

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 PET RECICLADO COMO MEDIO DE SOPORTE**

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

RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA

ruth.vicuna@epn.edu.ec

DIRECTOR: MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL

maría.aldas@epn.edu.ec

DMQ, julio 2024

CERTIFICACIONES

Yo, RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA 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.

RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA, bajo mi supervisión.

MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL
DIRECTOR

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.

RUTH ABIGAIL VICUÑA ORTEGA

MARÍA BELÉN ALDÁS SANDOVAL

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a mi familia, que han sido incondicionales en este camino y sin ellos no hubiese sido posible. A mi hermana Anita quien siempre será un ejemplo para mí.

A mi persona, Walter, porque llegaste a mi vida a llenarla de paz y estabilidad, por toda tu ayuda, guía y ánimos al final de este trayecto. Espero contar contigo en el resto del camino amor.

A mis amigas y compañeras de proyecto, con quienes trabajamos incansablemente y solo nosotras sabemos cuánto nos costó llevar a cabo este proyecto, y con quiénes he compartido tanto, gracias por su amistad y paciencia.

Y a mí misma, por no haber tenido miedo de empezar de nuevo y encontrar una carrera que me apasione, espero nunca perder el valor para arriesgarme y dejar lugares donde no soy feliz.

AGRADECIMIENTO

A mis padres, por apoyarme en cada paso que doy, brindándome todo aquello que tienen con amor. A mis hermanas y hermano por estar allí incondicionalmente, y a mis sobrinos que, a pesar de no ser tan paciente, los amo mucho.

Quiero agradecer de forma especial a la Ing. Mabe, quien nos guió y apoyo en este trabajo con paciencia y cariño, siendo una docente que te enseña más allá de la asignatura.

A mi novio Walter, por tu amor, tiempo, ánimo, compañía, paciencia y apoyo en los momentos de mayor estrés, gracias por enseñarme a construir algo sano, bonito y estable.

A todas las personas que formaron parte de mi vida universitaria de una u otra forma, especialmente a mis amigos Salo, Jenni, Carlitos, Nico, Bryan, Mafer y Joss, por hacer de la u un espacio bonito, por su cariño y por todo lo que compartimos, siempre podrán contar conmigo, los quiero mucho.

Al corito que me saco de la monotonía, lleno mi vida de arte, y me permitió conocer personas increíblemente divertidas, las cuales siempre van a tener un espacio en mi vida.

A los Inges del labo LDIA, y a la Ing. Jennifer por su apoyo en los ensayos de laboratorio y guía en nuestras dudas y dificultades. También al CICAM y LEMSUR que nos brindó soporte.

A aquellos profes que me hicieron amar la carrera por su forma de enseñar.

Y al final, pero no menos importante, a mis gatitas que estuvieron conmigo en todo este camino, reduciendo mi estrés y llenándome de amor, y que en la virtualidad fueron mis compañeras de clases.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIONES.....	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO.....	1
1.1 Objetivo general.....	3
1.2 Objetivos específicos.....	3
1.3 Alcance	3
1.4 Marco teórico.....	4
1.4.1. Contaminantes emergentes	4
1.4.2 Cafeína	6
1.4.3 Humedales construidos.....	7
1.4.4 Medio de soporte: PET	11
2. METODOLOGÍA.....	13
2.1 Descripción del área de experimentación	13
2.2 Pruebas de toxicidad preliminares de la vegetación	14
2.3 Determinación de la concentración de cafeína.....	16
2.4 Diseño y construcción del sistema	17
2.4.1 Preparación del medio de soporte	17
2.4.2 Caracterización del medio de soporte	19
2.4.3 Diseño del humedal de flujo subsuperficial vertical (HFSSV).....	22
2.4.4 Monitoreo del sistema	26
2.5 Pruebas estadísticas	29
3. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
3.1 Resultados	31
3.1.1 Monitoreo del área de experimentación	31
3.1.2 Curva de calibración.....	32
3.1.3 Selección de la vegetación	32
3.1.4 Caracterización del medio de soporte	34
3.1.5 Pruebas de toxicidad tronco de la felicidad	35
3.1.6 Caracterización de la solución de cafeína	38
3.1.7 Monitoreo de los humedales	38
3.2 Conclusiones	51

3.3	Recomendaciones	53
4.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
5.	ANEXOS.....	1
	Anexo I. Plano del humedal vertical de flujo subsuperficial.....	1
	Anexo II. Resultados de ensayo de toxicidad tronco de la felicidad.....	3
	Anexo III. Monitoreo y cambios en los humedales durante la experimentación.	6

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Configuración química de la cafeína	6
Figura 2. Diagrama del sistema de humedal construido	10
Figura 3. Resultado de análisis SEM a la superficie de membranas de botellas PET.	12
Figura 4. Metodología del proyecto.....	13
Figura 5. Zonificación preliminar para la implementación de los HC.	14
Figura 6. Ensayos de toxicidad preliminares.	16
Figura 7. Sistema para tiras de botellas PET	17
Figura 8. Proceso de adecuación del PET.	18
Figura 9. Tiras de PET de medio de soporte.	18
Figura 10. Tamizaje manual casero.	19
Figura 11. Ensayo de densidad aparente del PET.	19
Figura 12. Peso en seco del PET, ensayo de absorción.....	20
Figura 13. Homogenización y cuarteo del grava.	20
Figura 14. Requerimientos de tamizado en agregados gruesos, ASTM C33.....	21
Figura 15. Tamizaje y pesaje de la grava.	21
Figura 16. Distribución del medio de soporte en el HFSSV.	22
Figura 17. Esquema del humedal construido.	23
Figura 18. Fotografía de los humedales construidos.....	24
Figura 19. Reservorio de agua.	25
Figura 20. Reactivo de cafeína anhidra al 99%.	26
Figura 21. Espectrofotómetro UV-VIS.....	28
Figura 22. Muestras al séptimo día, semana 1.....	29
Figura 23. Proceso de centrifugado de las muestras.	29
Figura 24. Prueba estadística en función del objetivo y escala de medición de las variables.....	30
Figura 25. Curva de calibración.	32
Figura 26. Formación de hongos en los ensayos de toxicidad.	33
Figura 27. Curva granulométrica grava fina.....	34
Figura 28. Curva granulométrica grava gruesa.	35
Figura 29. Variaciones en hojas y raíces debido a ensayos toxicológicos.	36
Figura 30. Comportamiento de la remoción VS la semana, según el día de monitoreo. ..	40
Figura 31. Comportamiento de la remoción VS el día, según la semana de monitoreo. ..	42
Figura 32. Curva del porcentaje de remoción en la semana 6 (R1).....	43
Figura 33. Gráficas del monitoreo de los parámetros físicos y químicos.....	46
Figura 34. Filtros del ensayo de sólidos suspendidos.	47
Figura 35. Formación de algas humedal R1 y R4.	48
Figura 37. Formación de biofilm en el medio de soporte.	49

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de humedales construidos.	9
Tabla 2. Vegetación para ensayos preliminares de toxicidad.	15
Tabla 3. Ensayos realizados en la experimentación.	27
Tabla 4. Métodos utilizados para los parámetros monitoreados.	27
Tabla 5. Pruebas estadísticas por parejas de humedales.	30
Tabla 6. Monitoreo de temperatura y humedal.	31
Tabla 7. Valores curva de calibración.	32
Tabla 8. Datos de granulometría de la grava fina.	34
Tabla 9. Datos de granulometría de la grava gruesa.	35
Tabla 10. Pruebas de remoción de cafeína.	37
Tabla 11. Calidad del agua de la solución sintética de cafeína.	38
Tabla 12. Monitoreo de plantas de los humedales.	38
Tabla 13. Resultados de la remoción (%) de cafeína.	39
Tabla 14. Resultados del monitoreo- Semana 6	43
Tabla 15. Promedios de remoción durante todo el monitoreo.	43
Tabla 16. Estudios de adsorción de cafeína	44
Tabla 17. Monitoreo de parámetros físico y químicos.	45
Tabla 18. Estudios de tratamientos para afluentes de cafeína.	50

RESUMEN

La incorporación de contaminantes emergentes sin regulación en el ambiente, como la cafeína, tienen una gran influencia sobre los ecosistemas acuáticos, causando alteraciones en seres vivos y sobre el balance ambiental. En torno a esto se planteó usar humedales subsuperficiales de flujo vertical para tratar una solución sintética de 30 ppm de cafeína, implementando como medio de soporte tereftalato de polietileno (PET) obtenido de botellas plásticas. Además, se estudió la influencia de la planta ornamental *Dracaena fragrans* en el sistema, realizando ensayos por duplicado con (R1 y R2) y sin plantas (R3 y R4), los humedales se realizaron en batch con un TRH de 7 días, a los cuales se les dosificó un volumen de 16 L de solución de cafeína por goteo en una hora, y durante 10 semanas. Las eficiencias de remoción se cuantificaron mediante espectrofotometría UV-VIS, a la par de la evaluación de características físico-químicas de la calidad del agua para monitorear el comportamiento de los humedales. De este estudio se obtuvo que el PET es un medio de soporte favorable para la remoción de cafeína, gracias a que facilita la formación de biofilm, logrando remociones promedio al día 7 del 99%, 98%, 97% y 92%, para R4, R1, R2, y R3, respectivamente. En concordancia con estos resultados se evidenció estadísticamente que la vegetación no tuvo una influencia significativa en la eficiencia del sistema ($p < 0.05$). Los parámetros de calidad del agua no se alteraron significativamente, ya que fueron inferiores al LMP durante la experimentación.

PALABRAS CLAVE: Humedales construidos, PET, cafeína, contaminante emergente, biopelícula.

ABSTRACT

The introduction of emerging contaminants into the environment, such as caffeine, has a significant impact on aquatic ecosystems, causing disruptions to living organisms and environmental balance. In response, constructed wetlands with vertical subsurface flow used to treat a synthetic solution containing 30 ppm of caffeine, utilizing polyethylene terephthalate (PET) obtained from plastic bottles as a supporting medium. Additionally, the influence of ornamental plants *Dracaena fragrans* in the system was investigated through duplicate trials with (R1 and R2) and without (R3 and R4) plants. The wetlands were operated in batch mode with a HRT of 7 days, receiving a 16 L volume of caffeine solution per drip in one hour, over a period of 10 weeks. Removal efficiencies were quantified using UV-VIS spectrophotometry and, at the same time, physicochemical parameters of water quality were analyzed to monitor wetland performance. The study found that PET is an effective support medium for caffeine removal, because promoting biofilm formation, achieving removal rates at day 7 of 99%, 98%, 97% and 92% for R4, R1, R2, and R3, respectively. In accordance with these results, it was statistically demonstrated that vegetation had no significant impact on system efficiency ($p < 0.05$). Water quality parameters did not change significantly, as they were below the LMP during the experimentation.

KEYWORDS: Constructed wetlands, PET, caffeine, emerging contaminant, biofilm.

1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO

En la actualidad, un tema de gran interés son los contaminantes emergentes (CE), que son compuestos con orígenes y características químicas diferentes a los contaminantes convencionales, que no se remueven en los distintos procesos de tratamiento de aguas residuales (Bermúdez y Torres, 2019). Aunque estos contaminantes no están regulados en la actualidad, podrían estarlo en el futuro a medida que se realicen más investigaciones sobre sus posibles impactos en la salud y el medio ambiente, así como su frecuencia de aparición. Es importante destacar que los CE no necesitan ser persistentes para causar efectos adversos en el medio ambiente, pues su rápida transformación o remoción se compensa con su frecuente introducción al entorno (Ramírez & Rivera, 2017). Entre los compuestos más relevantes están los surfactantes, productos de cuidado personal, esteroides, fármacos, hormonas, antisépticos, aditivos de combustible e industriales, y subproductos generados durante la desinfección del agua (Herrera, 2016).

La cafeína es un tipo de contaminante emergente que se ha identificado como un marcador antropogénico en la contaminación de aguas superficiales, debido a su origen mayormente antrópico y su elevado consumo, que a nivel mundial promedia 177,69 mg por persona por día. Posteriormente, sus residuos se incorporan a los cuerpos de agua, y según estudios realizados en algunas localidades de España, se encontró una concentración de cafeína de 13167 ng/L en agua superficial, 3840 ng/L en influentes y 75 ng/L en agua potable (Korekar et al., 2020; Ramírez & Rivera, 2017).

A pesar de que la cafeína se encuentra en bajas concentraciones en el agua, la exposición prolongada puede generar efectos perjudiciales sobre los organismos acuáticos. Por ejemplo, en la rana de garras africana, se observaron cambios en el crecimiento tras cuatro días de exposición a concentraciones de cafeína de 0,11 µg/L, y su muerte a 0,27 µg/L. Concentraciones superiores a 0,2 g/L en agua de mar inhiben la absorción de oxígeno en los huevos de erizo, retrasando su metabolismo. Además, la cafeína actúa como un factor estresante que aumenta el blanqueamiento de los corales. En el pez arroz japonés, concentraciones de 0,05 a 0,5 mM provocan ansiedad. Y en las neuronas motoras del pez cebra, 5 mM de cafeína causan axones más cortos y ramificación anormal, entre otros efectos (Bruton et al., 2010; Korekar et al., 2020)

En este contexto, algunos métodos para eliminar la cafeína presente en efluentes incluyen la degradación microbiana, la fitorremediación, la adsorción y procesos de oxidación avanzada, como la ozonificación, la fotocatalisis, la fotólisis y el proceso foto-Fenton (Korekar et al., 2020)

Considerando la complejidad y los costos implicados en algunos de estos métodos, los humedales construidos o artificiales (HC) emergen como una solución sostenible y factible

para tratar este tipo de efluentes. Estos integran varios procesos, como la degradación biológica, sedimentación, adsorción, volatilización, filtración y captación vegetal (Pérez et al., 2022).

Se ha demostrado que la remoción de cafeína en humedales construidos en invierno es del 23 al 58%, y en verano del 82 al 99% (Roig, 2013). Lo cual es consistente con un diseño de Herrera (2016), donde incorporaba *Cyperus sp.*, grava y un tiempo de retención hidráulica de cinco días logró remociones superiores al 89%. Esta alta eficiencia se debe a su naturaleza integral, que combina un medio de soporte, vegetación y microorganismos, los cuales trabajan en conjunto para eliminar los contaminantes.

Cada componente desempeña un papel esencial: el medio de soporte es fundamental en gran parte de los procesos físicos, químicos y biológicos, pues ofrece una superficie donde los microorganismos pueden adherirse y formar una biopelícula. Además, actúa como un medio para filtrar y/o adsorber contaminantes, sostiene las raíces de las plantas e influye en el movimiento del fluido, contribuyendo así a la eficiencia global del sistema (Pérez et al., 2022)

En humedales construidos, la grava y la arena a diferentes granulometrías son los medios de soporte convencionales más utilizados. No obstante, existen opciones más económicas que podrían ser factibles, un ejemplo es el material del que se fabrican las botellas plásticas, el tereftalato de polietileno (PET). Estas botellas representan una parte significativa de los residuos plásticos, cuya producción mundial se duplicó, alcanzando los 353 millones de toneladas en los años 2000 al 2019, según la OECD, Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. El 40% de esta cantidad corresponde a envases con una vida útil de menos de cinco años, generalmente de un solo uso, que permanecen en el medio ambiente por un tiempo prolongado (Castañeda, 2022). En este contexto, el PET puede ser empleado como un soporte alternativo para disminuir la contaminación generada por estos residuos. Además, debido a su inercia, bajo desgaste, baja obstrucción y su significativa contribución a la formación de biopelículas, se convierte en un material viable (Lapo, 2014).

Además, según un estudio realizado por Khalifa et al. (2020), donde se comparó tres sustratos: grava, plástico y caucho, se obtuvieron resultados más eficientes con el plástico, logrando eficiencias de remoción del 83% para sólidos suspendidos totales (SST), 66% para amoníaco, 85% para fosfatos y 98% para patógenos.

En este sentido, se propone la utilización de humedales construidos subsuperficiales de flujo vertical como una opción efectiva para la eliminación de cafeína de los efluentes residuales domésticos, optando por un medio de soporte alternativo que favorezca la viabilidad económica de su implementación mediante la utilización de residuos de botellas PET. Que

además de brindar un servicio ecosistémico de depuración de agua pueden llegar a ser el hábitat de especies y tiene un valor estético agregado.

1.1 Objetivo general

Evaluar la depuración de cafeína en humedales construidos subsuperficiales de flujo vertical usando como medio de soporte PET reciclado mediante la caracterización analítica del afluente y efluente, con el fin de determinar la eficacia de este sistema para tratar aguas sintéticas.

1.2 Objetivos específicos

1. Determinar la especie de planta emergente que integrará el sistema mediante ensayos toxicológicos a diferentes concentraciones de cafeína, con el propósito de seleccionar la opción más adecuada para el humedal.
2. Construir un sistema de humedal de flujo subsuperficial vertical a escala microcosmos mediante el uso de un recipiente prefabricado, plantas emergentes, PET reciclado, grava y un sistema de distribución y drenaje, para evaluar la remoción de cafeína de aguas sintéticas bajo estas consideraciones.
3. Verificar cómo influye la presencia de vegetación en la remoción de cafeína, mediante un ensayo comparativo entre humedales con y sin plantas para determinar su contribución en la eficiencia del sistema.
4. Cuantificar la remoción de cafeína mediante la determinación de su concentración por espectrofotometría UV-VIS en el afluente y el efluente, para evaluar la eficiencia del humedal construido.
5. Realizar una caracterización del afluente y efluente a través del análisis de parámetros físicos y químicos como turbidez, sólidos suspendidos, DQO y DBO para monitorear el comportamiento del sistema y su influencia en la calidad del efluente.

1.3 Alcance

En el presente proyecto, se construirá un humedal construido subsuperficial de flujo vertical en una escala de microcosmo, utilizando botellas PET recortadas como medio de soporte, con el objetivo de remover cafeína de agua artificial.

Inicialmente se llevará a cabo una revisión bibliográfica para recopilar la información necesaria para el dimensionamiento y diseño del sistema de humedales, la cual se complementará o adecuará según los requisitos que surjan durante el proceso de diseño y la factibilidad de su implementación.

Es necesario establecer una fase previa en la que se llevarán a cabo ensayos de toxicidad para determinar la especie de planta idónea para el sistema, así como la dosis de cafeína que se suministrará.

En la fase de diseño del humedal, se considera un sistema en batch con un tiempo de retención hidráulica de 7 días, donde el flujo se suministra de forma intermitente por goteo con una frecuencia específica. Además, se contempla la implementación de un sistema de distribución, drenaje y recolección del flujo.

En la fase de evaluación, el enfoque estará exclusivamente centrado en la remoción de cafeína, cuya cuantificación se realizará mediante un análisis de concentración por espectrofotometría UV-visible, considerando una periodicidad de los monitoreos al primer, cuarto y séptimo día. Y aunque se monitorearán de manera quincenal y mensual otros parámetros como turbidez, sólidos suspendidos, DQO y DBO, estos no se considerarán para evaluar la eficiencia del sistema, sino para comprender el comportamiento del humedal a lo largo del tiempo de monitoreo.

Tampoco se realizarán ensayos específicos para cuantificar la formación de biofilm u otros procesos específicos que involucre el funcionamiento del sistema, por su parte se realizará una comparación cualitativa con otros estudios relacionados para su caracterización.

Además, se llevarán a cabo un análisis de absorción y densidad aparente del medio de soporte PET, y ensayos granulométricos para la grava, con el fin de caracterizarlos. Sin embargo, el desempeño del medio, los microorganismos o las plantas no se evaluarán de forma aislada, mediante ensayos específicos para cada componente. Ya que se analizará el funcionamiento del sistema por duplicado, y de manera conjunta, incluyendo una variación de humedales con y sin plantas para cuantificar en función de la remoción, la contribución de la vegetación. Este enfoque integral permitirá una evaluación completa del sistema de humedales construidos y su capacidad para remover cafeína, en base al diseño propuesto.

1.4 Marco teórico

1.4.1. Contaminantes emergentes

En los últimos años, los estudios han revelado la aparición de nuevos compuestos y/o contaminantes en el ambiente, denominados como contaminantes emergentes (CE). Estos se refieren a sustancias químicas de origen natural o sintético, que representan un impacto potencial para la salud humana y ecológica en el entorno, como consecuencia de su continua descarga y que no son controlados ni tratados (Cunha et al., 2018).

Estos contaminantes se producen diariamente a través de artículos farmacéuticos y de cuidado personal, pesticidas, hormonas, metales, surfactantes, solventes, retardantes de llama, cosméticos, toxinas, colorantes y aditivos industriales, edulcorantes alimenticios, entre otros (Rasheed et al., 2019).

Y que según (Gavrilescu et al., 2015), pueden causar toxicidad crónica, alterar el sistema endócrino y desarrollar una mayor resistencia a patógenos, sin descartar procesos de bioacumulación y toxicidad sinérgica.

La presencia de estos contaminantes incluso en aguas depuradas es clave para afirmar que los tratamientos convencionales no son capaces de eliminarlos, y menos considerando que el éxito de la eliminación de estos contaminantes depende de sus propiedades específicas (Sánchez, 2018). De los tratamientos fisicoquímicos convencionales, se han utilizado métodos como la coagulación, flotación y cloración. Sin embargo, la coagulación y floculación han demostrado ser ineficaces para eliminar muchos contaminantes emergentes (CE), logrando una eliminación por debajo del 30% (Patiño, 2014).

Una alternativa es la adsorción con carbón activado, que puede alcanzar eficiencias de remoción superiores al 90% para diversos compuestos emergentes (Bodzek & Dudziak, 2006). Además, las tecnologías de procesos de oxidación avanzada son las más prometedoras, especialmente aquellas que emplean cloro u ozono, aunque generan subproductos cuyos efectos aún no se comprenden totalmente (Trujillo et al., 2010).

Estas al igual que otros métodos utilizados como la microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa y electrodiálisis implican un elevado costo. Donde la nanofiltración y la ósmosis inversa han demostrado ser eficaces en la retención de micro contaminantes que son difíciles de eliminar con métodos convencionales (Sánchez, 2018).

