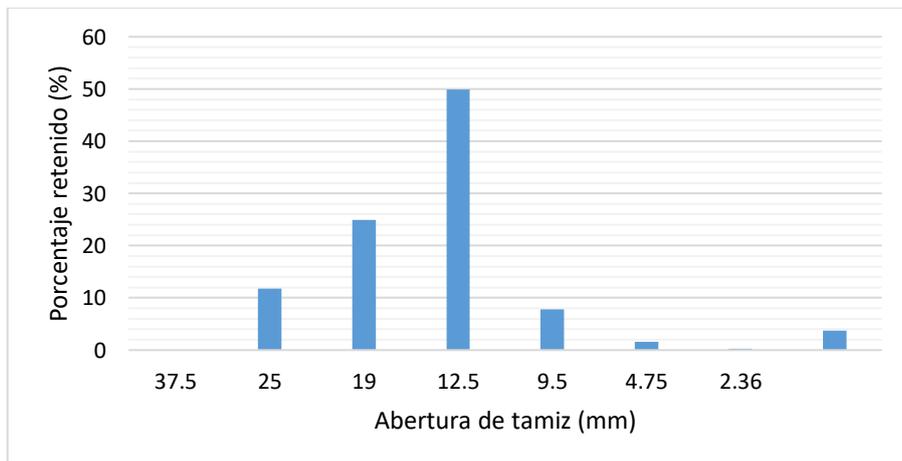


Figura 38. Porcentaje de grava gruesa retenida en cada tamiz

3.1.6.2 Grava fina

Para la grava fina se determinó el porcentaje de material que pasó por cada tamiz según se presenta en ANEXO V. a partir de este se creó el gráfico que determina el porcentaje de material retenido en cada tamiz según se presenta en Figura 39. Se muestra en este que el material fino representa principalmente a las partículas de diámetro inferior a 12.5 mm, siendo el de 4.75 mm el mayoritario. Por tanto, se considera utilizar como grava fina a las partículas con diámetro inferior a 12.5 mm y ser la segunda capa en los HA, que coincide con lo usado por Fan et al. (2021).

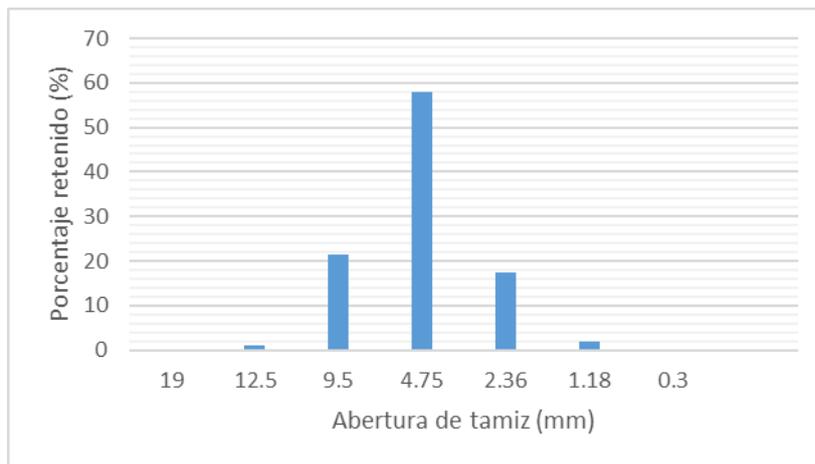


Figura 39. Porcentaje de grava fina retenida en cada tamiz

3.1.7. Resultados del monitoreo de la concentración de cafeína

3.1.7.1 Concentraciones durante las semanas de monitoreo

Considerando que durante una sola semana se realizaba dos recargas a los humedales, durante una semana existen dos concentraciones iniciales y dos mediciones de tiempos de retención para 1 hora y 24 horas. Por tanto, se tiene los resultados mostrados por fechas se presentan en el ANEXO VI. A partir de este, se presenta un resumen de los 18 datos obtenidos durante el monitoreo según el tiempo de retención y la diferenciación en la configuración de los HA con presencia de plantas y los humedales de control en el ANEXO VII.

Se crean gráficas para cada TR, en donde la Figura 40, muestra la variación de las concentraciones para cada HA cuando el TR es de 1H, como se puede observar se presenta semejanza en las tendencias entre J1 y J2, y entre J3 y J4, lo que muestra la similitud de condiciones al ser HA con plantas y sin plantas, respectivamente. Sin embargo,

se muestra mayor variación durante la semana 3 y semana 4 entre el J1 y J2. Por lo que tras un mes de monitoreo los HA con plantas presentaron diferencias.

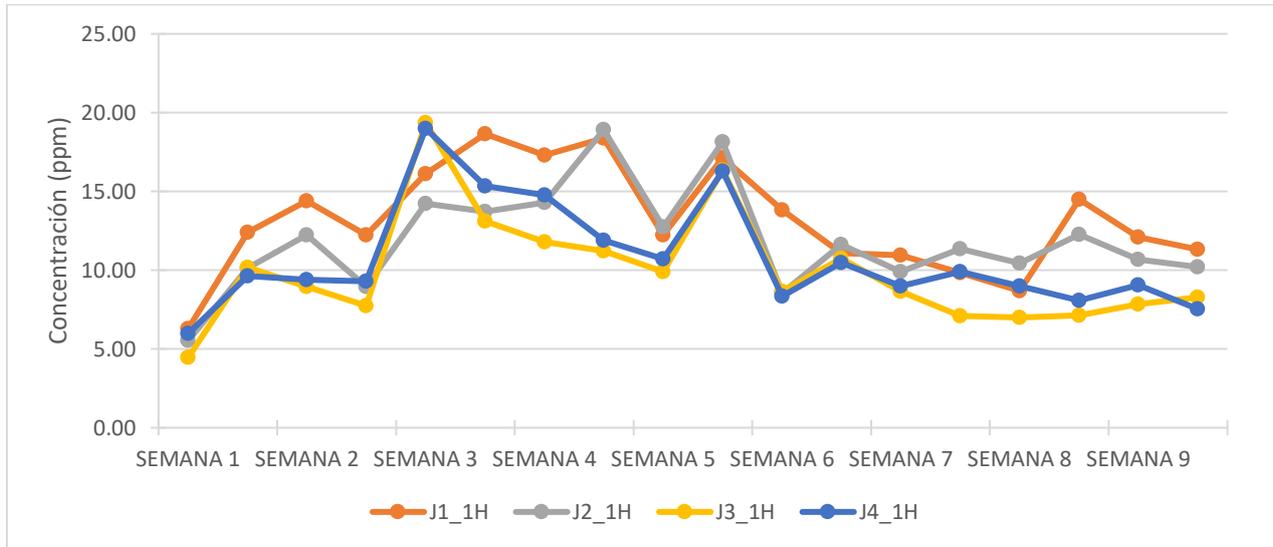


Figura 40. Variación semanal en la concentración de cafeína para la HA con TR de 1h

Además, se muestra que durante las 9 semanas hubo una evidente reducción de la concentración de cafeína inicial que fue de aproximadamente 30 ppm, lo que evidencia que, para ambas configuraciones de HA, con plantas y las de control, existe remoción de cafeína durante todo el monitoreo, teniendo concentraciones por debajo de los 20 ppm.

Por otro lado, se presenta en la Figura 41, como fue variando las concentraciones de cafeína en los humedales luego de tener un TR de 24 horas donde se puede ver que existe una tendencia más estable que la presentada con un TR de 1 h donde existían más picos y descensos, especialmente durante la semana 3 y semana 4. Por su parte, se repite el mismo comportamiento antes mencionado, donde J1 y J2 muestran una conducta parecida, al igual que lo hacen J3 y J4. Sin embargo, estos últimos presentan que a lo largo de las 9 semanas tienen menos concentración de cafeína que los primeros lo que muestra ya una superioridad de los humedales de control sobre los humedales con plantas.

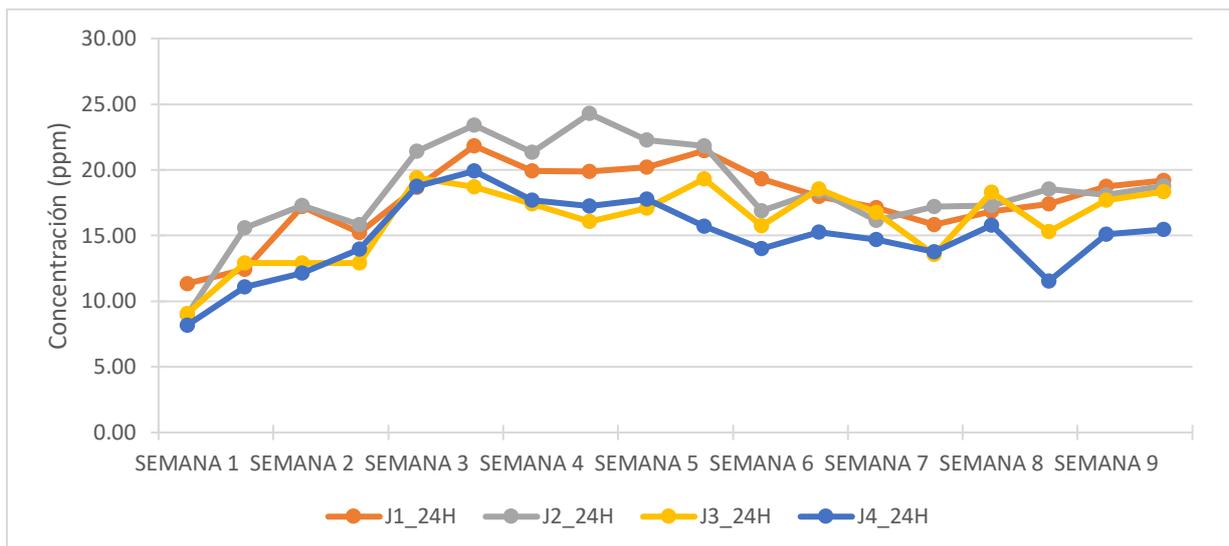


Figura 41. Variación semanal en la concentración de cafeína para la HA con TR de 24h

3.1.8. Eficiencias de remoción de cafeína

Tomando en cuenta las concentraciones de cafeína resultantes, se debe considerar que el análisis de los resultados se hace principalmente en base a la eficiencia de remoción luego de que el agua residual artificial haya atravesado los humedales en los tiempos de retención establecidos, pues la concentración inicial con la que eran recargados dos veces a la semana no era la misma ya que la preparación de la concentración se realizaba cada día de recarga y existe variación. Por lo tanto, los resultados con respecto a las eficiencias de remoción se presentan en ANEXO VIII.

Estos se calcularon en base a la ecuación (3) que representa la cantidad porcentual de la concentración de cafeína removida.

