

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA  
ESCUELA DE QUÍMICA  
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Proyecto Final de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería  
Ambiental

**Evaluación de la remoción de ibuprofeno, mediante humedales de flujo subsuperficial  
horizontal.**

Stephanie Paola Cervantes Ramírez

CARTAGO, Marzo 2015

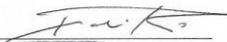
**TEC** | Tecnológico de Costa Rica  
Ingeniería Ambiental



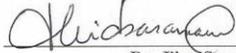
**Evaluación de la remoción de ibuprofeno, mediante humedales de flujo subsuperficial horizontal.**

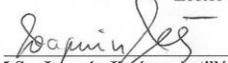
Informe presentado a la Escuela de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Ambiental con el grado de licenciatura

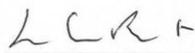
**Miembros del tribunal**

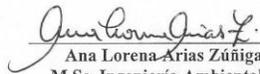
  
Floria Roa Gutiérrez  
Ph.D. Química Orgánica  
Directora de tesis (Tecnológico de Costa Rica)  
Directora Escuela de Química

  
Gustavo Antonio Peñuela Meza  
M.Sc, Ph.D. Química Ambiental  
Director de tesis (Universidad de Antioquia)

  
Dr. Jihad Sasa  
Lector 1

  
M.Sc. Joaquín Jiménez Antillón  
Lector 2

  
Luis Guillermo Romero Esquivel  
Dr. Ingeniería Ambiental  
Coordinador COTRAFIG

  
Ana Lorena Arias Zúñiga  
M.Sc. Ingeniería Ambiental  
Coordinadora Carrera de Ingeniería Ambiental



## **DEDICATORIA**

A mi Dios, porque siempre ha extendido sus manos llenas de amor hacia mi vida. Sin él nada hubiera sido posible.

A mis padres Rodolfo Cervantes y Rocío Ramírez por todos sus sacrificios, por impulsarme a seguir en momentos difíciles, por confiar en mi e inculcarme los más puros valores de superación y trabajo duro. A Carlos Chacón por su amor, comprensión y apoyo incondicional para emprender este gran reto, a Kevin Cervantes y a Juan Pablo Varela, cual nueva generación, merece un mundo mejor del que heredamos, por lo que son un motivo de lucha cada día.

Al mismo tiempo se lo dedico a Melissa Cervantes, por siempre ser un ejemplo a seguir para mí, así como a Engracia Fonseca y familiares, por todo su apoyo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Don Gustavo Antonio Peñuela por la oportunidad de realizar la pasantía de investigación en el Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación (GDCON) de la Universidad de Antioquia, Colombia; asimismo agradecer su constante ayuda, guía y sugerencias en el desarrollo de la tesis. A Floria Roa por su colaboración, sugerencias e interés en la correcta elaboración del presente proyecto, brindando sus conocimientos e ideas.

A mis padres y al grupo GDCON por el apoyo económico brindado.

Un gran agradecimiento a todo el personal del GDCON, por integrarme a su equipo de trabajo, especialmente a Catalina Rodríguez y Fabián Úsuga por su ayuda en el montaje de los humedales, asimismo a Erika Alzate, Mónica Jaramillo, Karina Ríos y Carolina Aristizábal quienes contribuyeron en el desarrollo de esta tesis, brindándome sus conocimientos e ideas. A todos los que tuvieron que procesar y analizar mis muestras, entre ellos: Leidy Gonzáles, Yuri García, Carolina Aristizábal, Anderson, Omaira y Edilson Castellón. A Ingrid Natalia Gómez, por su colaboración en el análisis estadístico de los datos generados en la investigación.

Al sistema integrado de farmacia (SIFA) de la CCSS por la información brindada, en cuanto a la prescripción de ibuprofeno en el sistema nacional de salud.

A Carlos Chacón y Luz Elena Sáenz por sus recomendaciones y sugerencias en la redacción del documento escrito. A Luz Sáenz, Kenneth Alfaro, Hazel Hernández, Sofía Cubero, M. Martha D`avanzo, Eileyn Pérez, Sidney Quesada, Geisel Sánchez y a todos aquellos que tocaron mi vida durante estos años de estudio, los cuales fueron compañía, apoyo y guía.

A Jorge Calvo, por su amistad y apoyo durante mis años de estudio en la universidad.

A Luis Romero Esquivel, por sus sugerencias y recomendaciones en la redacción del documento escrito.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Resumen</b>	<b>17</b>
<b>Abstract</b>	<b>19</b>
<b>1 Introducción</b>	<b>21</b>
1.1 <i>Hipótesis</i>	24
1.2 <i>Objetivos</i>	24
1.2.1 Objetivo general	24
1.2.2 Objetivos específicos	24
<b>2 Revisión de literatura</b>	<b>25</b>
2.1 <i>Contaminantes emergentes</i>	25
2.2 <i>Los fármacos como contaminantes emergentes</i>	25
2.2.1 Características de los fármacos	25
2.2.2 Medios de entrada de los fármacos hacia los cuerpos de agua	26
2.2.3 Efecto de los fármacos sobre el ambiente.	28
2.3 <i>Ibuprofeno</i>	30
2.3.1 Definición	30
2.3.2 Consumo y producción	30
2.3.3 El ibuprofeno y su movilidad en el ambiente.	32
2.4 <i>Humedales artificiales</i>	35
2.4.1 Definición y clasificación	35
2.4.1.1 Humedales artificiales de flujo subsuperficial.	36
2.4.2 Función de humedales en el tratamiento de fármacos y mecanismos de remoción.	37
2.4.3 Influencia de factores y parámetros de diseño en los humedales artificiales.	39
2.4.4 Estudios previos	41
2.5 <i>Conteo de heterótrofos</i>	43
<b>3 Materiales y métodos</b>	<b>44</b>
3.1 <i>Área de estudio</i>	44
3.2 <i>Descripción del experimento</i>	44
3.2.1 Instalación de los humedales	45
3.2.2 Preparación del agua residual sintética	46

3.2.3	Preparación de la disolución del fármaco.	47
3.3	<i>Fase experimental</i>	47
3.3.1	Maduración de los humedales y aclimatación de los microorganismos.	47
3.3.2	Periodo de muestreos y análisis	48
3.4	<i>Procedimiento analítico para la cuantificación del Ibuprofeno.</i>	49
3.5	<i>Análisis microbiológico</i>	50
3.5.1	Conteo de heterótrofos	50
<b>4</b>	<b>Resultados y discusión</b>	<b>53</b>
4.1	<i>Remoción del ibuprofeno</i>	53
4.2	<i>Comparación entre humedales durante cada concentración.</i>	54
4.3	<i>Conteo de heterótrofos</i>	60
4.4	<i>Comportamiento de los parámetros físico-químicos medidos en los humedales.</i>	62
4.4.1	Carbono orgánico disuelto (COD)	62
4.4.2	Demanda química de oxígeno (DQO)	63
4.4.3	Oxígeno disuelto (OD)	65
4.4.4	Potencial de hidrógeno (pH)	67
4.4.5	Conductividad	69
<b>5</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>73</b>
<b>7</b>	<b>Referencias</b>	<b>75</b>
	<b>Apéndices</b>	<b>82</b>
	<b>Apéndice 1: Prueba estadística normalidad de los datos</b>	<b>83</b>
	<b>Apéndice 2: Cuantificación de ibuprofeno</b>	<b>84</b>
	<b>Apéndice 3: Remoción de ibuprofeno</b>	<b>85</b>
	<b>Apéndice 4: Comparación entre humedales</b>	<b>86</b>
	<b>Apéndice 5 Cálculo de la DQO teórica del agua sintética en el afluente.</b>	<b>87</b>
	<b>Apéndice 6 Demanda Química de Oxígeno</b>	<b>88</b>
	<b>Apéndice 7: Pruebas estadísticas para los datos de oxígeno disuelto.</b>	<b>89</b>

<b>Apéndice 8: Pruebas estadísticas para los datos de potencial de hidrógeno.</b>	<b>95</b>
<b>Apéndice 9: Pruebas estadísticas para los datos de conductividad.</b>	<b>98</b>



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Fuentes y rutas de los antibióticos en el ciclo urbano del agua. Tomado de Cardona (2013).....	27
Figura 2.2 Participación del gasto de AINES para el año 2005 en Costa Rica. Modificado de Barber et al (2007).....	31
Figura 2.3 Estructura química de algunos metabolitos del ibuprofeno. Modificado de Nortes (2014).....	33
Figura 2.4 Estructura de los humedales artificiales. (a) SF-CWs (b) HSSF-CWs (c) VSSFCWs. Modificado de Li et al (2014). ....	36
Figura 2.5 Mecanismos de remoción de productos farmacéuticos en los humedales artificiales. Basado en Zhang et al (2014) .....	38
Figura 3.1 Diagrama estructural del humedal. ....	45
Figura 3.2 Instalación de los tres humedales. Humedal 1 sin plantar y humedal (2 -3) con macrófitas. ....	46
Figura 3.3 Equipo <i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> (UPLC/MS/MS). Fuente Aristizabal-Ciro (2014).....	50
Figura 3.4 Muestreadores de malla para conteo de heterótrofos y piezómetro. ....	51
Figura 3.5 Procedimiento Conteo de Heterótrofos. ....	52
Figura 4.1 Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el primer experimento .....	55
Figura 4.2 Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el segundo experimento. ....	57
Figura 4.3 Macrófitas de los humedales plantados.....	58
Figura 4.4 Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el tercer experimento .....	59
Figura 4.5 Estado físico de las macrófitas del segundo humedal con la segunda y tercera concentración del fármaco.....	60
Figura 4.6 Porcentaje de remoción de COD en el segundo humedal con la tercera concentración (1,7 mg/L) .....	63
Figura 4.7 Valores de DQO en el efluente de cada humedal durante la tercera concentración del fármaco. ....	65

Figura 4.8 Valores de oxígeno disuelto en el afluente durante los tres experimentos para los tres humedales .....	66
Figura 4.9 Oxígeno disuelto medido en el efluente de cada humedal durante los tres experimentos.....	67
Figura 4.10 Valores de pH en el afluente en las concentraciones 2 y 3 de ibuprofeno.....	68
Figura 4.11 Valores de pH en el efluente durante las tres concentraciones del fármaco. ....	69
Figura 4.12 Conductividad en el afluente.....	70

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1 Consumo de ibuprofeno, en sus dos presentaciones disponibles en la CCSS. Basado en Registros SIFA (2015). .....	32
Cuadro 2.2 Estructura química y propiedades físico-químicas del ibuprofeno. Tomado de Zhang et al (2014).....	33
Cuadro 2.3 Concentraciones medidas de Ibuprofeno. Modificado de Aguirre et al (2013).	34
Cuadro 2.4 Concentraciones medidas en Ibuprofeno en efluentes cloacales. Modificado de Elorriaga et al (2012).....	34
Cuadro 2.5 Resumen de estudios previos en el tratamiento de fármacos en aguas residuales mediante humedales artificiales.....	41
Cuadro 3.1 Ensayos realizados con diferentes concentraciones de ibuprofeno en los humedales de flujo subsuperficial horizontal. ....	44
Cuadro 3.2 Cantidad de reactivos para la preparación de 200 L de agua residual sintética tipo doméstica. ....	47
Cuadro 3.3 Resumen de los diferentes análisis que se realizaron. ....	48
Cuadro 4.1 Porcentajes de remoción de ibuprofeno para cada uno de los humedales durante los tres experimentos. ....	53
Cuadro 4.2 Comparación entre el presente estudio y los estudios realizados por Zhang et al (2011, 2012) y Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al (2010) .....	55
Cuadro 4.3 Resultados de los muestreos en la grava para conteo de heterótrofos. ....	61
Cuadro 4.4 Porcentajes de remoción promedio de carbono orgánico disuelto, con las tres concentraciones de ibuprofeno. ....	62
Cuadro 4.5 Valores de DQO en el afluente (DQO inicial) y en el efluente de cada humedal, durante la primera concentración. ....	64
Cuadro 4.6 Conductividad eléctrica en el efluente de cada humedal, en las tres concentraciones de ibuprofeno empleadas. ....	70



## LISTA DE SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AINES	Antiinflamatorios no esteroides
CCSS	Caja Costarricense de Seguro Social
COD	Carbono Orgánico Disuelto
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
FS	Flujo superficial
FH	Flujo horizontal
GDCON	Grupo Diagnóstico y Control de la Contaminación
HPC	Heterotrophic plate count
$K_d$	Constante de disociación
$K_{ow}$	Coefficiente de partición octanol-agua
MO	Materia Orgánica
OMS	Organización Mundial de la Salud
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
SIFA	Sistema integrado de farmacia
SIU	Sede de Investigación Universitaria
TRH	Tiempo de retención hidráulico



## RESUMEN

El ibuprofeno es un contaminante emergente, vinculado a efectos ambientales negativos sobre las comunidades acuáticas y la salud humana, debido a la descarga de aguas residuales con contenidos del mismo a los cuerpos de agua.

Es por ello que el proyecto comprendió el estudio de la remoción del ibuprofeno de aguas sintéticas mediante humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal, ensayándose tres concentraciones del fármaco 0,2, 1,7 y 2,7 mg/L.

Se utilizaron tres humedales de 1,0 m de largo y 0,5 m de ancho y de profundidad; dos de ellos plantados con *Cyperus papyrus* y el otro sin plantar. Se estabilizaron durante un mes y posterior a este periodo, se ensayó incorporar al afluente del humedal tres concentraciones diferentes del fármaco. Para la determinación de la concentración del ibuprofeno se utilizó cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a un espectrofotómetro de masas en tándem (UPLC-MS/MS); así también se realizó seguimiento a los humedales midiendo carbono orgánico disuelto, demanda química de oxígeno, oxígeno disuelto, pH y conductividad eléctrica, tanto en el afluente como en el efluente, y conteo de heterótrofos en la grava de los tres humedales.

Se comprobó que los humedales plantados obtuvieron mayores porcentajes de remoción de ibuprofeno que el humedal sin plantar, obteniéndose un máximo de 84% en los humedales plantados y un máximo de 51% en el humedal sin plantar, asimismo se observó que a mayor concentración del fármaco se tuvo una menor remoción. Los parámetros de seguimiento no se vieron influenciados por la presencia de las macrófitas a excepción de la conductividad, asimismo evidenciaron el buen funcionamiento de los humedales.

**Palabras clave:** contaminantes emergentes, ibuprofeno, humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal.



## **ABSTRACT**

Ibuprofen is an emerging organic pollutant, linked to negative environmental effects in aquatic organisms and in human health, due to wastewaters containing ibuprofen are often released to surface water.

The study aim was to assess the ibuprofen removal efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands, using three ibuprofen concentrations 0,2, 1,7 and 2,7 mg/L.

Three wetland were used (1,0m long; 0,5m width; 0,5 depth); two of them planted with *Cyperus papyrus* and third one unplanted. After one month of stabilization period, synthetic water prepared with different ibuprofen concentrations was circulated. Water sampling from the wetlands was carried out twice a week and ibuprofen content was measured using ultra performance liquid chromatography (UPLC/MS/MS), in addition other parameters such as total organic carbon (TOC), chemical oxygen demand (COD), pH, conductivity and redox potential were measured.

It was found that planted wetland showed higher ibuprofen removal percentages than unplanted wetland, reaching a maximum of 84% in planted wetlands and a maximum of 51% in the unplanted wetland. Also less removal of ibuprofen in the wetland was observed at higher drug concentrations in the affluent. Except for conductivity, basic water quality parameters of the wetland effluent were not influenced by the planted beds when were compared to unplanted beds, and also evidenced the wetlands good functioning.

**Key words:** Emerging contaminants, ibuprofen, horizontal subsurface flow constructed wetlands.



## 1 INTRODUCCIÓN

De todos los contaminantes emergentes (CE), los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos (Barceló & López, 2008).

Desde la década de 1950, existe literatura aunque escasa que reporta productos farmacéuticos y de higiene personal en el medio acuático (Watkinson, Murby, Kolpin, & Costanzo, 2009). Sin embargo, no ha sido hasta principios de la década de los 90 que el tema de los fármacos en el ambiente ha surgido con fuerza, como lo demuestran los numerosos artículos publicados desde entonces, los cuales han despertado un gran interés científico y social (Barceló & López, 2008).

El consumo de medicamentos en el mundo crece a una tasa sostenida del 7 a 8% anual desde hace varios años, donde los países industrializados y los sectores de mayor poder adquisitivo muestran un mayor consumo (Centro de Farmacoepidemiología, 2006).

Entre los fármacos más prescritos en medicina humana destacan los AINES como el ibuprofeno y el diclofenaco, los antiepilépticos como la carbamacepina, antibióticos como la amoxicilina y el sulfametoxazol, y los  $\beta$ - bloqueantes como el metoprolol. (Barceló & López, 2008).

La participación de los AINES en el gasto farmacéutico en Costa Rica es cada vez más relevante, ya que constituyen el cuarto grupo farmacéutico de mayor gasto público, y en el periodo 2000-2005 su consumo se incrementó en un 48% (Barber, Morera, Aparicio, & Xirinachs, 2007).

En general, los productos farmacéuticos son ampliamente usados para diferentes propósitos a nivel medicinal, doméstico, agrícola, veterinario e industrial, y los residuos de todos o algunos de estos usos son colectados y llevados como afluentes a las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, esto en el mejor de casos, ya que pueden ser vertidas directamente en un cuerpo de agua (Osachoff et al., 2014).

Muchos de los compuestos farmacológicos se eliminan de la corriente de agua residual durante el proceso en una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), sin embargo, no parece ser suficiente y se han encontrado en los efluentes y en los entornos receptores en concentraciones más bajas (Osachoff et al., 2014), esto puede deberse a que las tecnologías de tratamiento convencionales no están especialmente diseñadas para la eliminación de productos farmacéuticos (Li, Zhu, Ng, & Tan, 2014; Osachoff et al., 2014; Parolini, Binelli,

& Provini, 2011; Zhang et al., 2012), por lo que la mayoría de estos productos no pueden ser removidos fácilmente o totalmente (Li et al., 2014). En consecuencia, varias clases de estos compuestos están siendo vertidos en aguas superficiales, subterráneas y aguas costeras (Parolini et al., 2011), lo que evidencia que han sido descargados continuamente en medios acuáticos sin ninguna restricción (Matamoros, Arias, Brix, & Bayona, 2007).

La presencia de fármacos en el medio receptor es preocupante debido a su naturaleza bioactiva y que aún en concentraciones muy bajas pueden afectar negativamente a los organismos incluyendo la vida silvestre y los seres humanos (Osachoff et al., 2014).

Una de las mayores preocupaciones, ha sido el hallazgo de algunos de ellos (como el ibuprofeno, diclofenaco y carbamacepina) en agua potable (Barceló & López, 2008), por lo que la exposición humana a estos residuos de fármacos, podría producirse por el consumo de agua directamente o por el consumo de organismos acuáticos como los peces que pueden acumular estos residuos (Cunningham, Binks, & Olson, 2009). Por ejemplo se ha detectado el diclofenaco y el ibuprofeno en concentraciones entre 1-6 ng L<sup>-1</sup> en agua potable (Cleuvers, 2004).

Según la Organización Mundial de la Salud (2011), las actuales evaluaciones de riesgos indican que es improbable que las bajas concentraciones de productos farmacéuticos presentes en el agua potable planteen un riesgo considerable para la salud humana, sin embargo existen lagunas de conocimientos. Entre ellas se incluyen la falta de evaluación de los riesgos para la salud humana asociados a la exposición prolongada a bajas concentraciones de productos farmacéuticos, y los posibles efectos combinados derivados de las mezclas de productos farmacéuticos (OMS, 2011).

No existe legislación que regule la concentración de fármacos en la descarga de aguas residuales ni en agua potable. Según la OMS (2011) en vista de la falta de disposiciones normativas, el seguimiento regular de la presencia de productos farmacéuticos en las fuentes de agua y el agua potable no sería conveniente, excepto en casos en los que las circunstancias locales sugirieran la posibilidad de concentraciones elevadas (por ejemplo, fábricas con descargas de efluentes en el curso superior de una fuente de agua potable).

En países latinoamericanos existe un gran vacío de información sobre la presencia de compuestos farmacéuticos en descargas de efluentes cloacales (Elorriaga, Marino, Carriquiriborde, & Ronco, 2012).

Según el reglamento para la disposición final de medicamentos, materias primas, y sus residuos N° 36039-S (2010), se establece que la disposición final de los medicamentos en Costa Rica, será realizada por los establecimientos farmacéuticos, por lo tanto cada establecimiento debe contar con un plan para el manejo y la disposición final de los mismos aprobado por el regente farmacéutico.

Se han ensayado varios tratamientos con el fin de remover los fármacos de las aguas residuales y evitar que estos puedan llegar hasta cuerpos de agua. Algunos de estos tratamientos son de tipo convencional como lodos activados, oxidación prolongada, lechos bacterianos y biodiscos, obteniéndose rendimientos que oscilan entre el 15% y superiores al 80% según el tipo de tratamiento y el tipo de fármaco (Cortacans, Hernández, Del Castillo, & Montes, 2006). También han sido ensayadas las tecnologías avanzadas como los procesos de oxidación (ozonización, fotólisis y fotólisis heterogénea, fenton y foto-fenton, sonólisis, oxidación electroquímica, entre otras), la adsorción con carbón activado, la ósmosis inversa, la separación por membranas, y los bioreactores de membrana para complementar los sistemas de tratamiento convencional (Li et al., 2014; Osachoff et al., 2014; Parolini et al., 2011), sin embargo, estos procesos de tratamiento avanzados son caros de hacer a gran escala y con un costo prohibitivo (Li et al., 2014; Parolini et al., 2011). Por lo tanto, la selección de tecnologías alternativas de alta eficiencia de remoción de productos farmacéuticos a bajo costo es de vital importancia, sobre todo en regiones con escasos recursos.