Entorno al costo y facilidad, los tratamientos biológicos se consideran la tecnología más viable para tratar aguas residuales; sin embargo, solo logran una eliminación parcial de los contaminantes emergentes (Roig, 2013). Por ejemplo, en un estudio donde se empleó un sistema en serie de tres reactores biológicos de membrana (MBR), se logró eliminar más del 90% de nonifenol y bisfenol. No obstante, este tratamiento tuvo que complementarse con una unidad externa de ultrafiltración seguida de una adsorción con carbón activado granular (García-Molina et al., 2006).

1.4.2 Cafeína

Es un alcaloide perteneciente familia de las xantinas presentes en el café, nuez de cola, cacao, bayas de guaraná y hojas de té. Este compuesto es empleado habitualmente como un estimulante y un aditivo en medicamentos analgésicos para aumentar su efecto, está presente en productos farmacéuticos para el resfriado, cosméticos, alimentos, bebidas y estimulantes de consumo masivo. También es usado como pesticida de origen natural, para defender a las plantas de los insectos que se alimentan de ellas (Indermuhle et al., 2013)

La cafeína pura es un sólido blanco cristalino que tiene un sabor amargo, 1.23 g/cm³ de densidad, su punto de fusión está entre 234 a 236.5 °C, un pH neutro (6.55 a 6.90) y su peso molecular es 149.19 g/mol. En cuanto a su solubilidad en agua, a 25°C es de 2.16x10⁴ mg/L, y está en función directa con la temperatura (García Martínez et al., 2017). La estructura química de la cafeína (C₈H₁₀N₄O₂) se compone de dos sistemas de anillos (purinas), dos grupos carbonilo, cuatro aminas terciarias y un grupo amida (Labster, s/f), como se muestra en la Figura 1:

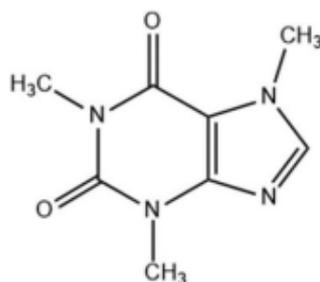


Figura 1. Configuración química de la cafeína
Fuente: Valenzuela (2020)

En los últimos años, el alto consumo y producción de cafeína ha llevado a su detección continua en efluentes de las PTAR, así como en aguas superficiales, marinas, potables y subterráneas en todo el mundo. Esto ha sido posible gracias a los avances para desarrollar métodos de análisis más sensibles (Barceló y Postigo, 2014).

La cafeína actúa principalmente como un estimulante del sistema nervioso central debido a su capacidad para antagonizar la adenosina. Generalmente, tarda unos 40 minutos en ingresar al torrente sanguíneo y tiene una vida media de entre 2,5 y 4,5 horas. Al metabolizarse, pierde uno de sus grupos metilo, produciendo paraxantina, el principal metabolito de la cafeína, que es excretado mayormente en la orina. Solo entre el 1 y el 3% de la cafeína consumida se excreta sin cambios. Tanto la cafeína como su metabolito terminan siendo desechados en los sistemas de aguas residuales (Sánchez, 2018; (Janet Gil et al., 2012)).

Además, la cafeína también llega al ciclo del agua a través de medios hospitalarios, donde se utiliza para tratar la cefalea post punción, y del entorno agrícola, como plaguicida contra caracoles y babosas. Esto resulta en la presencia de cafeína en cuerpos de agua superficiales y subterráneos (Ramírez & Rivera, 2017). En California, donde se detectaron concentraciones de hasta 290 ng/L de cafeína en agua subterránea destinada al consumo humano sin tratamiento. En Hawái, las concentraciones encontradas en agua subterránea fueron de 88 ng/L, con niveles más altos en verano. En Singapur, el agua residual en la zona de captación mostró concentraciones de hasta 16,000 ng/L (Sui et al., 2015).

En el Ecuador, un estudio realizado por Voloshenko-Rossin et al., (2015) en la cuenca del río Esmeraldas reportó una concentración de hasta de 5597 µg/L en la zona norte del río Machángara, un efluente de dicha cuenca. Aunque la concentración de cafeína suele ser baja en cuerpos de agua, en el rango de µg/L a ng/L, la exposición prolongada puede tener efectos perjudiciales en los organismos acuáticos. Por ejemplo, la cafeína puede agravar el estrés en los corales, provocando su blanqueamiento, alterar el comportamiento de la araña de jardín europea modificando la geometría de su telaraña, y alterar significativamente la actividad de los renacuajos de la rana leopardo del norte, disminuyendo su capacidad de búsqueda de alimentos, evitar depredadores y reproducción (Fraker & Smith, 2004).

Estas son solo algunas de las consecuencias que la cafeína, como contaminante emergente, puede tener en los organismos expuestos en medios acuáticos. Sin embargo, el impacto a largo plazo de la cafeína y su efecto en la cadena trófica aún no se ha cuantificado adecuadamente. Esto representa un vacío crítico en los datos que debe ser abordada para entender completamente la problemática, y subraya la necesidad de implementar medidas de regulación y depuración (Bruton et al., 2010)

1.4.3 Humedales construidos

Según el Ministerio del Ambiente (2015), desempeñan funciones ecológicas cruciales: regulan los regímenes hidrológicos y el clima, controlan la contaminación y las inundaciones, pueden actuar como barreras contra tsunamis y proporcionan hábitats para una gran biodiversidad. Además, en las comunidades circundante tienen un significativo valor cultural, científico, económico y recreativo.

Los humedales son sistemas complejos que incluyen una lámina de agua, vegetación sumergida, emergente o flotante, así como zonas con niveles freáticos cercanos a la superficie. Esta presencia prolongada de agua modifica el comportamiento típico de un hábitat terrestre o acuático, desarrollando características específicas en el suelo, microorganismos y comunidades de fauna y flora. Se les denomina ecosistemas semiterrestres porque se encuentran en la transición entre medios húmedos y secos, presentan abundante vegetación

y un elevado grado de humedad. Donde sus propiedades físicas, químicas y biológicas les confieren un notable potencial de autodepuración (Llagas & Guadalupe, 2006).

Con el aumento en la producción de agua residual, se ha vuelto crucial la investigación, desarrollo y aplicación de tratamientos de depuración alternativos, que sean eficientes, técnica y económicamente viables, y posean autonomía. Por lo que los tratamientos que imitan los procesos que ocurren de manera natural en el medio ambiente se posicionan como una gran alternativa (Arias y Brix, 2003).

En torno a esto, los humedales construidos o artificiales (HC) son una respuesta a esta problemática, estos son el diseño de un entorno natural semicontrolado con una operación y mantenimiento simples, por lo que son rentables y energéticamente eficientes, además que pueden propiciar hábitats para la vida silvestre urbana y aportar un valor estético a la localidad (Choi et al., 2018)

Su funcionamiento se centra en tres fundamentos: la actividad biológica y química de los microorganismos, el aporte de oxígeno por parte de las plantas durante la fotosíntesis, y el soporte físico proporcionado por un medio de soporte inerte que facilita el enraizamiento de las plantas, actúa como material filtrante y sirve como medio para la formación de biopelículas. Estos elementos trabajan en conjunto para eliminar los compuestos en suspensión o disueltos del agua residual, además de biodegradar la carga orgánica para su mineralización (Herrera, 2016).

Esto los convierte en una alternativa de tratamiento viable, no solo para contaminantes comunes, sino también para contaminantes emergentes. Ya que ofrecen un conjunto de procesos de tratamiento debido al efecto de la radiación solar, la formación de biopelículas en el lecho y un alto tiempo de retención hidráulica característico. Estas características los hacen especialmente adecuados cuando se cuenta con extensiones de terreno apropiadas (Roig, 2013).

a) Tipos de humedales construidos

Según Almukhtar et al. (2018), la clasificación de los HC puede estar en función de la hidrología o dirección del movimiento del agua, esto se detalla a continuación en la Tabla 1:

Tabla 1. Tipos de humedales construidos.

Tipo de flujo	Características	Diagrama
Según la hidrología del sistema		
Libre o superficial (HFS)	<ul style="list-style-type: none"> • El agua circula superficialmente saturando por completo o parcialmente las plantas macrófitas. • La capa de agua superior trabaja de manera aeróbica, y la base de manera anaeróbica. • Tratamientos terciarios. • Macrófitas de flotantes, emergentes o sumergidas. • Profundidad entre 0.1 a 0.6 m. 	Figura 2a.
Subsuperficial (HFSS)	<ul style="list-style-type: none"> • El nivel de agua se encuentra por debajo de la superficie del material granular. • La vegetación debe incrustarse en el fondo de la cama de soporte. • Riesgo de obstrucción de los poros del material de soporte, recomendable bajas concentraciones de sólidos suspendidos. • Tratamiento secundario o terciario. • Macrófitas emergentes. • Profundidad entre 0.3 a 0.9 m. 	Figura 2b y 2c.
Según la dirección del movimiento del agua		
Horizontal (HH)	<ul style="list-style-type: none"> • El agua ingresa permanentemente por el extremo superior del lecho, circulando horizontalmente a lo largo del medio granular, y termina siendo recogida en el otro extremo por un tubo de drenaje inferior. • El agua fluye lateralmente saturándose (flujo pistón). • Principalmente procesos anaeróbicos. • Profundidad entre 0.45 a 1.0 m. • Pendiente entre 0.5 a 1 %. 	Figura 2b.
Vertical (HV)	<ul style="list-style-type: none"> • El agua vertida es cargada uniforme e intermitentemente, y desciende gradualmente a través del lecho para finalmente ser recolectada por una red de drenaje en la base. • Las condiciones de saturación son seguidas por períodos de insaturación, estimulando el suministro de oxígeno. • Principalmente procesos aeróbicos. • Profundidad entre 0.5 a 0.8 m. 	Figura 2c.

Fuente: Rabat Blázquez & Trapote (2016), Delgadillo et al. (2012), (Vymazal, 2010).

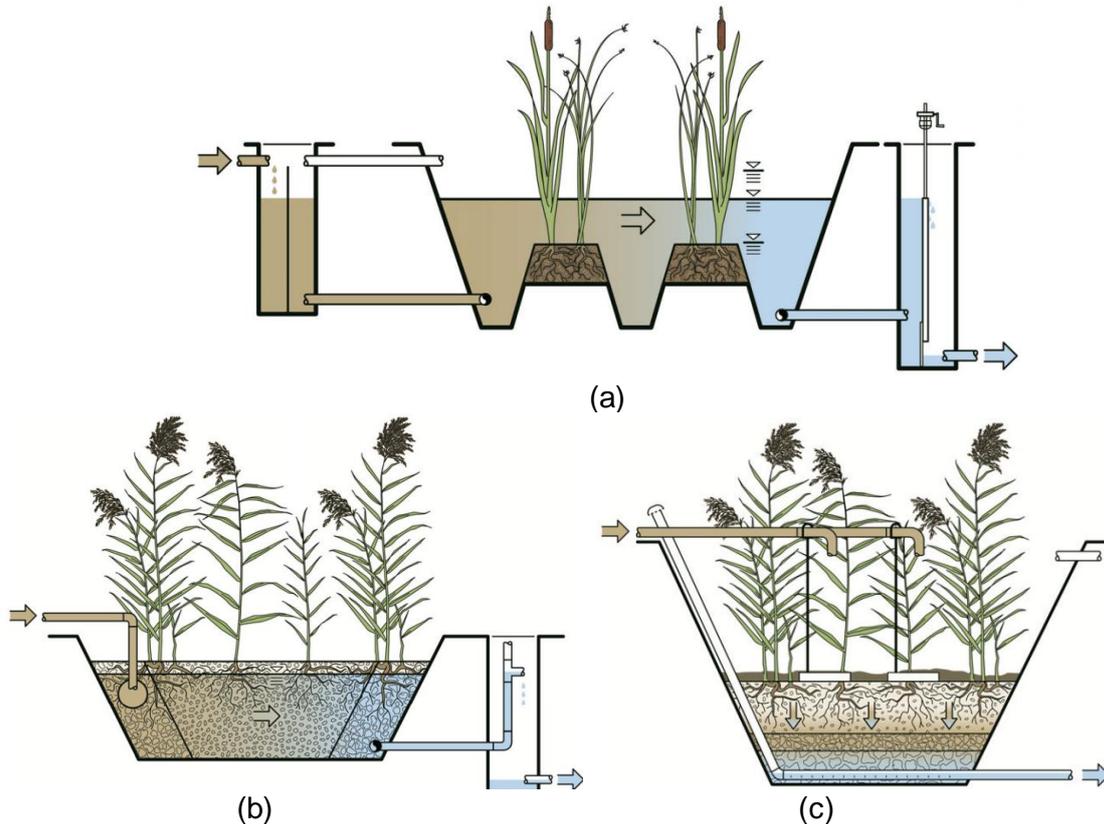


Figura 2. Diagrama del sistema de humedal construido
 Flujo (a) superficial, (b) subsuperficial horizontal, (c) subsuperficial vertical.
 Fuente: Nivala et al. (2017).

b) Componentes

Los humedales artificiales, independientemente de su tipo constan principalmente de los siguientes componentes:

- **Vegetación:** su funcionamiento se basa en procesos de fitorremediación, utilizando plantas acuáticas conocidas como macrófitas. Estas plantas forman gran parte de la estructura del humedal mediante sus raíces y rizomas, lo que aumenta los procesos de sedimentación, facilita el intercambio gaseoso entre el sustrato y la atmósfera, y crea ambientes oxigenados. Además, proporcionan sitios para la formación de biofilm y el alojamiento de bacterias. Las plantas también mejoran la permeabilidad del medio filtrante y contribuyen significativamente al valor estético del humedal (Serrano & Corzo Hernández, s/f).
- **Agua residual:** interactúa con los demás componentes, generando reacciones fisicoquímicas que facilitan la propagación de organismos. Su calidad tiene una gran influencia en la eficiencia del funcionamiento del humedal, ya que trabaja en conjunto con la atmósfera a través de la precipitación y la evapotranspiración (Mena, 2014; Delgadillo et al., 2012)

- **Microorganismos:** transforman biológicamente la materia orgánica, son responsables de la desinfección, y forman la biopelícula en las raíces y sustrato. Los microorganismos según la zona en la que se encuentran en el humedal son aerobios (cerca del rizoma) o anaerobios (fondo del lecho) (Delgadillo et al., 2012).
- **Sustrato o medio de soporte:** propicia procesos como la sedimentación, precipitación, filtración, adsorción, intercambio iónico, biodegradación y facilita el crecimiento y metabolismo de las raíces de las plantas (Almuktar et al., 2018).

1.4.4 Medio de soporte: PET

Los sustratos convencionales de los humedales construidos incluyen arena, grava y roca. Sin embargo, para minimizar el presupuesto de construcción, se propone la utilización de sustratos alternativos, favoreciendo materiales de origen local o descartables. Por ello, numerosos estudios han evaluado la implementación de diversos sustratos, como la cascarilla de arroz, bagazo de caña, mantillo orgánico, carbón activado, desechos de construcción, concha de ostras, agregados de arcilla, escoria volcánica, biocarbón, virutas de neumáticos, espuma de poliestireno y materiales plásticos como el PET (Pérez et al., 2022; Zhiqiang et al., 2021).

En este contexto, es esencial investigar el uso de sustratos alternativos en los humedales construidos, como el PET. Estos sustratos son particularmente relevantes dado que las botellas de PET representan un problema ambiental significativo en cuanto a su disposición final. Su tamaño provoca una ocupación alarmante de los vertederos, lo que puede llevar al cierre de estos sitios por falta de capacidad. Además, muchas botellas terminan en las calles y son arrastradas hacia cuerpos de agua, donde permanecen durante 700 a 1000 años, ya sea en su forma original o como microplásticos. A esto se suma el problema de su producción: por ejemplo, algunas ciudades de Colombia generan semanalmente 88,100 toneladas de basura y residuos plásticos, de las cuales solo el 70% son recolectadas (Gómez, 2016).

Este material no solo ofrece ventajas en términos de costo, ya que proviene del reciclaje, sino que también posee características físicas que lo hacen adecuado para estos sistemas. Su cristalinidad, transparencia, buena barrera contra la humedad y baja tasa de absorción de agua le confieren una alta resistencia física. Además, es resistente a ataques químicos y no presenta vulnerabilidad a ataques microbiológicos. Al ser no biodegradable, su vida útil es más prolongada, y su superficie rugosa facilita la adherencia de microorganismos y la formación de biofilm (Lapo, 2014).

Dallas y Ho (2014) estudiaron la eficiencia de los humedales construidos que utilizan botellas de PET cortadas en dos o tres partes (dependiendo del tamaño de la botella) en comparación con la grava de gneis. Encontraron que el PET tenía una mayor eliminación de contaminantes del agua residual y reducía los costos de construcción en un 50% respecto a la grava. Por otro lado, Sklarz et al., (2013) utilizaron cuentas de plástico con una porosidad de 0.8, similar a la de las botellas de PET trituradas, y lograron una eficiencia para la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) del 95% en aguas residuales domésticas. Además, el material plástico es menos reactivo y susceptible al desgaste, lo que podría traducirse en una vida útil más prolongada para estos sistemas.

Además, se ha identificado que el PET es un material que participa en procesos de adsorción, donde los sitios activos ricos en energía interactúan con los solutos presentes en fase acuosa, gracias a sus propiedades (Ortuño, 2019). No obstante, este aspecto no ha sido estudiado a fondo, ya que la atención se ha enfocado principalmente en el uso de medios como el carbón activado y las zeolitas para la adsorción de contaminantes. En este proceso, los materiales con alta porosidad proporcionan un gran volumen de espacio interno para la captura de contaminantes. Los poros deben tener un tamaño que propicie el ingreso de las moléculas de contaminantes y estas se adhieran a las superficies internas del material (Gregg & Sing, 1982)

En concordancia con esto, un análisis SEM realizado por (Arahman et al., 2017) confirmó que la membrana de PET de botellas plásticas presenta una estructura con poros grandes y rugosos, lo que puede favorecer la adsorción esto se muestra en la Figura 3.

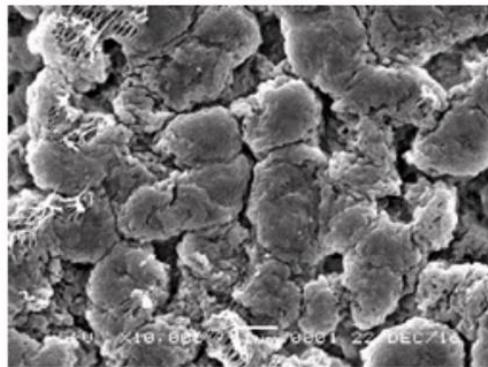


Figura 3. Resultado de análisis SEM a la superficie de membranas de botellas PET.
Fuente: Arahman et al. (2017)

Este proceso fue confirmado por un estudio que demostró la adsorción de lignosulfonato sobre la superficie del PET. Los resultados fueron favorables debido a las interacciones no electrostáticas generadas por la polaridad del PET, que favorecen las interacciones ácido-base. Los sitios superficiales implicados en estas interacciones en los sustratos plásticos son los grupos carbonilo y los ciclos de carbono aromático, que son de naturaleza básica y se encuentran en mayores cantidades en la superficie del PET (Le Guern et al., 2001)

2. METODOLOGÍA

El proyecto propuesto es un trabajo de investigación aplicada, con un fuerte componente experimental centrado en desarrollar y evaluar una solución práctica y sostenible para la remoción de cafeína utilizando humedales artificiales. Involucra una metodología deductiva, con un enfoque mixto ya que posee características cuantitativas y cualitativas en la información a analizar.

Para estructurar el presente proyecto se siguieron las siguientes etapas metodológicas, cada una con un objetivo específico y resultados esperados (Figura 4):

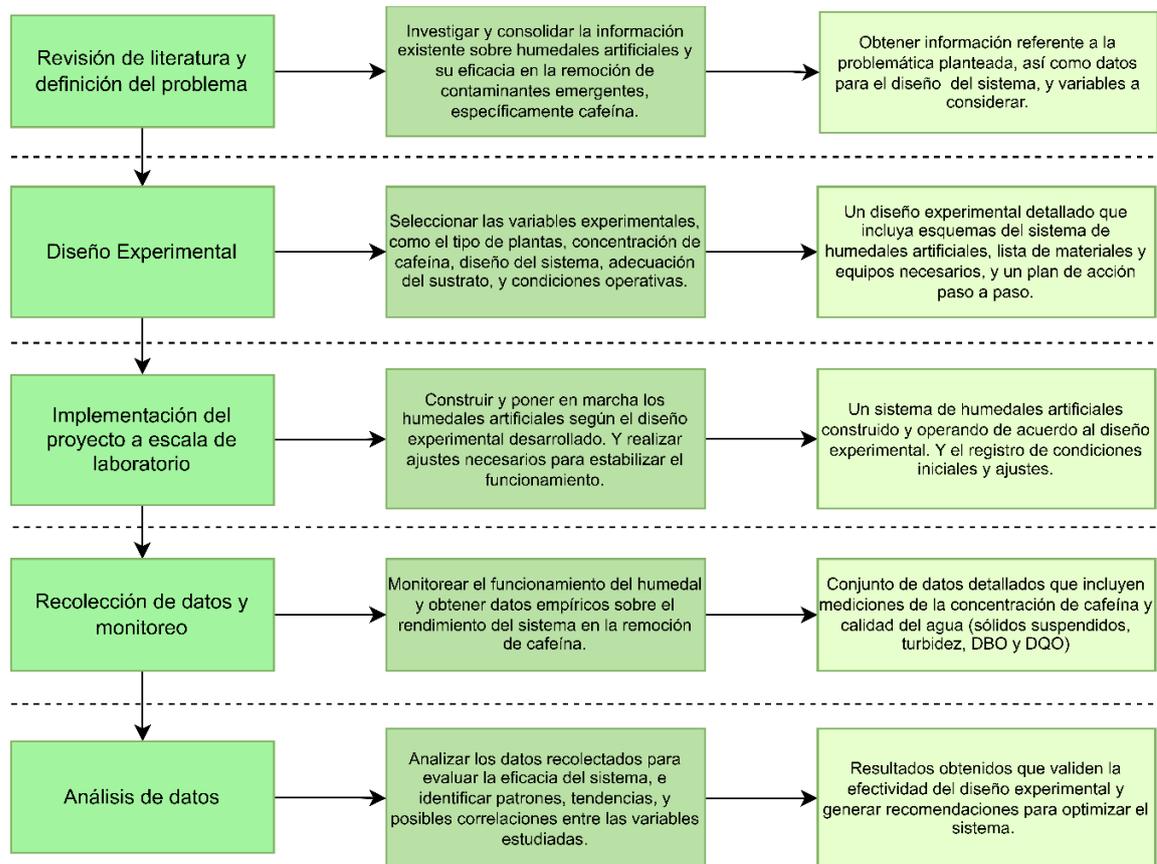


Figura 4. Metodología del proyecto.
Fuente: Elaboración propia.