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \quad (3)$$

Ecuación 2. Eficiencia en la remoción de cafeína

Analizando dicha tabla, se presenta que existe una remoción superior al 0.40 (40%). Para realizar un mejor análisis se presenta la estadística descriptiva de los datos en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Análisis descriptivo de las eficiencias de los HA a TR distintos

	CON 1H DE TR				CON 24H DE TR			
	J1-1H	J2-1H	J3-1H	J4-1H	J1-24H	J2-24H	J3-24H	J4-24H
Media	0.587	0.628	0.690	0.663	0.442	0.419	0.495	0.534
Error típico	0.025	0.024	0.026	0.025	0.022	0.027	0.022	0.022
Mediana	0.609	0.632	0.723	0.702	0.432	0.424	0.473	0.522

Desviación estándar	0.106	0.102	0.111	0.106	0.091	0.114	0.091	0.093
Varianza de la muestra	0.011	0.010	0.012	0.011	0.008	0.013	0.008	0.009
Curtosis	-0.162	1.143	1.947	0.566	1.176	2.476	1.240	0.795
Coefficiente de asimetría	0.160	-0.483	-1.223	-1.028	1.083	0.974	1.194	0.762
Rango	0.393	0.431	0.468	0.412	0.346	0.499	0.345	0.376
Mínimo	0.424	0.407	0.402	0.413	0.323	0.239	0.391	0.385
Máximo	0.816	0.838	0.870	0.825	0.669	0.738	0.736	0.761
Suma	10.568	11.299	12.415	11.939	7.959	7.549	8.915	9.605

Analizando los resultados de la Tabla 9 se puede ver los valores de la varianza de la muestra son muy cercanos a cero por lo que los datos de cada grupo de datos no están muy dispersos, pues si la varianza fuese cero significaría que todos los datos son iguales y si la dispersión de los datos aumenta, entonces el valor de la varianza también se incrementa (Quevedo & Pérez, 2014), entonces los datos no difieren mucho de su media aritmética por lo que analizando este valor puede ser una gran aproximación sobre la representatividad del comportamiento individual de cada HA.

Por consiguiente, se muestra que efectivamente para los cuatro humedales y para ambos tiempos de retención existe una remoción de cafeína superior al 40%, además se evidencia que el humedal de control J3, con un tiempo de retención de 1 hora, presenta mejor eficiencia en la eliminación de cafeína del agua residual artificial con un (69 %), mientras que la peor eficiencia es el HA con presencia de la especie vegetal J1, con un tiempo de retención de 24 horas, con una eficiencia de 0.419 (41.9 %), lo que muestra que al menos en un análisis general inicial que la presencia de las *Dracaena Fragans* no es efectivo para mejorar la depuración del agua residual artificial.

Además, tomando en cuenta los demás humedales se puede ver los siguientes comportamientos, la depuración del agua contaminada con cafeína es más efectiva con un tiempo de retención menor de 1 hora que el de 24 horas, pues todas las medias de J1, J2, J3 y J4 para un TR de 1 h son mayores que los J1, J2, J3 y J4 de un TR de 24 horas. Incluso si se toma en cuenta el máximo valor de eficiencia de remoción se puede observar que, con un TR de 1 hora, todas eficiencias sobrepasan el 80%, siendo el mayor de 87% con el J3, mientras que para un TR de 24 horas las eficiencias se reducen, siendo el mayor de 76.1% con J4.

Por su parte, si se toma en cuenta nuevamente las medias de cada grupo de HA por cada TR, se da continuidad en el patrón de que las especies vegetales no mejoraron el comportamiento del HA. Para ambos TR, de 1 h y 24 h, fueron los HA, J3 con 0.69 y J4 con 0.534, respectivamente, los que tuvieron mayor eliminación del CE de cafeína; los cuales tiene en común que son humedales de control que no poseen especies vegetales.

3.1.8.1 Análisis estadístico

Para determinar la prueba de hipótesis correcta a usar y, por consiguiente, realizar un análisis adecuado de los resultados, se debe identificar el tipo de pruebas que corresponde según nuestros datos, ya sean paramétricas o no paramétricas. Por su parte las pruebas paramétricas deben cumplir los siguientes requisitos (Faizi & Alvi, 2023):

- Datos distribuidos normalmente o casi normalmente distribuidos.
- Homogeneidad de la varianza/homoscedasticidad en la muestra.
- Independencia de la variable.

Por tanto, se hizo la prueba de normalidad en cada grupo de HA para cada TR. Se aplicó la prueba Shapiro-Wilks donde se plantea la hipótesis nula de que una muestra proviene de una distribución normal. Con un intervalo de confianza del 95%, tenemos un nivel de significancia de 0,05; y tenemos una hipótesis alternativa que sostiene que la distribución no es normal. Si el valor de probabilidad (p) es muy superior a nuestro nivel elegido, no rechazamos la hipótesis nula, y por el contrario si es menor, se rechaza la hipótesis nula (Dietrichson, 2019).

3.1.8.1.1. Prueba de Normalidad

Aplicando la prueba Shapiro-Wilks (muestra menor a 50 datos) se obtuvo los resultados presentados en la Tabla 10.

Tabla 10. Prueba de normalidad para los HA

HA	p-value	Decisión al nivel (5%)	HA	p-value	Decisión al nivel (5%)
J1_1H	0.617	No se puede rechazar la normalidad	J1_24H	0.08094	No se puede rechazar la normalidad
J2_1H	0.355	No se puede rechazar la normalidad	J2_24H	0.11339	No se puede rechazar la normalidad
J3_1H	0.056	No se puede rechazar la normalidad	J3_24H	0.03278	Se rechaza la normalidad
J4_1H	0.046	Se rechaza la normalidad	J4_24H	0.46256	No se puede rechazar la normalidad

Por tanto, a partir de Tabla 10 se evalúa el valor de probabilidad y se determina que se pueden aplicar pruebas paramétricas con J1 y J2; y las no paramétricas con J3 y J4, ya que estas no requieren que los datos sigan una distribución normal.

3.1.8.2 Diferencias significativas entre HA sobre la remoción de cafeína

3.1.8.2.1. Humedales J1 y J2

Para la aplicación de la prueba t de student, se determina la homogeneidad de las varianzas a través de la prueba de varianza. Por lo cual, se determina el nivel de significancia de 0.05 obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 11, para los TR de 1h y 24h respectivamente.

Tabla 11. Prueba de Varianza para J1 y J2

TR	p
1H	0.87325
24H	0.36679

Como se presenta en la Tabla 11, el $p > 0.05$ para ambos, por lo que no se rechaza la hipótesis nula de que las varianzas de ambas poblaciones no son significativamente diferentes. Por lo tanto, es aplicable la prueba de t de student para dos muestras independientes para cada TR. Se establece el nivel de significancia de 0.05, obteniendo los siguientes resultados para TR 1h y TR 24h que se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Prueba t de student para J1 y J2

TR	p
1 H	0.251
24 H	0.513

Para ambos TR, asumida la igualdad de varianzas, no se rechaza la hipótesis nula donde se determina que la diferencia de medias no es significativamente diferente de cero. Por tanto, se sugiere que las medias de J1 y J2 para TR 1h son estadísticamente similares, por consiguiente, se procede a promediarlos para realizar la comparativa de HA con especies vegetales teniendo un solo conjunto de datos para dicho TR. Por su parte, para los HA de TR 24 h se establece igualmente que las medias de J1 y J2 son estadísticamente similares, y se sigue la misma lógica antes mencionada.

3.1.8.2.2. Humedales J3 y J4

Por su parte, se estableció que a los J3 y J4 de ambos TR se aplicará la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para datos no paramétricos de muestras independientes

con el fin de establecer diferencias entre grupos. Se aplica la prueba con un nivel de significancia de 0.05, obteniendo como resultado lo que se presenta en la Tabla 13.

Tabla 13. Prueba de U de Mann-Whitney para J3 y J4

TR	p
1 H	0.35065
24 H	0.15916

El valor de la probabilidad es mayor al nivel de significancia por lo cual se tienen que a las distribuciones de J3 y J4 no son significativamente diferentes, para un TR de 1h y TR de 24h. Entonces, se procede a promediarlos para realizar la comparativa de HA sin especies vegetales teniendo un solo conjunto de datos para el humedal de control.

3.1.8.3 Comparativa de los HA con especie vegetal y HC (sin especie vegetal)

Del análisis anterior, se obtuvo que debido a que no son significativamente diferentes las eficiencias de J1 con J2 y de J3 con J4, se procede a promediarlos, obteniendo los resultados presentados en ANEXO IX, la cual presenta el conjunto de datos que se tomaran en cuenta para analizar la influencia de la especie vegetal.

Se presenta un diagrama de cajas en la Figura 42 para una mejor visualización de los datos, donde se determina que SP_1H presenta mayor eficiencia en remoción a comparación con los HA de mayor tiempo de retención y con presencia de la especie vegetal o sin esta.

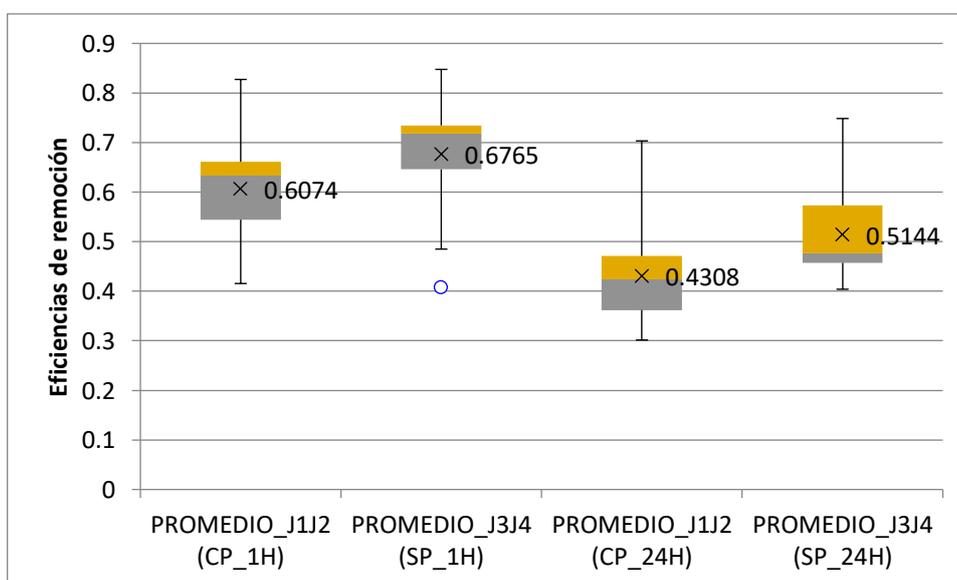


Figura 42. Diagrama de cajas de las eficiencias de remoción de cafeína para cada TR (CP: con plantas, SP: sin plantas)

A partir de estos resultados se realizarán pruebas de hipótesis dependiendo de las condiciones que cumplan sus datos.

Primero se presenta la estadística descriptiva que se presenta en la Tabla 14.

Tabla 14. Estadística Descriptiva de los promedios por duplicado para ambos TR

	CP_1H	SP_1H	CP_24H	SP_24H
Media	0.607	0.676	0.431	0.514
Mediana	0.634	0.718	0.424	0.477
Desviación estándar	0.099	0.107	0.100	0.088
Varianza de la muestra	0.010	0.011	0.010	0.008
Curtosis	0.570	1.380	2.053	1.426
Coefficiente de asimetría	-0.115	-1.162	1.106	1.190
Rango	0.412	0.440	0.402	0.344
Mínimo	0.416	0.408	0.302	0.404
Máximo	0.827	0.848	0.703	0.748

Se realizan pruebas de normalidad presentando los siguientes resultados en la Tabla 15.

Tabla 15. Prueba de normalidad de los promedios de eficiencia de remoción por duplicado para ambos TR

HA	p-value	Decisión al nivel (5%)
CP_1H	0.42527	No puedo rechazar la normalidad
SP_1H	0.03951	Rechazar la normalidad
CP_24H	0.15029	No puedo rechazar la normalidad
SP_24H	0.04864	Rechazar la normalidad

Por tanto, se aplican pruebas de hipótesis paramétricas y no paramétricas según corresponda a un nivel de confianza del 95%. Se analiza la probabilidad y si ésta es menor del 5% ($p < 0,05$) rechazamos la hipótesis nula y concluiríamos que la diferencia es real, mientras que si $p > 0,05$ no podríamos descartar que la diferencia observada fuese fruto de la casualidad por proceder de muestras aleatorias y no de las poblaciones globales (Molina Arias, 2013).