Los humedales artificiales son de bajo costo en la construcción, operación y mantenimiento, y están siendo estudiados con el fin de remover contaminantes farmacéuticos de las aguas residuales (Li et al., 2014), siendo su principal restricción la disponibilidad de espacio (Zhang et al., 2012).

## 1.1 HIPÓTESIS

La tecnología de los humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal, es eficiente para la remoción de Ibuprofeno de un agua residual sintética.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo general

Evaluar el funcionamiento de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto para la remoción de ibuprofeno en aguas sintéticas, con el fin de considerar su uso en el tratamiento de aguas residuales.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar la eficiencia en la remoción del contenido de Ibuprofeno de un agua sintética mediante humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal.
- Evaluar los cambios en los parámetros físico-químicos del agua sintética, utilizada en el experimento.
- Evaluar la función de la macrófita *Cyperus papyrus*, en la remoción del fármaco del agua sintética en los humedales horizontales artificiales de flujo subsuperficial horizontal.

## **2 REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES**

Los hábitos de consumo actuales en nuestra sociedad están generando una serie de micro-contaminantes que hace tan solo unos años no se habían contemplado (Cortacans et al., 2006), a estos contaminantes se les llama “Contaminantes emergentes”.

Los CE corresponden en la mayoría de los casos a contaminantes no regulados, que pueden ser candidatos a regulación futura dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia. Algunos ejemplos de los compuestos que han emergido recientemente, como particularmente relevantes son: los surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de las gasolinas, retardantes de llama, antisépticos, aditivos industriales, esteroides, hormonas y subproductos de la desinfección del agua (Becerril, 2009).

### **2.2 LOS FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES**

Muchos de los compuestos farmacéuticos se consideran como contaminantes emergentes, debido a su uso extendido, liberación continua, persistencia y sus efectos eco toxicológicos (Zhang et al., 2011)

Los fármacos se emplean en gran cantidad, para prevenir, diagnosticar, mitigar o curar enfermedades en los seres humanos y los animales (Li, Zhu, Jern, & Keat, 2014), en consecuencia se han detectado en aguas superficiales, subterráneas y aguas costeras que reciben efluentes de aguas residuales tratadas o sin tratamiento (Matamoros et al., 2007).

Los componentes activos de los fármacos han sido encontrados en rangos de  $\text{ng.L}^{-1}$  a  $\mu\text{g.L}^{-1}$  en ambientes acuáticos (Berglund et al., 2014; Kümmerer, 2009)

#### **2.2.1 Características de los fármacos**

Un aspecto importante de los ingredientes activos de los fármacos desde el punto de vista ambiental es que presentan una serie de características que les hace diferentes a los contaminantes químicos industriales convencionales:

- Los componentes activos de los fármacos son moléculas complejas con diferentes funcionalidades, y propiedades tanto físico-química como biológica (Kümmerer, 2009)
- El medicamento puede ser excretado sin ningún cambio, en forma de conjugados glucurónidos o sulfatos, como un metabolito principal, o como una mezcla de muchos metabolitos (Cortacans et al., 2006). Estos derivados son más polares y solubles en agua, y presentan una actividad farmacológica reducida respecto al compuesto original (Cortacans et al., 2006).
- Existe evidencia de que muchas de estas sustancias son poco o nada biodegradables en el medio ambiente (Cortacans et al., 2006).
- El peso molecular está en el rango de 200 a 1000 Da, por eso los componentes activos son llamados “moléculas pequeñas” (Kümmerer, 2009).

### **2.2.2 Medios de entrada de los fármacos hacia los cuerpos de agua**

En muchos países los productos farmacéuticos y sus metabolitos se han reportado no sólo en los efluentes municipales y de plantas de tratamiento de aguas residuales, sino también en los ríos, aguas superficiales, aguas subterráneas y sedimentos (G. Aguirre, Del Valls, & Martín, 2013).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales no son generalmente diseñadas para eliminar y/o degradar los productos farmacéuticos, por lo que los fármacos pueden ser parcialmente eliminados en sistemas de tratamiento biológico, mientras que la mayoría de los productos farmacéuticos no tratados tienden a acumularse en los cuerpos de agua (Behera, Oh, & Park, 2011), y al no estar regulados, pasan desapercibidos.

Muchos de los fármacos son excretados por los seres humanos y animales, sin metabolizar o en forma de metabolitos activos (Cortacans et al., 2006), por ende, varias clases de fármacos y sus metabolitos se excretan con la orina y las heces, y de esta manera son liberados mediante fuentes puntuales y no puntuales a los ambientes acuáticos, siendo las aguas residuales municipales la principal vía directa de entrada. Existen algunas otras vías indirectas incluyendo la escorrentía o el efluente de aguas residuales de corrales de animales (Li et al., 2014), es por ello que existe una creciente preocupación por el nivel de compuestos

farmacéuticos excretados que pueden acabar tanto en ambientes acuáticos como en el suministro de agua (Behera et al., 2011) (Figura 2.1).

En la figura 2.1, se muestran los principales generadores de aguas contaminadas con productos farmacéuticos como los antibióticos y la complejidad de la transferencia de las cargas de los mismos a otros generadores, como sistemas de tratamiento de aguas residuales y potables, y a mantos de aguas superficiales y subterráneas.

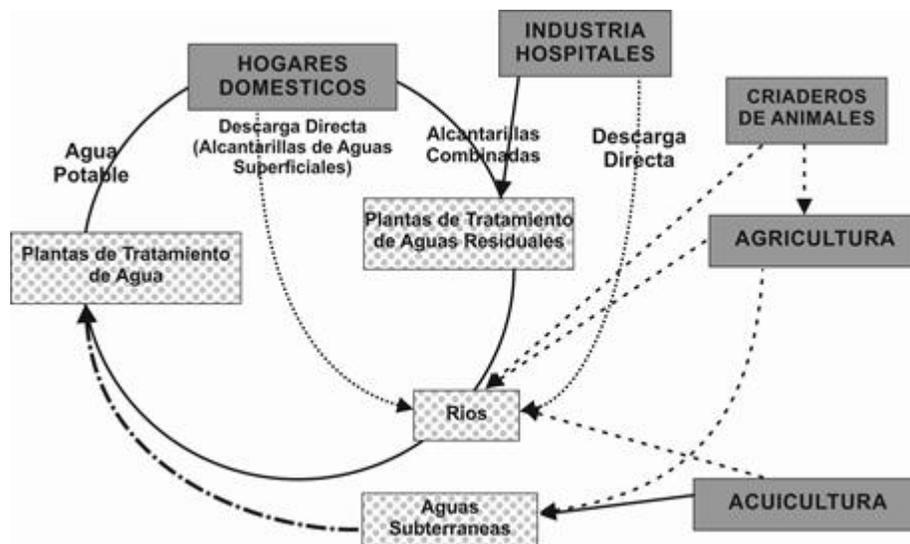


Figura 2.1 Fuentes y rutas de los antibióticos en el ciclo urbano del agua. Tomado de Cardona (2013).

En los seres humanos la orina es la principal ruta de salida de los fármacos, más de 80 productos farmacéuticos y algunos de sus metabolitos se han detectado en los afluentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales de Europa y Estados Unidos, mientras que en las aguas superficiales y subterráneas se han encontrado, pero en menores concentraciones (Tiehm et al., 2010). Entre estos pueden haber más de 50 sustancias farmacológicamente activas de diversos grupos entre los que se encuentran los analgésicos, antibióticos, antiepilépticos, antidepresivos, antibióticos, antirreumáticos, hormonas esteroideas, etc (Cortacans et al., 2006).

En los hogares, los productos farmacéuticos caducados suelen ser desechados con la basura normal del hogar o en los fregaderos o inodoros (Li et al., 2014), esto se verificó en un estudio que se realizó a 400 familias en el Reino Unido donde se corroboró que esas son las tres principales vías de descarte de fármacos en los hogares (Kümmerer, 2009). Además, en un

grado menor pero relevante, las aguas residuales de los hospitales o los fabricantes de productos farmacéuticos también contribuyen a las cargas totales de productos farmacéuticos en las aguas residuales municipales (Li et al., 2014). En un estudio realizado a pacientes en Estados Unidos, más de la mitad aseguró tener almacenados medicamentos sin usar o vencidos en sus hogares y más de la mitad los había desechado por el inodoro, sólo el 22,9% aseguró haberlos llevado a una farmacia para su correcta disposición. También en una investigación realizada en Kuwait, se detectó que el 76,5% deposita los medicamentos sin usar en el recipiente de la basura y el 11,2% lo dispone en el desagüe (Kümmerer, 2009).

La reutilización del agua residual en forma intensiva en regiones áridas, para el riego y la recarga artificial de aguas subterráneas pueden provocar una acumulación importante de contaminantes emergentes persistentes (Tiehm et al., 2010).

En la Unión Europea y en Estados Unidos es legal desechos los medicamentos sin usar o vencidos en los recipientes de la basura, siendo la incineración la mejor vía de disposición y no un relleno sanitario, porque los lixiviados pueden contener residuos de medicamentos, y si no cuenta con un sistema de tratamiento eficiente para los lixiviados, pueden terminar como fuentes de contaminación en el agua superficial y subterránea (Kümmerer, 2009).

### **2.2.3 Efecto de los fármacos sobre el ambiente.**

Al entrar en el medio acuático, los compuestos farmacéuticos y sus metabolitos se convierten en riesgos potenciales para la salud de la vida acuática y los seres humanos, incluso a niveles traza (Li et al., 2014)

Dado que las concentraciones de fármacos a nivel de trazas pueden causar efectos crónicos sutiles sobre los ecosistemas, la totalidad de sus efectos ecotoxicológicos en el ambiente acuático son difíciles de predecir a largo plazo (Zhang, Gersberg, Ng, & Tan, 2014).

Algunos impactos eco-toxicológicos en los organismos del medio acuático y terrestre dada la presencia de fármacos son:

- Efectos adversos sobre las comunidades acuáticas, donde se incluye la feminización de peces machos (Höll & Litter, 2010; Li et al., 2014), deterioro de la función renal, las branquias y el hígado de los peces (Li et al., 2014). Se ha demostrado la acumulación de componentes activos de medicamentos antidepresivos en el cerebro,

el hígado y los músculos de tres tipos de peces que vivían en ríos a los que vertían efluentes de depuradoras (Cortacans et al., 2006).

- Existe evidencia que algunas clases de fármacos no esteroideos, puede interferir con la homeostasis reproductiva de organismos acuáticos (Madureira et al., 2011)
- Disminución de la diversidad del plancton (Li et al., 2014; Zhang et al., 2014).
- Alteraciones en el comportamiento y fisiología de los insectos, inhibición o estimulación del crecimiento en plantas acuáticas y algas (Cortacans et al., 2006), y desarrollo de bacterias resistentes (Cortacans et al., 2006; Cunningham et al., 2009)
- En el caso del ibuprofeno se ha demostrado que causa cambios fisiológicos como la inhibición del crecimiento de la especie micrófitos (*Lemna minor*) que es una lenteja de agua (Behera et al., 2011; Sabri, Hanna, & Yargeau, 2012) y la producción estimulada del ácido abscísico, una hormona del estrés en esta misma especie (Sabri et al., 2012), afecta también la reproducción del crustáceo *Daphnia magna* a una concentración mínima de 13.4 mg/L (Behera et al., 2011). El Ibuprofeno a una concentración de 250 ng/L puede dañar la membrana de la glándula digestiva del mejillón *M. galloprovincialis* (Gonzalez-Rey & Bebianno, 2012). La mezcla de cafeína e Ibuprofeno puede alterar el estado de oxidación de las células y provocar estrés oxidativo, y esto asociado con daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN) en el cangrejo *Carcinus maenas* (G. Aguirre et al., 2013).
- En los seres humanos la inhibición del crecimiento de células embrionarias, donde mediante la inyección de una mezcla farmacéutica (atenolol, carbamazepina, ciprofloxacina, furosemida, Ibuprofeno, sulfametoxazol), se observaron efectos de inhibición en la proliferación de células del crecimiento en embriones humanos (Cortacans et al., 2006; Zhang et al., 2014)

Aunque a corto plazo parece que no se pueden detectar efectos graves sobre la salud o sobre el ambiente, sí resulta probable que a mediano o largo plazo la combinación de diferentes metabolitos y compuestos biológicamente activos, formen una especie de cóctel farmacológico capaz de ocasionar y potenciar cambios y efectos negativos en el ambiente o daños en el hombre (Cortacans et al., 2006).

Ante lo mencionado anteriormente, queda claro que el mayor problema que presentan estas sustancias en la actualidad es el completo desconocimiento sobre sus efectos, la ausencia de

reglamentaciones que determinen las concentraciones máximas admisibles en los cauces de vertido, así como la poca reducción en procesos de depuración convencionales (Cortacans et al., 2006). La aplicación del principio de precaución, por lo tanto, es necesaria para dar lugar a controles más estrictos sobre el tratamiento de los productos farmacéuticos en las aguas residuales (Li et al., 2014)

## 2.3 IBUPROFENO

### 2.3.1 Definición

El ibuprofeno ( $C_{13}H_{18}O_2$ ) es un derivado del ácido propiónico. (Pérez, López, & Grau, 2002), y su nombre acorde a la IUPAC es ácido 2- (4-isobutilfenil) propiónico. Pertenece a los AINES, que constituyen el sexto grupo farmacológico más vendido en todo el mundo (Parolini et al., 2011), además se encuentran entre los fármacos más comúnmente recetados en todo el mundo, representan entre el 3 al 9% del total de prescripciones en varios países (Alhava, 1994).

Su acción analgésica no es de tipo narcótico y su actividad farmacológica se basa en la inhibición de la síntesis periférica de prostaglandinas (Sabri et al., 2012), es decir inhibiendo la síntesis de compuestos involucrados en la respuesta inflamatoria. Es utilizado frecuentemente para el alivio sintomático del dolor de cabeza (cefalea), dolor dental, dolor muscular (mialgia), molestias de la menstruación (dismenorrea), síndrome febril, y dolor tras cirugía (postquirúrgico), así como para tratar cuadros inflamatorios, como los que se presentan en artritis, artritis reumatoide y artritis gotosa (Iannacone & Alvariño, 2009).

Ha sido identificado como uno de los principales productos farmacéuticos presentes en PTAR (G. Aguirre et al., 2013) y en ecosistemas acuáticos (Sabri et al., 2012).

### 2.3.2 Consumo y producción

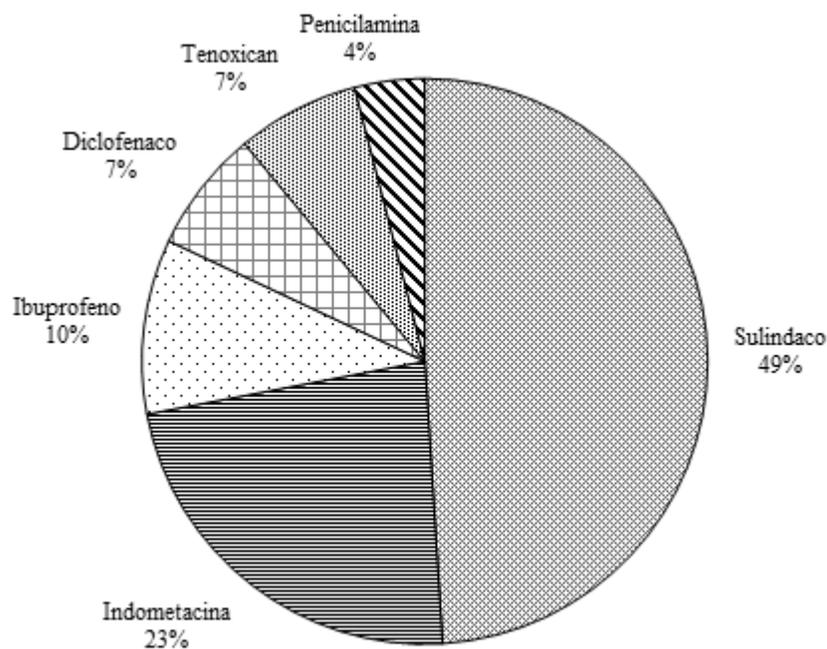
El Ibuprofeno es uno de los fármacos más importantes incluidos en la lista “Essential Drugs List” de la Organización Mundial de la Salud, que da lugar a su producción masiva en todo el mundo (Behera et al., 2011). En el año 1984 fue aprobado como un medicamento de venta libre y, desde entonces, las ventas sin receta se han triplicado en América del Norte (Sabri et al., 2012).

Para el año 2001 en Alemania la producción de Ibuprofeno fue de 345 toneladas (Höll & Litter, 2010).

En un estudio realizado en Eslovaquia durante el periodo de 1996 al 2007, los AINES que se consumen con mayor frecuencia son el ibuprofeno y el diclofenaco (Hudec, Kriska, Bozekova, & Foltan, 2008).

En España, un estudio realizado a 107 padres de niños entre 6 meses y 10 años, el 92% de ellos asegura que ha dado alguna vez una determinada presentación de ibuprofeno oral a sus hijos (Carabaño, Llorente, Martínez, & Ruiz, 2006).

Para el año 2005 en Costa Rica, el ibuprofeno representaba el 10% del consumo total de AINES, sólo por debajo del sulindaco y la indometacina (Figura 2.2).



**Figura 2.2 Participación del gasto de AINES para el año 2005 en Costa Rica. Modificado de Barber et al (2007).**

En Costa Rica, la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) dispone de dos presentaciones farmacéuticas de Ibuprofeno: tabletas recubiertas de 400 mg y suspensión oral 100 mg/5 mL en frascos de 50 mL (uso exclusivo de pediatría). De ambas presentaciones del fármaco se disponen los datos de consumo del periodo 2011-2014 (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1 Consumo de ibuprofeno, en sus dos presentaciones disponibles en la CCSS. Basado en Registros SIFA (2015).**

<b>Año</b>	<b>Cantidad (tabletas recubiertas 400 mg)</b>	<b>Cantidad (Fascos 100 mg/ 5 mL)</b>	<b>Cantidad total de ibuprofeno (kg)</b>
2011	21 286 680,00	9 682,00	8 524,4
2012	22 494 886,00	15 579,00	9 013,6
2013	35 800 41,00	25 425,00	14 345,6
2014	40 261 688,00	30 330,00	16 135,0
Total	119 843 775,00	81 016,00	48 018,7

Cabe resaltar que los datos anteriores no incluyen el consumo de ibuprofeno correspondiente a la adquisición directa en el comercio, ya que no fue posible obtener dicha información. Nótese en el cuadro anterior, que el consumo de tabletas recubiertas se duplicó en el periodo del 2011 al 2014 y que el consumo de los frascos se triplicó en el mismo periodo de tiempo, y dado que la tasa de crecimiento promedio anual de la población en Costa Rica según el último censo (2011) fue de 1,1% anual (INEC, 2012), el aumento en el consumo de ibuprofeno no está vinculado totalmente al aumento en la población, ya que la tasa de crecimiento es baja y la población de Costa Rica no alcanzó ni a duplicarse en ese mismo periodo de tiempo.

### **2.3.3 El ibuprofeno y su movilidad en el ambiente.**

El ibuprofeno tiene un bajo metabolismo y absorción en el cuerpo humano (Behera et al., 2011). La tasa de excreción de sus ingredientes activos sin metabolizar es del 10% (OMS, 2011). La mayor parte del ibuprofeno administrado se excreta a través de las heces y la orina en forma de su compuesto de origen o de metabolitos solubles en agua (Behera et al., 2011). Los principales metabolitos en que se degrada el ibuprofeno en el cuerpo humano son los metabolitos hidroxibuprofeno, carboxibuprofeno y ácido carboxi-hidratrópico (Sabri et al., 2012) (Figura 2.3).

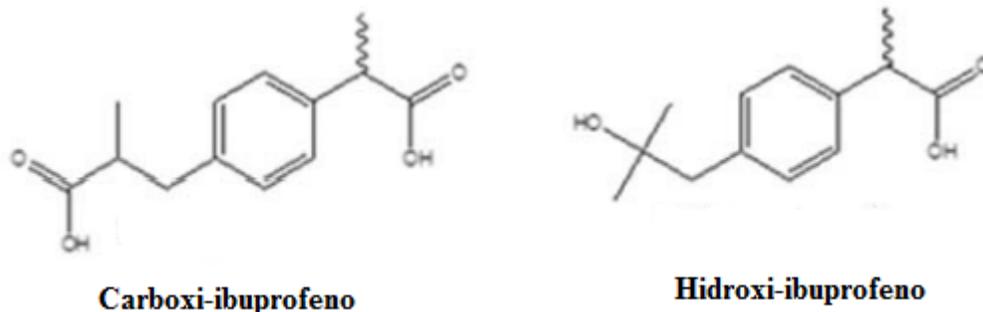


Figura 2.3 Estructura química de algunos metabolitos del ibuprofeno. Modificado de Nortés (2014).