2.1 Descripción del área de experimentación

El área destinada para la experimentación se encontró ubicada en el Laboratorio de Docente Hidráulica (Edificio 10) de la Escuela Politécnica Nacional, la percepción ambiental de este espacio es fresca y con poca exposición al sol, con entradas puntuales por los ventanales laterales a determinadas horas del día. Para conocer las condiciones climáticas de la experimentación y así determinar la adaptabilidad de la vegetación, se realizó un monitoreo de humedad relativa y temperatura con ayuda de un termohigrómetro digital marca Boeco Germany.

Este se llevó a cabo durante una semana despejada y mayormente soleada del 19 al 23 de febrero de 2024, con una medición en la mañana y otra en la tarde, en tres posibles zonas para la instalación de los humedales, mismas que se indican en la Figura 5:



(a) Zona A (b) Zona B (c) Zona C

Figura 5. Zonificación preliminar para la implementación de los HC.

2.2 Pruebas de toxicidad preliminares de la vegetación

En los humedales construidos, se utilizan habitualmente macrófitas, que son plantas capaces de vivir y crecer en condiciones de inundación. No obstante, con el auge de estos sistemas en regiones tropicales, se ha comenzado a implementar el uso de plantas ornamentales. Estas pueden ser plantas acuáticas con flores llamativas o plantas terrestres ornamentales de interés comercial que, aunque no sean nativas de humedales, tienen la capacidad de adaptarse a condiciones de inundación (Hernández-Crespo et al., 2024)

Entorno a esto, este proyecto se centró en especies de plantas ornamentales que no son comunes en este tipo de sistemas, pero que tengan la capacidad de adaptarse a ambientes parcialmente inundados, y con una baja cantidad de nutrientes, considerando que su única fuente es la cafeína, pues el PET de forma independiente, no provee de materia orgánica o nutrientes a las plantas.

Las especies ornamentales seleccionadas fueron: *Chlorophytum comosum* (mala madre), *Dracaena sanderiana* (bambú de la suerte), y *Dracaena fragrans* (Tronco de la felicidad o tronco de agua), las cuales tiene la capacidad de desarrollarse en agua o suelo, pero con características específicas de temperatura, humedad relativa, exposición al sol y tipo de siembra, otro factor que se considera es precio y tipo de raíces, todo esto se especifica en la Tabla 2.

Tabla 2. Vegetación para ensayos preliminares de toxicidad.

Fotografía			
Nombre científico	<i>Chlorophytum comosum</i>	<i>Dracaena reflexa</i>	<i>Dracaena fragrans</i>
Nombre común	Mala madre	Bambú de la suerte	Tronco de agua
Temperatura	15 a 25 °C	15 a 32 °C	18 a 28 °C
Humedad relativa	Moderada	Alta	De moderada a alta
Exposición	Media sombra, no luz solar directa y calor.	Evitar luz solar directa, iluminación indirecta	Semi soleada, interiores iluminados.
Suelo	Suelto con buen drenaje.	Sueltos y húmedos.	Sueltos y ligeramente húmedo.
Siembra	Suelo o agua,	Suelo o agua	Suelo o agua.
Precio	40 ctvs/planta	15 ctvs/planta	35 ctvs/planta
Raíces	Tuberosas, anchas y largas que ocupan un gran espacio.	Robustas y extensivas, que se propagan ampliamente	Fibrosas, sin raíz principal gruesa, sino muchas raíces delgadas.

FUENTE: Melgar (2015), Arbe (2018), González (2012).

Estas fueron compradas en la parroquia de Nayón, e inicialmente todas se encontraban sembradas en tierra por lo cual previo a los ensayos de toxicidad preliminares a los que fueron sometidas, se aclimatizaron adaptando el procedimiento descrito por (Rivadeneira, 2020) Entonces se colocaron en recipientes plásticos saturadas con agua sin remover la tierra, para generar una transición suave entre medios, de suelo a agua, durante una semana.

A continuación, se procedió a remover la tierra y lavarlas lo mejor posible, es importante destacar que tanto la mala madre como el bambú de agua tenían enredadas las raíces de las diferentes plantas por lo que en algunos casos se requirió retirar algunas raíces, proceso que además dificultó el lavado.

Una vez limpias, se dejaron en agua durante otra semana para que se adapten al cambio de medio, y posteriormente fueron sometidas a los ensayos de toxicidad durante una semana y de forma individual a concentraciones de 10, 2, 50, 75, y 100 ppm de una solución de cafeína, los ensayos se realizaron por triplicado y blancos de referencia con agua envejecida (agua sometida al sol), como se muestra en la Figura 6:



(a) Limpieza y aclimatación de las plantas al cambio de medio.



(b) Ensayos de toxicidad a diferentes concentraciones de cafeína.

Figura 6. Ensayos de toxicidad preliminares.

2.3 Determinación de la concentración de cafeína

Para determinar la concentración de cafeína que se suministró a los humedales construidos, se llevó a cabo otro ensayo de toxicidad, esta vez enfocado en la vegetación seleccionada (tronco de la felicidad), estas plantas provienen de Santo Domingo y fueron compradas nuevamente en Nayón, y siguiendo el procedimiento descrito anteriormente en la sección 2.2, utilizado para la aclimatación de las plantas.

Una vez finalizado el proceso de aclimatación, se comenzaron las pruebas de toxicidad el 01/03/2024, las cuales se realizaron para las concentraciones de 5, 10, 25 y 50 ppm de cafeína. Estas pruebas duraron cinco días (de lunes a viernes), hasta el 05/03/2024, en los cuales se monitoreo los cambios cualitativos de las plantas y la remoción de cafeína, esto para intentar asociar dichos cambios con la cantidad de contaminante absorbido por la planta. Para esto se midió la hoja y raíz, más corta y larga, así como el número de estas, esto en la aclimatación, al iniciar los ensayos de toxicidad y a su terminación.

2.4 Diseño y construcción del sistema

2.4.1 Preparación del medio de soporte

El medio de soporte que se utilizó fueron botellas PET, las cuales fueron modificadas para facilitar el crecimiento y desarrolló de biofilm, para lo que se implementó la metodología descrita por Reina (2015), quién recortó las botellas en formas rectangulares de 2 a 4 cm, con un doblez en forma de techo, esto último permitió que las bacterias se instalen y evitó que sean eliminadas por el efluente. Esta metodología fue reestructurada en función de la factibilidad, cantidad requerida de medio, recursos disponibles y tiempo.

Entonces, a las botellas plásticas inicialmente se les retiró las tapas, se recortó las bases y después se lavaron (Figura 8a). Una vez estaban limpias, se recortaron en tiras (Figura 8b), mediante un sistema compuesto por rodamientos fijos y una cuchilla de estilete en medio, sujetos a una superficie estable, la cual contaba con un eje de rotación regulable formado por una varilla que es introducida en los agujeros de referencia (en función del tamaño de la botella), este sistema se muestra a continuación en la Figura 7:



Figura 7. Sistema para tiras de botellas PET

En la varilla se coloca la botella recortada puesta una tapa con un agujero para que se centre, y sobre esta se coloca peso. Es importante recalcar que, al momento de realizar las tiras de PET, al inicio se tiene que hacer girar la botella cerca del sistema de rodamientos, hasta que se corta una sección por la cuchilla, y a partir de ahí, es necesario halar la tira de forma paralela a la superficie, ya que, si se inclina hacia arriba o abajo, la tira es más delgada y puede romperse.

Una vez realizadas las tiras, se buscó reducir su tamaño y lograr un doblez para incrementar el área superficial y favorecer la formación de biofilm, para lo cual se envolvió cada tira a lo largo de en una regla flexible (Figura 8c), para marcar el doblez se golpeó los extremos con un martillo (Figura 8d) y se recortó por la mitad (Figura 8e).

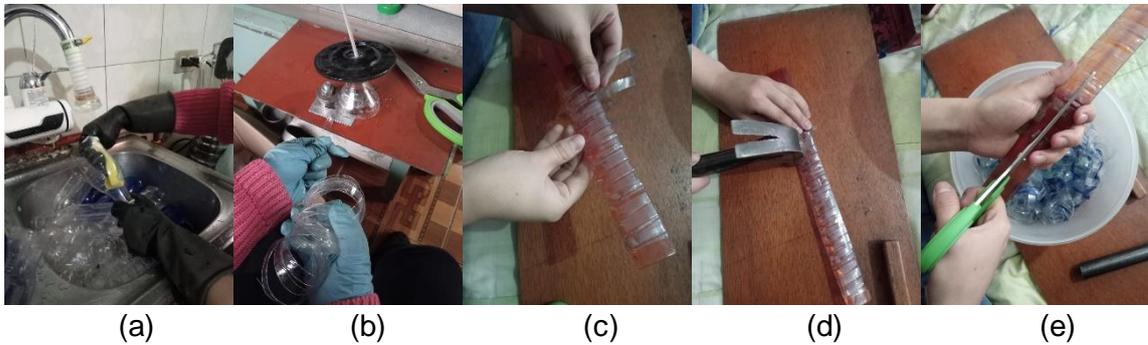


Figura 8. Proceso de adecuación del PET.

Finalmente se obtuvieron pequeñas tiras de PET de 1 cm de ancho y alrededor de 7 cm de largo, dobladas 1.5 cm a cada lado, cómo se muestra en la Figura 9:



Figura 9. Tiras de PET de medio de soporte.

Aunque el sustrato principal es el PET, se utilizó grava como un medio de entrada y salida, la cual ayuda a homogenizar el flujo, el material que se encontró de forma comercial es ripio, el cual viene mezclado en diferentes granulometrías. Considerando que comercialmente la grava fina tiene un grosor menor a 8 mm, la grava media de 8 a 12 mm, y la grava gruesa de 12 hasta 35 mm. Se separó en dos fracciones, una “grava fina” que abarca hasta los 12 mm de grosor, y la “grava gruesa” de 12 a 35 mm.

Este material tiene partículas de polvo y otras que superan los 35 mm, por lo que se realizó un tamizaje preliminar donde se empleó un tamiz manual casero (Figura 10), que consta de una malla metálica con una apertura de alrededor de 12 mm y un recipiente en el fondo para separar el material entre “fino” y “grueso”. De igual forma para garantizar un correcto lavado, inicialmente se retiró en seco el polvo con el uso de un cernidero, después con este mismo, se removió el polvo restante con agua, pero la movilización de este material genera más material particulado, por lo que una vez construidos los humedales también fueron lavados mediante un flujo continuo de agua para remover el polvo.



Figura 10. Tamizaje manual casero.

2.4.2 Caracterización del medio de soporte

Tanto el PET como la grava se caracterizaron en el Laboratorio de ensayos de materiales, mecánica de suelos y rocas de la EPN, con ayuda del personal técnico. Para el PET se determinó la densidad aparente (kg/m^3) y el porcentaje de absorción de agua, estos ensayos tienen el objetivo de identificar si el material es propenso a flotar y la cantidad de agua absorbida en las recargas, respectivamente.

La densidad aparente se obtuvo siguiendo las normas ASTM C29 e INEN 858, cuyo proceso consiste en llenar un recipiente volumétrico conocido con el material con la muestra suelta, se enrasa y se mide el peso; y para la muestra compactada se colocan tres capas, en cada una se usa varilla metálica con un extremo plano para aplicar 25 golpes repartidos con una presión uniforme y sin tocar el fondo, para finalmente enrasar y pesar, como se expone en la Figura 11:

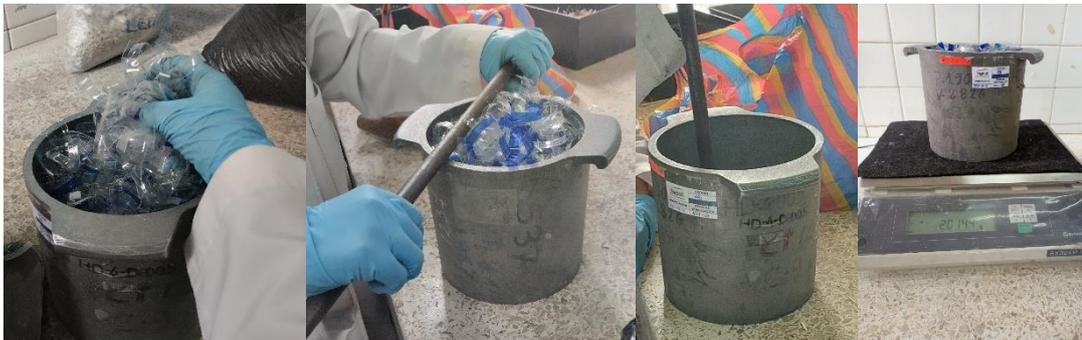


Figura 11. Ensayo de densidad aparente del PET.

Por otra parte, la absorción del PET se calculó a partir de las normas ASTM C128, NTE INEN 856, ASTM C127 y NTE INEN 857. Para lo cual se sumergió el material en agua, en un recipiente de peso conocido durante 24 horas, después se removió el exceso de agua y se pesó, este material se colocó en la estufa POL-EKO a $110\text{ }^{\circ}\text{C}$, para obtener el peso en seco.



Figura 12. Peso en seco del PET, ensayo de absorción.

Con respecto al ripio este se separó en una sección “fina” y “gruesa” con el método descrito anteriormente de tamizaje manual casero, el cual no es muy preciso ya que la malla puede sufrir deformaciones (aumentar su apertura) en función del uso, además que al ser partículas de forma irregular tienden a quedarse atrapadas en la malla y el tamizaje depende directamente de la fuerza manual aplicada en la agitación.

Por esta razón es importante caracterizar granulométricamente ambas fracciones, que, aunque se catalogan como agregado grueso por su tamaño de partícula, en los humedales se colocó de forma diferenciada, por lo que el ensayo de granulométrica se realizó mediante tamizajes independientes, siguiendo las normas ASTM C136 y ASTM C33.

Inicialmente es necesario realizar un proceso de homogenización y cuarteo del material (Figura 13), para lo que se coloca la grava sobre una charola y se dividió en 4 partes iguales, de las cuales se seleccionan los dos extremos opuestos con mayor similitud, y este proceso se repite una vez más, para después pesar la masa seca mínima basada en la norma ASTM C136, donde para el grava fino (TMN: 12.5 mm) fue 2 kg, y para el grava grueso (TMN: 25 mm) fue 10 kg.



(a) Grava “fino”

(b) Grava “grueso”.

Figura 13. Homogenización y cuarteo del grava.

En torno al tamaño máximo nominal y en función de la norma ASTM C33 (Figura 14), se seleccionan los tamices del ensayo.

Grading Requirements for Coarse Aggregates															
Size Number	Nominal Size (Sieves with Square Openings)	Amounts Finer than Each Laboratory Sieve (Square-Openings), Mass Percent													
		100 mm (4 in.)	90 mm (3½ in.)	75 mm (3 in.)	63 mm (2½ in.)	50 mm (2 in.)	37.5 mm (1½ in.)	25.0 mm (1 in.)	19.0 mm (¾ in.)	12.5 mm (½ in.)	9.5 mm (¾ in.)	4.75 mm (No. 4)	2.36 mm (No. 8)	1.18 mm (No. 16)	300 µm (No. 50)
1	90 to 37.5 mm (3½ to 1½ in.)	100	90 to 100	---	25 to 60	---	0 to 15	---	0 to 5	---	---	---	---	---	---
2	63 to 37.5 mm (2½ to 1½ in.)	---	---	100	90 to 100	35 to 70	0 to 15	---	0 to 5	---	---	---	---	---	---
3	50 to 25.0 mm (2 to 1 in.)	---	---	---	100	90 to 100	35 to 70	0 to 15	---	0 to 5	---	---	---	---	---
357	50 to 4.75 mm (2 in. to No. 4)	---	---	---	100	95 to 100	---	35 to 70	---	10 to 30	---	0 to 5	---	---	---
4	37.5 to 19.0 mm (1½ to ¾ in.)	---	---	---	---	100	90 to 100	20 to 55	0 to 15	---	0 to 5	---	---	---	---
467	37.5 to 4.75 mm (1½ in. to No. 4)	---	---	---	---	100	95 to 100	---	35 to 70	---	10 to 30	0 to 5	---	---	---
5	25.0 to 12.5 mm (1 to ½ in.)	---	---	---	---	---	100	90 to 100	20 to 55	0 to 10	0 to 5	---	---	---	---
56	25.0 to 9.5 mm (1 to ¾ in.)	---	---	---	---	---	100	90 to 100	40 to 85	10 to 40	0 to 15	0 to 5	---	---	---
57	25.0 to 4.75 mm (1 in. to No. 4)	---	---	---	---	---	100	95 to 100	---	25 to 60	---	0 to 10	0 to 5	---	---
6	19.0 to 9.5 mm (¾ to ¾ in.)	---	---	---	---	---	---	100	90 to 100	20 to 55	0 to 15	0 to 5	---	---	---
67	19.0 to 4.75 mm (¾ in. to No. 4)	---	---	---	---	---	---	100	90 to 100	---	20 to 55	0 to 10	0 to 5	---	---
7	12.5 to 4.75 mm (½ in. to No. 4)	---	---	---	---	---	---	---	100	90 to 100	40 to 70	0 to 15	0 to 5	---	---
8	9.5 to 2.36 mm (¾ in. to No. 8)	---	---	---	---	---	---	---	---	100	85 to 100	10 to 30	0 to 10	0 to 5	---
89	9.5 to 1.18 mm (¾ in. to No. 16)	---	---	---	---	---	---	---	---	100	90 to 100	20 to 55	5 to 30	0 to 10	0 to 5
9 ^a	4.75 to 1.18 mm (No. 4 to No. 16)	---	---	---	---	---	---	---	---	---	100	85 to 100	10 to 40	0 to 10	0 to 5

^a Size number 9 aggregate is defined in Terminology C125 as a fine aggregate. It is included as a coarse aggregate when it is combined with a size number 8 material to create a size number 89, which is a coarse aggregate as defined by Terminology C125.

Figura 14. Requerimientos de tamizado en agregados gruesos, ASTM C33.

En torno a esto para la “grava fina” se utilizaron los tamices ¾”, ½”, 3/8”, N° 4, N° 8, N° 16, y N° 50, y para la “grava gruesa” se usaron los tamices 1½”, 1”, ¾”, ½”, 3/8”, N° 4, y N° 8.

La masa seca mínima pesada se colocó en el tamiz superior y se procedió a tamizar, se utilizó un tamiz vibratorio automático en el caso de la grava fina y un tamiz de alta capacidad tipo charola para la grava gruesa, ambos marca Controls. Después pesar cada fracción, comprobando que al final no existan pérdidas significativas de material, este proceso se detalla en la Figura 15:



Figura 15. Tamizaje y pesaje de la grava.

Y considerando las curvas granulométricas, se procedió a utilizar como material fino del tamiz N° 50 al 3/8” (0.3 a 9.5), y como grueso aquel retenido de los tamices ½” a 1½”, por lo cual el material se tamizó nuevamente en el LEMSUR en función de estas granulometrías, ya que el proceso de tamizaje manual no fue suficiente para una correcta separación.

2.4.3 Diseño del humedal de flujo subsuperficial vertical (HFSSV)

a) Humedal y distribución del medio de soporte

Bibliográficamente el diseño de los humedales construidos se centra en la carga orgánica que será dosificada al sistema o la producción de efluentes por habitante, esto debido a que frecuentemente se utilizan en depuración de aguas residuales de comunidades pequeñas principalmente. Sin embargo, al ser un diseño en escala de laboratorio se optó por adquirir envases prefabricados y definir las variables en función de experimentaciones similares.

Se empleó un envase plástico grande de 350 mm x 520 mm x 400 mm, en el cual se dispuso el medio de soporte PET y grava con la siguiente distribución:

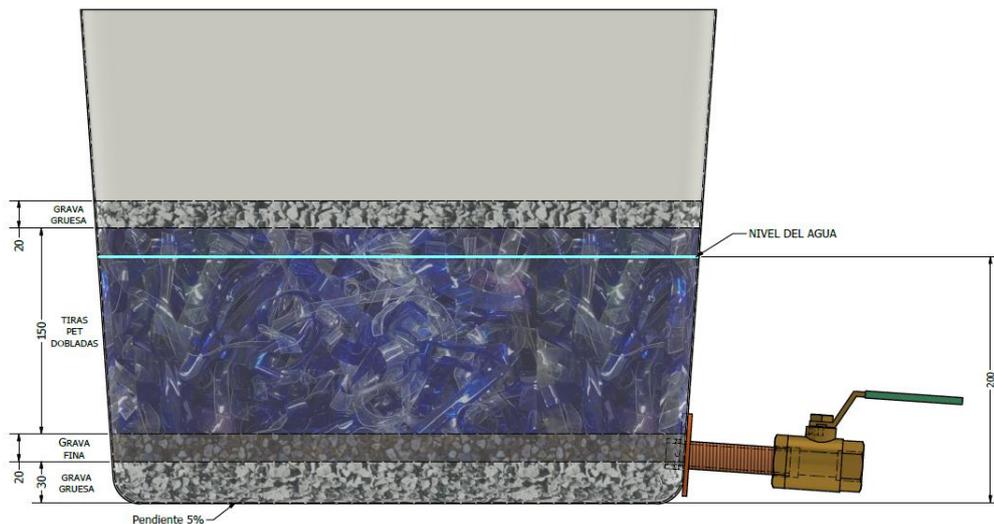


Figura 16. Distribución del medio de soporte en el HFSSV.

Fuente: Elaboración propia.