- **Influencia de la presencia de *Dracaena Fragrans* en el TR de 1h**

Aplicando la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney (0.01421), se determina que las distribuciones son significativamente diferentes ($p < 0.05$), por lo cual, esto implica que la diferencia observada entre los grupos es lo suficientemente grande como para no ser atribuida al azar. Por consiguiente, comparando las medias entre CP_1H y SP_1H podemos concluir que la eficiencia de remoción de cafeína es mayor sin la presencia de la especie vegetal con 0.676.

- **Influencia de la presencia de *Dracaena Fragrans* en el TR de 24h**

Asimismo, se aplica la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney (0.00621), y se determina que las distribuciones son significativamente diferentes ($p < 0.05$). Luego, comparando las medias entre CP_24H y SP_24H podemos concluir que la eficiencia de remoción de cafeína es mayor sin la presencia de la especie vegetal con 0.514 (51.4%).

- **Influencia del TR en los HA con presencia de *Dracaena Fragrans***

Por su parte, los HA que contienen la especie vegetal (CP_1H y CP_24) siguen una distribución normal y según su análisis de varianza, no son significativamente diferentes, por lo que se puede aplicar el *t de student* (< 0.0001), donde ($p < 0.05$). Se tiene entonces, que se rechaza la hipótesis de que la diferencia de medias no es significativamente diferente de cero. Esto quiere decir que hay diferencia significativa y si comparamos las medias, se puede ver que la eficiencia de remoción es mayor con un TR de 1h con 0.607 (60.7%).

- **Influencia del TR en los HC sin la presencia de *Dracaena Fragrans***

Finalmente, los HC que no contienen la especie vegetal (SP_1H y SP_24) no siguen una distribución normal, por lo que se puede aplicar la prueba U de Mann-Whitney (0.0002). Se tiene entonces, que la probabilidad es menor que 0.05 ($p < 0.05$), con lo que se rechaza la hipótesis de que las distribuciones son iguales. Esto quiere decir que hay significación estadística en la diferencia y, si comparamos las medias, se puede ver que la eficiencia de remoción es mayor con un TR de 1h con 0.676 (67.6%)

3.1.9. Parámetros físicos y químicos

El agua residual artificial contaminada con cafeína que se recarga en los humedales artificiales con especies vegetales y humedales de control presenta las siguientes características mostradas en la Tabla 16.

Tabla 16. Parámetros físicos y químicos del agua residual artificial de recarga de los HA

Parámetros Físicos			Parámetros Químicos		
Parámetro	Unidades	Cantidad	Parámetro	Unidades	Cantidad
<i>Turbidez</i>	NTU	1.365	<i>DQO</i>	mg O ₂ /L	29
<i>Sólidos suspendidos totales</i>	mg/L	88	<i>DBO₅</i>	mg O ₂ /L	0.75

Se realizó el monitoreo quincenal de los parámetros físicos y químicos presentando los resultados que se presentan a continuación:

3.1.9.1 Remoción de turbiedad

Se determinó la turbidez por tres semanas consecutivas y luego se determinó mediciones quincenales, los resultados se presentan en la Tabla 17.

Tabla 17. Turbiedad de los HA durante el monitoreo

<i>Turbiedad (NTU)</i>				
Semanas	J1	J2	J3	J4
Recarga	1.37	1.37	1.37	1.37
Semana 1	4.31	9.32	7.06	5.32
Semana 2	2.06	2.74	1.85	1.65
Semana 3	14.10	35.00	17.80	7.70
Semana 5	45.30	31.65	11.00	6.47
Semana 7	17.60	28.25	6.30	1.50
Semana 9	21.85	31.00	4.95	1.51

A partir de la Tabla 17, podemos realizar un gráfico para observar la tendencia de incremento o descenso con mayor facilidad en las semanas de monitoreo, la misma se presenta en la Figura 43.

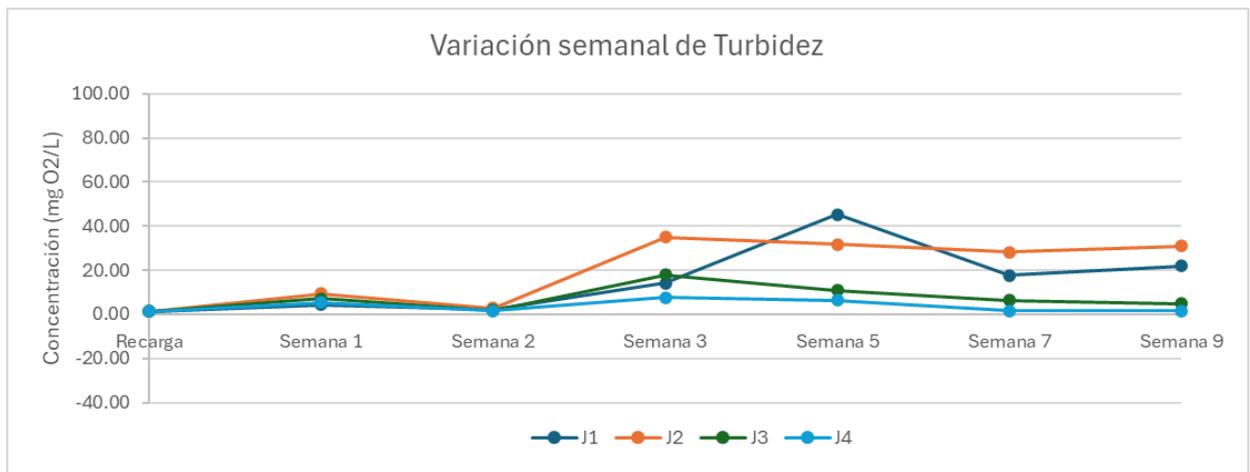


Figura 43. Variación de la turbidez (NTU) a través del tiempo de monitoreo para los cuatro humedales

Como se puede ver en la Figura 43, no existe una remoción de turbiedad, sino que, por el contrario, esta tiende a elevarse a medida que se avanza en el monitoreo, alcanzando un máximo durante la semana 3 para el J2, J3 y J4; y en la semana 5 para el J1.

Cabe mencionar que el agua residual artificial contaminada con cafeína consiste en esencia de agua potable reposada al sol por 7 días y contaminada con una dosis de cafeína por lo que su turbiedad inicial es muy baja incluso para el agua residual sintética

normalmente creada que tiene 43.9 – 99 NTU (Portillo & Silva, 2020). Por tanto, al atravesar por el medio de soporte de bagazo de caña y el material granular, la muestra tiende a recoger sólidos, material orgánico y más compuestos que alteran dicho parámetro.

Finalmente, entre los HA, se muestra que son J3 y J4, los que presentan un mejor comportamiento en cuanto a la turbidez, y a pesar de que aumentan del valor inicial que ingresa, al finalizar las 9 semanas, presentan turbiedades menores a 5 NTU, 4.91 y 1.51, respectivamente, que incluso está dentro del límite máximo permitido para el consumo de agua potable presentado en la norma INEN 1108 (NTE INEN 1108 - AGUA POTABLE. REQUISITOS, 2014), lo que quiere decir que ambos humedales de control, sin la especie vegetal, son eficientes en cuanto al parámetro de turbidez.

3.1.9.2 Remoción de DQO

Se determinó la DQO por tres semanas consecutivas y luego se determinó mediciones quincenales, los resultados se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18. DQO de los HA durante el monitoreo

DQO (mg O₂/L)				
Semanas	J1	J2	J3	J4
Recarga	29	29	29	29
Semana 1	513	961	719	608
Semana 2	84	100	93	87
Semana 3	62	104	81	93
Semana 5	300	140	115	197
Semana 7	220	180	42	42
Semana 9	440	560	166	59

A partir de la Tabla 18, podemos realizar un gráfico para observar la tendencia de incremento o descenso con mayor facilidad en las semanas de monitoreo, la misma se presenta en la Figura 44.

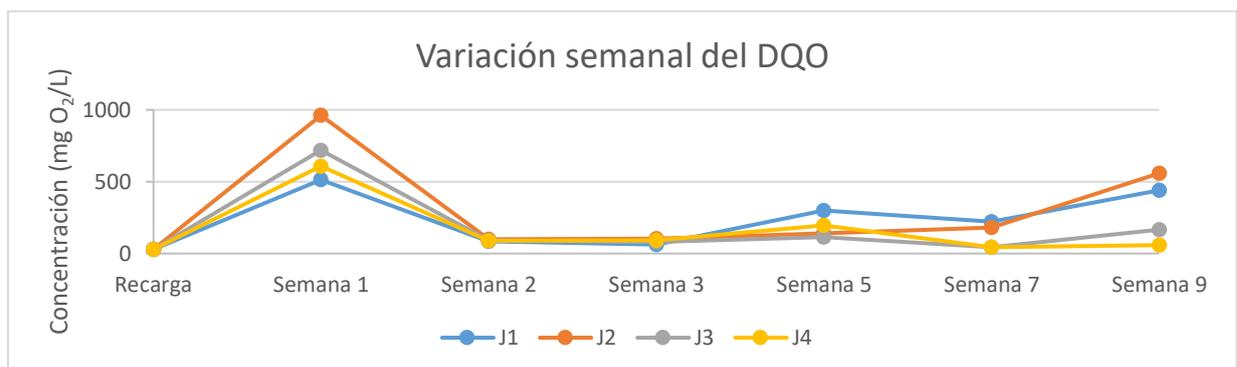


Figura 44. Variación de la DQO a través del tiempo de monitoreo para los cuatro humedales

Como se puede ver en la Figura 44, no existe una remoción de DQO, en su lugar, existe un súbito ascenso durante la primera semana. Cabe mencionar que la primera semana presentada en este análisis corresponde a la semana donde se consideró un TR de 7 días, mientras que las semanas posteriores siguieron el patrón de dos recargas semanales con lavados del material entre cada recarga para limpiar el medio de soporte. Por tanto, la semana 1 muestra que mientras mayor sea el tiempo de retención del agua residual artificial en los humedales, mayor será la DQO.

Además, como se observa en Figura 44, en la segunda semana y tercera semana existe una ligera estabilidad en cuanto a la DQO, pero luego vuelve a subir en las siguientes semanas, especialmente J1 y J2, mientras que J3 y J4, presentan DQO menores al finalizar las semanas de monitoreo en un rango de 59-166 mg/L, que a pesar de haber incrementado la demanda de oxígeno, esta se mantiene dentro del límite máximo permitido (LMP) de 250 mg/L para descargas a cuerpos dulces según el Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente (TULSMA).

3.1.9.3 Remoción de sólidos suspendidos

Se determinó los SST por tres semanas consecutivas y luego se determinó mediciones quincenales, los resultados se presentan en la Tabla 19. SST de los HA durante el monitoreo.

Tabla 19. SST de los HA durante el monitoreo

SST (mg/L)				
Semanas	J1	J2	J3	J4
Recarga	88	88	88	88
Semana 1	0	22	10	2
Semana 2	34	22	42	22
Semana 3	-20	-32	-4	-20
Semana 5	10	12	0	2
Semana 7	4	32	18	12
Semana 9	-6	14	6	6

A partir de la Tabla 19, podemos realizar un gráfico para observar la tendencia de incremento o descenso con mayor facilidad en las semanas de monitoreo, la misma se presenta en la Figura 45.