El ibuprofeno tiene una alta solubilidad en disolventes orgánicos como el metanol, dado su alto coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{ow}$ ) y una baja solubilidad en agua. Asimismo, cambios en el pH afectan la disociación de la molécula del ibuprofeno, de acuerdo con la constante de disociación ( $pka$ ) más del 50% del ibuprofeno se desprotona a pH mayor que 4,91 (Behera et al., 2011) (Cuadro 2.2).

**Cuadro 2.2 Estructura química y propiedades fisico-químicas del ibuprofeno. Tomado de Zhang et al (2014).**

Compuesto farmacéutico	Estructura química	Fórmula química	Propiedades fisico-químicas			
			$pka^1$	$\log K_{ow}^2$	Solubilidad en agua (mg/L)	Solubilidad en disolventes orgánicos
Ibuprofeno		$C_{13}H_{18}O_2$	4,91	3,97	21	Muy soluble

<sup>1</sup>Constante de disociación; <sup>2</sup>Coficiente de partición octanol-agua.

Un compuesto con un valor de  $\log K_{ow}$  superior a 5, se infiere que es bioacumulable en tejido graso, pero para el caso del ibuprofeno dado que es menor a 5 no es bioacumulable, sin embargo la exposición de organismos al mismo podría causar daños (ecotoxicidad).

Sus propiedades fisicoquímicas indican una alta movilidad en ambientes acuáticos (Behera et al., 2011; Sabri et al., 2012), dada su baja volatilidad tiende a ser fácilmente transportado y descargado en el compartimiento de agua (Zhang et al., 2014).

Debido a su alta movilidad en ambientes acuáticos se ha encontrado en muestreos de aguas superficiales en el Reino Unido, Europa continental, América del Norte, entre otros lugares (Parolini et al., 2011). En un estudio realizado para la detección de fármacos ácidos y neutros en instalaciones de tratamiento de aguas residuales y aguas superficiales en el Atlántico

canadiense se encontró que las mayores concentraciones medias fueron para el ibuprofeno y el naproxeno con concentraciones medias mayores a 1000 ng/L durante los meses de primavera y verano (Lynne Kormos, 2007).

En una recopilación de varios estudios sobre concentraciones medidas de ibuprofeno en diferentes sistemas acuáticas y efluentes de PTAR, se puede observar que las mayores concentraciones se presentan en las plantas de tratamiento de aguas residuales donde van a coincidir con un gran número de descargas directas y donde no se tiene un factor de dilución como el que se pueda presentar en el mar, además nótese que las concentraciones tienden a variar según el sitio, esta diferencia se le puede atribuir el sitio donde se realizó el muestreo, las condiciones ambientales, entre otros factores, (Cuadro 2.3).

**Cuadro 2.3 Concentraciones medidas de Ibuprofeno. Modificado de Aguirre et al (2013).**

Sitio	Concentraciones medidas de Ibuprofeno ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Lago	0,01
Efluente municipal	0,01
Río	0,05 / 2,3
Mar	0,01
Planta tratamiento de aguas negras	0,03 / 0,7 / 2,1 / 7,1 / 20
Planta de tratamiento de aguas residuales	0,5 / 0,8 / 1,0 / 1,3 / 2,6 / 3,0 / 6,3 / 10,1 / 24,6
Arroyo	0,3

Así también otro estudio recopila concentraciones medidas en efluentes cloacales pero en diferentes países (Cuadro 2.4)

**Cuadro 2.4 Concentraciones medidas en Ibuprofeno en efluentes cloacales. Modificado de Elorriaga et al (2012).**

País	Concentración medida de Ibuprofeno ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Francia	1,82
Grecia	0,05
Italia	0,18
Suecia	7,11
Alemania	0,37
Suiza	1,2
España	14,7
Corea	0,27
Canadá	5,2

## 2.4 HUMEDALES ARTIFICIALES

### 2.4.1 Definición y clasificación

Los humedales artificiales son un complejo ecosistema constituido de substrato saturado, vegetación, microorganismos y agua, cuyo objetivo es la remoción de contaminantes mediante diversos procesos físicos, químicos y biológicos. Se utilizan como segundo paso de tratamiento, esto es después de haberle quitado a las aguas residuales los elementos pesados y grasosos (Moncada, 2011). En realidad los humedales se pueden entender como una modificación del lagunaje convencional con menor profundidad (No más de 0,4 m) (García, 2004).

Los compuestos orgánicos disueltos son removidos por los microorganismos presentes en la biopelícula formada sobre la grava y aquellos que están en la raíces y rizomas de las plantas (Agudelo et al., 2010; Choudhary, Kumar, & Sharma, 2011). Asimismo por procesos de adsorción y absorción (Choudhary et al., 2011). La remoción de la DQO biodegradable en los humedales se da por parte de los microorganismos presentes y la fracción de la DQO no biodegradable se puede remover por procesos de precipitación, adsorción (sobre la grava y raíces de las plantas), por absorción a través de las raíces (Cardona, 2013), y absorción del material particulado en los espacios vacíos del medio de soporte (Choudhary et al., 2011).

Los humedales artificiales, usados para la remoción de fármacos del agua residual pueden ser clasificados de la siguiente forma:

- Humedal artificial de flujo superficial (*Surface free water constructed wetlands - SF-CWs*) (Figura 2.4 a).
- Humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal (*Horizontal subsurface flow constructed wetlands - HSSF-CWs*) (Figura 2.4 b).
- Humedal artificial de flujo subsuperficial vertical (*Vertical subsurface flow constructed wetlands – VSSF-CWs*) (Figura 2.4 c).
- Humedal artificial híbrido (*Hybrid constructed wetlands*).

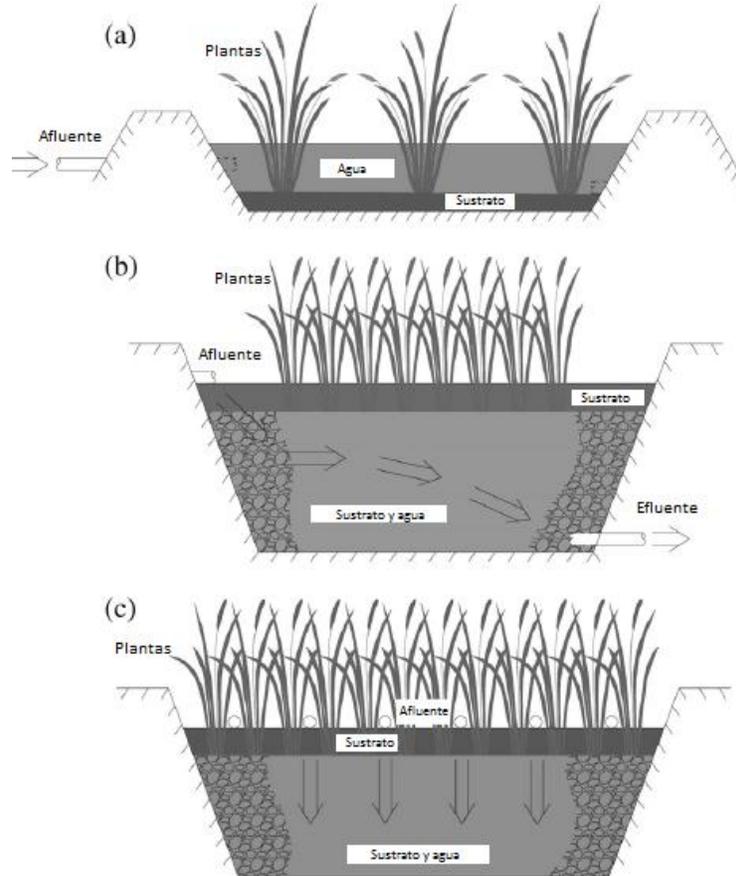


Figura 2.4 Estructura de los humedales artificiales. (a) SF-CWs (b) HSSF-CWs (c) VSSF-CWs. Modificado de Li et al (2014).

Los humedales de flujo superficial tienen una lámina de agua libre en los que pueden aplicarse plantas flotantes o enraizadas, mientras que en los humedales de flujo subsuperficial la circulación del agua es subsuperficial es decir no existe lámina de agua libre, estos últimos se pueden clasificar dependiendo de la circulación del agua en: flujo horizontal y flujo vertical (Bécares, 2004). Dado que en éste estudio se utilizaron humedales artificiales de flujo subsuperficial, los mismos se detallan en la siguiente sección.

#### 2.4.1.1 Humedales artificiales de flujo subsuperficial.

En los humedales de flujo subsuperficial, la circulación del agua es subterránea a través de un medio granular (con una profundidad de altura de lámina de agua de alrededor de 0,6 m) y en contacto con los rizomas y raíces de las macrófitas. Este tipo de humedal forma parte de los sistemas naturales basados en la acción del terreno (García, 2004).

En este sistema, el agua circula exclusivamente a través del material poroso (grava con diámetro de 3 y 20 mm) y normalmente a 5 cm debajo de la superficie (Aguirre, 2004).

En los humedales de FSS existe una dificultad para la transferencia directa de oxígeno, debido a la imposibilidad de mezcla del mismo a lo largo de toda la profundidad del lecho (Aguirre, 2004).

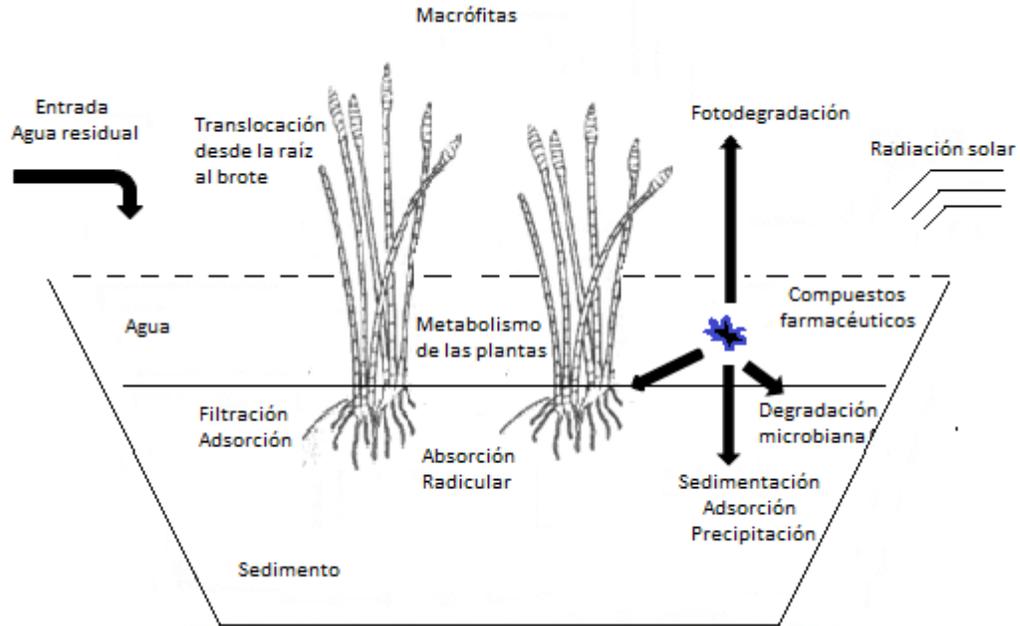
Las principales ventajas de los humedales de flujo subsuperficial respecto a los de flujo superficial son: menor incidencia de olores debido a la naturaleza subterránea del flujo, bajo riesgo de exposición directa de las personas y de aparición de insectos, protección térmica debida a la acumulación de restos vegetales y de flujo subterráneo, asimismo evita flujos preferenciales (Garcia, 2004). Por el contrario dentro de sus inconvenientes está un mayor costo en la construcción fundamentalmente por el material granular y menor valor como ecosistema para la vida salvaje debido a que el agua difícilmente es accesible a la fauna (Garcia, 2004).

#### **2.4.2 Función de humedales en el tratamiento de fármacos y mecanismos de remoción.**

Con la ventaja de tener un costo económico bajo, simple operación y mantenimiento, los sistemas basados en plantas acuáticas como los humedales artificiales, tienen una larga historia en el tratamiento de todo tipo de aguas residuales (Zhang et al., 2014). En los últimos años han sido cada vez más utilizados para la eliminación de fármacos y productos de higiene personal. (Zhang et al., 2014).

La presencia de plantas, un sustrato poroso y microorganismos, tiene una influencia positiva en la eliminación de productos farmacéuticos en los humedales (Li et al., 2014; Paola Verlicchi & Zambello, 2014), los cuales remueven contaminantes emergentes mediante procesos físico-químicos y biológicos que se dan simultáneamente (Fariya, 2013; Zhang et al., 2014).

En general, los principales mecanismos de remoción de fármacos son: degradación, sedimentación, adsorción en el medio de soporte, absorción microbiana o en las plantas (Zhang et al., 2011) (Figura 2.5).



**Figura 2.5 Mecanismos de remoción de productos farmacéuticos en los humedales artificiales. Basado en Zhang et al (2014)**

La sorción (Adsorción y absorción), de productos farmacéuticos a sedimentos, plantas y sólidos en suspensión, está en función tanto de las propiedades de los medios absorbentes incluyendo contenido orgánico, reactividad de la superficie y área específica y de las propiedades del sorbato como el coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{ow}$ ) y acidez ( $pK_a$ ) (Fariya, 2013).

La biotransformación es también un mecanismo de remoción de productos farmacéuticos, donde las enzimas pertenecientes a diferentes comunidades bacterianas son capaces de utilizar estos contaminantes para su metabolismo (sustrato o energía), o también pueden ser transformados por cometabolismo, siendo degradados a compuestos secundarios sin ser utilizados como energía primaria o fuente de alimento, y este último supone ser el principal mecanismo biológico de degradación (Fariya, 2013).

Uno de los aspectos más discutidos, es la función de la vegetación en la remoción de fármacos, lo que ha generado mayores estudios, que tienden a señalar un efecto significativo de la vegetación en los sistemas de FS (Flujo superficial), pero no tan claros en los sistemas de FSS (Flujo subsuperficial) (Bécares, 2004). Parece que en el verano existe una mayor diferencia entre sistemas plantado o sin plantar, pero estas diferencias tienden a desaparecer en invierno, época en la que se encuentran efectos menos significativos (Bécares, 2004).

Lo que sí está demostrado, es que las plantas influyen sobre la composición de las comunidades microbianas del humedal y por lo tanto sobre el metabolismo de la rizosfera (Bécares, 2004). Las raíces funcionan como superficie para formación de películas bacterianas (Bécares, 2004; Lara, 1999), las cuales facilitan la acumulación y la adsorción de compuestos farmacéuticos que pueda contener el agua (Lara, 1999; Zhang et al., 2014). La vegetación disminuye la velocidad del agua, lo que aumenta el tiempo de contacto entre el agua y la vegetación (Bécares, 2004).

La capacidad de las plantas para mejorar la eliminación de contaminantes no sólo depende de las características típicas de la especie de macrófita, sino también de otros factores como las comunidades microbianas relacionadas con ellos, la naturaleza de las aguas residuales y las condiciones climáticas (Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al., 2010).

Las macrófitas ayudan a eliminar productos farmacéuticos con más eficiencia que los que carecen de ésta, tanto a escala de laboratorio como a escala real (Cardinal et al., 2014).

El medio granular, también funciona como soporte para la formación de biopelículas, y puesto que el funcionamiento de un sistema dependerá de la abundancia de bacterias en el mismo, cabe esperar que el incremento de la biopelícula mejore los procesos de remoción de los fármacos (Bécares, 2004).

Se ha reportado que la remoción del ibuprofeno en los humedales artificiales, se da principalmente en zonas poco profundas, indicando biodegradación aeróbica es uno de los principales mecanismos de remoción (Fariya, 2013; Hijosa-Valsero, Matamoros, Martín-Villacorta, Bécares, & Bayona, 2010). Según Girardi et al (2013) el ibuprofeno se mineralizó en un 68% en medio acuoso, por lo que es fácilmente biodegradable.

La fotodegradación, biodegradación aerobia y adsorción en plantas, son algunos de los mecanismos de remoción reportados para el ibuprofeno en los humedales (Zhang et al., 2014).

### **2.4.3 Influencia de factores y parámetros de diseño en los humedales artificiales.**

- **Tiempo de residencia hidráulica y carga hidráulica superficial**

La eficiencia del tratamiento puede mejorar al disminuir la carga hidráulica superficial, operando los humedales con tiempos de residencia hidráulica más largos, pero tomando en

cuenta que el TRH puede llegar a cambiar las condiciones del humedal de aerobias a anaerobias o viceversa (Fariya, 2013).

Al aumentar el TRH también se incrementa el carbono orgánico en el humedal, que impulsa la biodegradación. La remoción de ibuprofeno, se ve afectada significativamente por el tiempo de residencia hidráulico (Fariya, 2013).

- **pH del agua**

El destino y el transporte de varios contaminantes como los fármacos en el medio natural se rigen generalmente por reacciones de adsorción en los sistemas de sedimento-agua. La adsorción y el transporte de compuestos ionizables, por ejemplo el ibuprofeno, se ven fuertemente afectados por el pH de la solución. Esto es porque el pH cambiante podría causar la protonación o desprotonación de los grupos funcionales en la molécula del ibuprofeno y los sorbentes, es así como más del 50% del ibuprofeno se desprotona a pH mayor que 4,91 dado su valor de pka (Behera et al., 2011).

- **Efecto de la temperatura**

Los humedales construidos en regiones tropicales (sobre todo con temperaturas elevadas durante todo el año) son considerablemente más eficaces que los sistemas en climas templados (Zhang et al., 2012)

En algunos estudios, las altas temperaturas han demostrado tener un impacto positivo significativo en la eliminación de ciertos productos farmacéuticos, incluyendo la cafeína, carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y ácido salicílico, posiblemente debido a las mayores tasas de biodegradación, volatilización y fotodegradación (Zhang et al., 2014); sin embargo en un estudio realizado con varios fármacos incluyendo el ibuprofeno, el efecto de la temperatura no favoreció su remoción (Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al., 2010).

- **Potencial Redox**

En un estudio realizado, los altos potenciales redox (condiciones oxidantes), beneficiaron la remoción de varios fármacos como el diclofenaco, carbamazepina e ibuprofeno (Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al., 2010).

## 2.4.4 Estudios previos

Han sido realizados algunos estudios en España, Dinamarca y Singapur, utilizando humedales como tratamiento secundario en aguas residuales con contenidos de fármacos. Se detallan algunas características de dichas investigaciones (Cuadro 2.5).

**Cuadro 2.5 Resumen de estudios previos en el tratamiento de fármacos en aguas residuales mediante humedales artificiales.**

Ubicación / Tipo de agua residual	Configuración	Concentración inicial ( $\mu\text{g/L}$ ) / Porcentaje de remoción (%)	Referencia
Dinamarca / Agua residual municipal	Humedal artificial de FSS horizontal (HFSSH). Plantado: Phragmites Australis (P.A). TRH 4,72 d. Temperatura: 10,8 °C	11,7 / 71	(Matamoros et al., 2007)
España / Agua residual doméstica.	Combinaciones de diferentes sistemas: <b>1.</b> Tanque séptico, laguna facultativa, humedal artificial FS (Plantado Typha latifolia; 44 m <sup>2</sup> ), HFSSH (Plantado: Salix atrocinerea; 585 m <sup>2</sup> ; TRH 5,7 d)	1. 6,99 / 18	(Hijosa-Valseo, Matamoros, Martín-Villacorta, et al., 2010)
	<b>2.</b> Laguna facultativa, humedal artificial FS ( T. latifolia, 210m <sup>2</sup> ), HFSSH (Plantado: S. atrocinerea, 362 m <sup>2</sup> , TRH 3.16 d)	2. 1,83 / *	
Singapur / Agua residual sintética	(1,2 m largo, 0,6 m ancho, 0.6 m profundidad). HRT 2-4 d. Plantados: Typha angustifolia. Temperatura: 23-32 °C.	25/ Plantado 71-79 Sin plantar 56-60	(Zhang et al., 2011)
		25/ Plantado 68-72 Sin plantar 61-52	(Zhang et al., 2012)
España / Aguas residuales urbanas	HFSSH (1,3 m largo, 0,8 m ancho, 0,5 m de profundidad). TRH 3 d. Plantado: P.A Temperatura: 7-19 °C	24/ Plantado 55 Sin plantar 5	(Hijosa-Valseo, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al., 2010)
Dinamarca / Aguas residuales domésticas	HFSSH, Cinco humedales a gran escala; 500 m <sup>2</sup> (180 habitantes); 470 m <sup>2</sup> (80 habitantes); 940 m <sup>2</sup> (220 habitantes); 1800 m <sup>2</sup> (213 habitantes); 4000 m <sup>2</sup> (280 habitantes)	17 / 65	(Matamoros, Arias, Brix, & Bayona, 2009)
Dinamarca / Agua residual sintética	HFSSH (0.93 m largo, 0.59 m ancho 0.52 m profundidad). Sustrato: grava	NR/52	Tomado de Li et al (2014)

Continuación cuadro 2.5

Ubicación / Tipo de agua residual	Configuración	Concentración inicial (µg/L) / Porcentaje de remoción (%)	Referencia
Italia / Agua residual doméstica	Combinación PTAR + HFSSH (28 m largo, 1 m ancho). Palntado: PA. Temp: 10 °C. TRH 1 d.	81 / 28	(Verlicchi et al., 2013)
España / Agua residual municipal	Humedal de flujo subsuperficial vertical (HFSSV) con aireacion activa. (2,75 m largo; 2,4 m ancho). 6,2 m2	44,5 / 99	(Ávila et al., 2014)
España / Agua residual doméstica.	Combinaciones (Tanque inhoff, HFSSV, HFSSH, FWS). Plantado: PA. TRH 2,3d. Temperatura: 18 °C.	18,66 / 87	(Ávila, Bayona, Martín, Salas, & García, 2014)

NR No reportado

Según el cuadro anterior, los porcentajes de remoción para el ibuprofeno, no presentan grandes variaciones utilizando agua residual urbana o agua residual sintética. Nótese que en las investigaciones realizadas por Hijosa-Valsero et al (2010) y Zhang et al (2011, 2012), en ambos se obtienen mayores porcentajes de remoción de ibuprofeno en los humedales plantados con respecto a los humedales sin plantar. Sin embargo, en el estudio realizado por Hijosa-Valsero et al (2010), se obtuvieron menores remociones en todos los humedales con respecto a los estudios realizados por Zhang et al (2011, 2012), por lo que es probable que el efecto de la temperatura pudo haber afectado los porcentajes de remoción en el estudio de Hijosa-Valsero et al (2010).