Como se puede observar se colocó de abajo hacia arriba: 30 mm de grava gruesa, 20 mm de grava fina, 150 mm de tiras de PET dobladas y 20 mm de grava gruesa, dejando un área libre de 180 mm donde se colocaron las plantas. El nivel del agua alcanza aproximadamente 180 mm.

b) Sistema de drenaje y recolección

En el recipiente está ensamblado un sistema de recolección, que consiste en un adaptador de 1/2" a la salida del humedal, cubierto con la malla en la parte expuesta al material para evitar o minimizar la salida de sólidos, y a la salida se acopló una llave jardinera de bola que permite la salida del efluente de forma regulada. Para favorecer la salida se generó una ligera inclinación del 5%, mediante un tablón de madera de 10 cm de largo y 2.5 cm de ancho, pegado en la parte posterior del recipiente. Todo sistema se encuentra montado sobre un pallet, para facilitar la recolección de muestras.

Para el proceso de descarga y vaciado semanal de los humedales, se utilizaron mangueras que se acoplaron a las llaves de jardín y descargaban en el canal del laboratorio, esto con la finalidad de facilitar este proceso.

c) Sistema de distribución y reservorio

El sistema de distribución es por gravedad, lo que se logró gracias a una diferencia de alturas, ya que el reservorio se encuentra elevado en una estructura metálica prefabricada de 1.2 m, este reservorio es un balde plástico con capacidad de 16 L, del cual sale el agua por medio de un adaptador de tanque de 1/2", la parte que está en contacto con la solución de cafeína se encuentra cubierta por una malla plástica para evitar el ingreso de sólidos y posee cuatro perforaciones en la parte baja para permitir el mayor ingreso posible del fluido.

A su vez, este se une a una tubería de PVC, de diámetro de 20 mm x 1.2 MPa, mediante un adaptador hembra de PVC 20mm x 1/2", este tubo se conecta por su otro extremo a una válvula de esférica de PVC de 20mm, la cual permite regular el flujo mediante un ángulo de apertura de 30°. A la salida de la válvula se conecta otra tubería, que finalmente se enlaza a un sistema de tres tuberías perforadas en paralelo, mediante el uso de una cruz y codos.

Cada tubo tiene 5 perforaciones con diámetro aproximado de 0.5 mm, las cuales se realizaron con una aguja delgada de pelo caliente, esto con el objetivo de propiciar un goteo en la distribución. El sistema se detalla en el plano adjunto en el Anexo I, pero se presenta un esquema en la Figura 17, este se realizó mediante el software Autodesk Inventor.

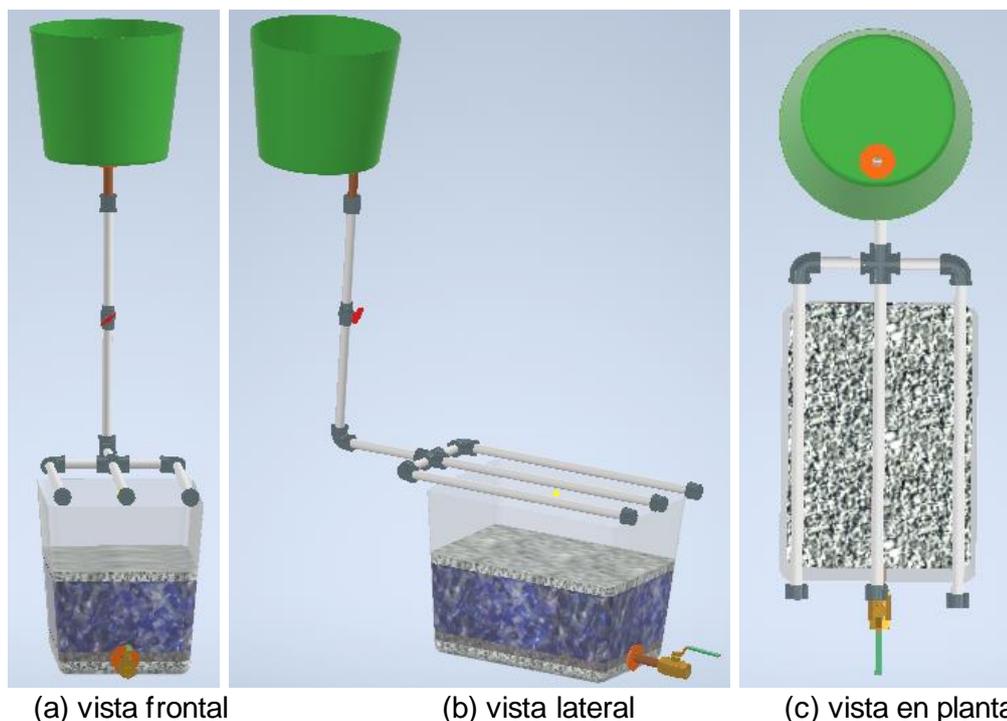


Figura 17. Esquema del humedal construido.

d) Colocación de la vegetación

La vegetación se compró nuevamente en Nayón, y se aclimatizaron siguiendo nuevamente el procedimiento adaptado de Rivadeneira (2020), esto es importante ya que se generará un cambio de sustrato, entre tierra y plástico, y se cuantificaron el número y longitud de las hojas.

Los troncos de la felicidad tienen un tallo robusto de 6 cm de diámetro aproximadamente, además basado en la densidad vegetativa expuesta por Venegas (2020), quien colocó en su diseño experimental 15 plantas/m² y Zamora et al. (2019), el cual en un área superficial de 0.5 m² colocó 4 plantas (8 plantas/m²), por ende, considerando que el humedal del presente proyecto tiene un área aproximada de 0.2 m², se deberían colocar de 2 a 3 plantas, pero para mantener una distribución uniforme se colocaron cuatro plantas distribuidas en el espacio disponible.

Estas fueron sembradas en el medio de soporte de PET, con cuidado para evitar que el medio corte las raíces. Además, se trató de que estas tengan características iniciales similares para lo cual se contabilizó inicialmente el número de hojas, y se midieron la hoja más larga y corta, lo cual ayuda igualmente a cuantificar los cambios generados tras la experimentación.

Este sistema se diseñó por duplicado con y sin plantas, esto para identificar la influencia de las plantas en la eficiencia del sistema, como se presenta en la Figura 18:



(a) (b)
Figura 18. Fotografía de los humedales construidos.

e) Distribución del flujo y caudal

Si bien la mayoría de los sistemas de flujo vertical subsuperficial se realizan en diferentes pulsos, se necesitaba implementar un sistema automatizado de bombeo, que consiste en una electrobomba y un timer digital para configurar la frecuencia (Paredes, 2014) Sin embargo, con la finalidad de reducir costos y consumo eléctrico se optó por realizar la distribución en un solo pulso, pero por goteo para maximizar el tiempo de distribución.

El sistema se realizó de forma intermitente o en batch, con un tiempo de retención de 7 días, y se dosificaron 16 L de solución de agua sintética de cafeína, esto considerando la capacidad del reservorio y que el nivel del agua alcanza 180 mm, favoreciendo el crecimiento de las raíces.

La descarga se produce en un tiempo de 60 min por goteo, por lo que se tiene un caudal de 0.4 L/min, por ende, en cada agujero (15 agujeros en total de 0.5mm de diámetro) se tiene un caudal de 17.8 mL/min y una velocidad de 1.5 m/s.

f) Solución de cafeína dosificada

A cada humedal se le dosificó semanalmente un volumen de 16 L de solución de cafeína con una concentración de 30 ppm, lo cual se realizó con agua envejecida, que es agua potable expuesta al sol para minimizar la concentración de cloro. Considerando esto y que en los 4 humedales se consumió un volumen de 64 L, se buscó optimizar este proceso utilizando un reservorio de capacidad de 70 L (Figura 19), en el cual se expuso el agua a la radiación solar durante la semana de experimentación, ya que al momento de la recarga también se llenaba dicho reservorio.

El reservorio se encontraba marcado al interior a un volumen de 66 L, estos 2 litros adicionales eran para suplir las posibles pérdidas producidas en la dosificación. Entonces, inicialmente se lo lleno midiendo los litros exactos de agua requeridos, para después llenarlo únicamente hasta la marca.



Figura 19. Reservorio de agua.

La solución de cafeína se preparó en una jarra con alrededor de 1 L de agua, donde se colocaron los 1.98 g del reactivo de cafeína anhidra pureza del 99% de la marca Lobachemie (Figura 20), y se agitaban hasta disolver todo el reactivo, esta solución posteriormente se diluía en los litros totales de agua envejecida, para lograr una solución de concentración de 30 ppm. Esta concentración podía variar en función de la cantidad de cafeína pesada, preparación de la solución y cantidad de agua, por ende, en cada recarga se cuantificó la concentración inicial de la solución.



Figura 20. Reactivo de cafeína anhidra al 99%.

En cada humedal se dosificaban manualmente los 16 L utilizando una jarra de 2 L, y una vez se completaba el volumen requerido se procedía a abrir la válvula del sistema de distribución, y como existía una pérdida en el reservorio de distribución de alrededor de 500 mL, debido a un estancamiento por la altura del accesorio, se colocaba dicho volumen con una jarra graduada directamente al humedal.

2.4.4 Monitoreo del sistema

Los humedales de flujo vertical subsuperficial se monitorearon durante 10 semanas (2 meses y medio), desde el 27 de abril hasta el 6 de julio de 2024, durante este tiempo la solución sintética de cafeína se suministró al sistema los días sábado (D1), donde se realizó la primera carga y subsecuentes recargas, de este proceso se toma una muestra inicial del tanque reservorio donde se realiza la solución ocupando agua envejecida, para verificar la concentración del afluente, y una vez recargados se toma una muestra inicial de cada humedal al fin de verificar la remoción inmediata del sistema, estas muestras son analizadas del día lunes mediante espectrofotometría UV-VIS. La siguiente muestra se toma al cuarto día (miércoles, D4), y se analiza ese mismo día, por última se toma una muestra al séptimo día (sábado, D7), las cuales se analizan el lunes igualmente. Esto se repite semanalmente durante todo el tiempo de monitoreo.

Adicionalmente se realizaron monitoreos de parámetros físicos y químicos, inicialmente de la solución de cafeína (afluente), con un estándar de 30 ppm. Y debido a que solo es una solución de agua sintética, y no un efluente de agua residual se tuvo parámetros muy bajos, por lo que el monitoreo de estos parámetros en el transcurso de la experimentación (Día 7, sábado) tiene el objetivo de comprobar el comportamiento del humedal, en caso de que estos aumenten o disminuyan, por lo que se va a realizar ensayos de manera quincenal para la turbidez, DQO y sólidos suspendidos, y mensualmente para la DBO₅.

La periodicidad de estos ensayos está estrechamente ligada a la disponibilidad de reactivos y equipos de laboratorio, sin embargo, no interfieren en los resultados y objetivos de la

investigación, ya que esta se centra en cuantificar la remoción de cafeína, ensayos que se realizan tres veces por semana.

A continuación, se detalla en la Tabla 3, los ensayos que se realizaron en función del transcurso de la experimentación:

Tabla 3. Ensayos realizados en la experimentación.

Mes	Semana	Fecha		Ensayos				
		Inicio	Fin	Cafeína	Turbidez	SST	DQO	DBO
1	1	27/4/2024	4/5/2024	x	x	x	x	
	2	4/5/2024	11/5/2024	x	x	x	x	
	3	11/5/2024	18/5/2024	x				
	4	18/5/2024	25/5/2024	x	x	x	x	x
2	5	25/5/2024	1/6/2024	x				
	6	1/6/2024	8/6/2024	x	x	x	x	
	7	8/6/2024	15/6/2024	x				
	8	15/6/2024	22/6/2024	x	x	x	x	x
3	9	22/6/2024	29/6/2024	x				
	10	29/6/2024	6/7/2024	x	x	x	x	

Las metodologías utilizadas para cuantificar estos parámetros son las tabuladas a continuación:

Tabla 4. Métodos utilizados para los parámetros monitoreados.

Parámetro	Método/Equipo	Laboratorio
Turbidez	Método 2130 B	LDIA-FICA-EPN
Sólidos suspendidos SST	Método 2540 D	
Demanda Química de Oxígeno DQO	Método 5220 D	
Demanda bioquímica de oxígeno DBO ₅	Método 5210D	CICAM-FICA-EPN
[Cafeína]	Espectrómetro de fluorescencia y absorbancia	Laboratorio de termodinámica-FIQA-EPN

Los métodos de calidad del agua se basan en el “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, a continuación, se describe cada procedimiento de forma resumida:

- **SST:** Para este ensayo fue necesario tarar las cápsulas con los filtros durante 24 horas y se colocaron en el desecador de 3 a 6 horas. Después se pesaron inicialmente y se filtró una muestra previamente homogenizada de 50 mL, y el filtro utilizado se coloca junto con la cápsula nuevamente en la estufa POL-EKO y en el desecador, y se procede a pesar, para tener la diferencia de peso inicial y final.
- **Turbidez:** Se utilizó un turbidímetro portátil Hach 2100P, en el cual se colocaron 10 mL de la muestra en la celda y se midieron en el equipo.
- **DQO:** Se emplearon viales de dicromato de potasio y ácido sulfúrico, marca HATCH de rango alto. En los cuales se añadió 2 mL de la muestra previamente homogenizada,

estos deben agitarse y dejar reposar para ser colocados en el digester Hach LT200 precalentado a 150°C durante 2 horas, una vez frías las muestras se midieron en el espectrofotómetro portátil Hach DR 2700.

- **DBO₅**: Estos ensayos fueron realizados por el personal técnico del CICAM, pero se basan en el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos durante la degradación de materia orgánica en una muestra de agua, esta se incubó en una botella respirométrica a 20°C durante 5 días, para lo cual se adiciona de un inhibidor de nitrificación.
- **Cafeína**: se realizó con espectrofotometría UV-VIS, empleando el espectrómetro Duetta de fluorescencia y absorbancia, de la empresa Horiba (Figura 21), que es espectrofluorómetro 2 en 1 que combina simultáneamente las funciones de los espectrómetros de fluorescencia y absorbancia, con un detector de absorbancia que es un fotodiodo de silicio. En el caso específico de la cafeína se analizó se escaneo desde la longitud de onda de 230 a 320 nm, con un incremento de 2 nm y un tiempo de integración de 0.5 s. En función de esta configuración el pico máximo de cafeína se determinó en 272 nm, y se colocó como blanco una muestra del agua envejecida con la que se prepara la solución.

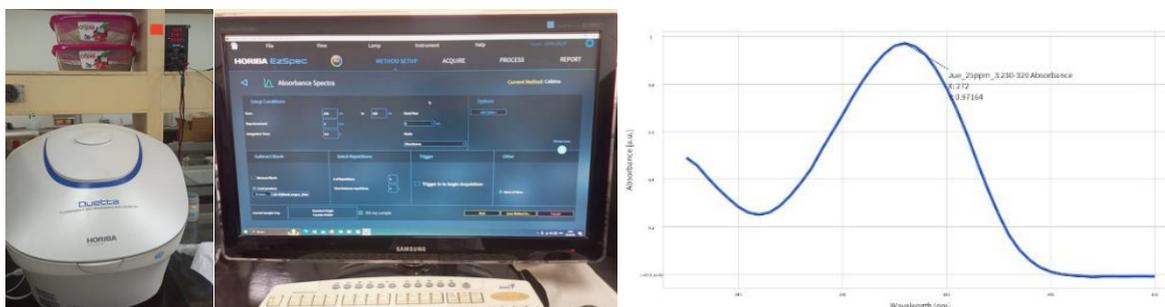


Figura 21. Espectrofotómetro UV-VIS.

Es importante aclarar que al ser una investigación/componente de un proyecto, se decidió de forma unánime, someter a las muestras a un proceso de centrifugado previo al ensayo de espectrofotometría UV-VIS, ya que este método es sensible a interferencias producidas por el color, turbidez y sólidos suspendidos. Pues si bien inicialmente se obtuvieron muestras claras (Figura 22), se supuso que podrían variar estas condiciones en función del transcurso de la experimentación.

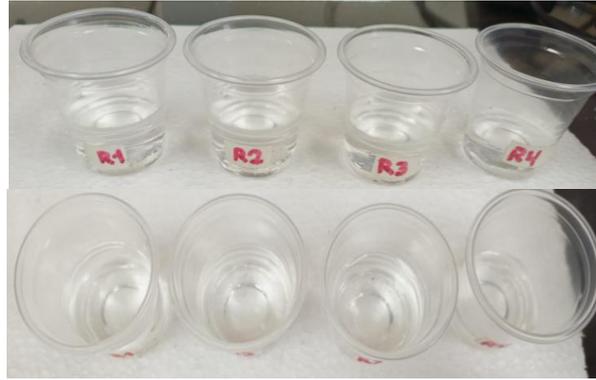


Figura 22. Muestras al séptimo día, semana 1.

Este proceso de centrifugado busca acelerar la decantación de sólidos mediante una fuerza centrífuga, y para lo cual se utilizó la centrífuga Z36 HK marca Herlme. En principio se pesó una cantidad de muestra igual en los tubos de ensayo del equipo, esto con el objetivo de equilibrar las cargas en la centrífuga, después se configuró el equipo en 15000 rpm, 20°C y 10 min, pudiendo procesar hasta 6 muestras, en caso de ser menos debe realizarse en pares y buscando equilibrar sus pesos en el equipo, este proceso se muestra en la Figura 23:



Figura 23. Proceso de centrifugado de las muestras.

Pero para cuantificar la concentración de cafeína y su remoción, es necesario que inicialmente se establezca una curva de calibración, que se construyó a partir de concentraciones estándar de 0.5, 1, 2, 5, 10, 25 y 50 ppm, preparadas en base a una solución madre de 50 ppm, de la que se obtuvo las respectivas diluciones.

2.5 Pruebas estadísticas

Se realizó un análisis estadístico utilizando el Software OriginPro, donde se excluyeron los valores atípicos mencionados anteriormente, y para la selección de las pruebas estadísticas, se consideró la metodología expuesta por Flores et al., (2017), la cual se detalla en la Figura 24, para esto se define el objetivo del estudio, que es comparar los 4 grupos (R1, R2, R3, R4), cuyas variables son cuantitativas.

Objetivos del estudio	VARIABLES Y DISTRIBUCIÓN	Tipo de muestra	Prueba recomendada
Comparar 2 promedios	Cuantitativas, distribución normal	Muestras relacionadas Muestras independientes	t de Student t de Student
	Cuantitativas discontinuas y continuas sin distribución normal	Muestras relacionadas Muestras independientes	Wilcoxon U Mann Whitney
Comparar ≥ 3 grupos	Cuantitativas, distribución normal	Muestras relacionadas Muestras independientes	Análisis de varianza (ANOVA) de 2 vías ANOVA de una vía
	Cuantitativas discontinuas y continuas sin distribución normal	Muestras relacionadas Muestras independientes	Friedman Kruskal-Wallis
Comparar 2 grupos	Cualitativas nominales y ordinales	Muestras relacionadas Muestras independientes	McNemar Chi-cuadrada*
Comparar ≥ 3 grupos	Cualitativas nominales y ordinales	Muestras relacionadas Muestras independientes	Q de Co chran Chi cuadrada
Correlación de 2 variables	Cuantitativas, distribución normal	Muestras independientes	Coefficiente de correlación de Pearson
	Cuantitativas discontinuas y continuas sin distribución normal	Muestras independientes	Coefficiente de correlación de Spearman

Figura 24. Prueba estadística en función del objetivo y escala de medición de las variables.
Fuente: Flores et al., (2017).

Inicialmente se debe realizar la prueba de normalidad (distribución normal o distribución de Gauss), considerando un nivel de significancia de 0.05 y que las hipótesis son (Obando, 2023):

- **Hipótesis nula (H_0):** Los datos tienen una distribución normal.
- **Hipótesis alternativa (H_1):** Los datos no tienen una distribución normal.

En función de la normalidad y considerando el tipo de muestra se utilizó las siguientes pruebas en función de cada pareja de humedales (Tabla 5), a la par de este ensayo se realizó la prueba de Dunn para las distribuciones no normales, y Turkey para la distribución normal del día cuatro, entre R3 y R4. De donde se obtiene Sig, que representa la significancia.

Tabla 5. Pruebas estadísticas por parejas de humedales.

DIA 1					
Parejas	Distribución	Muestra	Prueba	Sig	Resultado
R1-R2	No normal	Relacionada	Friedman	0	Diferencias no significativas
R3-R4	No normal	Relacionada	Friedman	0	Diferencias no significativas
R1-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R1-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	1	Diferencias significativas
R2-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	1	Diferencias significativas
R2-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	1	Diferencias significativas
DIA 4					
Parejas	Distribución	Muestra	Prueba	Sig	Resultado
R1-R2	No normal	Relacionada	Friedman	0	Diferencias no significativas
R3-R4	Normal	Relacionada	ANOVA	0	Diferencias no significativas
R1-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R1-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R2-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R2-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas

DIA 7					
Parejas	Distribución	Muestra	Prueba	Sig	Resultado
R1-R2	No normal	Relacionada	Friedman	0	Diferencias no significativas
R3-R4	No normal	Relacionada	Friedman	0	Diferencias no significativas
R1-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R1-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R2-R3	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas
R2-R4	No normal	Independiente	Kruskal-Wallis	0	Diferencias no significativas

*Sig igual a 1 indica que las diferencias de los promedios son significativas al nivel de 0,05

*Sig igual a 0 indica que las diferencias de los promedios NO son significativas al nivel de 0,05

Estas pruebas tienen como hipótesis (Obando, 2023):

- **Hipótesis nula:** entre los grupos no existe diferencia significativa.
- **Hipótesis alternativa:** entre los grupos existe una diferencia significativa.

3. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1 Resultados

3.1.1 Monitoreo del área de experimentación

De los monitoreos realizados de temperatura y humedad relativa en las tres posibles zonas de instalación, se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 5:

Tabla 6. Monitoreo de temperatura y humedad.