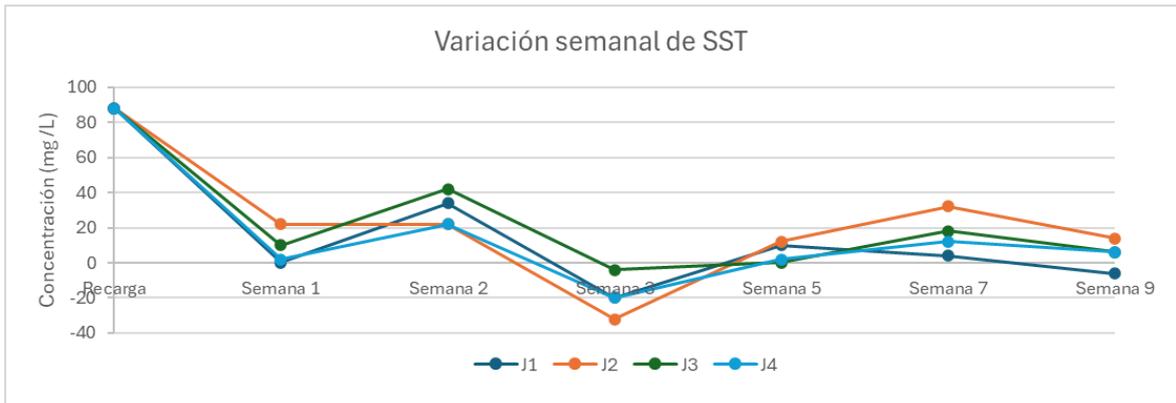


Figura 45. Variación de la SST a través del tiempo de monitoreo para los cuatro humedales. Como se observa en la Tabla 19 y visualmente en la Figura 45, existe una remoción de SST durante todo el periodo de monitoreo para los cuatro HA. Sin embargo, durante la semana 3 existió un error, pues todos los valores se presentaron como negativos, lo que significaría la eliminación total de los SST, pero en las semanas posteriores existe la presencia de este. Por tanto, es probable que existió un error personal con la persona que realizó la medición de dicho parámetro y se procede a eliminar dicha semana para mejorar la representatividad del comportamiento de los HA; se tiene entonces la Figura 46.

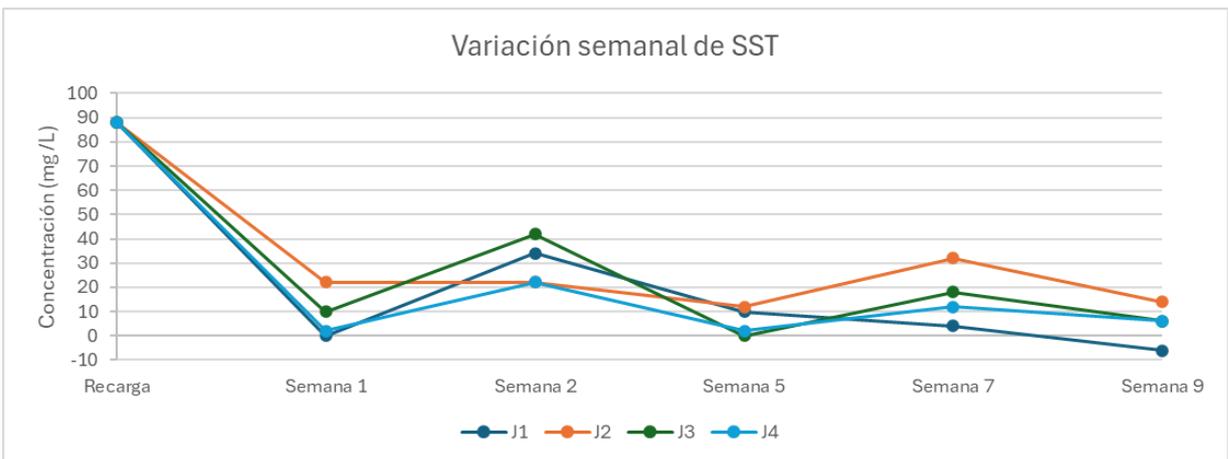


Figura 46. Variación de los SST a través del tiempo de monitoreo para los cuatro humedales corregido

A partir de la Figura 46 se observa que evidentemente existe una remoción progresiva de los SST en los cuatro HA y, excluyendo el J1 en la semana 9 ya que presenta un error similar de concentración negativa, los mejores son el J3 y J4, removiéndose el 93% de los SST dejando una concentración de 6 mg/L^{-1} , que es bastante inferior al Límite Máximo Permitido (LPM) de 100 mg/L para descargas a cuerpos dulces según el Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente (TULSMA) (ANEXO 1 DEL LIBRO VI DEL

TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE, 2015), lo que prueba que los HA mencionados son muy eficientes como sistemas de tratamiento para a remoción de este parámetro.

3.1.9.1 Remoción de DBO₅

Por su parte la DBO₅ fue analizada mensualmente, por dos veces presentando los resultados que se muestran en la **Tabla 20**.

Tabla 20. DBO₅ de los HA durante el monitoreo

<i>DBO₅ (mg O₂/L)</i>				
<i>Mes</i>	<i>J1</i>	<i>J2</i>	<i>J3</i>	<i>J4</i>
<i>Recarga</i>	0.75	0.75	0.75	0.75
<i>1er Mes</i>	31.5	35	45.7	33
<i>2do Mes</i>	7.7	23.1	15.1	4.5

A partir de la Tabla 20, se realiza el gráfico que se muestra en la Figura 47.

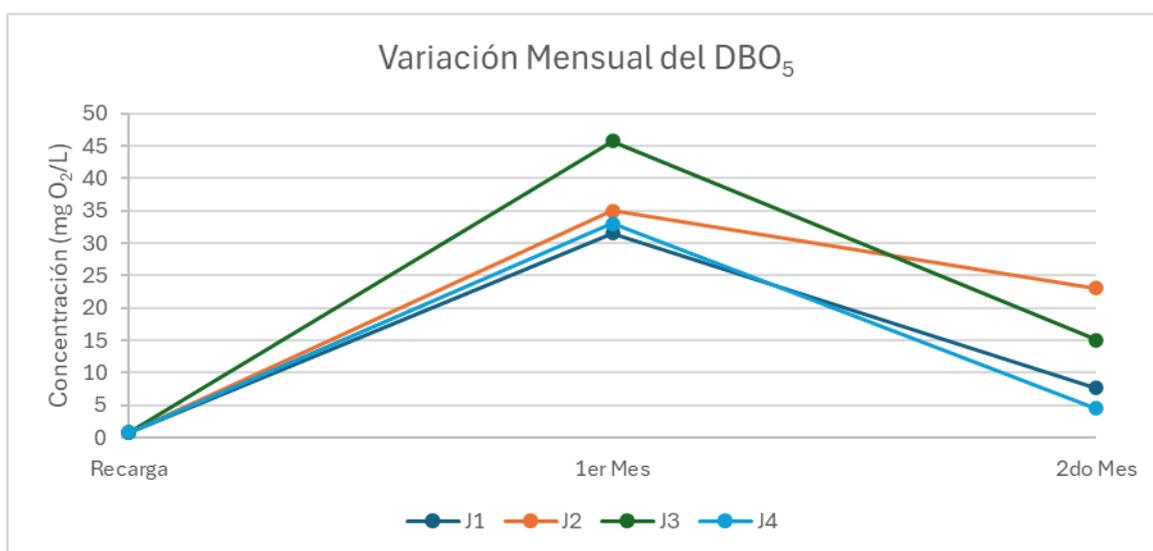


Figura 47. Variación mensual del DBO₅

Entonces, de la Figura 47, se puede inferir que los cuatro HA siguen la misma tendencia en su comportamiento, y durante el primer mes la DBO₅ hubo un incremento significativo, pero al siguiente mes, la tendencia es a reducirse, siendo el J4, el HA que mejor remoción presenta.

3.2. Conclusiones

- La *Dracaena fragrans* o por su nombre común, Tronco de agua, presentó una mayor resistencia a las condiciones presentadas en el Laboratorio de Docente de Hidráulicos de la EPN frente a otras plantas de interiores como la *Dracaena reflexa* y el *Chlorophytum comosum*, además, se determinó que no presenta dificultades para asimilar una concentración baja de cafeína pues es capaz de absorber cerca del 86% a una exposición de 5ppm en una semana, mientras que a concentraciones mayores la remoción se ve reducida significativamente a menor del 40%.
- Se realizó la instalación de los HA con presencia de especies vegetales (J1 y J2) y los de control (J3 y J4) en ausencia de estos, que presentaron comportamientos similares en cuanto a remoción de cafeína y otros parámetros fisicoquímicos, lo que muestra la capacidad de replicabilidad de los humedales artificiales esperando resultados similares bajo las condiciones específicas que se siguieron en el presente trabajo.
- Se determinó que todos los humedales artificiales presentaron una eficiencia de remoción de cafeína superior al 40%, lo cual demuestra que es efectivo el uso del bagazo de caña como medio de soporte de un humedal artificial. Este residuo del trapiche de caña resulta útil para la remoción de un contaminante emergente como es la cafeína, sin embargo, debe probarse formas de mejorar su eficiencia con el fin de desarrollar y potenciar este material amigable con el ambiente para la depuración de los cuerpos de agua de los contaminantes nuevos que son descargados por el ser humano por su dieta o actividades cotidianas.
- En este estudio se ha presentado resultados inesperados sobre la remoción de otros parámetros de calidad como DQO, DBO₅, turbidez y sólidos suspendidos totales (SST), ya que, para la DQO, DBO₅ y turbidez, los HA provocaron que el efluente presenta mayores concentraciones de estos parámetros que los que presentaba el afluente por lo que no resulta efectivo su uso con el fin de remoción de estos parámetros. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que el afluente consiste en agua residual artificial contaminado únicamente con cafeína por lo que no presenta cantidades grandes iniciales con respecto a estos parámetros y por tanto, mientras se daba un acondicionamiento de los humedales con presencia de material orgánico e inorgánico pudo ensuciar dicho afluente. Por otro lado, para los SST, los HA tuvieron un comportamiento deseado donde existió la remoción del parámetro a cantidades inferiores a 20 mg. L⁻¹, lo que indica que existió problemas

principalmente con el contenido orgánico de los HA que interfirió con la DQO y DBO₅.