Además en la investigación realizado en un mesocosmo en Dinamarca, en el que se utilizó grava como sustrato y no se emplearon macrófitas, el porcentaje de remoción del ibuprofeno (52%), coincide con las remociones observadas en el estudio realizado por Zhang et al (2011, 2012) para los humedales sin plantar.

El estudio realizado por Avila et al (2014), fue el que obtuvo el mayor porcentaje de remoción 99%, lo cual puede deberse a que el humedal contaba con aireación activa, lo cual pudo haber acelerado el proceso de biodegradación. El estudio realizado por Verlicchi et al (2013), obtuvo una muy baja remoción 28% comparada con el resto de estudios, pero nótese que cuenta con un TRH de únicamente 1día, una concentración inicial mayor y una temperatura menor que el resto de estudios.

## 2.5 CONTEO DE HETERÓTROFOS

Los heterótrofos son microorganismos que requieren carbono orgánico para su crecimiento; entre ellos se pueden mencionar algunas bacterias, levaduras y mohos (WHO, 2003).

Existe una variedad de pruebas basadas en su cultivo, que están destinados a recuperar una amplia gama de estos microorganismos en el agua, y se conocen colectivamente como "Recuento de heterótrofos en placa" (*Heterotrophic plate count*, HPC) (WHO, 2003). Los microorganismos recuperados a través de pruebas de HPC incluyen generalmente aquellas que son parte de la biota natural (Típicamente no peligrosa) del agua; en algunos casos, también pueden incluir organismos derivados de diversas fuentes contaminantes (WHO, 2003).

Se ha reportado que la población microbiana en los humedales, mejora la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos (Zhang et al., 2014).

### 3 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 ÁREA DE ESTUDIO

Para la realización de esta investigación se utilizaron tres humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal a escala piloto. Estos humedales pertenecen al grupo GDCON, de la Universidad de Antioquia.

Los mismos se colocaron en la terraza de la Sede de Investigación Universitaria (SIU), en la ciudad de Medellín, Colombia; bajo las coordenadas geográficas 6O 15'37.74'N y 75O 0.34'5.12'O, a 1466 m.s.n.m (Úsuga, 2011).

La ciudad de Medellín presenta una temperatura media anual de 23,6 °C y una precipitación media anual de 1690,66 mm (Tiempo.net, 2013).

#### 3.2 DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

Las tres unidades experimentales se alimentaron con agua residual sintética (Sección 3.3.2) y tres dosis diferentes del fármaco, a flujo continuo con un caudal de entrada de 15 cm<sup>3</sup>/min. En el experimento se analizó la eficiencia en la remoción del fármaco mediante los tres humedales FSSH y la influencia que tuvo la macrófita sobre este porcentaje. Además se consideraron los parámetros de OD, DQO, conductividad, COD y pH, medidos en el afluente y efluente de los mismos.

Dado que en Costa Rica, no se tiene un ámbito de concentraciones reales de ibuprofeno en efluentes de PTAR, se ensayaron tres concentraciones del fármaco mayores a las reportadas en la literatura de otros países (Cuadro 3.1).

Entre cada concentración empleada, se contempló un periodo de transición (quince días), donde únicamente se suministró agua sintética sin presencia de fármaco, para limpiar los humedales

**Cuadro 3.1** Ensayos realizados con diferentes concentraciones de ibuprofeno en los humedales de flujo subsuperficial horizontal.

Ensayos	Concentración inicial de ibuprofeno mg/L ( $\pm$ desviación estándar)	Periodo	Duración
C1	2,91 $\pm$ 0,39	01/07/2014 – 18/08/2014	Mes y medio
C2	0,24 $\pm$ 0,07	02/09/2014-06/10/2014	Un mes
C3	1,76 $\pm$ 0,13	20/10/2014- 17/10/2014	Un mes

### 3.2.1 Instalación de los humedales

Se utilizaron tres humedales de fibra de vidrio a escala piloto, de tipo subsuperficial de flujo horizontal. Los tres humedales presentan las mismas características estructurales (Figura 3.1).

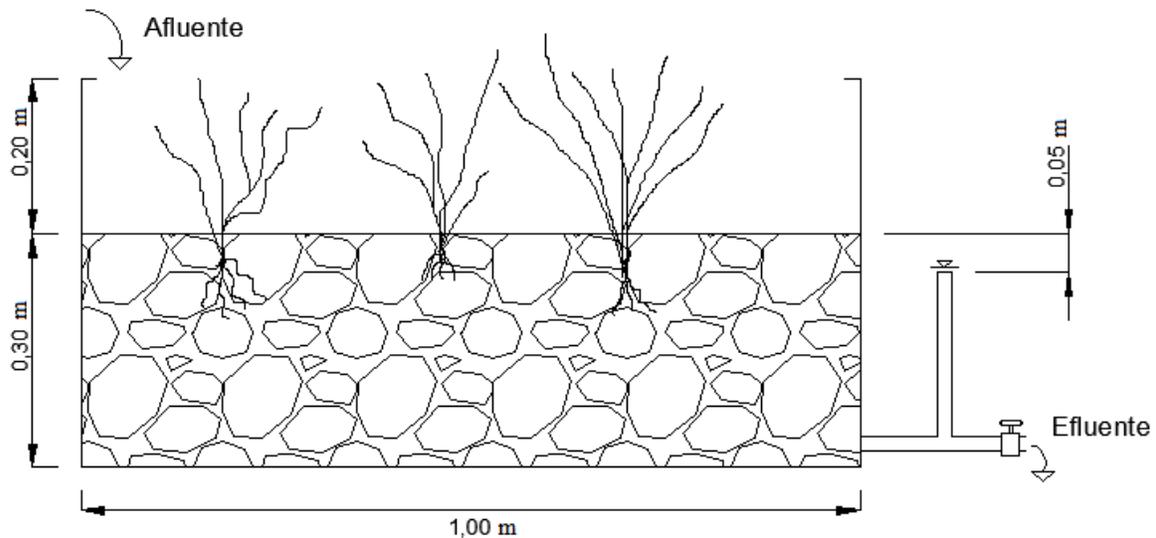


Figura 3.1 Diagrama estructural del humedal.

Como medio de soporte se utilizó grava con granulometría entre (6-3) mm (1/4 - 1/8 pulgadas) para las tres unidades experimentales. Esta granulometría ha sido empleada en varias investigaciones realizadas por el grupo GDCON, entre las que se pueden mencionar las investigaciones de Cardona (2013), Úsuga (2011), Ríos (2009), entre otros. La altura de la capa de grava que se les colocó a los tres humedales fue de 0,3 metros (Figura 3.1).

A dos de los tres humedales se les plantó papiro enano (*Cyperus papyrus*), esto con el fin de determinar la función que juega la macrófita en la remoción del ibuprofeno. Se utilizó esta planta debido a que es una de las más usadas en sistemas de FSS en el trópico y en humedales naturales y construidos en Colombia (Agudelo, 2010). La densidad de las plantas no fue un factor que se haya considerado en este estudio.

El abastecimiento del agua residual sintética a cada humedal se dio por gravedad, y para ello se utilizaron tres tanques con capacidad de 60 L cada uno.

Con el fin de evitar que la lluvia pudiera causar un efecto de dilución y afectar las condiciones de operación del humedal, se le colocó un techo de plástico sobre las tres unidades experimentales (Figura 3.2).



Figura 3.2 Instalación de los tres humedales. Humedal 1 sin plantar y humedal (2 -3) con macrófitas.

### 3.2.2 Preparación del agua residual sintética

Se utilizó agua residual sintética, con el fin de evitar la presencia de contaminantes desconocidos, para tener control sobre la carga del contaminante y de los nutrientes, asimismo para minimizar los riesgos para la salud humana asociados al manejo de aguas residuales.

El agua residual sintética (Cuadro 3.2) se preparó de acuerdo con Dancong et al (2000). Se utilizó glucosa para proporcionar los sustratos de carbono orgánico, la urea y el fosfato para suministrar nitrógeno y fósforo respectivamente, y garantizar los principales nutrientes que requieren los microorganismos para su metabolismo (Agudelo, 2010).

Para la preparación del agua sintética, se utilizó agua del acueducto, la cual se dejaba en reposo como mínimo un día, con el fin de que tuviera la menor cantidad de cloro. Se preparó

en un tanque común, donde posterior a la mezcla de los reactivos y el agua, se trasladó a cada tanque de polipropileno de 60 L, el cual alimentaba cada humedal respectivamente, esto aseguraba que el afluente de cada humedal presentara las mismas características físico-químicas.

**Cuadro 3.2 Cantidad de reactivos para la preparación de 200 L de agua residual sintética tipo doméstica.**

<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad de reactivo (<math>\pm 0,1</math>) g</b>
Glucosa industrial	28,8
Urea	22,8
Fosfato diamónico	14,7

### **3.2.3 Preparación de la disolución del fármaco.**

Se utilizó ibuprofeno en polvo para la concentración 1 y 2; mientras que para la concentración 3 se utilizó el fármaco en forma comercial de la casa farmacéutica Genfar®, en su presentación de 600 mg.

Para las concentraciones 1 y 2, se preparó una solución de 10000 mg/L del fármaco (1 gr en 100 ml de metanol grado HPLC) y para la concentración 3 de 6000 mg/L (1 pastilla de 600 mg en 100 ml de metanol grado HPLC), para la preparación de ésta última se morterizaron las pastillas comerciales. A partir de la solución madre se tomaron alícuotas hasta llegar a la concentración requerida.

## **3.3 FASE EXPERIMENTAL**

### **3.3.1 Maduración de los humedales y aclimatación de los microorganismos.**

Una vez finalizado el montaje de los humedales, estos tuvieron un periodo de aclimatación de un mes, para lograr un buen estado de maduración y permitir el desarrollo de la biopelícula (Ríos, 2009). Este periodo fue establecido por la experiencia de otras investigaciones (Cardinal et al., 2014; Ríos, 2009)

En este periodo se inocularon los humedales, cada vez que se preparaba agua sintética en el tanque de alimentación se agregaban 500 mL de lodo de la PTAR domésticas San Fernando, localizada en Medellín, Colombia.

### 3.3.2 Periodo de muestreos y análisis

Con el fin de darle seguimiento al funcionamiento de los humedales, se hicieron muestreos para realizar análisis físico-químicos, determinación del COT y del fármaco tanto en el afluente como en el efluente de los tres humedales; estos muestreos se realizaron después del periodo de aclimatación de los mismos.

La frecuencia del muestreo varió con respecto a la etapa del experimento y el tipo de análisis (Cuadro 3.3).

**Cuadro 3.3 Resumen de los diferentes análisis que se realizaron.**

Análisis	Preservación	Frecuencia del muestreo	Unidades	Método y referencia	Equipo
pH	NA	(2-3) veces por semana	-	SM 4500 H+ B; Ed. 2012	pH metro
Conductividad	NA	(2-3) veces por semana	$\mu\text{S}/\text{cm}$	SM 2510 B; Ed. 2012	Conductímetro WTW 720
Oxígeno disuelto	NA	(2-3) veces por semana	$\text{mg O}_2/\text{L}$	SM 4500-O; Ed. 2012	Oxímetro
DQO	$\text{H}_2\text{SO}_4$	1 vez por semana	$\text{mg}/\text{L}$	SM 5220 D; Ed. 2012	Termoreactor/ Espectrofotómetro Evolution 600
COD	$\text{H}_3\text{PO}_4$	1 vez por semana	$\text{mg C}/\text{L}$	SM 5310 ; Ed. 2012	Apollo 9000-Teledyne Tekmar
Ibuprofeno	Refrigeración	1 vez por semana	$\text{mg}/\text{L}$	(Aristizabal-Ciro, 2014)	Cromatógrafo Acuity H-Class (UPLC/MS/MS)

Además se hicieron seis pruebas microbiológicas de conteo de heterótrofos a lo largo de todas las etapas del experimento, con el fin de determinar la población microbiana presente en cada uno de los tres humedales (Sección 3.5).

Los datos de esta investigación fueron analizados estadísticamente con el programa Statgraphics Centurion 16, licenciado por la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia. La distribución normal de los datos fue verificada con la prueba Smirnov-Kolmogorov (Apéndice 1). Para determinar la diferencia estadística entre los datos se utilizó la prueba de comparación de medias con distribución normal y la prueba de rango múltiple; las comparaciones se consideraron significativamente diferentes para  $p < 0,05$ .

### 3.4 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL IBUPROFENO.

El procedimiento utilizado se basó en Gracia-Lor, Martínez, Sancho, Peñuela & Hernández (2012), el cual fue modificado por Aristizabal-Ciro (2014). Se utilizó un cromatógrafo líquido de ultra resolución (UPLC) acoplado a un espectrofotómetro de masas Xevo TQD (triple cuadrupolo) equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI). (Figura 3.3) (Aristizabal-Ciro, 2014). Además se utilizaron viales y septas certificadas para LC/MS, centrífuga, equipo volumétrico para las diluciones como matraces volumétricos 100, 500, 200 mL y pipetas automáticas marca Transferpette de 1000, 100, 10  $\mu$ L. Para las diluciones y fase móvil se utilizó agua desionizada tipo 1, metanol grado LC/MS marca Merck y ácido fórmico al 98% (Aristizabal-Ciro, 2014).

#### Estándares:

- Disolución estándar de ibuprofeno de 100  $\mu$ g/L y de 1000  $\mu$ g/L en agua.
- Disolución estándar de ibuprofeno-deuterado de 2000  $\mu$ g/L.

#### Descripción del equipo UPLC/MS/MS y condiciones de análisis:

El análisis cromatográfico por UPLC se realizó en un sistema Acquity UPLC H-Class, equipado con una columna ACQUITY UPLC BEH C18, 2,1 x 50mm, 1,7 $\mu$ m tamaño de partícula, con un flujo de 0,3 mL/min. La temperatura de la columna se fijó en 40°C y en el sistema de manejo de muestra se mantuvo la temperatura en 5 °C. Se utilizó de fase móvil C: ácido fórmico al 0,01% en agua y la fase móvil D: ácido fórmico al 0,01% en metanol (Aristizabal-Ciro, 2014).

El límite de cuantificación (LC) del método es de 1 $\mu$ g/L (Aristizabal-Ciro, 2014).



**Figura 3.3** Equipo *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC/MS/MS). Fuente Aristizabal-Ciro (2014).

#### Procedimiento de preparación de muestras:

Se centrifugó cada muestra en un tubo falcon de 25 mL, a 5000 rpm por 10 minutos, y después se tomó 1 mL del sobrenadante en un vial ámbar de vidrio de 2 mL (certificados para LCMS). En caso de ser necesario, se realizó una dilución con agua Ultrapura, para que la lectura quedara dentro del rango de trabajo 1-300  $\mu\text{g/L}$ . Después se adicionó 50  $\mu\text{L}$  de una solución de 2 mg/L de ibuprofeno-deuterado como estándar interno antes de la inyección de la muestra en el UPLC para hacer la lectura.

De acuerdo con el sistema de gestión de calidad que tiene implementado el grupo GDCON, por cada lote de 20 muestras, se realiza un blanco de reactivos (agua UP), una réplica, una muestra enriquecida y un control en agua ultrapura, dándole confiabilidad a los resultados obtenidos (Apéndice 2).

### 3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

#### 3.5.1 **Conteo de heterótrofos**

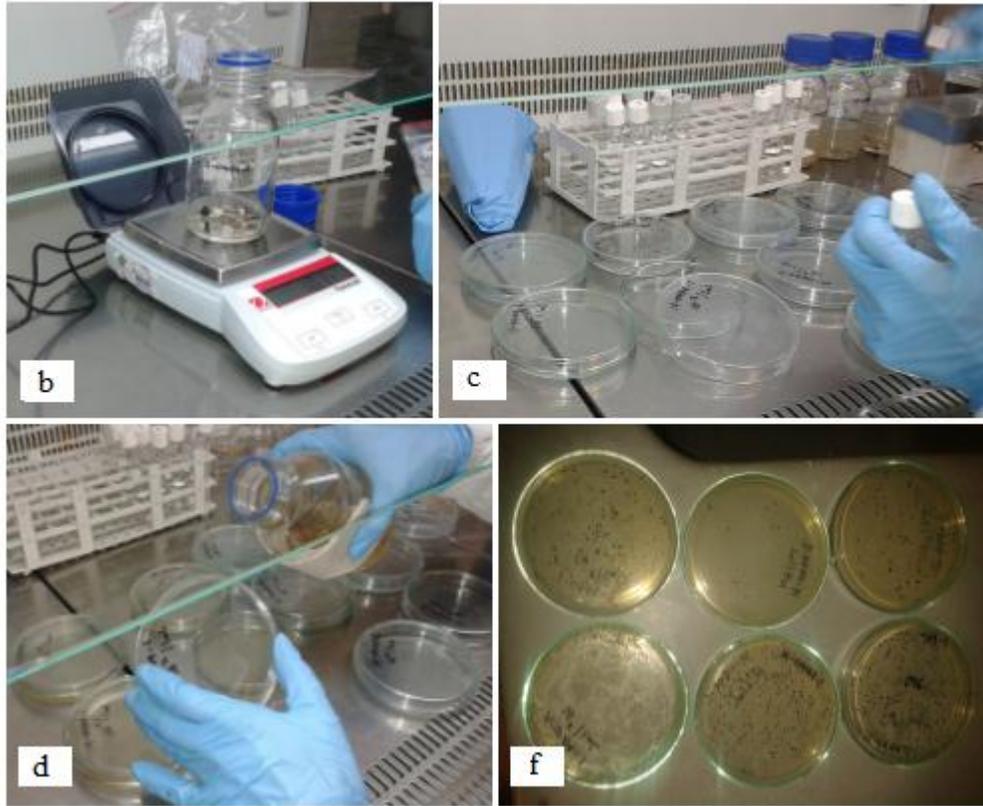
Se evaluó la biomasa microbiana adherida al medio granular (microorganismos heterótrofos). A cada humedal se le colocó en el interior un piezómetro (Tubo de PVC perforado), y dentro de este varios muestreadores de malla. Estos muestreadores de biopelícula son bolsas de malla que dentro contienen el mismo material de soporte de los humedales (Figura 3.4).



**Figura 3.4 Muestreadores de malla para conteo de heterótrofos y piezómetro.**

Procedimiento (Figura 3.5):

- a. Se extrajo 10 gramos de grava del muestreador de malla y se colocaron en un beaker previamente esterilizado. Se agregó 90 mL de agua desionizada y se agitó por 20 minutos a 290 rpm.
- b. Se hicieron diluciones sucesivas en tubos de ensayo, colocando un 1 mL de la muestra y 9 mL de agua destilada, hasta llegar a  $10^{-5}$ .
- c. Se extrajo 1mL del sobrenadante del tubo de ensayo, y se colocó sobre una caja Petri, inmediatamente se agregó *Plate Count Agar* y se agitó. Se continuó el mismo procedimiento con los otros tubos de ensayo.
- d. Se dejó enfriar el agar y se incubó por 48 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ .
- e. Se hizo el conteo de las colonias en un estereomicroscopio.



**Figura 3.5 Procedimiento Conteo de Heterótrofos.**

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección inicialmente se discutirán los resultados obtenidos en la remoción del fármaco y el conteo de heterótrofos, seguidamente se contemplará la discusión de los parámetros: COD, DQO, OD, pH y conductividad. Los últimos tres parámetros se estratificaron en A y B tanto en el afluente como en el efluente de los humedales, siendo asignada la letra A si las mediciones fueron realizadas el propio día en que se preparó el agua sintética, caso contrario se le asignó la letra B si las mediciones se realizaron el segundo o tercer día después de haberse preparado la misma.

### 4.1 REMOCIÓN DEL IBUPROFENO

En el cuadro 4.1, se presentan los porcentajes de remoción promedio obtenidos en cada uno de los humedales, durante los tres experimentos (Apéndice 3).

**Cuadro 4.1 Porcentajes de remoción de ibuprofeno para cada uno de los humedales durante los tres experimentos.**

Experimento	Concentración ( $\pm$ DS mg/L)	Duración	Porcentaje de remoción (%) $\pm$ DS <sup>1</sup>		
			Humedal 1	Humedal 2	Humedal 3
2	0,24 $\pm$ 0,07	1 mes	51 $\pm$ 14	71 $\pm$ 5	84 $\pm$ 5
3	1,76 $\pm$ 0,13	1 mes	49 $\pm$ 12	55 $\pm$ 10	74 $\pm$ 6
1	2,91 $\pm$ 0,39	1 mes y medio	32 $\pm$ 15	55 $\pm$ 17	61 $\pm$ 15

<sup>1</sup>Desviación estándar.