Día	19/2/2024	21/2/2024	23/2/2024	Promedio	Desviación estándar
ZONA A					
Horario			Mañana		
Temperatura (°C)	20	20	20	20	0
Humedad relativa (%)	53	54	51	53	2
Hora			Tarde		
Temperatura (°C)	21	20	22	21	1
Humedad relativa (%)	55	55	43	51	7
ZONA B					
Horario			Mañana		
Temperatura (°C)	21	21	20	21	1
Humedad relativa (%)	51	53	51	52	1
Hora			Tarde		
Temperatura (°C)	22	20	22	21	1
Humedad relativa (%)	55	56	48	53	4
ZONA C					
Horario			Mañana		
Temperatura (°C)	20	21	20	20	1
Humedad relativa (%)	52	53	51	52	1
Hora			Tarde		
Temperatura (°C)	22	20	22	21	1
Humedad relativa (%)	54	56	49	53	4

A pesar de ser un espacio amplio, se puede apreciar que se tiene un temperatura y humedad relativa bastante homogénea en todo el laboratorio, de alrededor de 21 °C y 53%, respectivamente. Otro aspecto importante es el factor del espacio disponible, ya que la Zona B y C, se encuentran cerca de las rejillas de un canal en el laboratorio, además estas dos zonas se encuentran en cerca de la ventana, por lo que existe un mayor ingreso de radiación solar, lo que podría tener una influencia negativa en el crecimiento de las plantas. Considerando estos factores se seleccionó la zona A, como el espacio idóneo para la construcción del sistema.

3.1.2 Curva de calibración

Cómo se mencionó en la metodología la curva se obtuvo a partir de estándares de cafeína a las siguientes concentraciones expuestas en la Tabla 7 y Figura 2:

Tabla 7. Valores curva de calibración.

Absorbancia	C (ppm)
0,01213	0,5
0,05735	1
0,14670	2
0,21919	5
0,46680	10
1,17750	25
2,25230	50

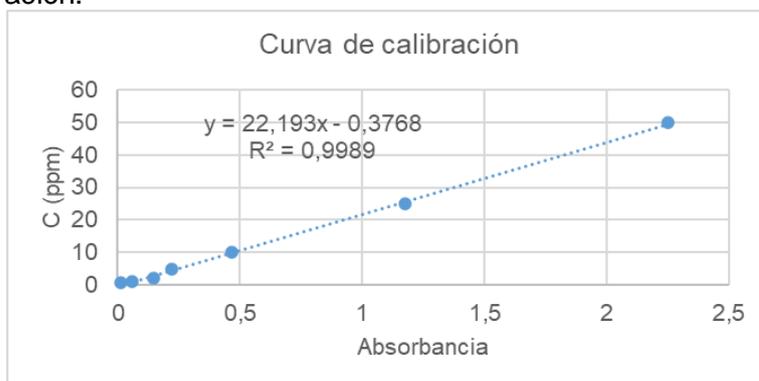


Figura 25. Curva de calibración.

A partir de esta gráfica se obtiene la siguiente ecuación (1) que cuantifica la concentración de cafeína en función de la absorbancia:

$$[Cafeína]_{final} = 22.193(Absorbancia) - 0.3768 \quad (1)$$

Esta ecuación se acepta ya que se tiene un R^2 cercano a uno, lo que indica que la correlación de la concentración y la absorbancia presentan una tendencia lineal. Las concentraciones de 75 y 100 ppm no se consideraron, debido a que disminuyeron la linealidad, como se explicará en la siguiente sección.

3.1.3 Selección de la vegetación

A partir de los ensayos de toxicidad preliminares que se realizaron para las concentraciones de cafeína de 10, 25, 50, 75, y 100 ppm, por triplicado, solo se lograron medir los resultados para el tronco de la felicidad, mientras que para el bambú de agua y la mala madre, los resultados no fueron reportados por el espectrofotómetro, esto es debido a que la turbidez y cantidad de sólidos que contenían las muestras imposibilitaron su medición.

De este ensayo se logró identificar que a la concentración de 75 ppm se redujo la linealidad de la curva de calibración y para 100 ppm los resultados no fueron detectables. Esto se debe ya que a concentraciones muy altas pierde precisión el método de detección, razón por la que estas concentraciones ya no se considerarán en futuros ensayos.

El ensayo se llevó a cabo durante una semana, al cuarto día se pudo evidenciar la formación de una capa espesa de color blanco en la superficie del agua de las plantas mala madre y bambú, como se muestra en la Figura 26, la cual se volvió más espesa con el transcurso de los días y a la par, las hojas de dichas plantas se empezaron a secar y se percibía un olor desagradable. Esta capa blanca según Bollmann-Giolai et al. (2022), puede deberse a varias causas, incluyendo el crecimiento de biofilm, la acumulación de minerales, y la presencia de hongos o moho. Esto último se produce debido al agua estancada, la falta de circulación y ambientes húmedos. Otro factor que puede influir son las raíces demasiado densas, ya que pueden atrapar residuos y compuestos orgánicos, y reducen la disponibilidad de oxígeno en el sustrato, lo que conlleva a la acumulación de toxinas y microorganismos patógenos.



(a) Mala madre

(b) Bambú

Figura 26. Formación de hongos en los ensayos de toxicidad.

Es importante evidenciar que la formación de esta capa no está asociada a la concentración de la cafeína, sino únicamente a los tipos de plantas que se usaron.

Otro factor para considerar en esta selección es que el área de implementación tiene una temperatura de 21 °C y una HR del 53%, bajo esta condición solo el bambú necesitaría una mayor humedad, mientras que las otras dos plantas, pueden adaptarse adecuadamente. Sin embargo, la mala madre parece necesitar un suelo suelto con buen drenaje, lo que no es posible en este sistema ya que el agua se empoza durante 7 días.

A partir de todo lo expuesto, se seleccionó al tronco de la felicidad (*Dracaena fragrans*), como la vegetación idónea para la construcción de los humedales, esto considerando que bajo las mismas condiciones ambientales y de limpieza previa, las otras plantas propician el desarrollo de hongos en ambientes estancados, lo cual podría afectar al funcionamiento de los humedales los cuales se realizan en batch durante una semana.

Otros factores que se consideraron para su selección son su bajo costo, su accesibilidad, su valor estético, su resistencia a largo plazo, su adaptabilidad a ambientes acuáticos y a las condiciones ambientales del área de experimentación, además de una mayor homogeneidad inicial en las plantas compradas en relación con al tallo, raíces y hojas.

3.1.4 Caracterización del medio de soporte

a) Densidad aparente y absorción del PET

Se obtuvo la densidad seca de la muestra suelta y compactada, que son 40 y 60 kg/m³, respectivamente. Considerando que la masa del material suelto es 117.4 g, y del material compactado es 157.3 g, y por ende el volumen de la muestra compactada es 2.62x10⁻³ m³, y a partir de la ecuación 2:

$$\rho_{aparente} = \frac{m_{suelto}}{V_{compactado}} \quad (2)$$

Se obtiene una densidad aparente de 45 kg/m³.

Por otro lado, la relación entre estos pesos húmedo y seco nos indica el porcentaje de absorción de agua del material, que en este caso es del 3.75% para el PET.

En base a estas características se puede decir que el medio de soporte PET, que va a tender a flotar ya que tiene una menor densidad que el agua, por lo que es indispensable que se coloque la grava para asentar el sustrato. Por otra parte, como era de esperarse que el PET tenga una absorción muy baja, e incluso nula, considerando la cantidad de agua que se queda adherida en la superficie del material debido a la tensión superficial.

b) Granulometría de la grava

De los ensayos de granulometría se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 8 y 9):

Tabla 8. Datos de granulometría de la grava fina.

Tamiz	Abertura de tamiz (mm)	Porcentaje pasante (%)	Porcentaje retenido (%)
3/4 in	19,00	100,00	0,00
1/2 in	12,50	98,90	1,10
3/8 in	9,50	77,60	21,30
N° 4	4,75	19,70	57,90
N° 8	2,36	2,30	17,40
N° 16	1,18	0,30	2,00
N° 50	0,30	0,20	0,10
Bandeja	0,00	0,00	0,20

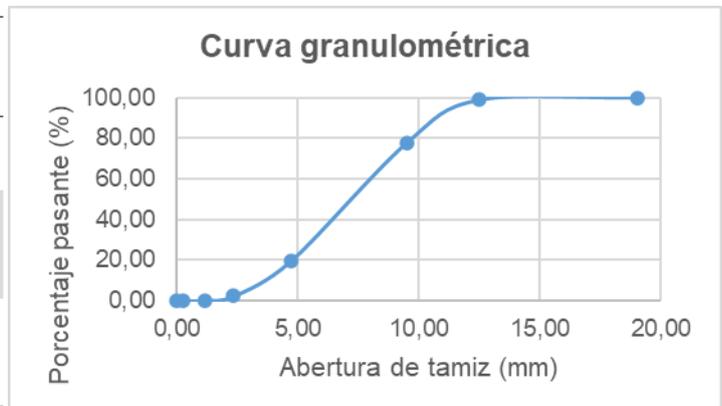


Figura 27. Curva granulométrica grava fina.

Como se evidencia la grava fina tiene mayormente un tamaño de partícula que va de 2.36 a 9.5 mm, siendo más representativas las partículas de 4.75 mm (tamiz N° 4).

Tabla 9. Datos de granulometría de la grava gruesa.

Tamiz	Abertura de tamiz (mm)	Porcentaje pasante (%)	Porcentaje retenido (%)
1 1/2 in	37,50	100,0	0
1 in	25,00	88,2	11,8
3/4 in	19,00	63,3	24,9
1/2 in	12,50	13,4	49,9
3/8 in	9,50	5,6	7,8
N° 4	4,75	4,0	1,6
N° 8	2,36	3,7	0,3
Bandeja	0,00	0,0	3,7

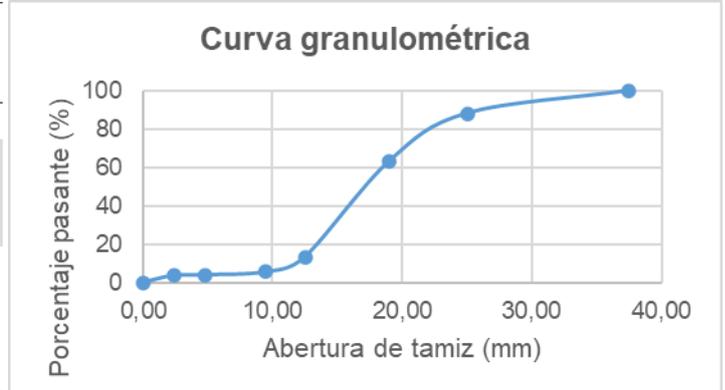
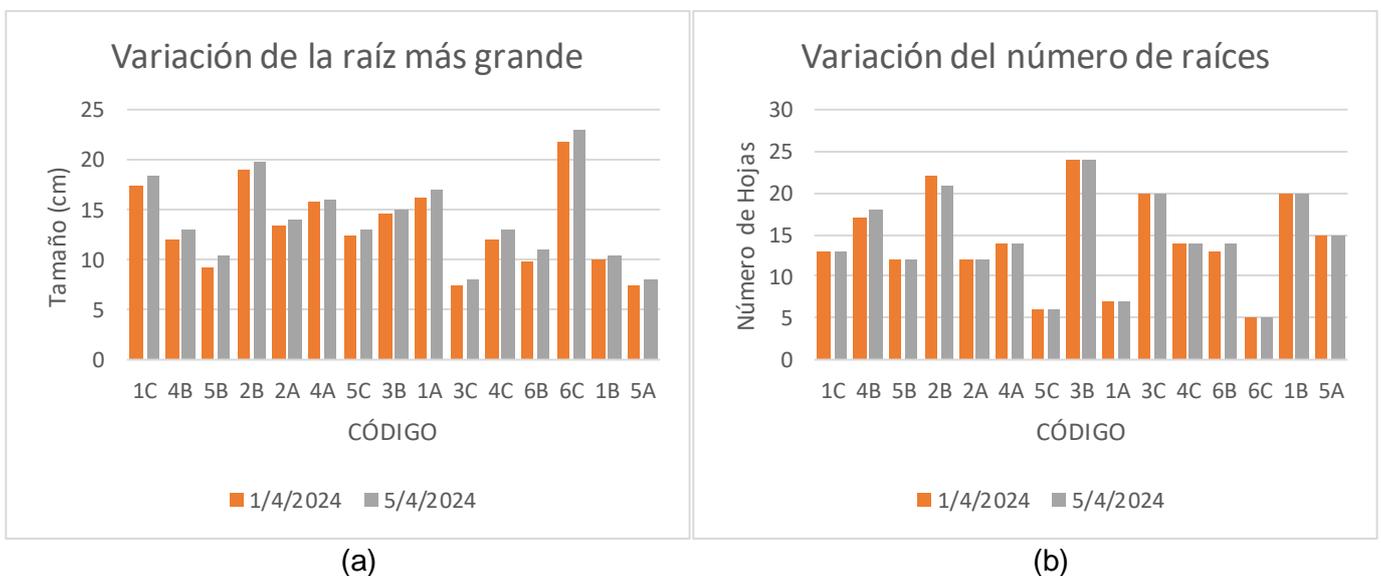


Figura 28. Curva granulométrica grava gruesa.

La grava gruesa va mayormente de 9.5 mm a 25 mm, siendo la mayor parte de 12.5 mm. Esto indica que el proceso de tamizado preliminar fue bastante eficiente, pues logro separar en gran medida los tipos de grava, sin embargo, para garantizar una diferencia de granulometrías a partir del tamaño de 12.5 nm fue necesario un tamizaje complementario como se explicó previamente.

3.1.5 Pruebas de toxicidad tronco de la felicidad

Las variaciones cuantitativas provocadas por los ensayos de toxicidad, en el número de hojas y raíces; tamaños de la hoja y raíz, más larga y corta, así como un registro fotográfico, se presentan de forma detallada en el Anexo II., pero de forma general se obtuvieron los resultados que se ilustran en la Figura 29.



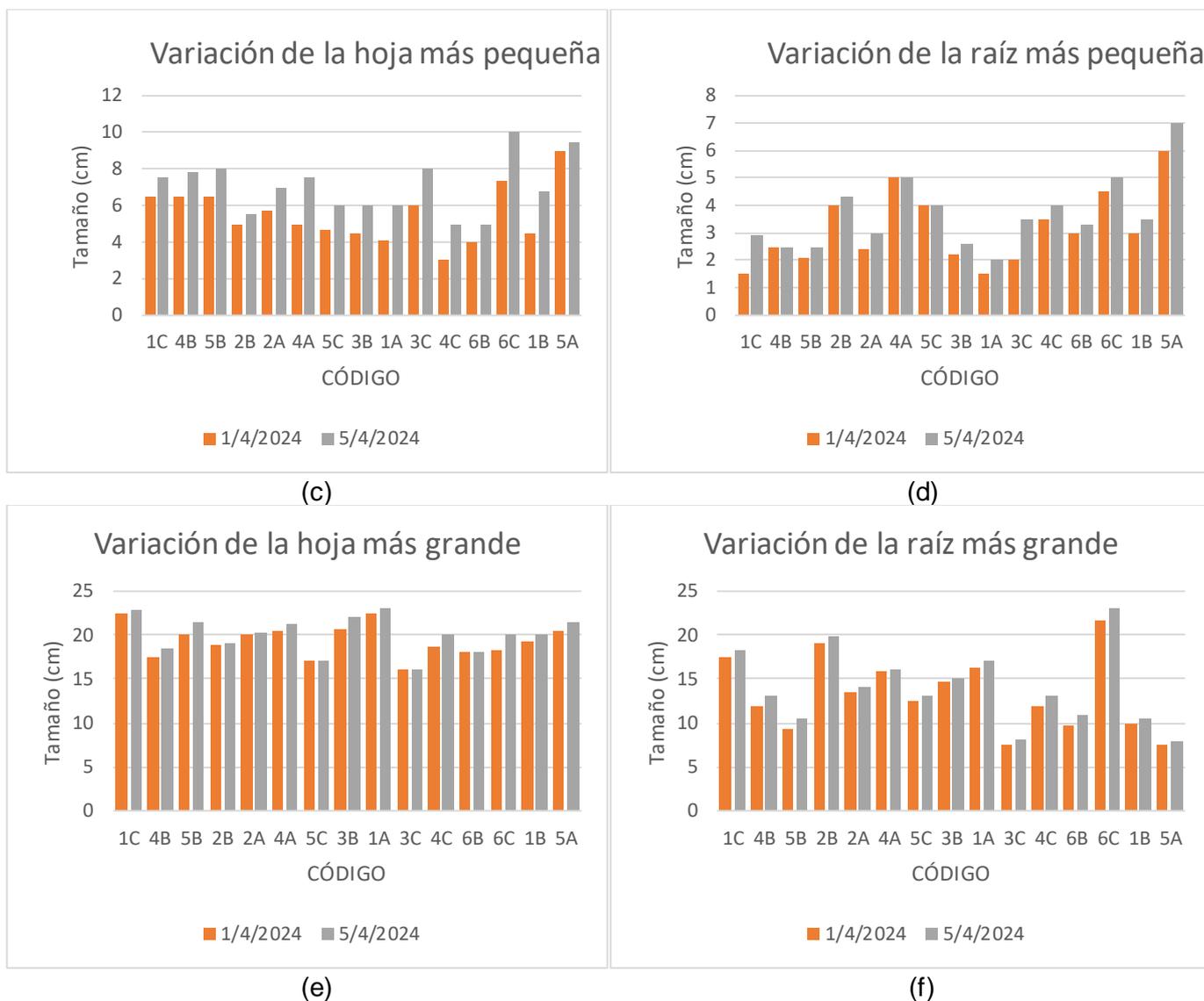


Figura 29. Variaciones en hojas y raíces debido a ensayos toxicológicos.

De esto se puede concluir lo siguiente:

- El número de raíces y hojas no varía significativamente bajo ninguna concentración, y en caso de presentarse se debe más a un error de apreciación en el conteo o a la presencia de pequeñas hojas secas.
- La cafeína no produce efectos inhibitorios en el crecimiento de raíces y hojas, pues las diferencias al finalizar el ensayo de toxicidad son favorables entorno al crecimiento, lo cual es más representativo en el caso de las hojas pequeñas. En base al blanco, se evidenció un crecimiento de raíces y hojas más favorable con las concentraciones de 25 y 50 ppm.
- Después de un mes se pudo apreciar ciertos cambios en las hojas de las plantas, las cuales tienden a secarse cuando están en presencia del sol, principalmente las que se encuentran en la base de la ramificación, sin embargo, no son cambios demasiado relevantes como para asumir que se deban a la presencia de cafeína.

Puesto que la concentración de cafeína no representa una variable limitante para su dosificación en los HC, sino más bien parece tener efectos benéficos en el crecimiento de las plantas a concentraciones elevadas. Se considerará como otro factor la remoción mediante la vegetación, lo cual se muestra en la Tabla 10:

Tabla 10. Pruebas de remoción de cafeína.

Ensayo	Co teórico (ppm)	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Diferencia (ppm)	Remoción (%)
		C inicial (ppm)	C final (ppm)					
1	5,0		4,6	4,2	0,9	0,1	4,7	98
2		4,8	4,7	4,4	1,5	0,0	4,8	100
3			4,6	4,5	2,7	2,0	2,8	59
1	10,0		10,1	8,5	8,2	6,9	3,9	36
2		10,8	10,2	9,8	7,1	5,0	5,8	54
3			10,6	10,2	9,5	8,9	1,9	18
1	25,0		25,4	24,9	22,0	22,0	3,8	15
2		25,8	25,5	25,2	23,6	18,2	7,6	29
3			25,7	25,0	20,0	15,6	10,2	40
1	50,0		49,3	49,1	47,8	46,5	3,1	6
2		49,6	49,3	49,2	46,4	43,9	5,7	12
3			49,0	48,9	45,8	42,8	6,8	14

Cómo se puede apreciar las remociones de cafeína por efecto de la planta van de 2 a 10 ppm, sin embargo esta remoción es bastante variable, por ejemplo a 25 ppm se tiene una diferencia de 6.4 ppm entre el ensayo 1 y 3, a pesar de tener características iniciales y finales muy similares (Figura 28), por lo que depende mucho de las condiciones particulares de la planta y su capacidad de asimilación del contaminante, además que esta remoción puede verse influenciada por la incidencia de la radiación solar.

En torno a estos factores, y considerando que los humedales construidos son un sistema mucho más complejo y eficiente, además que se suministrará el caudal de forma intermitente con un tiempo de retención hidráulico de 7 días, para poder apreciar los cambios y remociones en función del tiempo de permanencia en el sistema, es necesario partir de un valor elevado de concentración inicial, además que como se mencionó las concentraciones altas de cafeína favorecen el desarrollo de la vegetación.

Esto sumado a lo expuesto por Valenzuela (2020), quien trabajó con una concentración de 30 ppm, esto debido a que se tiene mayor confiabilidad cuando la absorbancia está en el rango de 0.187 y 0.824, ya que según Harry (2007), se complica la medición de la energía radiante cuando la absorbancia es alta y por ende poca luz atraviesa la muestra, mientras que a absorbancias muy pequeñas se dificulta la diferenciación entre el blanco y la muestra. En base a esto se suministró un flujo con una concentración inicial de cafeína de 30 ppm.

3.1.6 Caracterización de la solución de cafeína

El sistema fue diseñado para tratar una solución artificial de cafeína, cuya concentración inicial es de 30 ppm, en base a esto se caracterizó el afluente mediante parámetros físicos y químicos, estos ensayos se realizaron por duplicado obteniendo los siguientes valores promedio (Tabla 11):

Tabla 11. Calidad del agua de la solución sintética de cafeína.

Parámetro	Concentración	LMP
Turbidez (NTU)	1.37 ±0.007	50*
DQO (mg/L)	29 ±1.4	500
DBO ₅ (mg/L)	0.75 ±0.07	250
Sólidos disueltos (mg/L)	230 ±17	1380
Sólidos suspendidos (mg/L)	88 ±0	220

Fuente (LMP): TULSMA, Anexo 1. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público.

*Condición natural de un estuario.

Como se puede observar inicialmente la calidad del agua de la solución presenta valores bajos, y dentro del LMP expuestos para descargas al sistema de alcantarillado público. Además, solamente el parámetro de sólidos disueltos presenta una desviación estándar alta entre los ensayos realizados.

3.1.7 Monitoreo de los humedales

a) Caracterización de las plantas

Para cuantificar los cambios generados en las plantas de los humedales, se midió inicialmente la hoja más corta y larga y se contaron, proceso que se repitió una vez terminado el monitoreo (Tabla 12), algunas hojas en el transcurso del monitoreo se secaron, por lo cual se arrancaron.

Tabla 12. Monitoreo de plantas de los humedales.