- Los resultados muestran que la *Dracaena fragrans*, como parte de un sistema de humedal artificial no es muy influyente en la remoción de cafeína, ya que los humedales de control (J3 y J4) presentaron mejor eficiencia de remoción de cafeína sobre los HA con presencia de la especie vegetal (J1 y J2) en ambos TR (1H y 24H)
- Se presenta además que existe influencia en los TR sobre la remoción de cafeína, en donde a menor TR de 1H la remoción es mayor sobre el de 24 H. Este comportamiento se repite en presencia de la especie vegetal o en ausencia de esta. En la primera, se muestra una eficiencia promedio de 60.7% con TR de 1H sobre un 43.1% con TR de 24H, y en la segunda, del 67.6% a TR de 1H sobre un 51.4% con TR de 24H

3.3. Recomendaciones

- Se recomienda probar tratamientos preliminares sobre el bagazo de caña que potencien su porosidad para mejorar la eficiencia para la remoción de contaminantes en su uso como medio de soporte en humedales artificiales.
- Se recomienda probar con nuevas plantas ornamentales de interiores la capacidad de influencia sobre la remoción de cafeína con el fin de determinar nuevos beneficios de estas plantas además de los paisajísticos.
- Se recomienda probar TR más continuos entre el rango de 1 H y 24H con las mismas condiciones presentadas en el trabajo para determinar el tiempo de retención idóneo para la remoción de contaminantes emergentes como la cafeína.
- Se podría evaluar la influencia de la temperatura y humedad sobre la capacidad de la *Dracaena fragrans* para la remoción de contaminantes y obtener las condiciones ambientales ideales.
- Para entregar un análisis completo del uso del bagazo de caña como medio de soporte en humedales artificiales se podría hacer una investigación sobre la factibilidad y beneficio económico del uso de este residuo para que los comerciantes del jugo de caña puedan desarrollar una economía circular.
- Sería aconsejable que para un control más exhaustivo de los factores a los que estaban expuestas las plantas ornamentales de interiores se realice un cultivo

controlado desde la semilla o plántula para reducir la variabilidad sobre la diferencia de condiciones a las que fueron expuestos los organismos vegetales durante su crecimiento, mantenimiento y transporte desde provincia a los viveros en Nayón, y luego su posterior movilización al laboratorio.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdulrazaq, Y., Abdulsalam, A., Larayetan Rotimi, A., Aliyu Abdulbasit, A., Clifford, O., Abdulazeez Abdulsalam, O., Nayo Racheal, O., Akor Joy, A., Omale Victor, F., Mbese Johannes, Z., Bilal, M., & Umar M, S. (2021). Classification, Potential Routes and Risk of Emerging Pollutants/Contaminant. En *Emerging Contaminants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.94447>
- Aguilar, J., & Cornejo, R. (2021). *Remoción de Materia Orgánica mediante humedales artificiales con pasto saboya (Panicum máximum) y pasto elefante (Pennisetum purpureum) en aguas residuales bovinas* [Informe de titulación previa la obtención del Título de Ingeniero en Medio Ambiente]. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.
- Aguilar-Rivera N. (2011). Effect of Storing of Sugar Cane Bagasse on Physical Properties from Cellulose for Paper. *Ingeniería Investigación y Tecnología, XII(1)*, 189–197.
- Alean Flórez, J., Márquez Méndez, D., Burgos Núñez, S. M., Enamorado-Montes, G., & Marrugo Negrete, J. (2021). Productos farmacéuticos y de cuidado personal presentes en aguas superficiales, de consumo humano y residuales en el departamento de Córdoba, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 12(2)*, 179–197. <https://doi.org/10.22490/21456453.4231>
- Almeida, L. N. B., Pietrobelli, J. M. T. A., Lenzi, G. G., & Santos, O. A. A. (2020). Degradation of Caffeine by Heterogeneous Photocatalysis Using ZnO with Fe and Ag. *Brazilian Archives of Biology and Technology, 63*. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020180614>
- Álvarez-Torrellas, S., Sotelo, J. L., Rodríguez, A., Ovejero, G., & García, J. (2017). Influence of the natural organic matter in the removal of caffeine from water by fixed-bed column adsorption. *International Journal of Environmental Science and Technology, 14(4)*, 833–840. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1189-7>
- ANEXO 1 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE (2015).
- Asif, M., Nasir, A., Abid, M., & Bashir, M. (2017). Growth response of song of India (*Dracaena reflexa*) to various growing substrates. *International Journal of Chemical Science Online, 1(2)*, 105–109. <https://www.researchgate.net/publication/321904559>
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kaur, M., Kohli, R. K., & Yadav, S. S. (2008). Caffeine affects adventitious rooting and causes biochemical changes in the hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.). *Acta Physiologiae Plantarum, 30(3)*, 401–405. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0132-4>

- Bega, J. M. M., de Oliveira, J. N., Albertin, L. L., & Isique, W. D. (2021). Use of caffeine as an indicator of pollution by domestic sewage in urban water bodies. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 26(2), 381–388. <https://doi.org/10.1590/s1413-415220190084>
- Belay, A., Ture, K., Redi, M., & Asfaw, A. (2008). Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*, 108(1), 310–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.024>
- Bizarra, C., & Portillo, alfredo. (2021). *Uso de un Humedal Artificial Vertical para el Tratamiento de Aguas Residuales del Camal Municipal de Huancavelica*. Universidad de Huancavelica.
- Cervený, D., Cisar, P., Brodin, T., McCallum, E. S., & Fick, J. (2022). Environmentally relevant concentration of caffeine—effect on activity and circadian rhythm in wild perch. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(36), 54264–54272. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19583-3>
- CINCAE. (2013, abril). *Utilización de subproductos de la caña de azúcar y de la industria alcoholera ecuatoriana para uso en la fertilización en los cultivos de caña*.
- Cobeña, J., & Loor, I. (2016). *Caracterización física-química del jugo de cinco variedades de caña de azúcar (Saccharum officinarum) en la hacienda El Jardín* [Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/264/1/TAI105.pdf>
- Dagnino, J. (2014). Correlación. *Revista Chilena de Anestesia*, 43(2), 150–153. <https://doi.org/10.25237/revchilanestv43n02.15>
- Delgadillo, O., Camacho, A., Luis, •, Pérez, F., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*.
- Diaz, F. (2021). *Caffeine on Plant Growth*. <https://images.southmountaincc.edu/WebImages/cdn/hs/f-21/Fernando-Diaz.pdf>
- Dietrichson, A. (2019). *Métodos Cuantitativos*. Universidad Nacional San Martín. <https://bookdown.org/dietrichson/metodos-cuantitativos/test-de-normalidad.html>
- EFSA. (2015). *Cafeína*. <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/caffeine>
- Emanuil, N., Akram, M. S., Ali, S., Majrashi, A., Iqbal, M., El-Esawi, M. A., Ditta, A., & Alharby, H. F. (2022). Exogenous Caffeine (1,3,7-Trimethylxanthine) Application Diminishes Cadmium Toxicity by Modulating Physio-Biochemical Attributes and Improving the Growth of Spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Sustainability (Switzerland)*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/su14052806>
- Espinosa Jovel, C. A., & Sobrino Mejía, F. E. (2017). Cafeína y cefalea: consideraciones especiales. En *Neurología* (Vol. 32, Número 6, pp. 394–398). Spanish Society of Neurology. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.12.016>
- EUFIC. (2007). *La cafeína y la salud*. <https://www.eufic.org/es/que-contienen-los-alimentos/articulo/la-cafeina-y-la-salud/>

- Faizi, N., & Alvi, Y. (2023). Statistical tests of significance. En M. Mapes (Ed.), *Biostatistics Manual for Health Research* (pp. 45–62). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18550-2.00009-8>
- Fan, Y., Li, T., Cun, D., Tang, H., Dai, Y., Wang, F., & Liang, W. (2021). Removal of arsenic by pilot-scale vertical flow constructed wetland. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 15(4). <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1435-1>
- Faudone, G., Arifi, S., & Merk, D. (2021). The Medicinal Chemistry of Caffeine. En *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 64, Número 11, pp. 7156–7178). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00261>
- Ferguson, S. (2015). *Effects of Caffeine and Vitamin E on Wisconsin Fast Plant*. <https://corescholar.libraries.wright.edu/biw>
- Gadi, N., Boelee, N. C., & Dewil, R. (2022). The Electro-Fenton Process for Caffeine Removal from Water and Granular Activated Carbon Regeneration. *Sustainability (Switzerland)*, 14(21). <https://doi.org/10.3390/su142114313>
- Galarza, J. L. (2020). *Fábrica de tierra estabilizada con adición de fibra de bagazo de caña aplicado a viviendas rurales* [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Madrid.
- Gallegos-Rodríguez, J., López-Ocaña, G., Bautista-Margulis, R. G., & Torres-Balcázar, C. A. (2018). Evaluation of free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in domestic wastewater treatment. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 10(2). <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2017.03.005>
- García, H. (2019). *Recomendaciones para el secado del bagazo, con energía solar, en trapiches paneleros*.
- García, L. (2021). *Sostenibilidad de un humedal artificial de flujo vertical, para el tratamiento de aguas contaminadas con fines de reúso*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- García Ocaña, J. A., López Ocaña, G., & Torres Balcázar, C. A. (2019). Evaluación de medios de soporte en humedales artificiales con vegetación *Sagittaria latifolia* en la remoción de contaminantes básicos / Evaluation of media of support of artificial wetlands with vegetation *Sagittaria latifolia* in the removal of basics pollutants. *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 8(15), 16–51. <https://doi.org/10.23913/ciba.v8i15.82>
- Garzón, M. A., Buelna, G., & Moeller-Chávez, G. (2012). La biofiltración sobre materiales orgánicos, nueva tecnología sustentable para tratar agua residual en pequeñas comunidades e industrias. *Tecnología y Ciencias del Agua*, III(3), 153–161. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222012000300011&lng=es&tlng=es
- Gonçalves, E. S., Rodrigues, S. V., & Silva-Filho, E. V. da. (2017). The use of caffeine as a chemical marker of domestic wastewater contamination in surface waters: seasonal and spatial variations in Teresópolis, Brazil. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 12(2), 192–203. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1974>
- Guan, W., Yin, M., He, T., & Xie, S. (2015). Influence of substrate type on microbial community structure in vertical-flow constructed wetland treating polluted river water. *Environmental*

Science and Pollution Research, 22(20), 16202–16209. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5160-9>

Guelmes Valdés, E., & Nieto Almeida, L. (2015). Algunas reflexiones sobre el enfoque mixto de la investigación pedagógica en el contexto cubano / Some reflections on the mixed approach of pedagogical research in the Cuban context. *Revista Universidad y Sociedad*, 7(1), 23–29. <http://rus.ucf.edu.cu/>

HORIBA Scientific. (s/f). *Duetta. Fluorescence and Absorbance Spectrometer*. Recuperado el 12 de junio de 2024, de <https://www.horiba.com/esp/scientific/products/detail/action/show/Product/duetta-1621/>

Huang, X., Liu, C., Li, K., Su, J., Zhu, G., & Liu, L. (2015). Performance of vertical up-flow constructed wetlands on swine wastewater containing tetracyclines and tet genes. *Water Research*, 70, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.048>

James, J. E. (2011). Caffeine. En B. A. Johnson (Ed.), *Addiction Medicine*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0338-9>

Janet Gil, M., María Soto, A., Iván Usma, J., & Darío Gutiérrez, O. (2012). *Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments Contaminantes emergentes em águas, efeitos e possíveis tratamentos* (Vol. 7, Número 2).

LeChevallier, M. W. (1999). Biofilms in Drinking Water Distribution Systems: Significance and Control. En *Identifying Future Drinking Water Contaminants* (pp. 206–218). National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/9595>

León, G. (2018). *Estudio de la adsorción de irgasán y cafeína utilizando residuos lignocelulósicos Modificados con Óxido de Titanio*. Escuela Politécnica Nacional.

Li, J., Zhou, Q., & Campos, L. C. (2017). Removal of selected emerging PPCP compounds using greater duckweed (*Spirodela polyrhiza*) based lab-scale free water constructed wetland. *Water Research*, 126, 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.002>

Lin, K.-Y. A., & Chen, B.-C. (2021). *Efficient elimination of caffeine from water using Oxone activated by a magnetic and recyclable cobalt/carbon nanocomposite derived from ZIF-67*.

Llagas, W., & Gómez, E. (2006). *A design of an artificial marsh for treating waste water in the UNMSM* (Vol. 15).