Nótese en el cuadro anterior, que conforme se aumentó la concentración de ibuprofeno en el afluente, el porcentaje de remoción del fármaco disminuyó. Al comparar la remoción que se obtuvo con la concentración más baja (0,24 mg/L) y más alta del fármaco (2,91 mg/L), se disminuyó en un 19%, 16% y 23% el porcentaje de remoción de ibuprofeno en cada humedal respectivamente. Ésta disminución pudo ser causada por una saturación en el sistema, o un tiempo de retención insuficiente para que el sistema asimilara el aumento en la carga de ibuprofeno.

Se pueden mencionar algunos estudios previos: Matamoros et al (2007, 2009), Hijosa-Valsero, Matamoros, Martín-Villacorta, et al (2010), Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al, (2010), Zhang et al (2011, 2012) y (P Verlicchi et al., 2013), reportándose remociones entre 18-79% dependiendo de las condiciones experimentales, entre ellas tipo y tamaño del humedal, condiciones climáticas de los países en que fueron realizados (España,

Singapur y Dinamarca, Italia), material del lecho de soporte, sistemas plantados o sin plantar, origen del agua residual empleada (doméstica, urbana, sintética) y TRH. No se observan grandes diferencias en los porcentajes de remoción del fármaco según el tipo de agua residual utilizada o de las dimensiones del humedal, por lo que es posible que los porcentajes de remoción obtenidos en esta investigación no varíen significativamente si se realizara a gran escala; sin embargo, si se han reportado diferencias en los porcentaje de remoción según el TRH y la temperatura (Cuadro 2.5).

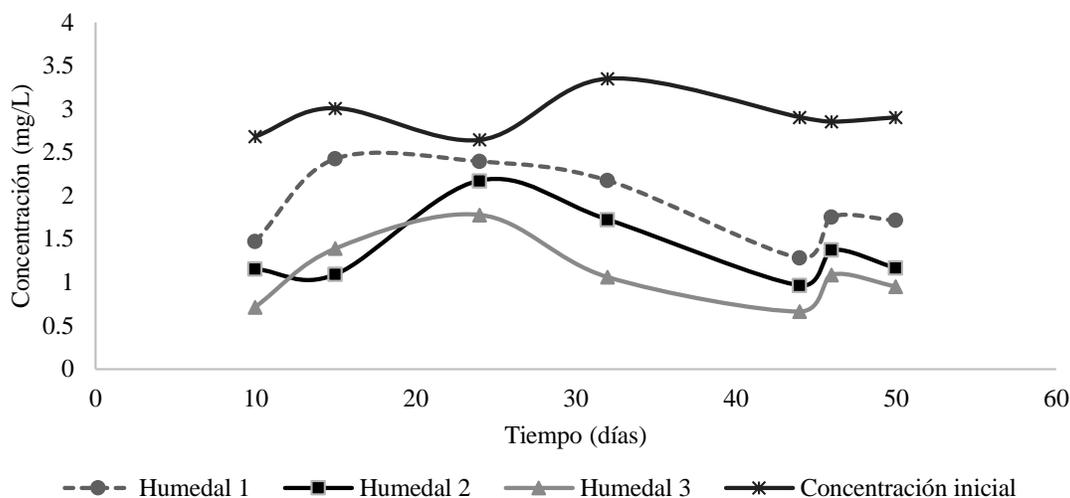
#### 4.2 COMPARACIÓN ENTRE HUMEDALES DURANTE CADA CONCENTRACIÓN.

La diferencia significativa entre los porcentajes de remoción de ibuprofeno en cada uno de los humedales con las tres concentraciones utilizadas, se presenta en el apéndice 4.

##### **Experimento 1, a una concentración inicial de 2,91 mg/L de ibuprofeno.**

No existe diferencia significativa entre los porcentajes de remoción de los humedales 2 y 3 ( $p > 0,05$ ), sin embargo para el humedal 1 y el humedal 2, así como entre el humedal 1 y el humedal 3, si hay diferencia significativa en los porcentajes de remoción de los humedales comparados ( $p < 0,05$ ). Esto permite concluir que durante el primer experimento los humedales 2 y 3 (ambos sembrados con macrófitas), presentaron porcentajes de remoción semejantes entre ellos, pero estadísticamente diferentes al porcentaje de remoción que se observó en el humedal 1 el cual no tenía macrófita.

Además los porcentajes de remoción de ibuprofeno en los humedales plantados fueron mayores a los del humedal sin macrófita. Se evidencia que el humedal 1 tiene mayores concentraciones de ibuprofeno en el efluente comparado con el humedal 2 y 3 (Figura 4.1).



**Figura 4.1** Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el primer experimento

Los estudios realizados por Zhang et al (2011, 2012), presentaron condiciones similares a las de la presente investigación (Cuadro 4.2), y cuyas remociones obtenidas son similares tanto en los humedales plantados como en los humedales sin plantar; por lo que se confirma que el uso de sistemas plantados bajo estas condiciones de trabajo tienen un efecto positivo en la remoción del ibuprofeno; se evidencia también esta diferencia en la investigación realizada por (Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al., (2010). Sin embargo las bajas remociones obtenidas en ésta última investigación pudieron deberse a las bajas temperaturas 7-19 °C. Trascendental resaltar que las concentraciones empleadas en la presente investigación fueron mucho mayores a las empleadas en las otras investigaciones, sin embargo, las remociones obtenidas fueron altas (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2** Comparación entre el presente estudio y los estudios realizados por Zhang et al (2011, 2012) y Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al (2010) .

Estudio	Concentración inicial	Tipo de humedal	Temperatura	TRH	Tipo de agua residual	Porcentaje de remoción de ibuprofeno	
						Plantados	Sin plantar
Presente estudio	0,24 - 2,91 mg/L	Humedal FSSH (Mesocosmo)	23,6 °C	3 d	AR <sup>3</sup> sintética	55-84	32-51
*1	25 µg/L		23-32 °C	2-4 d		68-72 / 71-79	52-61 / 56-60
*2	24 µg/L		7-19 °C	3 d		AR urbana	55

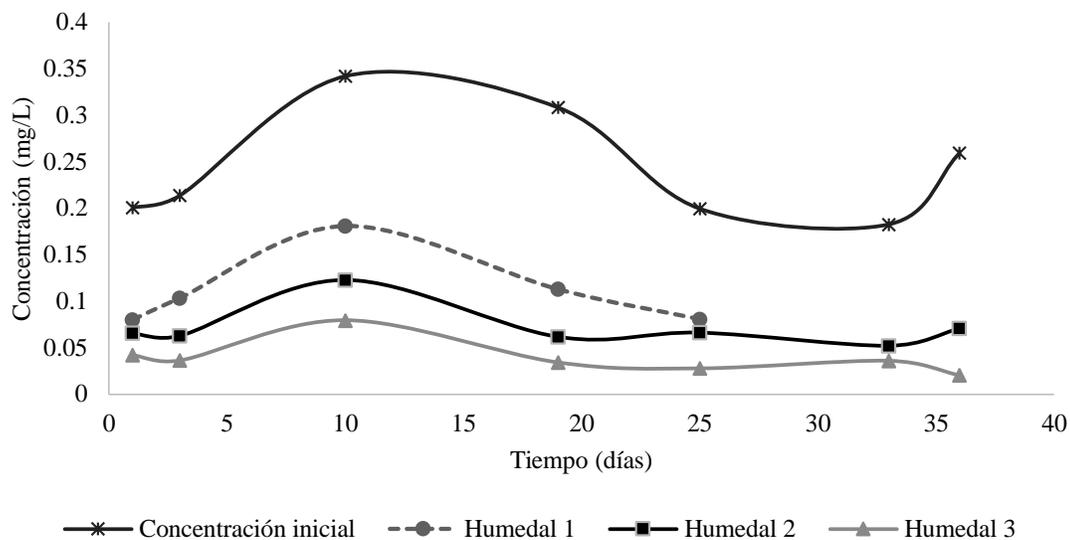
<sup>1</sup>Zhang et al (2011, 2012); <sup>2</sup>Hijosa-Valsero, Matamoros, Sidrach-Cardona, et al (2010); <sup>3</sup>Agua residual.

Aunque los mecanismos y las vías de eliminación farmacéutica no fueron objetivos de esta investigación, la literatura reporta que la rizosfera de la planta actúa como un microcosmo, donde la actividad microbiana realiza la degradación de compuestos químicos recalcitrantes (Bhatia & Goyal, 2014), además según Fariya (2013), la biodegradación/biotransformación en los humedales ocurre mayormente en la rizosfera; así también los exudados que son liberados por las raíces de las plantas son intensificadores de la actividad microbiana y pueden mejorar la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos actuando como agentes tensoactivos y transportadores. Asimismo la captación activa de las plantas también afecta el destino de los contaminantes orgánicos emergentes (Zhang et al., 2012). Lo anterior podría justificar que se haya obtenido una mayor remoción de ibuprofeno en los sistemas plantados que en el humedal sin plantar.

Un alto número de productos farmacéuticos y de higiene personal con valores altos de  $\log K_{ow}$  (galaxolide 4.016 y tonalide 3.933) fueron retenidos principalmente en humedales por procesos de adsorción (Zhang et al., 2014). Los compuestos hidrofóbicos pueden ser adsorbidos fácilmente sobre la materia orgánica presente en el medio granular, y la sorción puede ocurrir debido a las interacciones hidrofóbicas de los grupos alifáticos y aromáticos de un compuesto orgánico con la membrana celular lipofílica de los microorganismos o de las fracciones de lípidos de los sólidos en suspensión (Zhang et al., 2012). Según lo anterior, dada la alta afinidad que tiene el ibuprofeno a la materia orgánica debido a su alto coeficiente de partición octanol-agua ( $\log k_{ow} = 3,97$ ), es posible que ésta puede ser otra de las razones por la cual el ibuprofeno se removió en menor cantidad en el humedal sin plantar que en los humedales plantados, ya que es de esperar que en estos últimos se encuentre mayor cantidad de materia orgánica proporcionada por las plantas.

### **Experimento 2, a una concentración inicial de 0,24 mg/L de ibuprofeno.**

Nótese que la mayor concentración de ibuprofeno en el efluente se presenta en el humedal 1, seguido del humedal 2 y humedal 3 (Figura 4.2), obteniendo remociones de 84%, 71%, 51% respectivamente (Cuadro 4.1)



**Figura 4.2** Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el segundo experimento.

Se mantuvo la diferencia estadísticamente significativa en los porcentajes de remoción del fármaco entre el humedal sin macrófita con respecto a los humedales con macrófitas ( $p < 0,05$ ), sin embargo, las remociones presentadas por los humedales plantados fueron estadísticamente diferentes entre ellas ( $p < 0,05$ ) (Apéndice 4).

Dado que ambos sistemas plantados (Humedales 2 y 3) no presentaron remociones estadísticamente iguales, es importante indicar que: “Aunque en apariencia ambos humedales son semejantes, es realmente difícil que sean exactamente iguales, ya que no contienen la misma cantidad de grava, porque no tienen exactamente el mismo tamaño de grava, no están igualmente empacados, y por lo tanto, tienen flujos diferentes a través de la grava” (G. Peñuela, comunicación personal, 25 de enero del 2015). Además es de esperar que la masa de las raíces de las plantas, en ambos humedales no sea la misma (La densidad y el tamaño de las macrófitas no fue un factor a consideración), y por ende la cantidad de materia orgánica de las raíces en cada sistema es diferente, lo cual puede influir en la adsorción o absorción del ibuprofeno.

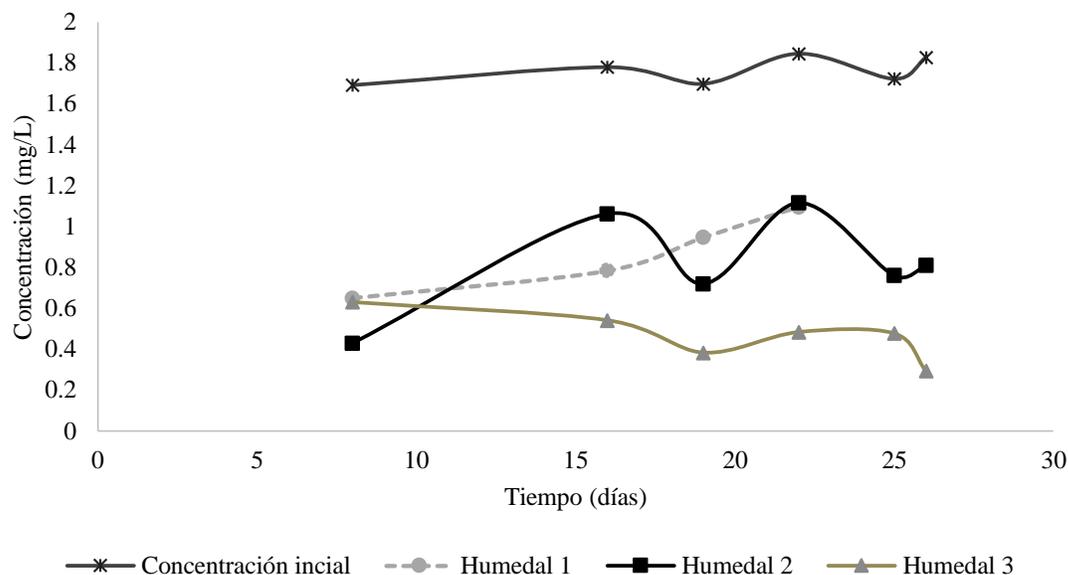
Cabe mencionar que durante esta segunda concentración del fármaco, se observó que las plantas se empezaron a marchitar ligeramente, siendo las macrófitas del humedal 2 las que se marchitaron en mayor proporción (Figura 4.3), lo cual pudo causar que el humedal 2 removiera el fármaco en menor proporción que el humedal 3.



Figura 4.3 Macrófitas de los humedales plantados.

### **Experimento 3, a una concentración inicial de 1,76 mg/L de Ibuprofeno**

En ésta concentración, el humedal 3 presentó diferencia significativa en los porcentajes de remoción de ibuprofeno con respecto al resto de humedales; sin embargo el humedal 1 (sin macrófita) y el humedal 2 (con macrófita) no presentaron diferencias significativas en sus remociones ( $p > 0,05$ ) (Apéndice 4). Las concentraciones de ibuprofeno en el efluente del humedal 1 son menores que en el resto de los humedales (Figura 4.4). Nótese que las concentraciones del fármaco en el humedal 2 fluctuaron con el tiempo, y fueron semejantes a las presentadas en el humedal 1 (Figura 4.4).



**Figura 4.4** Comportamiento de la concentración de ibuprofeno en el afluente (Concentración inicial) y en el efluente de cada humedal, durante el tercer experimento

Lo anterior llevaría a pensar que la función de la macrófita no incidió significativamente en la remoción del fármaco, como se ha demostrado en algunos estudios. Entre ellos un trabajo que se realizó en un mesocosmos, en el cual no se encontró diferencia significativa en la habilidad de remoción de los fármacos (Carbamazepina, ácido clofíbrico y sulfametoxazol) en los sistemas plantados (*Typha* spp, *Myriophyllum sibiricum*, y *Utricularia vulgaris*) con respecto a los sistemas sin plantar (Cardinal et al., 2014); y en otro estudio que se realizó en varios mesocosmos para evaluar las plantas acuáticas para eliminar microcontaminantes polares (Diclofenaco y triclosan), se reportó que la concentración de los fármacos tendía a disminuir muy rápido en todos los reactores, con la excepción del reactor oscuro en el cual no se mostró remoción alguna, asimismo los reactores plantados tenían una concentración mayor de fármacos que en el reactor control (sin plantas); y esto presuntamente se debió a que la cobertura de la planta bloqueaba la radiación solar y como consecuencia reducía la fotodegradación de los fármacos (Zhang et al., 2014).

Haciendo un análisis más exhaustivo de lo que pudo haber sucedido en el humedal 2, el cual presentó menor remoción que el humedal 3 y similar al del humedal sin macrófita, se evidenció un deterioro del estado físico de las macrófitas (abundancia de plantas marchitas) en la concentración 3 comparado con la concentración 2 (Figura 4.5).



**Figura 4.5 Estado físico de las macrófitas del segundo humedal con la segunda y tercera concentración del fármaco.**

Las plantas marchitas, las cuales podrían haber tenido la rizósfera dañada, afectan el funcionamiento del humedal, ya que las raíces además de liberar exudados que promueven la presencia de microorganismos en la rizósfera, funcionan como medio de soporte para la biopelícula. Al verse afectada la rizósfera se disminuyen los microorganismos, y puesto que el funcionamiento de un sistema dependerá de la abundancia de los mismos, esto pudo ser una de las causas de la reducción del porcentaje de remoción del humedal 2. La posible afectación sobre la población microbiana en este segundo humedal, se analiza en los resultados del conteo de heterótrofos (Sección 4.4).

Cabe resaltar que en los tres experimentos el humedal 3 fue el que tuvo la mayor remoción de ibuprofeno, y visualmente las macrófitas de este humedal tuvieron el mejor desarrollo y se marchitaron menos que las del humedal 2 (Figura 4.3), por lo que es posible que estos factores influyeran en la remoción del fármaco.

### 4.3 CONTEO DE HETERÓTROFOS

En el cuadro 4.3, se presentan los resultados del análisis microbiológico realizado en cada humedal durante los cinco meses en que se desarrollaron los tres experimentos. Se realizó un

análisis inicial, tres análisis durante cada una de las concentraciones, y el resto de análisis se realizaron al finalizar cada una de las concentraciones.

**Cuadro 4.3 Resultados de los muestreos en la grava para conteo de heterótrofos.**

Análisis	Fecha	Conteo de heterótrofos (UFC/g)		
		Humedal 1	Humedal 2	Humedal 3
Inicial	18/06/2014	$3,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$	$7,2 \times 10^4$
C1	24/07/2014	$5,3 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$
Intermedio	18/08/2014	$7,8 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$2,8 \times 10^4$
C2	10/09/2014	$8,4 \times 10^4$	$5,3 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
Intermedio	08/10/2014	$3,0 \times 10^5$	$8,8 \times 10^4$	$9,9 \times 10^4$
C3	11/11/2014	$6,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$

A pesar de que hubo un descenso en el conteo de heterótrofos finalizando la primera concentración y durante la segunda concentración del orden de  $10^1$ , éste descenso aún mantuvo una buena población bacteriana y por la incertidumbre del método no es muy significativa (Cuadro 4.3).

La disminución del porcentaje de remoción del fármaco en el humedal 2 durante la tercera concentración, se pensaría que pudo ser provocado por un descenso en la población microbiana, sin embargo, ésta aumentó con respecto a los análisis anteriores en este humedal (Cuadro 4.3). Lo que permite sospechar que, la población microbiana que se contabilizó en los muestreos de la grava (en el piezómetro), no es precisamente la misma que está presente en la rizosfera de las plantas, aunque estén en el mismo humedal, ya que cada población está expuesta a condiciones ambientales diferentes; por ejemplo con la muerte de algunas plantas, la población que se encontraba en la rizosfera pudo haber decaído dado el cambio que se produjo a sus alrededores, no obstante aquella población presente en la grava del sitio de muestreo al no estar influenciado por las condiciones de las plantas no presentó cambio alguno, por lo que no se vio perjudicada. Es por ello que aunque haya aumentado el conteo de heterótrofos en la grava, no quiere decir que también haya aumentado en la rizosfera.

Nótese un alto número de heterótrofos en los tres humedales durante todos los tres experimentos.

#### 4.4 COMPORTAMIENTO DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS MEDIDOS EN LOS HUMEDALES.

##### 4.4.1 Carbono orgánico disuelto (COD)

En el cuadro 4.4, se presentan los promedios del porcentaje de remoción de COD en los tres humedales durante los tres periodos de experimentos. En las concentraciones 2 y 3 los porcentajes de remoción de COD en los tres humedales están sobre el 90%, sin embargo en los humedales 1 y 2 en la concentración 1, se tuvieron porcentajes de remoción de COD menores al 90%, que coincide con el primer experimento para cada humedal, lo que indicaría que aún los humedales no estaban estabilizados.

**Cuadro 4.4 Porcentajes de remoción promedio de carbono orgánico disuelto, con las tres concentraciones de ibuprofeno.**

Experimento	Humedal 1 (%) $\pm$ DS <sup>1</sup>	Humedal 2 (%) $\pm$ DS <sup>1</sup>	Humedal 3 (%) $\pm$ DS <sup>1</sup>
1 (2,91 mg/L ibuprofeno)	88 $\pm$ 3	81 $\pm$ 1	92 $\pm$ 1
2 (0,24 mg/L ibuprofeno)	94 $\pm$ 5	95 $\pm$ 3	97 $\pm$ 3
3 (1,76 mg/L ibuprofeno)	95 $\pm$ 5	91 $\pm$ 1	97 $\pm$ 1

<sup>1</sup>Desviación estándar.