Código	22/4/2024			10/7/2024			Diferencia		
	Pequeña	Grande	#	Pequeña	Grande	#	Pequeña	Grande	#
1W	10	18	8	7,5	20,5	7	-2,5	2,5	-1
2W	5	16,5	10	5	20,5	11	0	4	1
3W	4,5	17	14	4,5	20	15	0	3	1
4W	5,5	14	10	2,0	18,5	8	-3,5	4,5	-2
1A	2,5	18,5	12	1,0	21	12	-1,5	2,5	0
2A	6	18,5	8	-	18,5	6	-	0	-2
3A	2,5	17	18	2,5	17	14	0	0	-4
4A	6	24	15	-	25,5	11	-	1,5	-4

Como se puede observar en la hoja pequeña no existe crecimiento, ya que las hojas de la parte inferior son las que más tienden a secarse, como en el caso de la planta 1W, 4W y 1A a la cual se le recortó la sección seca, por otra parte, la planta 2A y 4A ya no tienen esa hoja porque fue arrancada. Estas hojas secas se pueden cuantificar cuando la diferencia en el número de hojas es negativa, mientras que la diferencia positiva se debe al crecimiento de nuevas hojas.

En la hoja grande se puede notar un crecimiento, en muchos casos significativo, esto gracias a que el sistema favorece el crecimiento de la vegetación. Es importante resaltar que las plantas se mantuvieron con un aspecto estético en todo el transcurso de la experimentación, y las hojas secas pueden deberse a un exceso de radicación, además que esto ya es algo recurrente incluso en el transcurso de la aclimatización y ensayos de toxicidad.

Los cambios observados en las plantas se pueden ver a mayor detalle en el Anexo III, allí se puede observar que el humedal que tiende a tener más hojas secas es el R2, donde la planta que mayormente se secó fue la 3A.

b) Remoción de cafeína

Se estableció una nomenclatura para los 4 humedales, donde R1 y R2 son con plantas, y R3 y R4 sin plantas, de todo el monitoreo realizado durante las 10 semanas, con muestreos al día 1, 4 y 7 (D1, D4, D7), donde el día 1 corresponde a la remoción al finalizar la recarga (TRH=1 hora). Se obtuvieron los resultados expuestos en la Tabla 13:

Tabla 13. Resultados de la remoción (%) de cafeína.

		HUMEDAL			
SEMANA	DÍA	R1	R2	R3	R4
S1	D1	80,66	82,39	90,35	93,77
	D4	62,06	73,17	68,05	77,8
	D7	84,17	69,63	81,54	94,38
S2	D1	35,95	36,02	46,44	72,86
	D4	59,03	64,07	66,12	73,22
	D7	100,00	99,68	83,73	97,41
S3	D1	40,14	50,27	46,79	67,13
	D4	79,39	76,17	71,15	76,43
	D7	99,84	99,8	53,8	98,85
S4	D1	36,93	37,09	94,84	69,96
	D4	81,66	84,35	78,49	82,63
	D7	99,6	99,14	99,57	99,68
S5	D1	35,98	36,94	47,43	80,52
	D4	91,43	92,09	86,41	87,5
	D7	100,00	100,00	100,00	100,00
S6	D1	41,7	34,33	50,23	49,25
	D4	95	91,92	89,95	98,74
	D7	100,00	100,00	100,00	100,00

S7	D1	36,28	27,49	54,81	51,84
	D4	89,98	90,31	89,52	96,47
	D7	100,00	100,00	100,00	100,00
S8	D1	46,44	30,27	51,04	74,37
	D4	87,64	88,26	81,35	93,44
	D7	100,00	100,00	99,11	100,00
S9	D1	36,14	25,73	45,78	50,45
	D4	90,53	90,41	86,26	94,01
	D7	98,13	99,38	99,42	99,90
S10	D1	38,28	29,34	41,11	42,77
	D4	90,06	87,61	88,71	89,24
	D7	98,6	99,42	100,00	98,91

Como se puede observar existen ciertos datos atípicos a lo largo del monitoreo, principalmente para el humedal R3, por ejemplo, en S3-D7 y S4-D1, estas interferencias pueden ser el resultado de errores sistemáticos en la medición del efluente.

En la primera semana de tiene una mayor remoción apenas la solución ingresa al humedal (TRH=1 hora), misma que disminuye en el día 4, y se incrementa nuevamente al día 7. En el D1, los humedales siguen el comportamiento de una columna de absorción, donde el medio se satura a un determinado tiempo de ruptura logrando su máxima retención (Bernal & Aguirre, 2022)

y a partir del mismo el rendimiento empieza a disminuir. Considerando que el PET tiene una absorción 3.75% y la grava varía de 1 a 3% (Norma chilena 1117), esta remoción inicial puede ser resultado del efecto de este mecanismo de absorción. Pero del cuarto al séptimo día, el comportamiento tiende a ser el habitual del sistema.

Si analizamos el comportamiento de los humedales para cada día, donde a remoción está en función de la semana de experimentación se tiene la Figura 30:

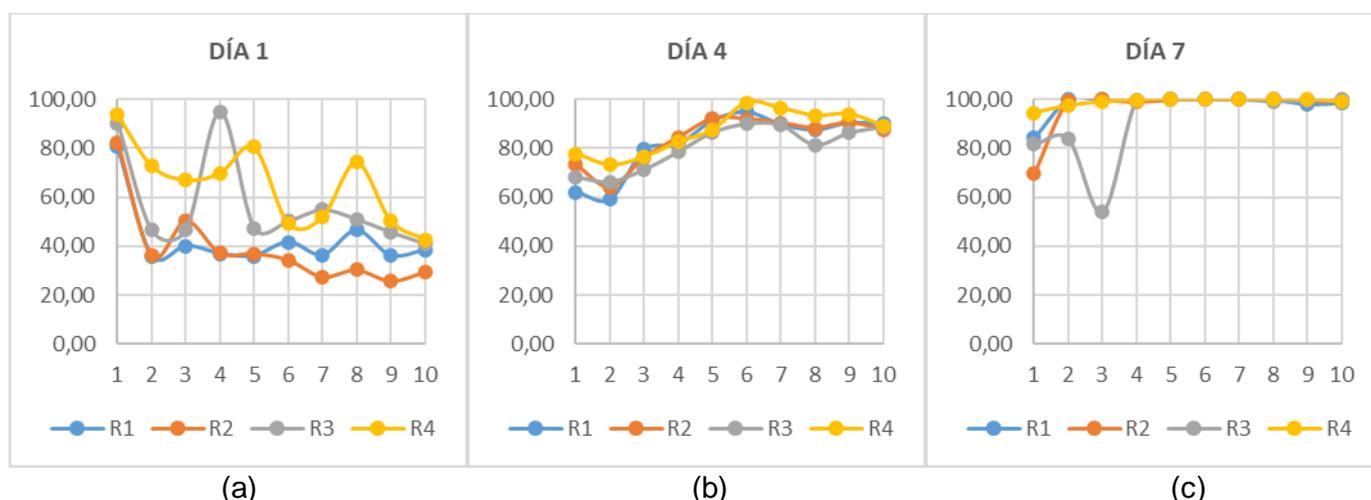


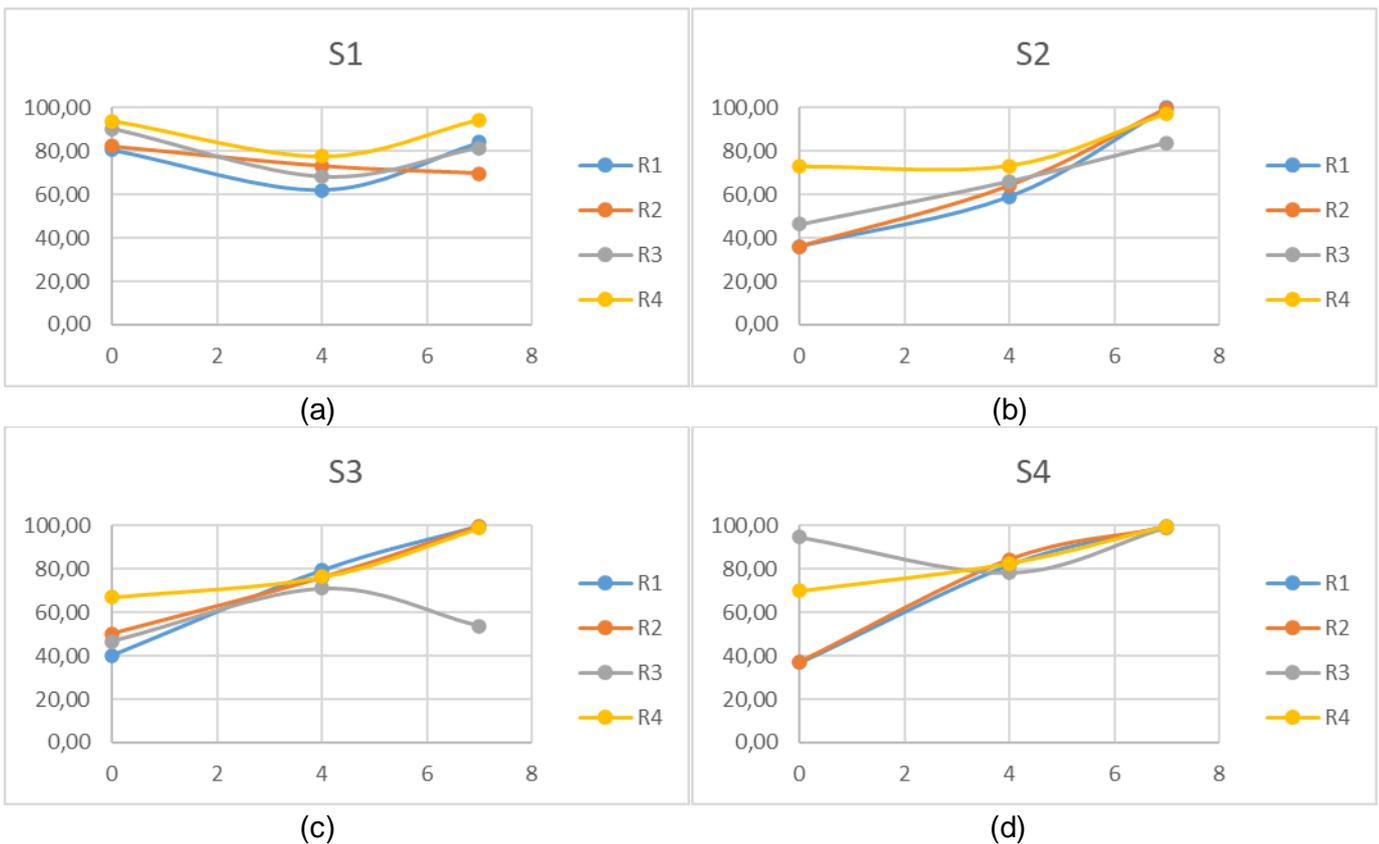
Figura 30. Comportamiento de la remoción VS la semana, según el día de monitoreo.
Nota: Semana (Eje x) vs Porcentaje de remoción (Eje y).

Cómo se puede apreciar en la Figura 29a, al día uno existe una gran variabilidad en los datos, lo cual es más notorio para el humedal R3 y R4, mientras que los sistemas con plantas son más homogéneos, manteniéndose en un rango del 20 al 60%.

Al cuarto día (Figura 26b) se puede apreciar una estrecha correlación entre los cuatro humedales, y no existen valores atípicos, y la remoción sigue una tendencia creciente con el transcurso de las semanas, en un rango de remoción del 60 al 97%.

En el último día (D7), se tiene una remoción prácticamente constante de los humedales R1, R2 y R4, que se sitúa en valores cercanos e iguales al 100%. A excepción de la primera semana, donde este es menor (70 al 95%). Por otra parte, el humedal R3 presenta un comportamiento anómalo las tres primeras semanas, sin embargo, sus resultados son concordante a los otros sistemas a partir de la semana 4.

El comportamiento de los humedales en cada semana se presenta en la Figura 31:



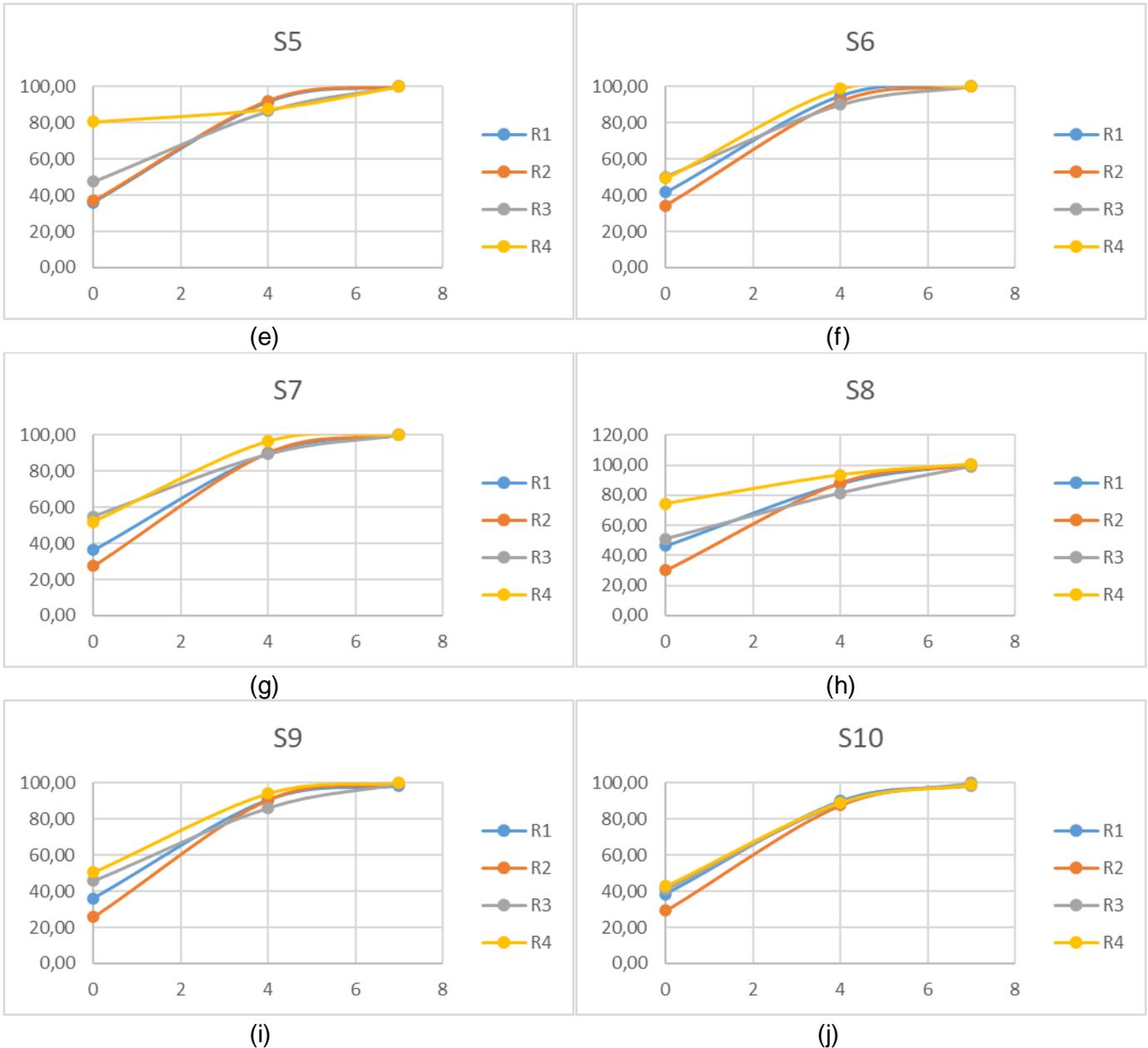


Figura. Comportamiento de la remoción VS el día, según la semana de monitoreo.
 Nota: Día de la semana (Eje x) vs Porcentaje de remoción (Eje y).

Como se puede apreciar, los humedales tienen un comportamiento muy variable hasta la semana 5, y a partir de la semana 6 este comportamiento ya es más homogéneo para los cuatro sistemas, sin valores atípicos para ninguno de los sistemas. Además, que el humedal con mayor eficiencia es el R4 desde el día 1 hasta el día 7 en la mayoría de las semanas de experimentación.

Para conocer el comportamiento de los humedales en el transcurso de toda la semana se realizó un monitoreo adicional al habitual, donde se tomaron muestras todos los días del 2 al 9 de junio (Semana 6), exceptuando el domingo, del humedal R1, las cuales se conservaron a 4°C y se midieron el 10 de junio, obteniendo los resultados descritos en la Tabla 14:

Tabla 14. Resultados del monitoreo- Semana 6

	Absorbancia	Concentración	Remoción
Inicial	1,47149	32,2800	0,0%
D1	1,06697	23,3025	27,8%
D2	0,441612	9,4239	70,8%
D3	0,207162	4,2207	86,9%
D4	0,0389968	0,4887	98,5%
D5	0,0129627	0,0000	100,0%
D6	0,00202742	0,0000	100,0%
D7	0,0011533	0,0000	100,0%

A partir de estos datos se obtiene la siguiente curva (Figura 32):

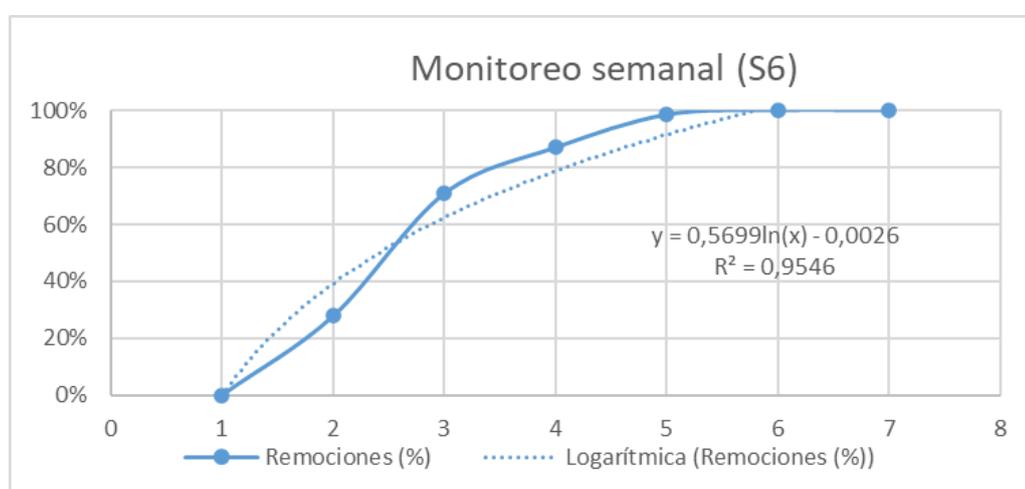


Figura 31. Curva del porcentaje de remoción en la semana 6 (R1).

Cómo se puede apreciar la remoción presenta una tendencia logarítmica ($R^2=0.95$), esto indica que la remoción va aumentando en función de del tiempo de retención, hasta alcanzar un valor constante a partir del día 5, que en este caso tiende al 100%.

De forma general se puede concluir que todos los sistemas presentan una buena remoción, ya que alcanzan eficiencias muy altas, sin embargo, se realizó un análisis minucioso de los porcentajes de remoción promedio obtenidos a lo largo de las 10 semanas, con la finalidad de determinar qué sistema tuvo un mejor comportamiento a lo largo de la experimentación, estos promedios se presentan en la Tabla 15, junto con su desviación estándar:

Tabla 15. Promedios de remoción durante todo el monitoreo.

	R1	R2	R3	R4
DÍA 1	42.85 ± 13.70	38.99 ± 16.75	56.88 ± 19.20	65.29 ± 16.24
DÍA 4	82.68 ± 12.55	83.83 ± 9.52	80.6 ± 9.19	86.95 ± 9.00
DÍA 7	98.03 ± 4.92	96.71 ± 9.52	91.72 ± 15.11	98.91 ± 1.80

Se puede apreciar que al día 1 (1 hora), los sistemas con plantas presentan una menor eficiencia de remoción en comparación a los humedales sin plantas, donde R4 alcanzó 65% de remoción, seguido por el humedal R3, R1 y R2. Sin embargo, se aprecia una alta desviación estándar en los datos promediados. Además, si comparamos estos resultados con algunos estudios de adsorción de materiales naturales y otros sintéticos, con tiempos de retención cercanos a 1 hora (Tabla 16), se tiene que materiales como la fibra de coco y tallos de uva, presentan una mejor remoción en un tiempo menor, por otro lado, el humedal R4 supera a la mazorca de maíz.

Otros materiales sintéticos como las perlas de hidrogel logran remociones mayores y cercanas en un tiempo mucho menor, mientras que el carbón activado alcanza la remoción más alta, pero en 24 horas. En torno a esto se puede concluir que el PET presenta una menor remoción durante las primeras horas de retención, necesitando de 5 a 7 días para alcanzar una eficiencia del 100%.

Tabla 16. Estudios de adsorción de cafeína

Material	Tiempo óptimo	Eficiencia (%)	Referencia
Tallos de uva	40 min	75	Portinho et al. (2017)
Carbón activado de corcho	24 h	98	Mestre et al. (2014),
Perlas de hidrogel de quitosano	10 min	85	Zarzar et al. (2015)
Perlas de hidrogel de Alginato	10 min	60	
Fibra de coco	30 min	96.4	Valenzuela (2020),
Mazorca de maíz	180 min	58.6	

Al día 4, el humedal con mayor eficiencia sigue siendo el R4 con una remoción alrededor del 87%, mientras que el humedal R3 decreció su eficiencia en comparación a los sistemas con plantas, pero no de una forma significativa. El día 7, es concordante con las eficiencias alcanzadas el día 4, alcanzando un 99% con el humedal R4, mientras que los otros sistemas alcanzan remociones similares, exceptuando a R3, lo cual se debe principalmente a los valores atípicos y a que tuvo una eficiencia menor. A los 4 días se logra igualar las remociones de las perlas de hidrogel de quitosano y se superaron las de otros materiales.

Por otra parte, al día 7 se alcanzaron remociones entre 92 y 98%, lo cual es un resultado favorable para todos los sistemas, este valor alcanza la remoción de la fibra de coco, pero en un tiempo mucho mayor. Sin embargo, los medios que naturales y con alta absorción suelen

tender a saturarse en función del tiempo, disminuyendo su eficiencia, por ende, para realizar una comparación más acertada se debería realizar a largo plazo.