Mar da Costa, N. Y., Boaventura, G. R., Mulholland, D. S., Araújo, D. F., Moreira, R. C. A., Faial, K. C. F., & Bomfim, E. de O. (2016). Biogeochemical mechanisms controlling trophic state and micropollutant concentrations in a tropical artificial lake. *Environmental Earth Sciences*, 75(10). <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5629-y>

Maraver, A., & Romero, C. (2007). *Chlorophytum comosum*. Flora ornamental del Campus de Reina Mercedes, Universidad de Sevilla - Ficha nº 52 . https://asignatura.us.es/abotcam/especies/Chlorophytum_comosum.html

Marques, R. R. N., Sampaio, M. J., Carrapiço, P. M., Silva, C. G., Morales-Torres, S., Dražić, G., Faria, J. L., & Silva, A. M. T. (2013). Photocatalytic degradation of caffeine: Developing solutions for emerging pollutants. *Catalysis Today*, 209, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2012.10.008>

- Mendoza, C., & Párraga, A. (2021). *Evaluación de tres tipos humedales artificiales (ornamental, forrajero, alimenticio) como depurador de aguas residuales grises en el bosque de la ESPAM*. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ.
- Merina, M. de la L. (2017). *Mecanismos de Remoción de Materia Orgánica y Nutrientes en un sistema de tratamiento pasivo de aguas residuales municipales* [Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencia y Tecnología en la opción terminal de Ingeniería Ambiental]. Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Molina Arias, M. (2013). Lectura crítica en pequeñas dosis. El significado de los intervalos de confianza. *Revista Pediatría Atención Primaria*, 15(57).
<https://doi.org/https://dx.doi.org/10.4321/S1139-76322013000100016>
- Montenegro, K., Fernández, L., Villamar, C., & Espinoza, P. (2019). Humedales Artificiales y Celdas de Combustibles Microbianas como Sistemas Individuales y Combinados para el Tratamiento de Aguas Residuales: Una Revisión. *infoAnalítica*, 7(2), 15–37.
<https://doi.org/https://doi.org/10.26807/ia.v7i2.100>
- Montes, Ó., Diánez, F., & Camacho, F. (2014). Efecto de dosis de cafeína sobre el desarrollo y el comportamiento de cultivos de pimiento en invernadero. *Horticultura Brasileira*, 32(4), 398–403. <https://doi.org/10.1590/S0102-053620140000400005>
- Morales, G., López, D., Vera, I., & Vidal, G. (2013). Humedales Construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en Aguas Servidas. *Theoria*, 22(1), 33–46.
- Mowbray, S. (2022, febrero). *Caffeine: Emerging contaminant of global rivers and coastal waters*. <https://news.mongabay.com/2022/02/caffeine-emerging-contaminant-of-global-rivers-and-coastal-waters/>
- Na-Ayuthaya, W. P., Wongsontam, K., Sangvichien, N., & Khaenamkaew, P. (2022). Ultrashort Hydraulic Retention Time of Aeration and Nonaeration Constructed Wetlands for a Large Volume of Primary-Treated Wastewater from a Medical Rubber Glove Factory. *International Journal of Ecology*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2407435>
- Nava-Rojas, J., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chávez, M. del R., & Reyes-Velázquez, C. (2023). Pollutant Removal in Subsurface Flow Artificial Wetlands: A Review. *Terra Latinoamericana*, 41, 1–12. <https://doi.org/10.28940/terra.v41i0.1715>
- Nehlig, A. (2018). Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacological Reviews*, 70(2), 384–411.
<https://doi.org/10.1124/pr.117.014407>
- NTE INEN 1108 - AGUA POTABLE. REQUISITOS (2014).
- Ochoa, A. (2021). *Todo lo que debes saber sobre la mala madre*. Condé Nast México.
<https://www.admagazine.com/editors-pick/mala-madre-todo-lo-que-debes-saber-sobre-esta-planta-20210309-8227-articulos>
- Pérez L, M., González, G., & Prado, A. (2011). Selección de Plantas Acuáticas para establecer Humedales Artificiales. *Editorial Académica Española*.

- Petteffi, G. P., Fleck, J. D., Kael, I. M., Rosa, D. C., Antunes, M. V., & Linden, R. (2019). Ecotoxicological risk assessment due to the presence of bisphenol A and caffeine in surface waters in the Sinos River Basin - Rio Grande do Sul - Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 79(4), 712–721. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.189752>
- Pham, V. T. T., Ismail, T., Mishyna, M., Appiah, K. S., Oikawa, Y., & Fujii, Y. (2019). Caffeine: The Allelochemical Responsible for the Plant Growth Inhibitory Activity of Vietnamese Tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze). *Agronomy*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/agronomy9070396>
- Phuong, N. M., Hai, D. T., Thanh, N. Van, & Anh, B. T. K. (2022). Iron and Manganese Removal from Wastewater by Constructed Wetlands Planted with *Caladium bicolor*. *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, 38(2). <https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4861>
- Pollack, K., Balazs, K., & Ogunseitan, O. (2009). Proteomic assessment of caffeine effects on coral symbionts. *Environmental Science and Technology*, 43(6), 2085–2091. <https://doi.org/10.1021/es802617f>
- Portillo, J., & Silva, O. (2020). Preparación y composición de agua residual sintética para ser alimentada en vermifiltros a escala laboratorio. En *Universidad Mariana-Boletín Informativo CEI* (Vol. 6, Número 3).
- Quevedo, H., & Pérez, B. (2014). *Estadística para ingeniería y ciencias* (J. Callejas, Ed.; Primera). Grupo Editorial Patria.
- Ramírez, D., & Rivera, V. (2017). Cafeína como contaminante ambiental. *Revista de Toxicología*, 34(2), 136–142.
- Ramos-Galarza, C. (2021). Editorial: Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica*, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.33210/ca.v10i1.356>
- Reddy, N., & Yang, Y. (2014). Fibers from Sugarcane Bagasse. En *Innovative Biofibers from Renewable Resources* (pp. 29–30). <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45136-6>
- Rodríguez Jiménez, A., & Pérez Jacinto, A. O. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. *Revista Escuela de Administración de Negocios*, 82, 175–195. <https://doi.org/10.21158/01208160.n82.2017.1647>
- Sánchez, A. (2018). *Evaluación de técnicas de oxidación avanzada y adsorción para la eliminación de cafeína en disolución acuosa* [Trabajo Fin de Grado]. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Santos, N., Picolo, V., Domingues, I., Perillo, V., Villacis, R. A. R., Grisolia, C. K., & Oliveira, M. (2023). Effects of environmental concentrations of caffeine on adult zebrafish behaviour: a short-term exposure scenario. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(23), 63776–63787. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26799-4>
- Sauvé, S., & Desrosiers, M. (2014). A review of what is an emerging contaminant. En *Chemistry Central Journal* (Vol. 8). <http://journal.chemistrycentral.com/content/8/1/15>
- Sekarjannah, F. A., Mansur, I., Abidin, Z., & Fauzi, A. M. (2023). Selection of organic matter as a wetland substrate for acid mine drainage treatment. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 13(2), 267–276. <https://doi.org/10.29244/jpsl.13.2.267-276>

- SIEBTECHNIK TEMA B.V. (2020). *Molinos de martillo o de impacto*. Equipamento de laboratorio. <https://www.siebtechnik-tema.nl/es/molinos-de-martillo-o-de-impacto/>
- Singh, K. K., & Vaishya, R. C. (2022). Municipal Wastewater Treatment uses Vertical Flow Followed by Horizontal Flow in a Two-Stage Hybrid-Constructed Wetland Planted with *Calibanus hookeri* and *Canna indica* (Cannaceae). *Water, Air, and Soil Pollution*, 233(12). <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05984-0>
- Sodré, F. F., Santana, J. S., Sampaio, T. R., & Brandão, C. C. S. (2018). Seasonal and spatial distribution of caffeine, atrazine, atenolol and deet in surface and drinking waters from the Brazilian federal district. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(9), 1854–1865. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180061>
- Spongberg, A. L., Witter, J. D., Acuña, J., Vargas, J., Murillo, M., Umaña, G., Gómez, E., & Perez, G. (2011). Reconnaissance of selected PPCP compounds in Costa Rican surface waters. *Water Research*, 45(20), 6709–6717. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.004>
- Surita, K., & Vargas, I. (2015). *Dracaena fragrans*. Jardín Botánico. <https://jardinbotanicoffybb.jimdofree.com/clasificaci%C3%B3n-por-nombre-cient%C3%ADfico/dracaena-fragrans/>
- Taheran, M., Naghdi, M., Brar, S. K., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2018). Emerging contaminants: Here today, there tomorrow! En *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* (Vol. 10, pp. 122–126). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2018.05.010>
- Tang, X., Eke, P. E., Scholz, M., & Huang, S. (2009). Seasonal Variability in Benzene Removal by Vertical-Flow Constructed Wetland Filters. *Water, Air, and Soil Pollution*, 202(1–4), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9974-7>
- Travaini-Lima, F., & Sipaúba-Tavares, L. H. (2012). Efficiency of a constructed wetland for wastewaters treatment. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 24(3), 255–265. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2012005000043>
- Varanasi, A., Prasad, P. V. V., & Jugulam, M. (2016). Impact of Climate Change Factors on Weeds and Herbicide Efficacy. En *Advances in Agronomy* (Vol. 135, pp. 107–146). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.09.002>
- Vargas, E. (2017). *Fibra del Bagazo de la Caña de Azúcar*. <https://www.slideshare.net/slideshow/paper-fibradelbagazodelacaadeazucar/78876446>
- Vargas, R. (2021). *Evaluación de la eficiencia de un humedal artificial de flujo vertical con Chrysopogon zizanioides para el tratamiento de aguas grises en la urbanización El Cóndor-Callao, 2021*. Universidad César Vallejo.
- Vega, G., Ávila, J., Vega, A., Camacho, N., Becerril, A., & Leo, G. (2014). *PARADIGMAS EN LA INVESTIGACIÓN. ENFOQUE CUANTITATIVO Y CUALITATIVO* (Vol. 10, Número 15).
- Vega, R. (2021). *Evaluación preliminar (a nivel laboratorio) del efecto de la materia extraña de la caña sobre la recuperación de sacarosa*. <https://cengicana.org/files/20210802085310397.pdf>

- Vela, I. (2020). *Estudio de la degradación de cafeína presente en aguas mediante la aplicación de ferrato de potasio*. Universidad Zaragoza.
- Villegas, E. (2018). *Remoción de Fósforo y Nitrógeno de Aguas Residuales Domésticas, mediante Humedales Artificiales de Flujo Vertical empleando Antrasita y Tereftalato de Polietileno, en la localidad de Toma, Carhuaz – Ancash*. Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo”.
- Xu, D., Gu, J., Li, Y., Zhang, Y., Howard, A., Guan, Y., Li, J., & Xu, H. (2016). Purifying capability, enzyme activity, and nitrification potentials in December in integrated vertical flow constructed wetland with earthworms and different substrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 273–281. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5734-6>
- Zambrano-Barragán, C., Zevallos, O., Villacís, M., & Enríquez, D. (2011). Quito’s Climate Change Strategy: A Response to Climate Change in the Metropolitan District of Quito, Ecuador. En *Resilient Cities* (pp. 515–529). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0785-6_51
- Zamora, G., Gutiérrez, C., Mistretta, G., Peralta, F., Golato, M., Ruiz, M., & Paz, D. (2016). Determinación del contenido de humedad del bagazo de caña de azúcar por medio de microondas. *Revista industrial y agrícola de Tucumán*, 93(2), 7–12. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182016000200002
- Zhang, D., Luo, J., Lee, Z. M. P., Gersberg, R. M., Liu, Y., Tan, S. K., & Ng, W. J. (2016). Characterization of microbial communities in wetland mesocosms receiving caffeine-enriched wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(14), 14526–14539. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6586-4>
- Zhou, S., Di Paolo, C., Wu, X., Shao, Y., Seiler, T. B., & Hollert, H. (2019). Optimization of screening-level risk assessment and priority selection of emerging pollutants – The case of pharmaceuticals in European surface waters. *Environment International*, 128, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.034>