Un estudio cuya finalidad fue determinar la remoción del carbono orgánico disuelto, en humedales artificiales de flujo subsuperficial a escala piloto y plantados con *Phragmites australis* (carrizo o caña común) utilizando agua sintética, reportó un promedio de 92,5% en la eficiencia de remoción del COD (Agudelo, Jaramillo, Peñuela, & Aguirre, 2010), por lo que comparando el dato con los porcentajes obtenidos en los tres experimentos del presente trabajo, estos obtuvieron altas tasas de remoción demostrando un adecuado funcionamiento. Los compuestos orgánicos disueltos son removidos por los microorganismos presentes en la biopelícula formada sobre la grava y aquellos que están en la raíces y rizomas de las plantas (Agudelo et al., 2010; Choudhary, Kumar, & Sharma, 2011), asimismo por adsorción y absorción (Choudhary et al., 2011), por lo tanto la materia orgánica disuelta pudo haber sido removida mediante los mecanismos antes mencionados.

La caída en la remoción del COD en el transcurso del tercer experimento en el segundo humedal con respecto a los dos humedales restantes (Figura 4.6), pudo ser ocasionado por una disminución en la población bacteriana por la posible afectación en la rizosfera a causa

de la muerte de algunas plantas, misma razón que pudo haber ocasionado la disminución del porcentaje de remoción del fármaco en éste mismo humedal durante la tercera concentración.

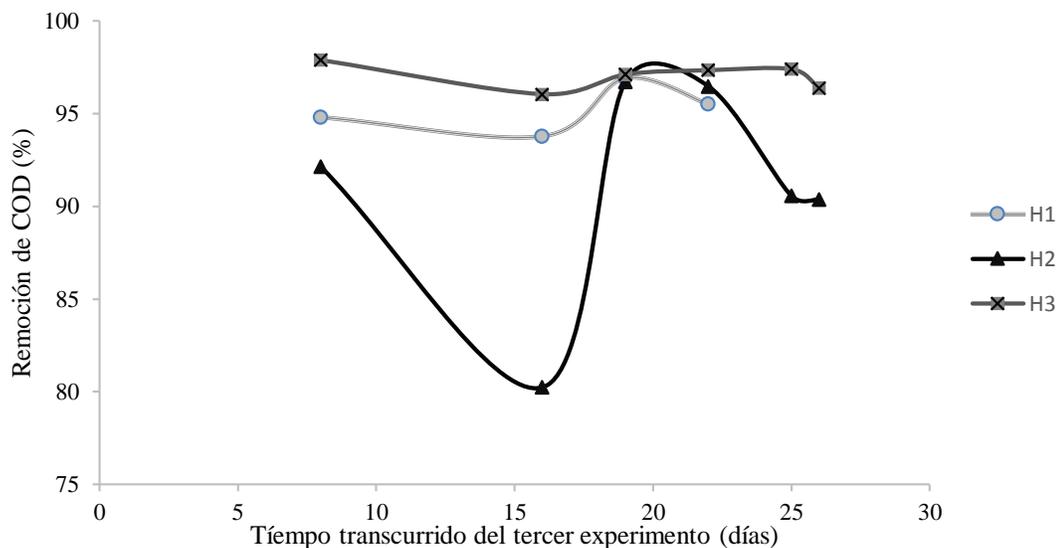


Figura 4.6 Porcentaje de remoción de COD en el segundo humedal con la tercera concentración (1,7 mg/L)

#### 4.4.2 Demanda química de oxígeno (DQO)

La glucosa junto a la urea son los compuestos que principalmente aportan a la DQO del afluente. Ambos compuestos son muy biodegradables, y se puede comprobar al comparar la DQO teórica en el afluente 214,4 mg O<sub>2</sub>/l y la DQO real que ronda los 95-100 mg O<sub>2</sub>/l (Apéndice 5), lo que indicaría que la mayoría de la DQO se removería en el tanque de suministro, sin embargo durante la primera concentración del fármaco se obtuvieron algunos datos de DQO en el efluente mayores a 25 mg/L (Cuadro 4.5), valores que no se observaron durante la segunda concentración (Apéndice 6). Lo anterior evidencia que durante el primer experimento la grava de los humedales no se encontraba totalmente limpia, ya que ésta no se lavó previo a su colocación en los humedales, así como posible presencia de materia orgánica proveniente de las raíces de las plantas.

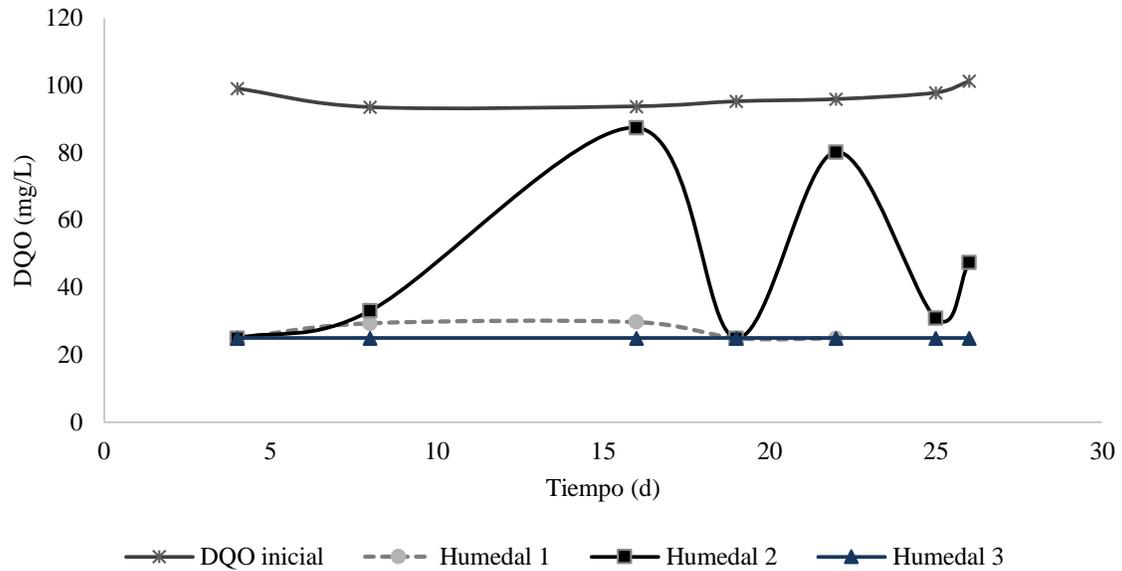
**Cuadro 4.5 Valores de DQO en el afluente (DQO inicial) y en el efluente de cada humedal, durante la primera concentración.**

Fecha	DQO ( $\pm 0,001$ ) mg O <sub>2</sub> /L			
	DQO inicial	Humedal 1	Humedal 2	Humedal 3
01/07/2014	100,333	<25 <sup>1</sup>	26,097	<25 <sup>1</sup>
10/07/2014	94,015	<25 <sup>1</sup>	<25 <sup>1</sup>	<25 <sup>1</sup>
17/07/2014	93,389	34,671	40,782	<25 <sup>1</sup>
24/07/2014	97,204	55,117	42,949	55,159
01/08/2014	96,476	45,159	36,656	41,462
11/08/2014	103,546	<25 <sup>1</sup>	<25 <sup>1</sup>	<25 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Valores menores al límite de detección del equipo.

Durante la segunda concentración todos los datos de DQO en el efluente fueron menores a 25 mg O<sub>2</sub>/L (LD) (Apéndice 6), lo que refleja que los humedales estaban funcionando adecuadamente. Los porcentajes de remoción de DQO durante la segunda concentración fueron de aproximadamente 75%, y han sido reportadas remociones semejantes en otros estudios, por ejemplo en una biojardinera se obtuvo un porcentaje mínimo de 76% y un máximo de 93%, para una remoción promedio de 86% (Moncada, 2011), mientras que en otro estudio con humedales se obtuvo una remoción del 71% (Ramos Espinosa, Rodríguez Sánchez, & Martínez Cruz, 2007).

En la tercera concentración del fármaco, la mayoría de datos de DQO en el efluente están por debajo de los 25 mgO<sub>2</sub>/L en los humedales 1 y 3, por el contrario el humedal 2 presentó altos valores de DQO en el efluente (Figura 4.7), lo indica que estos valores son aportados por el humedal, ya que anteriormente se descartó que sean aportados por el afluente. Según lo anterior, los altos valores de DQO en el efluente pudieron ser aportados por materia orgánica que se haya desprendido de las raíces de las plantas, la muerte de algunas de las plantas que pudo haber afectado los procesos de adsorción y absorción en las raíces de las mismas, que se haya desprendido material muerto de las plantas, y haya saturado el sistema, o una posible reducción de los microorganismos presentes que degradan la materia orgánica (MO) presente en el agua sintética dentro del humedal.

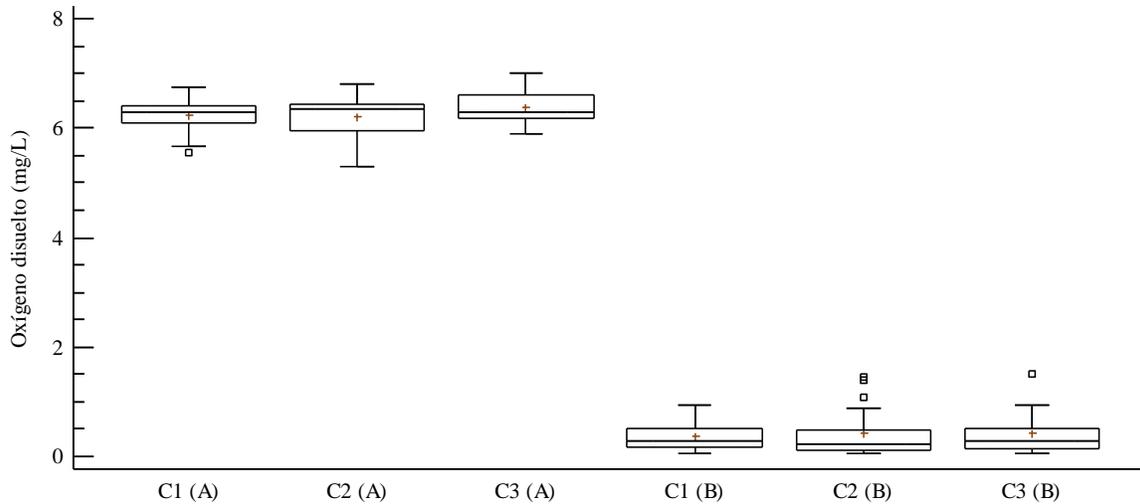


**Figura 4.7** Valores de DQO en el efluente de cada humedal durante la tercera concentración del fármaco.

En general la disminución en el porcentaje de remoción de la DQO no se vio afectada por la carga del fármaco, ya que el tercer humedal mantuvo valores en el efluente menores a 25 mgO<sub>2</sub>/L, en todas las concentraciones que se ensayaron de ibuprofeno en los humedales (Apéndice 6).

#### 4.4.3 Oxígeno disuelto (OD)

Con la estratificación que se le realizó a los datos de OD, existe diferencia significativa entre el promedio de los valores de OD en el afluente que fueron medidos el primer día con respecto a los que se midieron uno o dos días después de preparada el agua sintética ( $p < 0,05$ ) (Apéndice 7.1); por lo que hubo una reducción del OD en el afluente dentro del tanque de suministro (Figura 4.8).



C1 Concentración 1; C2 Concentración 2; C3 Concentración 3; A Valores medidos inmediatamente después que se preparó el agua sintética; B valores medidos días después de preparada el agua sintética.

**Figura 4.8 Valores de oxígeno disuelto en el afluente durante los tres experimentos para los tres humedales**

La reducción del OD, pudo ser provocada por los microorganismos aerobios, los cuales consumen prácticamente todo el oxígeno disuelto para la degradación de la glucosa y la urea en el agua sintética. A pesar del cambio constante en el OD del afluente, no hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores de OD estratificados como A y B en el efluente ( $p > 0,05$ ) (Apéndice 7.2).

Al ingresar el agua sintética con un alto contenido de oxígeno disuelto (Día 1), el OD aportado se consume en los procesos aerobios que ocurren en cada humedal, mientras que cuando ingresa el agua con bajo contenido de OD a los humedales, podría afectar el desempeño de los microorganismos en la degradación de la MO, sin embargo, los datos de la DQO del efluente de los humedales durante las tres concentraciones del fármaco, en su mayoría tuvieron una buena, inclusive total disminución de la DQO, por lo que las fluctuaciones del OD en el afluente no afectaron significativamente los procesos aerobios en los humedales.

La literatura reporta que la mayoría de aguas residuales tienen una demanda de oxígeno muy superior a las tasas de transferencia de las macrófitas, las cuales transportan oxígeno hacia las raíces y ésta pasa luego a las zonas adyacentes (García, 2004), por lo que el aporte de oxígeno que podrían suministrar las macrófitas es mínimo, y esto se comprueba al comparar los valores de OD medidos en los humedales plantados y el humedal sin plantar, donde no hay diferencia estadísticamente significativa entre el OD de los humedales 2 y 3 que se

encuentran plantados con *Cyperus papyrus*, con respecto al humedal sin plantar (Apéndice 7.3). Además cabe resaltar que según un estudio sobre las macrófitas sumergidas para el tratamiento de aguas, la concentración de OD varió temporalmente durante ciertas horas del día y también por la presencia de macrófitas, ya que el OD fue mayor en los humedales con plantas que en los humedales sin plantar durante ciertas horas del día; sin embargo, disminuyó de una manera más pronunciada durante las horas de la noche, a lo que concluye que éstos cambios se atribuyen a los procesos de fotosíntesis y respiración (Zetina, Pat, Peniche, & Sauri, 2006).

Se obtuvieron bajos valores de OD en el efluente de cada humedal durante los tres experimentos (Figura 4.9), pero esto puede deberse al consumo de oxígeno para los procesos aerobios dentro de los humedales, bajas transferencias de oxígeno por parte de las macrófitas, y la dificultad en la transferencia de oxígeno a lo largo de la profundidad del lecho.

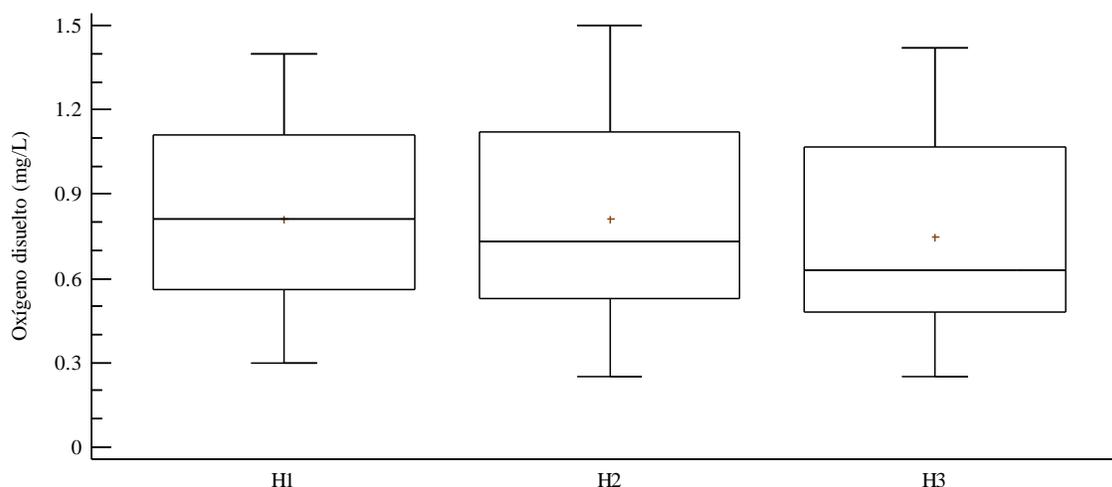
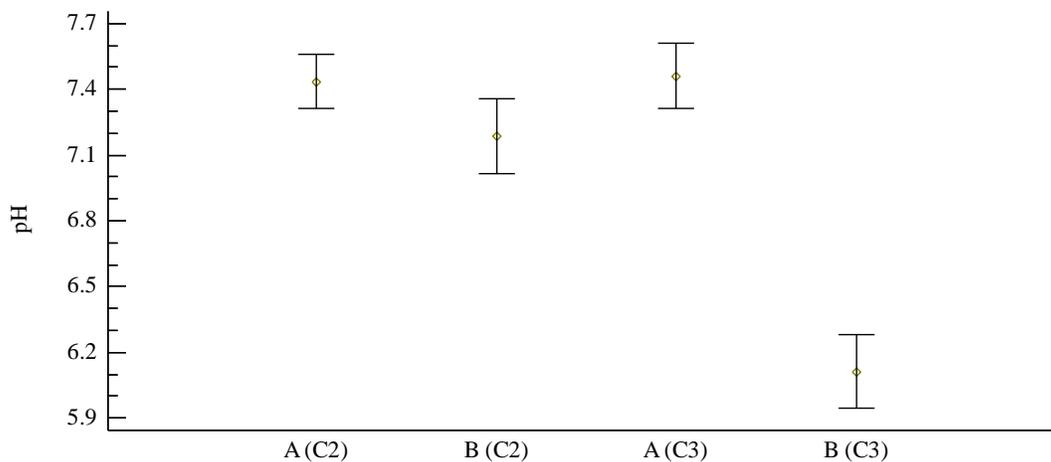


Figura 4.9 Oxígeno disuelto medido en el efluente de cada humedal durante los tres experimentos.

#### 4.4.4 Potencial de hidrógeno (pH)

En las mediciones que se realizaron en el afluente, no existe diferencia estadísticamente significativa en las mediciones de pH categorizadas como A o B durante el primer experimento, pero si existe diferencia en el segundo y tercer experimento (Apéndice 8). En la figura 4.10, se observa una disminución en los valores de pH en el afluente, de los que se midieron el primer día (A) con respecto a las mediciones que se realizaron días después de

estar el agua sintética en el tanque de suministro (B), en la segunda y tercera concentración del fármaco. Lo cual puede ser causado por los procesos de degradación de la materia orgánica, en la cual se produce dióxido de carbono que se disuelve en el agua y gran parte reacciona con las moléculas de agua hasta formar ácido carbónico, por lo que se reduce el pH en el afluente.



**Figura 4.10** Valores de pH en el afluente en las concentraciones 2 y 3 de ibuprofeno

Con respecto a los valores de pH en el efluente, se observa en el primer experimento datos de pH muy bajos, cuyos valores resultaron entre 4 y 5 (Figura 4.11), pero estos podrían deberse al proceso de estabilización de los humedales, ya que en las mediciones que se realizaron aproximadamente una semana después del comienzo del primer experimento no se tuvieron valores tan bajos de pH, además el promedio de pH en cada una de las concentraciones es cercano a 7 (Figura 4.11), valores que propician un ambiente adecuado para el desarrollo de los microorganismos en de los humedales.

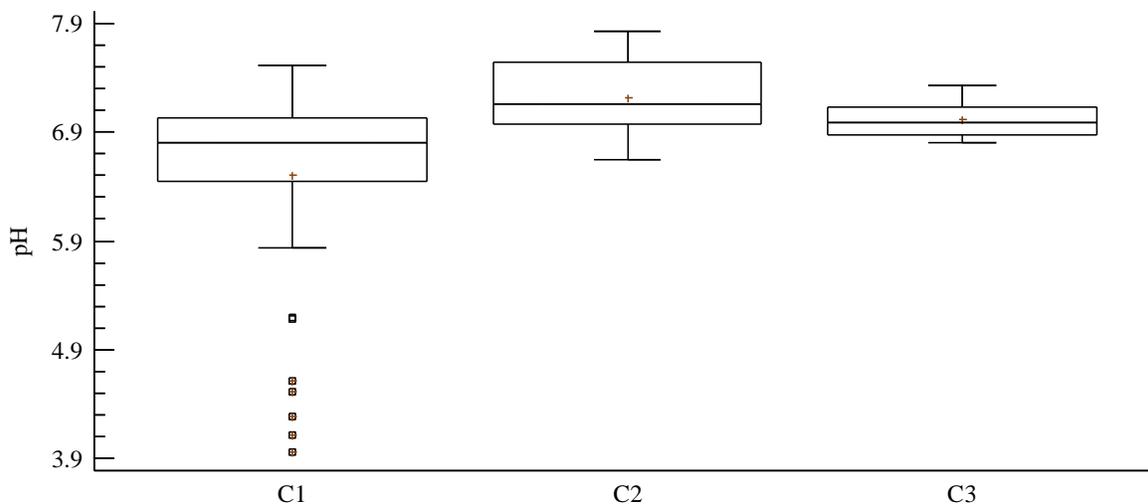
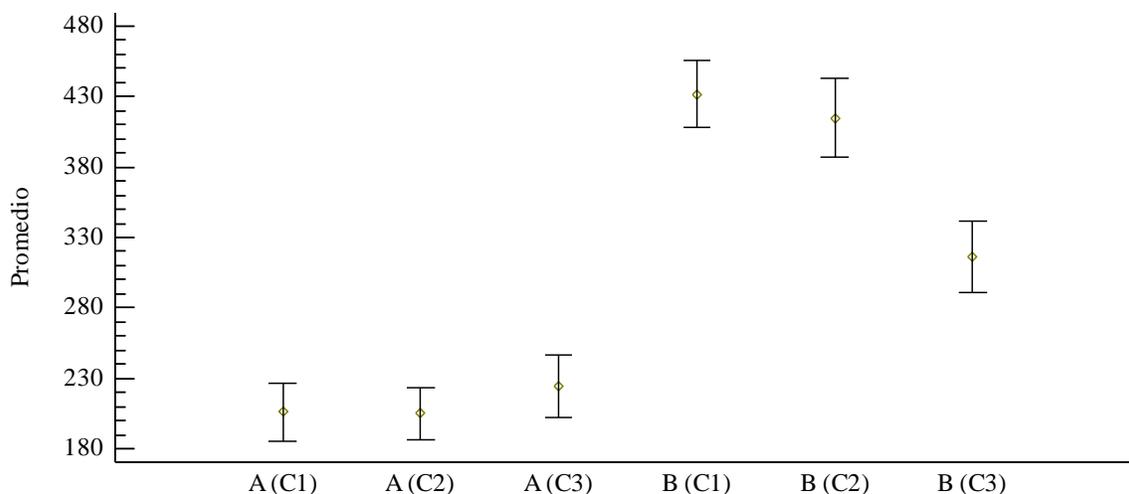


Figura 4.11 Valores de pH en el efluente durante las tres concentraciones del fármaco.