La conclusión más relevante de todos estos análisis es que a lo largo de todo el monitoreo el sistema con mayor eficiencia fue el humedal sin plantas R4, por ende, se puede concluir que los sistemas sin plantas presentan una mayor remoción de cafeína en comparación a los sistemas con plantas. Lo cual es concordante con el análisis estadístico realizado bajo la metodología descrita anteriormente.

De este análisis se obtuvo que los ensayos con plantas (R1 y R2), no tienen diferencias significativas por lo que la experimentación es replicable, lo mismo sucede con los humedales sin plantas (R3 y R4). Y al comparar los sistemas con y sin plantas se obtuvo que solo al día 1, existió una influencia por la presencia de plantas ($p > 0.05$), sin embargo, esta diferencia es favorable para los sistemas sin plantas. Para los otros días ya no existen diferencias significativas ($p < 0.05$), lo que indica que las plantas no tuvieron una influencia relevante en la remoción del contaminante.

Esto puede deberse al tipo de vegetación seleccionada, la cual tiene raíces fibrosas que inicialmente eran cortas y escasas, y que en los procesos de fitorremediación utilizan plantas que desarrollan un denso sistema de radicular (Núñez et al., 2004). Por lo cual los resultados pueden no ser favorables en caso de que no se presente un crecimiento significativo de las raíces o este sea lento entorno al tiempo de experimentación.

c) Parámetros de calidad

Cómo se mencionó en la sección 2.4.4, se realizó un monitoreo de parámetros de calidad físicos y químicos de manera quincenal y mensual, estos se detallan en la Tabla 16 (los valores expuestos son el promedio de los ensayos por duplicado), junto con las eficiencias de remoción obtenidas en dichas semanas:

Tabla 17. Monitoreo de parámetros físico y químicos.

Fecha muestreo	Parámetro	R1	R2	R3	R4
4/5/2024	Turbidez (NTU)	0,93	1,01	1,05	0,70
	DQO (mg/L)	57	38	54	93
	SS (mg/L)	0	10	2	0
	Remoción cafeína (%)	84,17	69,63	81,54	94,38
11/5/2024	Turbidez (NTU)	0,77	1,17	0,87	0,71
	DQO (mg/L)	36	54	55	65
	SS (mg/L)	18	42	36	24
	Remoción cafeína (%)	100,00	99,68	83,73	97,41

Continuación Tabla 17.

25/5/2024	Turbidez (NTU)	1,00	0,80	0,70	0,90
	DQO (mg/L)	29	14	19	22
	SS (mg/L)	0	0	0	0
	DBO (mg/L)	< 2	< 2	< 2	< 2
	Remoción cafeína (%)	99,60	99,14	99,57	99,68
8/6/2024	Turbidez (NTU)	0,60	0,93	0,69	0,79
	DQO (mg/L)	17	20	19	18
	SS (mg/L)	0	0	0	0
	Remoción cafeína (%)	100	100	100	100
22/6/2024	Turbidez (NTU)	1,05	0,78	0,60	0,59
	DQO (mg/L)	20	38	15	46
	SS (mg/L)	12	0	6	0
	DBO (mg/L)	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
	Remoción cafeína (%)	100	100	99,11	100
6/7/2024	Turbidez (NTU)	2,12	2,85	1,28	0,35
	DQO (mg/L)	18	24	42	61
	SS (mg/L)	10	16	6	0
	Remoción cafeína (%)	98,60	99,42	100	98,91

Considerando que la solución de cafeína inicialmente (C_0) tiene una turbidez de 1.37 NTU, una DQO de 29 mgO_2/L , una DBO_5 de 0.75 mgO_2/L , sólidos suspendidos de 88 mg/L , se puede evidenciar el comportamiento de estos parámetros (Figura 33):

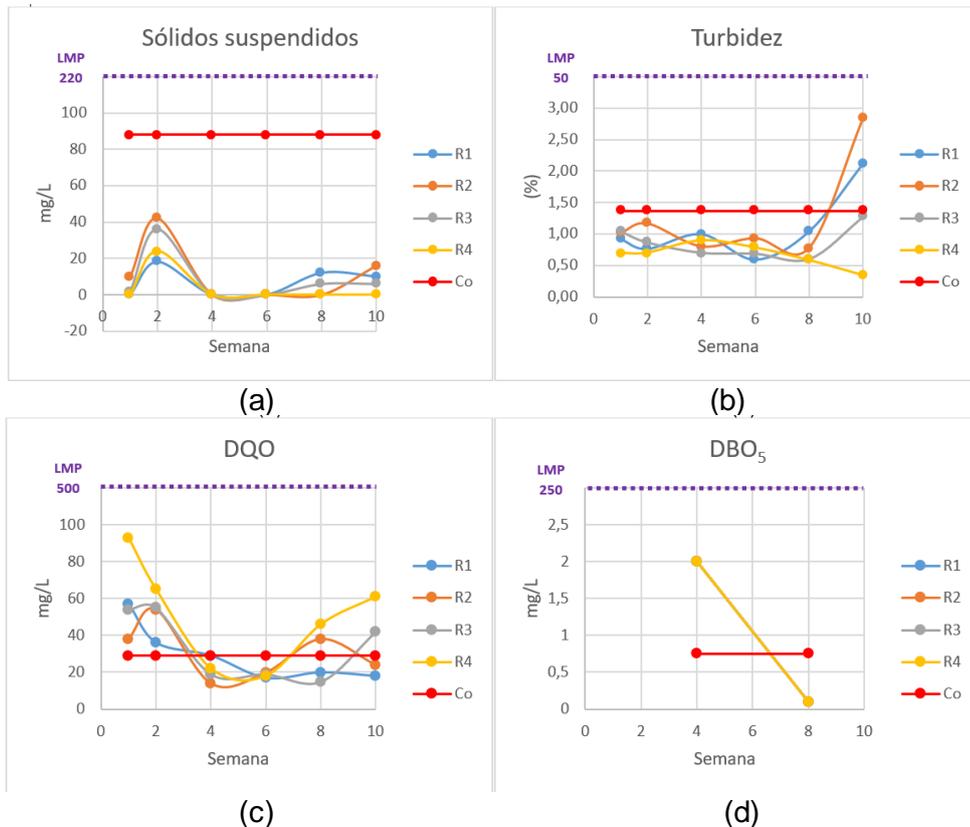


Figura 32. Gráficas del monitoreo de los parámetros físicos y químicos.
Nota: LMP: TULSMA, Anexo 1.

C_0 : calidad del agua de la solución sintética de cafeína (Tabla 10).

En el caso de la DQO se puede observar que en la primera y segunda semana se incrementa el valor de este parámetro, principalmente en el humedal R4, y durante la 4ta y 6ta semana ya se reduce, sin embargo, a la semana 8, los humedales R4 y R2 incrementan este parámetro. A la semana 10, el humedal R4 se incrementa aún más, y el humedal R3 también se incrementa.

El parámetro de sólidos suspendidos se reduce en todo el monitoreo, solo en la segunda semana se incrementó, pero sin sobrepasar la concentración inicial, por lo que se puede concluir que el sistema remueve de forma adecuada los sólidos, esto se constata al revisar los filtros del ensayo, los cuales quedan técnicamente limpios después del ensayo (Figura 34):



Figura 33. Filtros del ensayo de sólidos suspendidos.

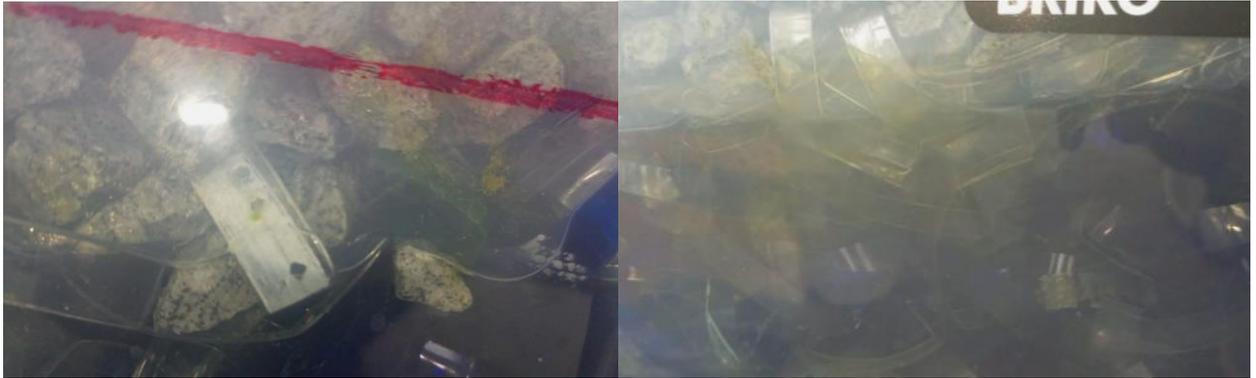
Con respecto a la turbidez esta también se disminuye durante el monitoreo, exceptuando R1 y R2, en la semana 10 donde la turbidez aumenta. Por último, la DBO_5 , se tiene que en la semana 4, esta se eleva, pero no de forma significativa, y a la semana 8 ya disminuye.

Si estos parámetros se comparan con los límites de descarga al sistema de alcantarillado público, del TULSMA, Anexo 1, todos los parámetros están muy por debajo del LMP, que son 250 mg/L de DBO_5 , 500 mg/L de DQO, y 220 mg/L SST. Igualmente, la turbiedad se encuentra dentro de condición natural de un estuario que varía entre 0 a 50 NTU.

Todo esto indica que el comportamiento de los humedales durante la experimentación fue favorable, puesto que no hubo un incremento excesivo de los parámetros de calidad, por lo que el proceso cumple con su objetivo sin modificar de manera considerable la calidad del agua.

d) Cambios presentados en los humedales

En el Anexo III, se puede apreciar que a partir de la semana 7, en los humedales mayormente expuestos a la radiación solar (R1 y R4), es decir aquellos que se encontraban en el extremo más cercano a los ventanales, se formaron microalgas, estas se identifican por su coloración verdosa característica (Figura 35):



(a) Humedal R1



(b) Humedal R4.

Figura 34. Formación de algas humedal R1 y R4.

Conforme a esto se optó por cubrir los humedales con un plástico negro (Anexo III) y así evitar su proliferación, lo cual se consiguió ya que no se observó un crecimiento desmedido en los sistemas.

La presencia de las microalgas no parece tener efectos adversos en la eficiencia de los sistemas, ya que el sistema R4 es el que mayor remoción presenta incluso a partir de la semana 7, algo similar pasa con el humedal R1, el cual es el que mayor presencia de algas mostró, y cuya eficiencia se incrementa a partir de dicha semana.

Esto puede ser atribuido a que, en los sistemas de humedales, microorganismos como bacterias, hongos, algas, entre otros, transforman los compuestos orgánicos e inorgánicos en sustancias inofensivas e insolubles (Montenegro et al., 2019). Y si bien Hernández-Crespo et al. (2024), explica que el crecimiento de algas puede aumentar ligeramente la concentración de sólidos suspendidos totales y la materia orgánica, este proceso indica la renaturalización de las aguas, siempre y cuando se de forma moderada, e incluso pueden contribuir a la remoción de contaminantes.

Pues es importante recalcar que una proliferación desmedida de estas poblaciones reduce los niveles de oxígeno disuelto e incluso según el tipo de algas presentes, se pueden generar toxinas que afecten a los seres vivos partícipes de este sistema (Paerl & Otten, 2013). Por esta razón la EPA recomienda limitar el tiempo hidráulico de retención a aproximadamente

tres días para prevenir la reemergencia de las algas, sin embargo, los sistemas parecen alcanzar una remoción significativa a los 5 días.

Otro cambio que ocurrió en los humedales fue la formación de biofilm, del cual se evidenció de forma leve durante las primeras semanas, y fue notorio en las últimas semanas de monitoreo, como se evidencia en el Anexo III.

Esta biopelícula tiene una coloración beige como se presenta en la Figura 37, el aspecto de este es concordante con el mostrado por Huaman (2023) y Reina (2015).



Figura 35. Formación de biofilm en el medio de soporte.

Las biopelículas son agregados de microorganismos que se adhieren a una superficie, con la finalidad de tratar aguas residuales y suelos contaminados. Sin embargo, cuando el crecimiento es excesivo, se crean zonas anaerobias próximas al soporte, y atascamientos u obstrucciones del soporte, por lo que tiende a necesitar la realización de lavados periódicos (Sagrario, 2015).

Del monitoreo se tiene que la formación de biofilm en los humedales se formó mayormente en R4, R1, R2 y R3, y en los humedales con plantas se presentó un desprendimiento, lo que se puede observar en la zona del adaptador de salida, esto está relacionado con la cantidad de sólidos suspendidos identificados en el monitoreo de la semana 8 y 10, donde se elevó la concentración, pero sin superar el valor inicial, por lo que la remoción aún sigue siendo favorable.

e) Eficiencia del sistema de HFSSV

Como se puede apreciar en las secciones anteriores, el sistema de humedal de flujo subsuperficial vertical utilizando PET como medio de soporte, alcanza una eficiencia igual o cercana al 100% durante los 7 días, incluso sin la presencia de plantas, lo cual se demostró estadísticamente y entorno a las eficiencias de remoción de estas dos variaciones. Por ende, el componente del humedal que influye en la eliminación de cafeína es el medio de soporte, que se compone de tiras de PET cortadas y dobladas, y un medio de grava fina y gruesa.

Donde el principal factor de remoción asociado al uso de PET fue la formación de biofilm, que como se mencionó guarda correlación directa con la eficiencia presentada en los sistemas. Pero existen otros procesos asociados a la remoción de cafeína que involucra el medio de soporte, como la adsorción, que se ve favorecida por la estructura rugosa y de poros grandes del PET (Figura 3). Por ende, este proceso podría haber contribuido a la remoción de la cafeína presente en el medio acuoso. Sin embargo, para validarlo es necesario realizar análisis específico de los procesos que involucra el PET como medio de soporte, así como cuantificar la influencia de las algas y biofilm formados en el sistema, sumado al aporte que puede brindar la grava en el proceso. Sin embargo, el enfoque de este proyecto se centra en cuantificar la eficiencia de este sistema en conjunto, evaluando únicamente si las plantas tienen una influencia directa o no.

Al comparar el resultado obtenido con otros estudios de remoción de cafeína (Tabla 18), se puede apreciar que los humedales construidos son una alternativa factible para el tratamiento de cafeína, ya que se alcanzan elevados porcentajes de remoción.

Tabla 18. Estudios de tratamientos para afluentes de cafeína.

Tratamiento	Características	Remoción (%)	Autor
Humedales artificiales	Usaron <i>Typha sp.</i> y <i>Phragmites australis</i> , y TRH de 2 a 3 días	23-58% (invierno) 82-99% (verano)	Roig (2013)
	(TRH): 1, 3 y 5 días; <i>Thypha sp.</i> , <i>Phragmites australis</i> y <i>Cyperus sp.</i> y grava de río, Tezontle fino y Tezontle grueso.	>89%	Herrera (2016)
	Polipropileno con <i>Phragmites australis</i>	>90%	Sgroi et al. (2017)
Adsorción	Con cáscaras de naranja y plátano modificadas con magnetita	55-96%	Cabrera (2020)
	Con mazorca de maíz y fibra de coco	58.6-96,4%	Valenzuela (2020)
Fotocatálisis	Sistema de SODIS convencional, SODIS modificado y un reactor compuesto por una lámpara UV	27-45%	Bermúdez y Torres (2019)
	Foto-fenton con magnetita como catalizador en un reactor solar CPC	98%	Vázquez y Castillo (2015)
Oxidación avanzada	tratamiento con peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta	70% (2 min)	Conesa (2018)

La experimentación más similar es el de Sgroi et al. (2018), donde se estudió un humedal de flujo subsuperficial vertical utilizando polipropileno como medio de soporte y de vegetación *Phragmites australis*, obteniendo una remoción mayor al 90%. Lo cual es concordante con los resultados del presente proyecto.

Otros sistemas de remoción de cafeína, basados en adsorción, fotocatálisis, foto-bentos y oxidación avanzada también presentan remociones eficientes, en algunos casos en tiempos menores, sin embargo, implican un mayor costo en su implementación, por lo que posicionan a los humedales como una alternativa viable y económica.

3.2 Conclusiones

- Los humedales construidos subsuperficiales de flujo vertical utilizando PET como medio de soporte se presentan como una alternativa factible para la remoción de cafeína de los efluentes, alcanzando remociones cercanas o iguales al 100%, en un lapso de 7 días (sistema batch), lo cual es concordante con otros estudios realizados de HC. Además, se posiciona como una opción técnica y económicamente viable para tratar cafeína.
- De las tres plantas ornamentales propuestas, se seleccionó al tronco de la felicidad (*Dracaena fragrans*), cómo la vegetación idónea para la construcción de los humedales, ya que esta no propicio el desarrollo de hongos, además por su bajo costo, accesibilidad, valor estético, resistencia a largo plazo, adaptabilidad y homogeneidad. Sin embargo, esta no

tiene las características habituales de la vegetación utilizada en la fitorremediación, pues sus raíces son fibrosas y poco densas, lo que no beneficia de manera directa a la remoción de contaminantes, motivo por el cual pudo no haber contribuido al sistema.

- La construcción del sistema de humedales se llevó a cabo en función de los recursos disponibles y considerando ciertos aspectos técnicos, entorno a la distribución de los medios de soporte, área vegetativa, volumen y concentración de la solución sintética de cafeína, tiempo de retención y distribución del flujo. Y en base a estas condiciones y a la configuración expuesta en el presente proyecto se evaluó el comportamiento y eficiencia del sistema.
- Estadísticamente se comprobó que las plantas no tienen una influencia significativa ($p < 0.05$) en la remoción de cafeína, ya que la concentración final (TRH=7 días) es muy similar para los sistemas con y sin plantas. Y si se analiza los porcentajes de remoción se tiene que los humedales sin plantas presentaron mejores remociones en el transcurso del monitoreo, principalmente el humedal R4.
- Se demostró que el método de detección por espectrofotometría UV-VIS presenta interferencias a concentraciones muy bajas o altas, así como ante la presencia de sólidos suspendidos y turbidez de las muestras. Por lo que se optó por centrifugar las muestras y partir de una concentración inicial de 30 ppm. Sin embargo, a pesar de esto, se presentaron valores atípicos a lo largo del monitoreo que pueden ser resultado de estos factores, características químicas y físicas de las muestras, o errores propios del instrumento utilizado.
- Se pudo evidenciar la formación de algas en los sistemas mayormente expuestos a radiación solar (R4 y R1) a partir de la semana 6, sin embargo, no parece tener una influencia directa en la remoción del contaminante o sobre los parámetros de calidad. Sino más bien al correlacionar la formación de las algas con las eficiencias obtenidas se puede notar que estas mejoraron entorno a su aparición, por lo que parecen ser benéficas para los sistemas.
- Uno de los objetivos de utilizar PET como medio de soporte es que facilita el crecimiento de biofilm, cuya formación se presentó mayormente en R4, R1, R2 y R3 de forma decreciente, esto sumado al proceso de adsorción que es propiciado por el medio de soporte PET, gracias a su porosidad y afinidad con las moléculas de cafeína.
- A lo largo de la experimentación no se aprecia un cambio significativo en los parámetros de calidad del agua, donde solo el parámetro de DQO y turbidez aumenta para algunos de los humedales, pero sin representar una problemática ya que se encuentran por debajo del LMP expuesto en el TULSMA, Anexo 1, para descargas al sistema de alcantarillado público.