5. ANEXOS

ANEXO I

Número y tamaño de hojas y raíces de la Dracaena Fragrans usados para la segunda prueba de toxicidad

Cód.	Hojas			Raíz		
	Pequeña (cm)	Grande (cm)	Conteo	Pequeña (cm)	Grande (cm)	Conteo
1C	5	20.5	18	1.3	17	12
2C	3.5	16	21	3	8	14
3C	4	15	20	2.5	7.2	16
4C	3	18.2	21	3.5	11.5	14
5C	3.4	14.5	17	3.5	14	6
6C	7	16.7	27	4.3	22	5
1B	4.5	17.5	15	2	10	18
2B	3	18.8	19	2.5	18.5	20
3B	4	20	19	2	14	24
4B	4.6	16.8	14	2	13	18
5B	6.4	19.8	17	2	9.5	12
6B	2.5	16	17	2.5	12	14
1A	4.5	20.9	18	3	15	7
2A	6	18.4	15	5	12.5	11
3A	3.6	17.2	19	2.6	13.5	8
4A	3	19.6	17	4	15.5	14
5A	7.5	20.3	27	1.5	7	14

ANEXO II

Tabla 21. Tamaños de hojas y raíces iniciales

Nombre	Raíz		Hoja		Observaciones
	Pequeña (cm)	Grande (cm)	Pequeña (cm)	Grande (cm)	
1C	1.5	17.5	6.5	22.5	
2C	2.8	8.5	3	18.1	rojo
3C	2	7.5	6	16	3 ramas
4C	3.5	12	3	18.6	
5C	4	12.5	4.7	17	sale
6C	4.5	21.7	7.4	18.2	3 ramas
1B	3	10	4.5	19.2	
2B	4	19	5	18.2	
3B	2.2	14.6	4.5	20.6	

4B	2.5	12	6.5	17.5	fondo muy blando
5B	2.1	9.3	6.5	20	
6B	3	9.8	4	18	
1A	1.5	16.2	4.1	22.5	
2A	2.4	13.5	5.7	20	
3A	3	14	5.2	18.2	tronco seco, falta 1 parte
4A	5	15.8	5	20.5	
5A	6	7.5	9	20.5	3 ramas

ANEXO III

Tabla 22. Efectos sobre las raíces de las plantas debido a la exposición a la cafeína

Cl (ppm)	Nº	Nombre	Raíz Pequeña (cm)			Raíz Grande (cm)		
			01/04/2024	05/04/2024	Diferencia	01/04/2024	05/04/2024	Diferencia
0	1	1C	1.5	2.9	1.4	17.5	18.3	0.8
0	2	5B	2.1	2.5	0.4	9.3	10.5	1.2
0	3	4B	2.5	2.5	0	12	13	1
5	1	4A	5	5	0	15.8	16	0.2
5	2	2A	2.4	3	0.6	13.5	14	0.5
5	3	2B	4	4.3	0.3	19	19.8	0.8
10	1	1A	1.5	2	0.5	16.2	17.1	0.9
10	2	5C	4	4	0	12.5	13	0.5
10	3	3B	2.2	2.6	0.4	14.6	15	0.4
25	1	3C	2	3.5	1.5	7.5	8.1	0.6
25	2	4C	3.5	4	0.5	12	13	1
25	3	6B	3	3.3	0.3	9.8	11	1.2
50	1	5A	6	7	1	7.5	8	0.5
50	2	6C	4.5	5	0.5	21.7	23	1.3
50	3	1B	3	3.5	0.5	10	10.5	0.5

Tabla 23. Efectos sobre las hojas de las plantas debido a la exposición a la cafeína

Cl (ppm)	Nº	Nombre	Hoja Pequeña (cm)			Hoja Grande (cm)		
			01/04/2024	05/04/2024	Diferencia	01/04/2024	05/04/2024	Diferencia
0	1	1C	6.5	7.5	1	22.5	22.8	0.3
0	2	5B	6.5	8	1.5	20	21.5	1.5
0	3	4B	6.5	7.8	1.3	17.5	18.5	1
5	1	4A	5	7.5	2.5	20.5	21.2	0.7
5	2	2A	5.7	7	1.3	20	20.3	0.3
5	3	2B	5	5.5	0.5	18.2	19	0.8
10	1	1A	4.1	6	1.9	22.5	23	0.5
10	2	5C	4.7	6	1.3	17	17	0

10	3	3B	4.5	6	1.5	20.6	22	1.4
25	1	3C	6	8	2	16	16	0
25	2	4C	3	5	2	18.6	20	1.4
25	3	6B	4	5	1	18	18	0
50	1	5A	9	9.5	0.5	20.5	21.5	1
50	2	6C	7.4	10	2.6	18.2	20	1.8
50	3	1B	4.5	6.8	2.3	19.2	20	0.8

ANEXO IV

Concentraciones de cafeína en la semana de la segunda prueba de toxicidad con Dracaena fragrans

CI	N°	Lunes (inicial)		Martes			Miércoles			Jueves			Viernes		
		Abs. *	Conc.**	Abs.	Conc.	Rem.***	Abs.	Conc.	Rem.	Abs.	Conc.	Rem.	Abs.	Conc.	Rem.
5 ppm	1	0.232800	4.79653	0.22511	4.62589	0.17	0.20465	4.17173	0.62	0.05597	0.87212	3.92	0.01998	0.07342	4.72
	2			0.22893	4.71069	0.09	0.21421	4.38392	0.41	0.08638	1.54701	3.25	0.01680	0.00284	4.79
	3			0.22230	4.56342	0.23	0.22110	4.53689	0.26	0.13678	2.66556	2.13	0.10563	1.97420	2.82
10 ppm	1	0.5026	10.7842	0.47128	10.08909	0.70	0.39912	8.48774	2.30	0.38466	8.16674	2.62	0.32659	6.87799	3.91
	2			0.47403	10.15010	0.63	0.45719	9.77633	1.01	0.33670	7.10241	3.68	0.23974	4.95055	5.83
	3			0.49319	10.57541	0.21	0.47586	10.19067	0.59	0.44426	9.48951	1.29	0.41690	8.88222	1.90
25 ppm	1	1.177530	25.76292	1.16253	25.43003	0.33	1.13802	24.88608	0.88	1.00977	22.03983	3.72	1.00752	21.98989	3.77
	2			1.16475	25.47930	0.28	1.15139	25.18280	0.58	1.08157	23.63328	2.13	0.83810	18.23004	7.53
	3			1.17530	25.71343	0.05	1.14128	24.95843	0.80	0.91847	20.01360	5.75	0.71830	15.57128	10.19
50 ppm	1	2.252300	49.61529	2.23717	49.27951	0.34	2.22687	49.05093	0.56	2.17046	47.79902	1.82	2.11290	46.52159	3.09
	2			2.23933	49.32745	0.29	2.23242	49.17410	0.44	2.10667	46.38333	3.23	1.99454	43.89483	5.72
	3			2.22514	49.01253	0.60	2.22117	48.92443	0.69	2.08046	45.80165	3.81	1.94357	42.76365	6.85

* Absorbancia

**Concentración

*** Remoción de cafeína

ANEXO V

Tabla 24. Granulometria de la grava gruesa y fina

Curva granulométrica para grava gruesa			
Tamiz	Abertura de tamiz (mm)	Porcentaje que pasó (%)	Porcentaje retenido (%)
1 1/2 in	37.5	100	0
1 in	25	88.2	11.8
3/4 in	19	63.3	24.9
1/2 in	12.5	13.4	49.9
3/8 in	9.5	5.6	7.8
N° 4	4.75	4	1.6
N° 8	2.36	3.7	0.3
Bandeja		0	3.7
Curva granulométrica para grava fina			
Tamiz	Abertura de tamiz (mm)	Porcentaje que pasó (%)	Porcentaje retenido (%)
3/4 in	19	100	0
1/2 in	12.5	98.9	1.1
3/8 in	9.5	77.6	21.3
N° 4	4.75	19.7	57.9
N° 8	2.36	2.3	17.4
N° 16	1.18	0.3	2
N° 32	0.3	0.2	0.1
Bandeja		0	0.2

ANEXO VI

		J1	J2	J3	J4
SEMANA 1					
INICIAL Do (07/05/2024)	Abs	1.5581			
	C (ppm)	34.23333			
Iniciales D1 (07/05/2024)	Abs CC	0.300346	0.266666	0.217897	0.286686
	C-CC (ppm)	6.283244	5.5348	4.451044	5.979689
Finales D2 (08/05/2024)	Abs CC	0.528	0.4211	0.425	0.3852
	C-CC (ppm)	11.34222	8.966667	9.053333	8.168889
INICIAL Do3 (10/05/2024)	Abs	1.45303			
	C (ppm)	31.89844			
Iniciales D3 (10/05/2024)	Abs CC	0.574913	0.473618	0.475467	0.451335
	C-CC (ppm)	12.38473	10.13373	10.17482	9.638556
	Abs CC	0.575731	0.718934	0.597447	0.516728

Finales D4 (11/05/2024)	C-CC (ppm)	12.40291	15.5852	12.88549	11.09173
SEMANA 2					
INICIAL Do (14/05/2024)	Abs	1.49186			
	C (ppm)	32.76133			
Iniciales D1 (14/05/2024)	Abs CC	0.66526	0.567377	0.421054	0.440505
	C-CC (ppm)	14.39244	12.21727	8.965644	9.397889
Finales D2 (15/05/2024)	Abs CC	0.79128	0.79561	0.598435	0.563649
	C-CC (ppm)	17.19289	17.28911	12.90744	12.13442
INICIAL Do3 (17/05/2024)	Abs	1.47538			
	C (ppm)	32.39511			
Iniciales D3 (17/05/2024)	Abs CC	0.568515	0.420197	0.365735	0.435818
	C-CC (ppm)	12.24256	8.9466	7.736333	9.293733
Finales D4 (18/05/2024)	Abs CC	0.701633	0.729555	0.598969	0.645113
	C-CC (ppm)	15.20073	15.82122	12.91931	13.94473
SEMANA 3					
INICIAL Do (21/05/2024)	Abs	1.47522			
	C (ppm)	32.39156			
Iniciales D1 (21/05/2024)	Abs CC	0.742817	0.658212	0.889066	0.872583
	C-CC (ppm)	16.11593	14.23582	19.36591	18.99962
Finales D2 (22/05/2024)	Abs CC	0.856548	0.982238	0.890671	0.861022
	C-CC (ppm)	18.64329	21.4364	19.40158	18.74271
INICIAL Do3 (24/05/2024)	Abs	1.47523			
	C (ppm)	32.39178			
Iniciales D3 (24/05/2024)	Abs CC	0.856752	0.634151	0.607878	0.707986
	C-CC (ppm)	18.64782	13.70113	13.11729	15.34191
Finales D4 (25/05/2024)	Abs CC	0.999806	1.07152	0.85937	0.913423
	C-CC (ppm)	21.8268	23.42044	18.706	19.90718
SEMANA 4					
INICIAL Do (28/05/2024)	Abs	1.45851			
	C (ppm)	32.02022			
Iniciales D1 (28/05/2024)	Abs CC	0.795741	0.660222	0.548397	0.682603
	C-CC (ppm)	17.29202	14.28049	11.79549	14.77784
Finales D2 (29/05/2024)	Abs CC	0.914553	0.97724	0.800652	0.81375
	C-CC (ppm)	19.93229	21.32533	17.40116	17.69222
INICIAL Do3 (31/05/2024)	Abs	1.4533			
	C (ppm)	31.90444			
Iniciales D3 (31/05/2024)	Abs CC	0.844772	0.868323	0.522027	0.552645
	C-CC (ppm)	18.3816	18.90496	11.20949	11.88989
Finales D4 (01/06/2024)	Abs CC	0.911952	1.11007	0.74064	0.792708
	C-CC (ppm)	19.87449	24.27711	16.06756	17.22462
SEMANA 5					
INICIAL Do (04/06/2024)	Abs	1.45608			
	C (ppm)	31.96622			