Cabe resaltar que los valores de pH pueden presentar variaciones durante las horas del día, ya que según un estudio, los humedales sin plantar presentaron hasta 0,2 unidades de pH menos que los humedales con plantas durante la etapa fotosintética; sin embargo, después del período nocturno los humedales con plantas presentaron valores promedio de 0,6 unidades de pH menos que los humedales sin plantar, por lo que concluyen que durante el período fotosintético se incrementa el pH y otras variables como la temperatura y el OD; y por lo tanto las macrófitas modifican el ambiente físico y químico circundante en los humedales (Zetina et al., 2006).

#### 4.4.5 Conductividad

Con la estratificación que se le realizó a los datos de conductividad, se muestra que los valores en el afluente asignados con la letra A difieren estadísticamente con respecto a los valores del afluente asignados con la letra B en los tres experimentos, afirmándose con un 95% de confianza (Apéndice 9). Se observa que la conductividad en el afluente tiende a aumentar con el pasar de los días en el tanque de suministro (Figura 4.12), éste aumento pudo ser ocasionado por procesos biológicos que transforman la materia orgánica a compuestos inorgánicos.



**Figura 4.12 Conductividad en el afluente**

Según un estudio que se realizó en humedales plantados y sin plantar, la conductividad se comportó de manera similar en testigos y matraces con macrófitas durante el día, mientras que la respiración de las mismas modificó las concentraciones de sales durante la noche, elevándola en promedio hasta 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  más altos en los matraces con macrófitas que en los testigos, éste hecho puede estar relacionado con la liberación, por parte de las plantas, de iones como sulfatos, sodio, potasio u otras formas que intervienen en procesos metabólicos o son subproductos de ellos (Zetina et al., 2006), nótese en el Cuadro 4.6 que los valores de conductividad en el efluente del humedal sin macrófitas fueron mayores a los valores de conductividad en los humedales plantados, comportamiento contrario al reportado por el estudio antes mencionado, por lo que el aporte de sales por parte de las macrófitas no fue significativo, asimismo dado que las mediciones se realizaron únicamente durante la mañana y no todos los días, el comportamiento puede que haya variado entre las mediciones realizadas.

**Cuadro 4.6 Conductividad eléctrica en el efluente de cada humedal, en las tres concentraciones de ibuprofeno empleadas.**

	Conductividad promedio ( $\pm 1$ ) $\mu\text{S}/\text{cm}$		
	Humedal 1	Humedal 2	Humedal 3
Concentración 1	439	406	312
Concentración 2	468	438	356
Concentración 3	431	502	339

## 5 CONCLUSIONES

- El porcentaje de remoción del fármaco en los tres humedales disminuyó conforme se aumentó la concentración del fármaco en el afluente. Si se compara la remoción que se obtuvo con la concentración más baja (0,2 mg/L) y la más alta del fármaco (2,7 mg/L), se disminuyó en un 19%, 16% y 23% el porcentaje de remoción de ibuprofeno en cada humedal respectivamente. Ésta disminución pudo ser causada por una saturación en el sistema, o un tiempo de retención insuficiente para que cada humedal pudiera asimilar el aumento en la carga de ibuprofeno.

- Se obtuvo un mínimo de 55% y un máximo de 84% en los porcentajes de remoción promedio del fármaco en los humedales con macrófitas, mientras que para el humedal sin plantar se obtuvo un valor mínimo de 32% y un máximo de 51%, por lo tanto los humedales plantados obtuvieron mayores porcentajes de remoción que el humedal sin macrófita, lo que permite concluir que la presencia de plantas ejerce un efecto estimulante sobre la remoción del ibuprofeno en los humedales. Lo anterior podría deberse a que las raíces de las plantas liberan exudados que son intensificadores de la actividad microbiana y pueden mejorar la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos actuando como agentes tensoactivos y transportadores (Zhang et al., 2012); asimismo por la afinidad del ibuprofeno a la materia orgánica ( $\log k_{ow} = 3,97$ ).

- La disminución en el porcentaje de remoción del ibuprofeno, la DQO y el COD que mostró el humedal 2 durante la tercera concentración del fármaco, indica que fue consecuencia de la pérdida de población microbiana en la rizósfera, a causa de la muerte de algunas de las macrófitas en este humedal.

- Los altos porcentajes de remoción de COD y DQO, y el alto número de heterótrofos contabilizados en la grava de los humedales, reflejan el buen funcionamiento de las tres unidades experimentales.

- Las fluctuaciones del OD en el afluente, no afectaron significativamente los procesos aerobios en los humedales, ya que los datos de la DQO del efluente de los humedales durante las tres concentraciones del fármaco en su mayoría tuvieron una buena disminución de la DQO.

- Los valores medidos de pH en los humedales, al estar cercanos a 7, propiciaron un ambiente adecuado para el desarrollo de los microorganismos en de los humedales.
- Los valores de los parámetros de seguimiento no se vieron modificados por la presencia de las macrófitas, a excepción de la conductividad, en la cual se obtuvieron valores más altos en el humedal sin plantar que en los humedales plantados, por lo que el aporte de las sales por parte de las macrófitas no fue significativo.
- El humedal 3 presentó el mejor funcionamiento, al tener los mayores porcentajes de remoción de la DQO, COD, y los menores valores de conductividad, lo cual se vio reflejado en que obtuvo los mayores porcentajes de remoción de ibuprofeno con respecto al resto de los humedales, por lo que es posible que el desarrollo mostrado por las macrófitas de este humedal haya influenciado su buen desempeño.

## 6 RECOMENDACIONES

- Debido a que la remoción de ibuprofeno se ve afectada significativamente por el tiempo de retención hidráulico (Fariya, 2013), sería importante para futuras investigaciones variar el TRH en cada experimento con cada una de las concentraciones que se vayan a ensayar del fármaco.
- Se recomienda en un futuro una evaluación de humedales con efluente de PTAR real, de modo que se logre incluir otras variables y componentes presentes en el efluente, así como tener concentraciones reales de ibuprofenos y otros CE.
- Dada la posible degradación que pudo haber experimentado el ibuprofeno en los humedales, se recomienda hacer mediciones de los metabolitos del ibuprofeno en el efluente de cada uno de los humedales, para cuantificar la posible degradación del mismo.
- Según el reglamento para la disposición final de medicamentos, materias primas, y sus residuos N° 36039-S (2010), se establece que la disposición final de los medicamentos deberá ser realizada por los establecimientos farmacéuticos, pero esto no siempre se cumple, muchas veces por desconocimiento de la población. Por lo tanto se recomienda analizar las prácticas comunes de disposición final de medicamentos en los hogares de Costa Rica.
- En términos generales se recomienda que se inicien gestiones para introducir parámetros que incluyan al menos un análisis anual de fármacos, productos de cuidado personal, productos de limpieza y retardantes de llama en las regulaciones de PTAR, de modo que se pueda tener información del impacto de los mismos, y la necesidad de implementar otras tecnologías de tratamiento de efluentes y normativas sobre la forma de descartar fármacos, envases de productos y residuos eléctricos y electrónicos y automóviles.



## 7 REFERENCIAS

- Agudelo, R. (2010). *Remoción del carbono orgánico disuelto y del clorpirifos empleando humedales piloto subsuperficiales y superficiales a dos niveles de temperatura y eliminación de microorganismos patógenos en humedales a escala real*. Universidad de Antioquia.
- Agudelo, R., Jaramillo, M., Peñuela, G., & Aguirre, N. (2010). Remoción del carbono orgánico disuelto en humedales piloto de flujos subsuperficial y superficial. *Facultad Nacional de Salud Pública*, 28(1), 21–28. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/120/12016345003.pdf>
- Aguirre, G., Del Valls, T., & Martín, M. (2013). Identification of biomarkers responsive to chronic exposure to pharmaceuticals in target tissues of *Carcinus maenas*. *Marine Environmental Research*, 87-88, 1–11. doi:10.1016/j.marenvres.2013.02.011
- Aguirre, P. (2004). Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial. In J. García, J. Morató, & J. Bayona (Eds.), *Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos* (pp. 17–29). Barcelona: CPET, Centro de Publicaciones de Campus Nord.
- Alhava, E. (1994). Reported Adverse Drug Reactions and Consumption of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Pharmacology & Toxicology*, 75, 37–43. doi:10.1111/j.1600-0773.1994.tb01994.x
- Aristizabal-Ciro, C. (2014). *Estudio de la presencia de 4 productos farmacéuticos y de cuidado personal en los embalses Riogrande II y la Fe y evaluación de la tecnología de membranas para su remoción a escala de laboratorio*. Universidad de Antioquia.
- Ávila, C., Bayona, J., Martín, I., Salas, J., & García, J. (2014). Emerging organic contaminant removal in a full-scale hybridconstructed wetland system for wastewater treatment and reuse. *Ecological Engineering*.
- Ávila, C., Nivala, J., Olsson, L., Kassa, K., Headley, T., Mueller, R. A., ... García, J. (2014). Emerging organic contaminants in vertical subsurface flow constructed wetlands: Influence of media size, loading frequency and use of active aeration. *Science of The Total Environment*, 494-495, 211–217. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.06.128
- Barber, P., Morera, M., Aparicio, A., & Xirinachs, Y. (2007). NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS ( NSAIDs ) DURING THE PERIOD 2001 TO 2005. *Rev. Costarric. Salud Pública [online]*, 16(31), 19–26. Retrieved from <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v16n31/3748.pdf>
- Barceló, L., & López, M. (2008). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. PANEL CIENTÍFICO-TÉCNICO DE*

*SEGUIMIENTO DE LA POLÍTICA DE AGUAS*. Barcelona. Retrieved from <http://www.unizar.es/fnca/varios/panel/15.pdf>

- Bécares, E. (2004). Función de la vegetación y procesos de diseño de humedales contruidos de flujo subsuperficial horizontal y flujo superficial. In J. García, J. Morató, & J. Bayona (Eds.), *Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales contruidos* (pp. 51–62). Barcelona: CPET, Centro de Publicaciones de Campus Nord.
- Becerril, J. E. (2009). Contaminantes emergentes en el agua. *Revista Digital Universitaria UNAM.MX*, 10(8). Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art54/int54.htm>
- Behera, S. K., Oh, S. Y., & Park, H. S. (2011). Sorptive removal of ibuprofen from water using selected soil minerals and activated carbon. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 9(1), 85–94. doi:10.1007/s13762-011-0020-8
- Berglund, B., Khan, G. A., Weisner, S. E. B., Ehde, P. M., Fick, J., & Lindgren, P.-E. (2014). Efficient removal of antibiotics in surface-flow constructed wetlands, with no observed impact on antibiotic resistance genes. *The Science of the Total Environment*, 476-477, 29–37. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.128
- Bhatia, M., & Goyal, D. (2014). Analyzing remediation potential of wastewater through wetland plants: A review. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(1), 9–27. doi:10.1002/ep.11822
- Carabaño, I., Llorente, L., Martínez, A., & Ruiz, J. (2006). Hábitos de consumo y preferencia de antitéticos en pacientes de nuestro medio. *Revista Pediatría de Atención Primaria*, VIII(29). Retrieved from <http://www.pap.es/files/1116-515-pdf/540.pdf>
- Cardinal, P., Anderson, J. C., Carlson, J. C., Low, J. E., Challis, J. K., Beattie, S. A., ... Wong, C. S. (2014). Macrophytes may not contribute significantly to removal of nutrients, pharmaceuticals, and antibiotic resistance in model surface constructed wetlands. *The Science of the Total Environment*, 482-483, 294–304. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.02.095
- Cardona, M. A. (2013). *Seguimiento de remoción del florfenicol en humedales horizontales de flujo subsuperficial*. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA.
- Centro de Farmacoepidemiología. (2006). Medicamentos. Retrieved January 4, 2015, from [http://www.cfe-fcm.unc.edu.ar/archivos/Modulos Remediar/Mod0\\_cap\\_3.pdf](http://www.cfe-fcm.unc.edu.ar/archivos/Modulos Remediar/Mod0_cap_3.pdf)
- Choudhary, A., Kumar, S., & Sharma, C. (2011). Constructed wetlands : an approach for wastewater treatment. *Elixir International Journal*, 37, 3666–3672. Retrieved from [http://www.elixirpublishers.com/articles/1350104218\\_37](http://www.elixirpublishers.com/articles/1350104218_37) (2011) 3666-3672.pdf

- Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309–15. doi:10.1016/S0147-6513(03)00141-6
- Cortacans, J., Hernández, A., Del Castillo, I., & Montes, E. (2006). Presencia de fármacos en aguas residuales y eficacia de los procesos convencionales en su eliminación. *Ciccp.es*, 1–13. Retrieved from [http://www.ciccp.es/biblio\\_digital/Icitema\\_III/congreso/pdf/010511.pdf](http://www.ciccp.es/biblio_digital/Icitema_III/congreso/pdf/010511.pdf)
- Cunningham, V. L., Binks, S. P., & Olson, M. J. (2009). Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology : RTP*, 53(1), 39–45. doi:10.1016/j.yrtph.2008.10.006
- Elorriaga, Y., Marino, D., Carriquiriborde, P., & Ronco, A. (2012). Contaminantes emergentes: productos farmacéuticos en el medio ambiente. Retrieved from [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26491/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/26491/Documento_completo.pdf?sequence=1)
- Fariya, S. (2013). *Use of Ozonation and Constructed Wetlands to Remove Contaminants of Emerging Concern from Wastewater Effluent by Fariya Sharif A Dissertation Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctor of Philosophy Approved August 2013 by*. Arizona State University. Retrieved from [http://repository.asu.edu/attachments/125766/content/Sharif\\_asu\\_0010E\\_13303.pdf](http://repository.asu.edu/attachments/125766/content/Sharif_asu_0010E_13303.pdf)
- García, J. (2004). Humedales construidos para controlar la contaminación sobre una tecnología en expansión. In J. García, J. Morató, & J. Bayona (Eds.), *Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos* (pp. 7–16). Barcelona: CPET, Centro de Publicaciones de Campus Nord. Retrieved from <http://cpet.upc.es>
- Girardi, C., Nowak, K. M., Carranza-Diaz, O., Lewkow, B., Miltner, A., Gehre, M., ... Kästner, M. (2013). Microbial degradation of the pharmaceutical ibuprofen and the herbicide 2,4-D in water and soil - Use and limits of data obtained from aqueous systems for predicting their fate in soil. *Science of the Total Environment*, 444, 32–42. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.11.051
- Gonzalez-Rey, M., & Bebianno, M. J. (2012). Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) ibuprofen induce antioxidant stress and endocrine disruption in mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2), 361–371. doi:10.1016/j.etap.2011.12.017
- Gracia-Lor, E., Martínez, M., Sancho, J. V., Peñuela, G., & Hernández, F. (2012). Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 99, 1011–1023. doi:10.1016/j.talanta.2012.07.091

- Hijosa-Valsero, M., Matamoros, V., Martín-Villacorta, J., Bécares, E., & Bayona, J. M. (2010). Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities. *Water Research*, *44*(5), 1429–1439. doi:10.1016/j.watres.2009.10.032
- Hijosa-Valsero, M., Matamoros, V., Sidrach-Cardona, R., Martín-Villacorta, J., Bécares, E., & Bayona, J. M. (2010). Comprehensive assessment of the design configuration of constructed wetlands for the removal of pharmaceuticals and personal care products from urban wastewaters. *Water Research*, *44*(12), 3669–3678. doi:10.1016/j.watres.2010.04.022
- Höll, W., & Litter, M. (2010). Ocurrencia y química del arsénico en aguas. Sumario de tecnologías de remoción de arsénico en aguas. In M. I. Litter, A. M. Sancha, & A. M. Ingallinella (Eds.), *Tecnologías económicas para el abatimiento de arsénico en aguas* (pp. 17–31). Argentina: CYTED.
- Hudec, R., Kriska, M., Bozekova, L., & Foltan, V. (2008). Comparison of NSAID consumption in Slovakia, Finland and Norway. *Bratislavské Lekárske Listy*, *109*(8), 370–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18837248>
- Iannacone, J., & Alvarino, L. (2009). Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, *8*(2). Retrieved from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162009000100009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162009000100009&script=sci_arttext)
- Kümmerer, K. (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use--present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, *90*(8), 2354–66. doi:10.1016/j.jenvman.2009.01.023
- Lara, J. (1999). *Depuración de aguas residuales domésticas con Humedales artificiales*. Universidad Politécnica de Cataluña. Retrieved from <http://www.aprchile.cl/pdfs/Humedales.pdf>
- Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: design, performance and mechanism. *The Science of the Total Environment*, *468-469*, 908–930. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.09.018
- Lynne Kormos, J. (2007). *Occurrence and seasonal variability of selected pharmaceuticals in Southern Ontario drinking water supplies*. University of Waterloo. Retrieved from [https://uwspace.uwaterloo.ca/bitstream/handle/10012/2774/MSc Thesis JKormos Fin.jsessionid=8A4C64D3D9499612B0EC4074FF3DFDE2?sequence=1](https://uwspace.uwaterloo.ca/bitstream/handle/10012/2774/MSc%20Thesis%20JKormos%20Fin.jsessionid=8A4C64D3D9499612B0EC4074FF3DFDE2?sequence=1)
- Madureira, T. V., Rocha, M. J., Cruzeiro, C., Galante, M. H., Monteiro, R. a F., & Rocha, E. (2011). The toxicity potential of pharmaceuticals found in the Douro River estuary (Portugal): assessing impacts on gonadal maturation with a histopathological and

stereological study of zebrafish ovary and testis after sub-acute exposures. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 105(3-4), 292–9.  
doi:10.1016/j.aquatox.2011.06.017

Matamoros, V., Arias, C., Brix, H., & Bayona, J. M. (2007). Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from urban wastewater in a pilot vertical flow constructed wetland and a sand filter. *Environmental Science & Technology*, 41(23), 8171–8177. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18186355>

Matamoros, V., Arias, C., Brix, H., & Bayona, J. M. (2009). Preliminary screening of small-scale domestic wastewater treatment systems for removal of pharmaceutical and personal care products. *Water Research*, 43(1), 55–62.  
doi:10.1016/j.watres.2008.10.005

Moncada, S. (2011). *Evaluación del diseño de una biojardinera de flujo subsuperficial subsuperficial para el tratamiento de aguas grises en Zapote, San José*. Tecnológico de Costa Rica.

Nortes, R. (2014). *Estudio del metabolismo del ibuprofeno en orina humana mediante hplc-ms de alta resolución*. Universidad de Jaén. Retrieved from [http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/553/1/TFG\\_NortesM%C3%A9ndez,Roc%C3%ADo.pdf](http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/553/1/TFG_NortesM%C3%A9ndez,Roc%C3%ADo.pdf)

OMS. (2011). *Pharmaceuticals in drinking-water*. Retrieved from [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/2011/pharmaceuticals\\_20110601.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/pharmaceuticals_20110601.pdf)

Osachoff, H. L., Mohammadali, M., Skirrow, R. C., Hall, E. R., Brown, L. L. Y., van Aggelen, G. C., ... Helbing, C. C. (2014). Evaluating the treatment of a synthetic wastewater containing a pharmaceutical and personal care product chemical cocktail: compound removal efficiency and effects on juvenile rainbow trout. *Water Research*, 62, 271–280. doi:10.1016/j.watres.2014.05.057

Parolini, M., Binelli, A., & Provini, A. (2011). Chronic effects induced by ibuprofen on the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(6), 1586–1594. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.04.025

Pérez, A., López, A., & Grau, I. (2002). Antiinflamatorios no esteroideos (AINES). Consideraciones para su uso estomatológico. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(2).