3.3 Recomendaciones

- Aumentar el tiempo de monitoreo puede ayudar a cuantificar la influencia de la formación de biofilm en los sistemas a largo plazo, considerando que puede saturarse el medio, por lo cual sería necesario realizar lavados periódicos.
- Optar por la selección de una vegetación diferente a la utilizada en el presente proyecto, ya que esta no tuvo efectos significativos en la remoción del contaminante.
- Caracterizar las comunidades de algas formadas en los humedales, para verificar si la especie es o no benéfica para el sistema, y correlacionar de una forma precisa su presencia con la eficiencia del sistema. U optar por evitar su crecimiento aislando el recipiente de la radiación solar.
- Realizar un estudio con variaciones en el tiempo de retención hidráulica, ya que cuando se analizó durante una semana las concentraciones de remoción de cafeína, ya se alcanzó la máxima remoción al día 5, por lo cual se podría reducir el TRH y aumentar la productividad del sistema.
- Evaluar de forma independiente al medio de soporte PET, para verificar los mecanismos de remoción asociados a este material, una opción viable es estudiar el mecanismo de adsorción de la cafeína.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almuktar, S. A. A. N., Abed, S. N., & Scholz, M. (2018). Wetlands for wastewater treatment and subsequent recycling of treated effluent: a review. En *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 25, Número 24, pp. 23595–23623). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2629-3>
- Alvarez, E. (2018). *ADSORCIÓN Y FOTOCATÁLISIS DE CAFEÍNA POR COMPOSITE tio2/ZEOLITA Y SUS PRECURSORES*. BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA .
- Arahman, N., Fahrina, A., Amalia, S., Sunarya, R., & Mulyati, S. (2017). Effect of PVP on the characteristic of modified membranes made from waste PET bottles for humic acid removal. *F1000Research*, 6, 668. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11501.1>
- Arbe, A. (2018). *Influencia de la fertilización en la producción de follaje de corte del cultivo de palo de Brasil (dracaena fragans (l) ker – gawl) en el anexo de Río Blanco - Chanchamayo*. UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN.
- Arias, C., & Brix, H. (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 13, 17–24. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91101302>
- Bermudez, J., & Torres, L. (2019). *APLICACIÓN DE DIFERENTES PROCESOS FÍSICO-QUÍMICOS PARA LA REMOCIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES (TRICLOSÁN Y CAFEINA) EN AGUAS PARA CONSUMO HUMANO*. UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA.
- Bernal, D., & Aguirre, N. (2022). *ESCALAMIENTO COLUMNA DE ADSORCIÓN PARA LA REMOCIÓN DE CROMO EN LAS AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA DE CURTIEMBRE POR MEDIO DE LA CÁSCARA DE BANANO*. FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA.
- Bodzek, M., & Dudziak, M. (2006). Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes. *Desalination*, 198(1–3), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.09.005>
- Bollmann-Giolai, A., Malone, J. G., & Arora, S. (2022). Diversity, detection and exploitation: linking soil fungi and plant disease. En *Current Opinion in Microbiology* (Vol. 70). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102199>
- Bruton, T., Alboloushi, A., De La Garza, B., Kim, B. O., & Halden, R. U. (2010). Fate of caffeine in the environment and ecotoxicological considerations. *ACS Symposium Series*, 1048, 257–273. <https://doi.org/10.1021/bk-2010-1048.ch012>
- Cabrera, G. (2020). *EVALUACIÓN DE LA ADSORCIÓN DE CAFEÍNA UTILIZANDO CÁSCARAS DE NARANJA Y PLÁTANO MODIFICADAS CON MAGNETITA PARA SU REMOCIÓN DE AGUAS RESIDUALES SINTÉTICAS*. ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL.
- Castañeda, R. (2022). *La contaminación plástica sigue creciendo, advierte la OCDE*. COVERPAN. <https://www.coverpan.es/blog/crece-la-contaminacion-plastica/>

- Choi, J., Geronimo, F. K. F., Park, B., Hong, J., & Kim, L. H. (2018). Formulation of design guidelines for the cost-effectiveness of constructed wetlands in improving water quality. *Desalination and Water Treatment*, 101, 108–115. <https://doi.org/10.5004/dwt.2018.21817>
- Cunha, M. R., Lima, E. C., Cimirro, N. F. G. M., Thue, P. S., Dias, S. L. P., Gelesky, M. A., Dotto, G. L., dos Reis, G. S., & Pavan, F. A. (2018). Conversion of *Eragrostis plana* Nees leaves to activated carbon by microwave-assisted pyrolysis for the removal of organic emerging contaminants from aqueous solutions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(23), 23315–23327. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2439-7>
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., & Andrade, M. (2012). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Universidad Mayor de San Simón.
- Fraker, S. L., & Smith, G. R. (2004). Direct and interactive effects of ecologically relevant concentrations of organic wastewater contaminants on *Rana pipiens* tadpoles. *Environmental Toxicology*, 19(3), 250–256. <https://doi.org/10.1002/tox.20017>
- García Martínez, E., Fuentes López, A., & Fernández Segovia, I. (2017). *Extracción y cuantificación de cafeína mediante espectroscopía UV-Visible en café, té y cacao*. Universitat Politècnica de València.
- García-Molina, V., Esplugas, S., Wintgens, T., & Melin, T. (2006). Ultrafiltration of aqueous solutions containing dextran. *Desalination*, 188(1–3), 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.04.120>
- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology*, 32(1), 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2014.01.001>
- Gómez, J. (2016). *Diagnóstico del impacto del plástico - botellas sobre el medio ambiente*. UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS.
- González, A. (2012). "EVALUACIÓN DEL CULTIVO DE SANDERIANA (*Dracaena sanderiana*, *Ruscaceae: Asparagales*) BAJO DOS PROGRAMAS DE FERTILIZACIÓN Y DOS DENSIDADES DE DE SIEMBRA EN EL PALMAR QUETZALTENANGO. Universidad Rafael Landívar.
- Gregg, S., & Sing, K. (1982). *Adsorption, Surface Area and Porosity* (Second). Academic Press.
- Hernández-Crespo, C., Oliver, N., Gil-Martínez, E., Añó, M., Fernández-Alba, S., Benedito, V., Montoya, T., & Martín, M. (2024). Integrating circular economy and biodiversity in upgrading full-scale constructed wetlands (LIFE Renaturwat). *Ecological Engineering*, 204. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2024.107263>
- Herrera, J. (2016). *Evaluación de la remoción de contaminantes emergentes de aguas superficiales utilizando humedales de tratamiento*. BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.
- Huaman, N. (2023). *EFICIENCIA DEL USO DE BIOPORTADORES DE PLÁSTICO PET RECICLADO EN REACTORES BIOLÓGICOS DE LECHO MÓVIL PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES – LIMA 2022* [Grado]. UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLAREAL.
- Indermuhle, C., Martín de Vidales, M. J., Sáez, C., Robles, J., Cañizares, P., García-Reyes, J. F., Molina-Díaz, A., Comninellis, C., & Rodrigo, M. A. (2013). Degradation of caffeine by

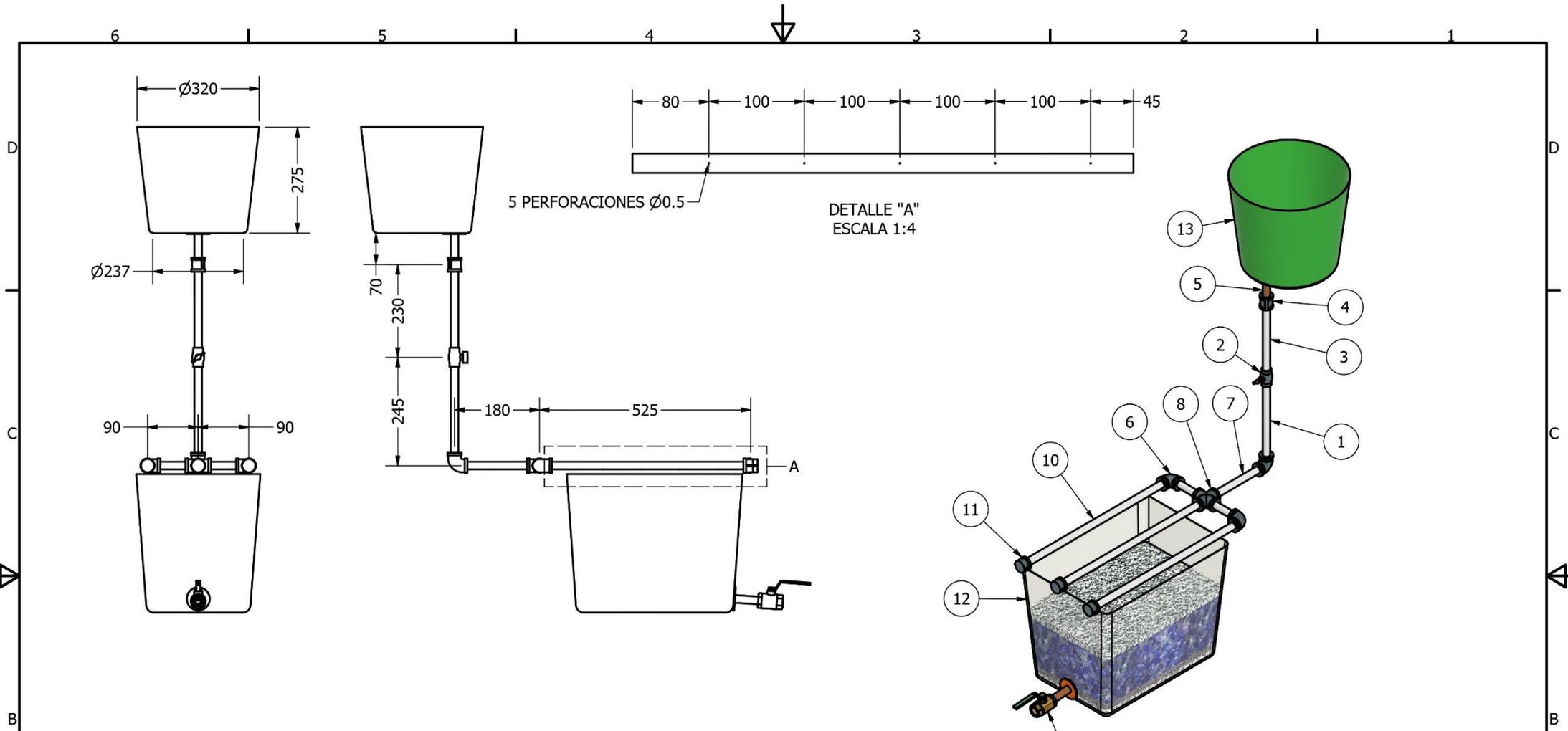
- conductive diamond electrochemical oxidation. *Chemosphere*, 93(9), 1720–1725. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.047>
- Janet Gil, M., María Soto, A., Iván Usma, J., & Darío Gutiérrez, O. (2012). *Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments Contaminantes emergentes em águas, efeitos e possíveis tratamentos* (Vol. 7, Número 2).
- Khalifa, M. E., El-Reash, Y. G. A., Ahmed, M. I., & Rizk, F. W. (2020). Effect of media variation on the removal efficiency of pollutants from domestic wastewater in constructed wetland systems. *Ecological Engineering*, 143. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.105668>
- Korekar, G., Kumar, A., & Ugale, C. (2020). Occurrence, fate, persistence and remediation of caffeine: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(28), 34715–34733. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06998-8>
- Labster. (s/f). *Propiedades químicas de la cafeína*.
- Lapo, B. (2014). *ESTUDIO DE MEDIOS DE SOPORTE PARA CRECIMIENTO BACTERIANO APLICADO AL TRATAMIENTO BIOLÓGICO AEROBIO DE AGUAS RESIDUALES*.
- Le Guern, C., Baillif, P., Conil, P., & Houot, R. (2001). Adsorption of a lignosulphonate polymer onto PVC and PET surfaces: Evaluation by XPS. *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*, 36, 1547–1554.
- Llagas, W., & Guadalupe, E. (2006). *A design of an artificial marsh for treating waste water in the UNMSM* (Vol. 15).
- Melgar, A. (2015). *Guía informativa de identificación taxonómica de las principales especies vegetales del campus central de la Universidad de San Carlos de Guatemala*.
- Mena, P. (2014). *Evaluación de la eficiencia de tratamiento de aguas residuales domésticas, implementando un sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal (HAFSSH) en el colegio comfamiliar siglo XXI, sede campestre corregimiento de San Fernando, Municipio de Pasto, Colombia [Máster]*. Universidad de Buenos Aires.
- Mestre, A. S., Pires, R. A., Aroso, I., Fernandes, E. M., Pinto, M. L., Reis, R. L., ... Carvalho, A. P. (2014). Activated carbons prepared from industrial pre-treated cork: Sustainable adsorbents for pharmaceutical compounds removal. *Chemical Engineering Journal*, 253(106637), 408–417.
- Ministerio del Ambiente. (2015). *Sistema nacional de áreas protegidas del Ecuador*.
- Montenegro, K., Fernández, L., Villamar, C., y Espinoza, P. (2019). Humedales artificiales y celdas de combustibles microbianas como sistemas individuales y combinados para el tratamiento de aguas residuales: una revisión. *infoANALÍTICA*, vol. 7, núm. 2. DOI: <https://doi.org/10.26807/ia.v7i2.100>
- Nivala, Jaime., Puigagut, Jaime., Von Sperling, Marcos., Dotro, Gabriela., Stein, Otto., Molle, Pascal., & Langergraber, G. (2017). *Treatment Wetlands*. (IWA Publishing, Ed.; First, Vol. 7). IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780408774>
- Núñez, R., Meas, Y., Ortega, R., & Olgúin, E. (2004). *Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones*.
- Obando, F. (2023). *DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE MONITOREO Y CONTROL AMBIENTAL BASADO EN IOT OPTIMIZAR LA PRODUCCIÓN DE HUEVOS*.

- Ortuño, M. (2019). *ESTUDIOS SOBRE LA ELIMINACIÓN DE ARSENICO, SELENIO Y ANTIMONIO DE EFLUENTES LÍQUIDOS MEDIANTE EL USO DE MATERIALES DE BAJO COSTE*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID.
- Paredes, L. (2014). *REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN LA ESTABILIZACIÓN DE HUMEDALES CONSTRUIDOS DE FLUJO VERTICAL, SEMBRADOS CON HELICONIA (sp), PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS*. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA.
- Patiño, C. (2014). Executive Business School. En *Avances en Ciencias e Ingeniería* (Vol. 5, Número 2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323631115001>
- Pearl, H.W., Otten, T.G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microb. Ecol.* 65, 995e1010.
- Pérez, Y. A., Garcia-Cortes, D., & Jauregui-Haza, U. J. (2022). Constructed wetlands as an alternative for the treatment of waste waters in urban areas: a review. En *Ecosistemas* (Vol. 31, Número 1). Asociacion Espanola de Ecologia Terrestre. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2279>
- Portinho, R., Zanella, O., & Féris, L. A. (2017). Grape stalk application for caffeine removal through adsorption. *Journal of Environmental Management*, 202, 178–187.
- Rabat Blázquez, J., & Trapote, J. (2016). *Análisis de los modelos de diseño de los sistemas naturales de depuración* [Máster]. Universidad de Alicante.
- Ramírez, D., & Rivera, V. (2017). Cafeína como contaminante ambiental. *Revista de Toxicología*, 34, 136–142.
- Rasheed, T., Bilal, M., Nabeel, F., Adeel, M., & Iqbal, H. M. N. (2019). Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. En *Environment International* (Vol. 122, pp. 52–66). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.038>
- Reina, J. (2015). *EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA Y CINÉTICA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN UN REACTOR BIOLÓGICO AEROBIO HORIZONTAL CON MEDIO DE SOPORTE PET (POLITEREFTALATO DE ETILENO)*. [Grado]. ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL.
- Rivadeneira, M. (2020). *ESTUDIO DE LA TOXICIDAD DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO SOBRE Eisenia foetida, Schoenoplectus sp. Y Heliconia sp. UTILIZADOS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE BIOFILTRACIÓN*[Grado]. ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL.
- Roig, J. (2013). *Eliminación de contaminantes emergentes mediante Humedales Artificiales como sistema alternativo o complementario a un tratamiento de aguas convencional*.
- Sagrario, G. (2016). *Eliminación de nutrientes mediante tratamientos biopelícula : corrientes actuales y necesidades de investigación*. Tesis (Doctoral), E.T.S.I. Caminos, Canales y Puertos (UPM). <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39458>.
- Sánchez, A. (2018). *Evaluación de técnicas de oxidación avanzada y adsorción para la eliminación de cafeína en disolución acuosa*.
- Serrano, J. G., & Corzo Hernández, A. (s/f). *Depuración con Humedales Construidos*.
- Sgroi, M., Pelissari, C., Roccaro, P., Sezerino, P. H., García, J., Vagliasindi, F. G. A., & Ávila, C. (2018). Removal of organic carbon, nitrogen, emerging contaminants and fluorescing

- organic matter in different constructed wetland configurations. *Chemical Engineering Journal*, 332, 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.122>
- Sklarz, M. Y., Zhou, M., Ferrando Chavez, D. L., Yakirevich, A., Gillor, O., Gross, A., & Soares, M. I. M. (2013). Effect of Treated Domestic Wastewater on Soil Physicochemical and Microbiological Properties. *Journal of Environmental Quality*, 42(4), 1226–1235. <https://doi.org/10.2134/jeq2012.0416>
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., & Yu, G. (2015). Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. En *Emerging Contaminants* (Vol. 1, Número 1, pp. 14–24). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2015.07.001>
- Trujillo, F. J., Safinski, T., & Adesina, A. A. (2010). Oxidative photomineralization of dichloroacetic acid in an externally-irradiated rectangular bubble tank reactor: Computational fluid dynamics modeling and experimental verification studies. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(15), 6722–6734. <https://doi.org/10.1021/ie901364z>
- Valenzuela, A. (2020). *Evaluación del potencial de adsorción de la mazorca de maíz y fibra de coco para la eliminación de cafeína presente en medio acuoso* [Tesis pregrado]. Escuela Politécnica Nacional.
- Vazquez, N., & Castillo, J. (2015). *Evaluación del proceso foto-fenton con magnetita como catalizador en la degradación de cafeína en un reactor solar cpc a escala piloto*.
- Venegas, J. (2020). *Determinación de los parámetros de un sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical para la optimización del diseño de modelos de caja negra bajo condiciones tropicales*. universidad de costa rica.
- Voloshenko-Rossin, A., Gasser, G., Cohen, K., Gun, J., Cumbal-Flores, L., Parra-Morales, W., Sarabia, F., Ojeda, F., & Lev, O. (2015). Emerging pollutants in the Esmeraldas watershed in Ecuador: Discharge and attenuation of emerging organic pollutants along the San Pedro-Guayllabamba-Esmeraldas rivers. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 17(1), 41–53. <https://doi.org/10.1039/c4em00394b>
- Vymazal, J. (2010). Constructed wetlands for wastewater treatment. En *Water (Switzerland)* (Vol. 2, Número 3, pp. 530–549). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/w2030530>
- Zamora, S., Marín-Muñiz, J. L., Nakase-Rodríguez, C., Fernández-Lambert, G., & Sandoval, L. (2019). Wastewater treatment by constructed wetland eco-technology: Influence of mineral and plastic materials as filter media and tropical ornamental plants. *Water (Switzerland)*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/w11112344>
- Zarzar, A., Hong, M., Llanos, B. P., & Navarro, A. E. (2015). Insights into the Eco-Friendly Adsorption of Caffeine from Contaminated Solutions by Using Hydrogel Beads. *Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 02(04), 5.
- Zhiqiang, W., Jianyong, Q., & Zehua, S. (2021). Environmental impact of the technology for the development of high-power coal seams with a step-by-step arrangement of drifts. *Mining Informational and Analytical Bulletin*, 2(1), 30–39. <https://doi.org/10.25018/0236-1493-2021-21-0-30-39>

5. ANEXOS

Anexo I. Plano del humedal vertical de flujo subsuperficial.



LISTA DE PIEZAS

ITEM	QTY	SIZE (mm)	DESCRIPTION
1	1	245	TUBERÍA PVC, DIÁMETRO 20 mm
2	1	20	VÁLVULA DE BOLA PVC
3	1	230	TUBERÍA PVC, DIÁMETRO 20 mm
4	1	20 x 1/2"	ACOPLE HEMBRA PVC
5	2	1/2"	ADAPTADOR TANQUE PP
6	3	20	CODO PVC 90°
7	1	180	TUBERÍA PVC, DIÁMETRO 20 mm
8	1	20	CRUZ PVC
9	2	90	TUBERÍA PVC, DIÁMETRO 20 mm
10	3	525	TUBERÍA PVC, DIÁMETRO 20 mm
11	3	20 mm	TAPÓN HEMBRA PVC
12	1	350x520x400	GUARDAMOVIL BRIKO, PIKA
13	1	16 L	BALDE PLÁSTICO
14	1	1/2"	LLAVE DE JARDÍN METÁLICA

DRAWN R. VICUÑA	14/6/2024	NOTA: TODAS LA MEDIDAS ESTÁN EN MILÍMETROS A MENOS QUE SE ESPECIFIQUE OTRA UNIDAD.		
CHECKED M. ALDÁS	23/6/2024	TITLE		
QA		<p style="text-align: center;">HUMEDAL SUBSUPERFICIAL DE FLUJO VERTICAL</p>		
MFG M. ALDÁS	23/6/2024			
APPROVED M. ALDÁS	23/6/2024			
		SIZE A3	DWG NO HFSSV-RV-100	REV 1
		SCALE 1 / 10	SHEET 1 OF 1	

Anexo II. Resultados de ensayo de toxicidad tronco de la felicidad.

Contabilización de raíces.

Cl (ppm)	Código	# Raíces		Raíz más pequeña (cm)			Raíz más grande (cm)		
		1/4/2024	5/4/2024	1/4/2024	5/4/2024	Diferencia	1/4/2024	5/4/2024	Diferencia
0	1C	13	13	1,5	2,9	1,4	17,5	18,3	0,8
0	4B	17	18	2,5	2,5	0	12	13	1
0	5B	12	12	2,1	2,5	0,4	9,3	10,5	1,2
5	2B	22	21	4	4,3	0,3	19	19,8	0,8
5	2A	12	12	2,4	3	0,6	13,5	14	0,5
5	4A	14	14	5	5	0	15,8	16	0,2
10	5C	6	6	4	4	0	12,5	13	0,5
10	3B	24	24	2,2	2,6	0,4	14,6	15	0,4
10	1A	7	7	1,5	2	0,5	16,2	17,1	0,9
25	3C	20	20	2	3,5	1,5	7,5	8,1	0,6
25	4C	14	14	3,5	4	0,5	12	13	1
25	6B	13	14	3	3,3	0,3	9,8	11	1,2
50	6C	5	5	4,5	5	0,5	21,7	23	1,3
50	1B	20	20	3	3,5	0,5	10	10,5	0,5
50	5A	15	15	6	7	1	7,5	8	0,5

Contabilización de hojas.

Cl (ppm)	Código	#Hojas		Hoja más pequeña (cm)			Hoja más grande (cm)		
		1/4/2024	5/4/2024	1/4/2024	5/4/2024	Diferencia	1/4/2024	5/4/2024	Diferencia
0	1C	20	20	6,5	7,5	1	22,5	22,8	0,3
0	4B	19	19	6,5	7,8	1,3	17,5	18,5	1
0	5B	22	27	6,5	8	1,5	20	21,5	1,5
5	2B	24	22	5	5,5	0,5	18,2	19	0,8
5	2A	21	21	5,7	7	1,3	20	20,3	0,3
5	4A	19	18	5	7,5	2,5	20,5	21,2	0,7
10	5C	23	23	4,7	6	1,3	17	17	0
10	3B	21	21	4,5	6	1,5	20,6	22	1,4
10	1A	19	19	4,1	6	1,9	22,5	23	0,5
25	3C	23	23	6	8	2	16	16	0
25	4C	21	21	3	5	2	18,6	20	1,4
25	6B	22	22	4	5	1	18	18	0
50	6C	27	27	7,4	10	2,6	18,2	20	1,8
50	1B	21	21	4,5	6,8	2,3	19,2	20	0,8
50	5A	32	32	9	9,5	0,5	20,5	21,5	1

Registro fotográfico

Co (ppm)	Número	Código	18/3/2024	25/3/2024	5/4/2024
0	1	1C			
0	2	5B			
0	3	4B			
5	1	4A			
5	2	2A			
5	3	2B			
10	1	1A			

10	2	5C				
10	3	3B				
25	1	3C				
25	2	4C				
25	3	6B				
50	1	5A				
50	2	6C				
50	3	1B				

Anexo III. Monitoreo y cambios en los humedales durante la experimentación.

	R1	R2	R3	R4
27/4/2024				
4/5/2024				
				
25/5/2024				
30/5/2024				SF
8/6/2024			SF	SF

15/6/2024				
22/6/2024				
29/6/2024			SF	SF
10/7/2024				
				
				
				