Iniciales D1 (04/06/2024)	Abs CC	0.568004	0.591348	0.463726	0.499071
	C-CC (ppm)	12.2312	12.74996	9.913911	10.69936
Finales D2 (05/06/2024)	Abs CC	0.927242	1.01919	0.786121	0.816951
	C-CC (ppm)	20.21427	22.25756	17.07824	17.76336
INICIAL Do3 (07/06/2024)	Abs	1.44324			
	C (ppm)	31.68089			
Iniciales D3 (07/06/2024)	Abs CC	0.787991	0.833992	0.753598	0.749864
	C-CC (ppm)	17.1198	18.14204	16.35551	16.27253
Finales D4 (08/06/2024)	Abs CC	0.983157	0.99915	0.886149	0.724279
	C-CC (ppm)	21.45682	21.81222	19.30109	15.70398
SEMANA 6					
INICIAL Do (04/06/2024)	Abs	1.40629			
	C (ppm)	30.85978			
Iniciales D1 (04/06/2024)	Abs CC	0.639829	0.403019	0.407064	0.393055
	C-CC (ppm)	13.82731	8.564867	8.654756	8.343444
Finales D2 (05/06/2024)	Abs CC	0.885935	0.777058	0.726707	0.648172
	C-CC (ppm)	19.29633	16.87684	15.75793	14.01271
INICIAL Do3 (07/06/2024)	Abs	1.45971			
	C (ppm)	32.04689			
Iniciales D3 (07/06/2024)	Abs CC	0.515646	0.539936	0.501264	0.488307
	C-CC (ppm)	11.06769	11.60747	10.74809	10.46016
Finales D4 (08/06/2024)	Abs CC	0.825651	0.844499	0.852145	0.704467
	C-CC (ppm)	17.95669	18.37553	18.54544	15.26371
SEMANA 7					
INICIAL Do (18/06/2024)	Abs	1.46951			
	C (ppm)	32.26467			
Iniciales D1 (18/06/2024)	Abs CC	0.510607	0.46293	0.406874	0.421342
	C-CC (ppm)	10.95571	9.896222	8.650533	8.972044
Finales D2 (19/06/2024)	Abs CC	0.787395	0.744914	0.771978	0.67889
	C-CC (ppm)	17.10656	16.16253	16.76396	14.69533
INICIAL Do3 (21/06/2024)	Abs	1.3631			
	C (ppm)	29.9			
Iniciales D3 (21/06/2024)	Abs CC	0.460561	0.528881	0.336652	0.462774
	C-CC (ppm)	9.843578	11.3618	7.090044	9.892756
Finales D4 (22/06/2024)	Abs CC	0.730013	0.791721	0.627106	0.635938
	C-CC (ppm)	15.8314	17.20269	13.54458	13.74084
SEMANA 8					
INICIAL Do (25/06/2024)	Abs	1.44807			
	C (ppm)	31.78822			
Iniciales D1 (25/06/2024)	Abs CC	0.40781	0.487301	0.331935	0.421575
	C-CC (ppm)	8.671333	10.4378	6.985222	8.977222
Finales D2 (26/06/2024)	Abs CC	0.77486	0.795158	0.840179	0.727686
	C-CC (ppm)	16.828	17.27907	18.27953	15.77969
	Abs	1.46361			

INICIAL Do3 (28/06/2024)	C (ppm)	32.13356			
Iniciales D3 (28/06/2024)	Abs CC	0.669911	0.569551	0.338727	0.3804
	C-CC (ppm)	14.4958	12.26558	7.136156	8.062222
Finales D4 (29/06/2024)	Abs CC	0.801326	0.851644	0.705708	0.535564
	C-CC (ppm)	17.41613	18.53431	15.29129	11.51031
SEMANA 9					
INICIAL Do (25/06/2024)	Abs	1.4017			
	C (ppm)	30.75778			
Iniciales D1 (25/06/2024)	Abs CC	0.561657	0.497616	0.369917	0.425002
	C-CC (ppm)	12.09016	10.66702	7.829267	9.053378
Finales D2 (26/06/2024)	Abs CC	0.861526	0.831454	0.813839	0.696909
	C-CC (ppm)	18.75391	18.08564	17.6942	15.09576
INICIAL Do3 (28/06/2024)	Abs	1.46689			
	C (ppm)	32.20644			
Iniciales D3 (28/06/2024)	Abs CC	0.527065	0.476071	0.390583	0.356908
	C-CC (ppm)	11.32144	10.18824	8.288511	7.540178
Finales D4 (29/06/2024)	Abs CC	0.880982	0.862946	0.842211	0.713721
	C-CC (ppm)	19.18627	18.78547	18.32469	15.46936

ANEXO VII

Tabla 25. Concentración de cafeína durante el monitoreo

SEMANTAS	CON 1H DE TIEMPO DE RETENCIÓN				CON 24H DE TIEMPO DE RETENCIÓN			
	CON PLANTAS		SIN PLANTAS		CON PLANTAS		SIN PLANTAS	
	J1_1H	J2_1H	J3_1H	J4_1H	J1_24H	J2_24H	J3_24H	J4_24H
SEMANTA 1	6.2832	5.5348	4.4510	5.9797	11.3422	8.9667	9.0533	8.1689
	12.3847	10.1337	10.1748	9.6386	12.4029	15.5852	12.8855	11.0917
SEMANTA 2	14.3924	12.2173	8.9656	9.3979	17.1929	17.2891	12.9074	12.1344
	12.2426	8.9466	7.7363	9.2937	15.2007	15.8212	12.9193	13.9447
SEMANTA 3	16.1159	14.2358	19.3659	18.9996	18.6433	21.4364	19.4016	18.7427
	18.6478	13.7011	13.1173	15.3419	21.8268	23.4204	18.7060	19.9072
SEMANTA 4	17.2920	14.2805	11.7955	14.7778	19.9323	21.3253	17.4012	17.6922
	18.3816	18.9050	11.2095	11.8899	19.8745	24.2771	16.0676	17.2246
SEMANTA 5	12.2312	12.7500	9.9139	10.6994	20.2143	22.2576	17.0782	17.7634
	17.1198	18.1420	16.3555	16.2725	21.4568	21.8122	19.3011	15.7040
SEMANTA 6	13.8273	8.5649	8.6548	8.3434	19.2963	16.8768	15.7579	14.0127
	11.0677	11.6075	10.7481	10.4602	17.9567	18.3755	18.5454	15.2637
SEMANTA 7	10.9557	9.8962	8.6505	8.9720	17.1066	16.1625	16.7640	14.6953
	9.8436	11.3618	7.0900	9.8928	15.8314	17.2027	13.5446	13.7408
SEMANTA 8	8.6713	10.4378	6.9852	8.9772	16.8280	17.2791	18.2795	15.7797
	14.4958	12.2656	7.1362	8.0622	17.4161	18.5343	15.2913	11.5103

SEMANA 9	12.0902	10.6670	7.8293	9.0534	18.7539	18.0856	17.6942	15.0958
	11.32144	10.18824	8.28851	7.54018	19.1863	18.7855	18.3247	15.4694

ANEXO VIII

Tabla 26. Eficiencias de remoción de cafeína durante el monitoreo

SEMANAS	CON 1H DE TIEMPO DE RETENCIÓN				CON 24H DE TIEMPO DE RETENCIÓN			
	CON PLANTAS		SIN PLANTAS		CON PLANTAS		SIN PLANTAS	
	J1	J2	J3	J4	J1	J2	J3	J4
SEMANA 1	0.8165	0.8383	0.8700	0.8253	0.6687	0.7381	0.7355	0.7614
	0.6117	0.6823	0.6810	0.6978	0.6112	0.5114	0.5960	0.6523
SEMANA 2	0.5607	0.6271	0.7263	0.7131	0.4752	0.4723	0.6060	0.6296
	0.6221	0.7238	0.7612	0.7131	0.5308	0.5116	0.6012	0.5695
SEMANA 3	0.5025	0.5605	0.4021	0.4134	0.4244	0.3382	0.4010	0.4214
	0.4243	0.5770	0.5950	0.5264	0.3262	0.2770	0.4225	0.3854
SEMANA 4	0.4600	0.5540	0.6316	0.5385	0.3775	0.3340	0.4566	0.4475
	0.4239	0.4075	0.6487	0.6273	0.3771	0.2391	0.4964	0.4601
SEMANA 5	0.6174	0.6011	0.6899	0.6653	0.3676	0.3037	0.4657	0.4443
	0.4596	0.4274	0.4837	0.4864	0.3227	0.3115	0.3908	0.5043
SEMANA 6	0.5519	0.7225	0.7195	0.7296	0.3747	0.4531	0.4894	0.5459
	0.6546	0.6378	0.6646	0.6736	0.4397	0.4266	0.4213	0.5237
SEMANA 7	0.6604	0.6933	0.7319	0.7219	0.4698	0.4991	0.4804	0.5445
	0.6708	0.6200	0.7629	0.6691	0.4705	0.4247	0.5470	0.5404
SEMANA 8	0.7272	0.6716	0.7803	0.7176	0.4706	0.4564	0.4250	0.5036
	0.5489	0.6183	0.7779	0.7491	0.4580	0.4232	0.5241	0.6418
SEMANA 9	0.6069	0.6532	0.7455	0.7057	0.3903	0.4120	0.4247	0.5092
	0.64847	0.68366	0.74264	0.76588	0.4043	0.4167	0.4310	0.5197

ANEXO IX

Tabla 27. Eficiencias promedio de los duplicados para cada TR

TR 1H		TR 24H	
CON PLANTAS	SIN PLANTAS	CON PLANTAS	SIN PLANTAS
PROMEDIO_J1J2 (CP_1H)	PROMEDIO_J3J4 (SP_1H)	PROMEDIO_J1J2 (CP_24H)	PROMEDIO_J3J4 (SP_24H)
0.8274	0.8477	0.7034	0.7485
0.6470	0.6894	0.5613	0.6242
0.5939	0.7197	0.4737	0.6178
0.6730	0.7372	0.5212	0.5854
0.5315	0.4078	0.3813	0.4112
0.5007	0.5607	0.3016	0.4040

0.5070	0.5851	0.3558	0.4520
0.4157	0.6380	0.3081	0.4783
0.6093	0.6776	0.3357	0.4550
0.4435	0.4851	0.3171	0.4475
0.6372	0.7246	0.4139	0.5176
0.6462	0.6691	0.4331	0.4725
0.6769	0.7269	0.4844	0.5125
0.6454	0.7160	0.4476	0.5437
0.6994	0.7489	0.4635	0.4643
0.5836	0.7635	0.4406	0.5830
0.6301	0.7256	0.4011	0.4670
0.6661	0.7543	0.4105	0.4754