Ramos Espinosa, M. G., Rodríguez Sánchez, L. M., & Martínez Cruz, P. (2007). Uso de macrofitas acuáticas en el tratamiento de aguas para el cultivo de maíz y sorgo. *Hidrobiológica*, 17, 7–15. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/578/57809904.pdf>

- Ríos, K. (2009). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DETOXIFICADORA DEL BIOFILM PARA LA REMOCIÓN Y/O TRANSFORMACIÓN DEL PLAGUICIDA CLOROTALONILO EN UN HUMEDAL CONSTRUIDO DE FLUJO SUBSUPERFICIAL HORIZONTAL A ESCALA PILOTO*. Universidad de Antioquia.
- Sabri, N., Hanna, K., & Yargeau, V. (2012). Chemical oxidation of ibuprofen in the presence of iron species at near neutral pH. *The Science of the Total Environment*, 427-428, 382–9. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.034
- Tiehm, A., Schmidt, N., Stieber, M., Sacher, F., Wolf, L., & Hoetzel, H. (2010). Biodegradation of Pharmaceutical Compounds and their Occurrence in the Jordan Valley. *Water Resources Management*, 25(4), 1195–1203. doi:10.1007/s11269-010-9678-9
- Tiempo.net. (2013). Clima en Medellin / Olaya Herrera. Retrieved January 4, 2014, from [http://www.tutiempo.net/clima/Medellin\\_Olaya\\_Herrera/801100.htm](http://www.tutiempo.net/clima/Medellin_Olaya_Herrera/801100.htm)
- Úsuga, F. A. (2011). *EVALUACIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE DEGRADACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE LIXIVIADOS USANDO HUMEDALES SUBSUPERFICIALES HORIZONTALES A NIVEL PILOTO*. Universidad de Antioquia.
- Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M., Barceló, D., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2013). Removal of selected pharmaceuticals from domestic wastewater in an activated sludge system followed by a horizontal subsurface flow bed - Analysis of their respective contributions. *Science of the Total Environment*, 454-455, 411–425. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.03.044
- Verlicchi, P., & Zambello, E. (2014). How efficient are constructed wetlands in removing pharmaceuticals from untreated and treated urban wastewaters? A review. *The Science of the Total Environment*, 470-471, 1281–1306. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.085
- Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., & Costanzo, S. D. (2009). The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *The Science of the Total Environment*, 407(8), 2711–23. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.11.059
- WHO. (2003). *Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety*. Retrieved from [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/HPCFull.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/HPCFull.pdf)
- Zetina, C., Pat, R., Peniche, I., & Sauri, V. (2006). *Estudio sobre el uso de macrófitas sumergidas para el tratamiento de agua*. Yucatán, México. Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/tratagua/mexicona/R-0091.pdf>
- Zhang, D. Q., Gersberg, R., Hua, T., Zhu, J., Tuan, N., & Tan, S. K. (2012). Pharmaceutical removal in tropical subsurface flow constructed wetlands at varying

hydraulic loading rates. *Chemosphere*, 87(3), 273–277.  
doi:10.1016/j.chemosphere.2011.12.067

Zhang, D. Q., Gersberg, R. M., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014, January). Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environmental Pollution*. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.envpol.2013.09.009

Zhang, D. Q., Tan, S. K., Gersberg, R. M., Sadreddini, S., Zhu, J., & Tuan, N. A. (2011). Removal of pharmaceutical compounds in tropical constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 37(3), 460–464. doi:10.1016/j.ecoleng.2010.11.002

## **APÉNDICES**

## APÉNDICE 1: PRUEBA ESTADÍSTICA NORMALIDAD DE LOS DATOS

Ejemplo para el tratamiento de los datos. A todos los datos se les realizó el mismo tratamiento

### Normalidad para los datos de OD en el efluente

**Cuadro A.2.1 Prueba de normalidad (Smirnov-Kolmogorov) para el OD en el efluente.**

	<i>Normal</i>
DPLUS	0.112886
DMINUS	0.083664
DN	0.112886
P-Value	0.0963588

Dado que el valor de P-value es mayor a 0,05, no se puede rechazar la idea que los datos de OD en el efluente provienen de una distribución normal con un 95% de confianza.

### Normalidad para los datos de conductividad en el efluente

**Cuadro A.2.2 Prueba de normalidad (Smirnov-Kolmogorov) para la conductividad en el efluente.**

	<i>Normal</i>
DPLUS	0.106454
DMINUS	0.0557626
DN	0.106454
P-Value	0.089644

Dado que el valor de P-value es mayor a 0,05, no se puede rechazar la idea que los datos de conductividad en el efluente provienen de una distribución normal con un 95% de confianza.

## APÉNDICE 2: CUANTIFICACIÓN DE IBUPROFENO

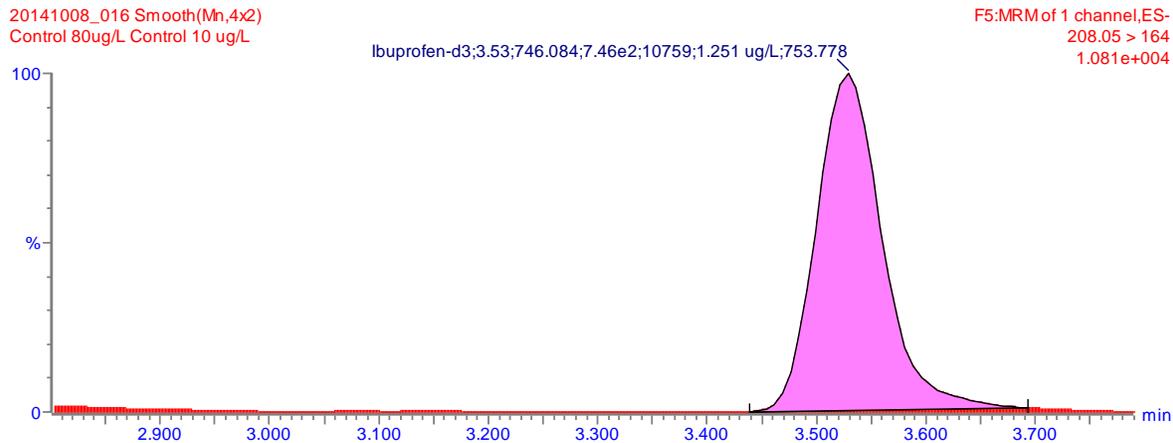
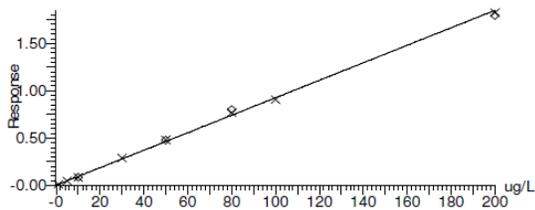
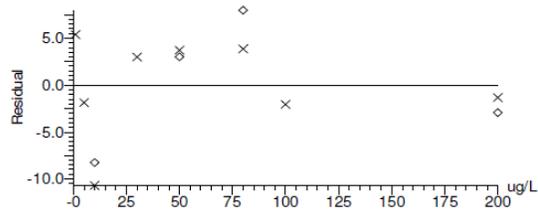


Figura A.1.1 Cromatograma del ibuprofeno para un estándar de 50 µg/L

Compound name: Ibuprofen  
Correlation coefficient:  $r = 0.999521$ ,  $r^2 = 0.999042$   
Calibration curve:  $0.00923193 * x + 0.00238436$   
Response type: Internal Std ( Ref 2 ), Area \* ( IS Conc. / IS Area )  
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Compound name: Ibuprofen-d3  
Response Factor: 596.556  
RRF SD: 78.939, % Relative SD: 13.2325  
Response type: External Std, Area  
Curve type: RF

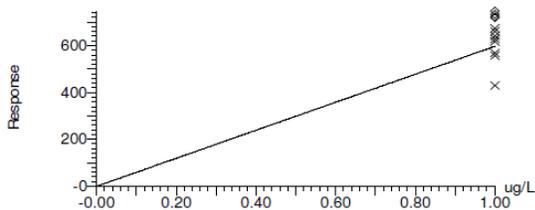
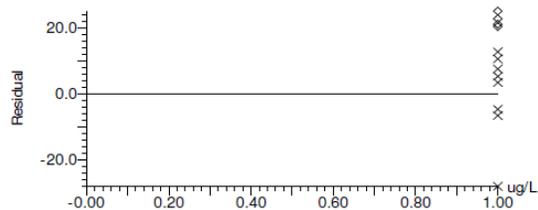


Figura A.1.2. Curvas de calibración

### APÉNDICE 3: REMOCIÓN DE IBUPROFENO

Cuadro A.3.1 Porcentajes de remoción de Ibuprofeno para cada uno de los humedales durante los tres experimentos

Experimento	Fecha	Porcentaje de remoción (%) $\pm$ DS <sup>1</sup>		
		Humedal 1	Humedal 2	Humedal 3
Concentración 1 (2,7 mg/L)	10/07/14	34	66	69
	15/07/14	17	63	55
	24/07/14	13	16,	29
	01/08/14	26	59	62
	12/08/14	57	65	77
	14/08/14	36	53	61
	18/08/14	40	59	67
	<b>Promedio</b>	<b>32<math>\pm</math>15</b>	<b>55<math>\pm</math>17</b>	<b>61<math>\pm</math>15</b>
Concentración 2 (0,2 mg/L)	01/09/14	57	66	80
	03/09/14	60	67	80
	10/09/14	27	69	78
	19/09/14	49	80	90
	25/09/14	60	67	85
	03/10/14	* <sup>2</sup>	71	80
	06/10/14	* <sup>2</sup>	72	91
	<b>Promedio</b>	<b>51<math>\pm</math>14</b>	<b>71<math>\pm</math>5</b>	<b>84<math>\pm</math>5</b>
Concentración 3 (1,7 mg/L)	24/10/14	60	72	65
	01/11/14	54	43	69
	04/11/14	46	57	76
	07/11/14	33	47	72
	10/11/14	* <sup>2</sup>	54	73
	11/11/14	* <sup>2</sup>	56	84
	<b>Promedio</b>	<b>49<math>\pm</math>12</b>	<b>55 <math>\pm</math>10</b>	<b>74<math>\pm</math>6</b>

<sup>1</sup>Desviación estándar; <sup>2</sup>Datos no tomados en cuenta debido a alteraciones en las condiciones del humedal por factores externos.

## APÉNDICE 4: COMPARACIÓN ENTRE HUMEDALES

En el cuadro A.4.1 se encuentran los valores de P, para la prueba de comparación de medias de los porcentajes de remoción de ibuprofeno. Las hipótesis son las siguientes:

- Hipótesis nula: los porcentajes de remoción promedio son iguales entre los humedales.
- Hipótesis alternativa: los promedios difieren para cada una de las combinaciones de humedales en cada concentración.

Las diferencias significativas o no significativas de los porcentajes promedio de remoción se sitúan en la prueba de rango múltiple (Cuadro A.4.2).

**Cuadro A.4.1 Prueba de comparación de medias con distribución normal para el porcentaje de remoción del fármaco en cada humedal y para cada concentración.**

Experimento	Comparación de medias ( <i>P-value</i> )		
	Humedal 1*Humedal 2	Humedal 1* Humedal 3	Humedal 2*Humedal 3
Concentración 1	0,0234	0,0041	0,4956
Concentración 2	0,0058	0,0002	0,0005
Concentración 3	0,3590	0,0020	0,0038

**Cuadro A.4.2 Prueba de Rango múltiple para los porcentajes de remoción del fármaco en cada humedal y para cada concentración**

Experimento	Entre humedales	Diferencia significativa	Diferencia	Límites
				±
Primera concentración	H1-H2	✓	-22,3071	17,772
	H1-H3	✓	-28,4443	
	H2-H3		-6,13714	
Segunda concentración	H1-H2	✓	-19,5591	10,2729
	H1-H3	✓	-32,8034	10,2729
	H2-H3	✓	-13,2443	9,37779
Tercera concentración	H1-H2		-6,74583	13,0025
	H1-H3	✓	-25,2642	13,0025
	H2-H3	✓	-18,5183	11,6298

✓Denota una diferencia estadísticamente significativa (95% confianza)

## APÉNDICE 5 CÁLCULO DE LA DQO TEÓRICA DEL AGUA SINTÉTICA EN EL AFLUENTE.

- DQO teórica de la Glucosa:

$$DQO_T = \frac{28,8 \text{ g Glucosa}}{200 \text{ l}} \times \frac{1 \text{ mol Glucosa}}{180 \text{ g Glucosa}} \times \frac{6 \text{ mol } O_2}{1 \text{ mol Glucosa}} \times \frac{32 \text{ g } O_2}{1 \text{ mol } O_2} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

$$DQO_P = 153,6 \text{ mg/l}$$

- DQO teórica de la Urea:

$$DQO_T = \frac{22,8 \text{ g Urea}}{200 \text{ l}} \times \frac{1 \text{ mol Urea}}{60 \text{ g Urea}} \times \frac{1 \text{ mol } O_2}{1 \text{ mol Urea}} \times \frac{32 \text{ g } O_2}{1 \text{ mol } O_2} \times \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ g}}$$

$$DQO_P = 60,8 \text{ mg/l}$$

- DQO teórica total:

$$DQO_{TT} = 60,8 \text{ mg/l} + 153,5 \text{ mg/l}$$

$$DQO_{TT} = 214,4 \text{ mg/l}$$

## APÉNDICE 6 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

**Cuadro A.6.1 Valores de DQO en el afluente y efluente con cada concentración del fármaco.**

Fecha	DQO ( $\pm 0,001$ ) mgO <sub>2</sub> /L					
	Humedal 1		Humedal 2		Humedal 3	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
<b>Concentración 1 (2,91 mg/l ibuprofeno)</b>						
01/07/2014	84,099	<25 <sup>2</sup>	102,499	26,097	114,401	<25 <sup>2</sup>
10/07/2014	94,925	<25 <sup>2</sup>	90,217	<25 <sup>2</sup>	96,902	<25 <sup>2</sup>
17/07/2014	89,860	33,671	92,436	40,782	97,870	<25 <sup>2</sup>
24/07/2014	85,291	55,117	107,769	42,949	98,552	55,159
01/08/2014	93,550	45,159	99,094	36,656	96,785	41,462
11/08/2014	100,009	<25 <sup>2</sup>	102,694	<25 <sup>2</sup>	107,935	<25 <sup>2</sup>
<b>Concentración 2 (0,24 mg/l ibuprofeno)</b>						
03/09/2014	91,588	<25 <sup>2</sup>	91,725	<25 <sup>2</sup>	89,709	<25 <sup>2</sup>
12/09/2014	91,773	<25 <sup>2</sup>	91,531	<25 <sup>2</sup>	91,655	<25 <sup>2</sup>
17/09/2014	91,776	<25 <sup>2</sup>	91,317	<25 <sup>2</sup>	83,068	<25 <sup>2</sup>
25/09/2014	89,123	<25 <sup>2</sup>	93,757	<25 <sup>2</sup>	81,554	<25 <sup>2</sup>
03/10/2014	97,997	* <sup>1</sup>	98,219	<25 <sup>2</sup>	89,200	<25 <sup>2</sup>
06/10/2014	99,129	* <sup>1</sup>	99,816	<25 <sup>2</sup>	99,591	<25 <sup>2</sup>
<b>Concentración 3 (1,7 mg/l ibuprofeno)</b>						
20/10/2014	99,116	<25 <sup>2</sup>	98,768	<25 <sup>2</sup>	98,458	<25 <sup>2</sup>
24/10/2014	93,581	29,417	95,675	33,075	97,926	<25 <sup>2</sup>
01/11/2014	93,815	29,764	90,582	87,449	93,476	<25 <sup>2</sup>
04/11/2014	95,311	<25 <sup>2</sup>	97,711	<25 <sup>2</sup>	94,391	<25 <sup>2</sup>
07/11/2014	95,962	<25 <sup>2</sup>	94,457	80,272	95,831	<25 <sup>2</sup>
10/11/2014	97,871	* <sup>1</sup>	98,019	30,912	97,899	<25 <sup>2</sup>
11/11/2014	101,263	* <sup>1</sup>	100,748	47,424	96,396	<25 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Datos no tomados en cuenta debido a alteraciones en las condiciones del humedal por factores externos; <sup>2</sup>Valores menores al límite de detección del equipo.

## APÉNDICE 7: PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA LOS DATOS DE OXÍGENO DISUELTO.

### 7.1 Prueba estadística para los valores de OD medidos en el afluente con su respectiva clasificación A y B.

- **Primera concentración**

#### **Prueba de Rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Datos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Afluente (1) B	21	0.307619	X
Afluente (1) A	27	6.22741	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Afluente (1) A - Afluente (1) B	*	5.91979	0.149867

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

#### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Entre grupos	413.956	1	413.956	6321.83	0.0000
Within groups	3.0121	46	0.0654804		
Total (Corr.)	416.968	47			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 6321.83, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

- **Segunda concentración**

#### **Comparación de medias**

95.0% confidence interval for mean of Afluente (2) A: 6.19636 +/- 0.141692 [6.05467; 6.33806]

95.0% confidence interval for mean of Afluente (2) B: 0.375 +/- 0.247826 [0.127174; 0.622826]

95.0% confidence interval for the difference between the means

assuming equal variances: 5.82136 +/- 0.25697 [5.56439; 6.07833]

#### **t test to compare means**

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

assuming equal variances: t = 45.5248 P-value = 0

Reject the null hypothesis for alpha = 0.05.

### **Prueba de Rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Datos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Afluyente (2) B	18	0.375	X
Afluyente (2) A	33	6.19636	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Afluyente (2) A - Afluyente (2) B	*	5.82136	0.25697

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	394.699	1	394.699	2072.51	0.0000
Within groups	9.33181	49	0.190445		
Total (Corr.)	404.031	50			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 2072.51, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

- **Tercera concentración:**

#### **Comparación de medias**

95.0% confidence interval for mean of Afluyente (3) A: 6.36917 +/- 0.130001 [6.23917; 6.49917]

95.0% confidence interval for mean of Afluyente (3) B: 0.462778 +/- 0.160623 [0.302155; 0.623401]

95.0% confidence interval for the difference between the means

Assuming equal variances: 5.90639 +/- 0.198121 [5.70827; 6.10451]

#### **t test to compare means**

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

Assuming equal variances: t = 60.2526 P-value = 0

Reject the null hypothesis for alpha = 0.05.

### **Prueba Rango multiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Datos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Afluyente (3) B	18	0.462778	X
Afluyente (3) A	24	6.36917	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Afluyente (3) A - Afluyente (3) B	*	5.90639	0.198121

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	358.822	1	358.822	3630.38	0.0000
Within groups	3.95354	40	0.0988386		
Total (Corr.)	362.775	41			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 3630.38, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

### **7.2 Comparación de los valores de OD medidos en el efluente de los tres humedales y las tres concentraciones asignados con la letra A y B.**

#### **Comparación de medias**

95.0% confidence interval for mean of día 1 a tiempo 2 no=1: 0.817976 +/- 0.0735488 [0.744427; 0.891525]

95.0% confidence interval for mean of día 1 a tiempo 2 no=2: 0.754211 +/- 0.0851146 [0.669096; 0.839325]

95.0% confidence interval for the difference between the means

assuming equal variances: 0.0637657 +/- 0.112554 [-0.048788; 0.176319]

t test to compare means

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

Assuming equal variances: t = 1.12014 P-value = 0.264584

Do not reject the null hypothesis for alpha = 0.05.

#### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Nivel</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
2	57	0.754211	X
1	84	0.817976	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2		0.0637657	0.112554

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.138073	1	0.138073	1.25	0.2646
Within groups	15.2959	139	0.110043		
Total (Corr.)	15.434	140			

Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level.

### **7.3 Comparación de los valores de OD en el efluente de los tres humedales durante cada concentración.**

- **Primera concentración**

#### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Fuente de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.733429	2	0.366715	3.08	0.0559
Within groups	5.36256	45	0.119168		
Total (Corr.)	6.09599	47			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 3.07729, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the means of the 3 variables at the 95.0% confidence level.

#### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Datos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Humedal 3 (C1)	16	0.656875	X
Humedal 2 (C1)	16	0.828125	XX
Humedal 1 (C1)	16	0.95875	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
Humedal 1 (C1) - Humedal 2 (C1)		0.130625	0.24582
Humedal 1 (C1) - Humedal 3 (C1)	*	0.301875	0.24582
Humedal 2 (C1) - Humedal 3 (C1)		0.17125	0.24582

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

- **Segunda concentración**

#### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Humedal 1 (C2)	17	0.748824	X
Humedal 2 (C2)	17	0.794706	X
Humedal 3 (C2)	17	0.818235	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
------------------	-------------	-------------------	--------------------

Humedal 1 (C2) - Humedal 2 (C2)		-0.0458824	0.220709
Humedal 1 (C2) - Humedal 3 (C2)		-0.0694118	0.220709
Humedal 2 (C2) - Humedal 3 (C2)		-0.0235294	0.220709

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

#### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.0423686	2	0.0211843	0.21	0.8139
Within groups	4.91625	48	0.102422		
Total (Corr.)	4.95862	50			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0.206834, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the means of the 3 variables at the 95.0% confidence level.

- **Tercera concentración**

#### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

	<i>Datos</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Humedal 1 (C3)	14	0.725	X
Humedal 3 (C3)	14	0.769286	X
Humedal 2 (C3)	14	0.817143	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limite</i>
Humedal 1 (C3) - Humedal 2 (C3)		-0.0921429	0.252241
Humedal 1 (C3) - Humedal 3 (C3)		-0.0442857	0.252241
Humedal 2 (C3) - Humedal 3 (C3)		0.0478571	0.252241

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

#### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.0594619	2	0.029731	0.27	0.7625
Within groups	4.24553	39	0.10886		
Total (Corr.)	4.30499	41			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0.273113, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the means of the 3 variables at the 95.0% confidence level.



## APÉNDICE 8: PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA LOS DATOS DE POTENCIAL DE HIDRÓGENO.

- **Primera concentración**

### Comparación de medias

95.0% confidence interval for mean of día 1 a tiempo 2 no\_1=1: 7.4327 +/- 0.0457215 [7.38698; 7.47843]

95.0% confidence interval for mean of día 1 a tiempo 2 no\_1=2: 7.27976 +/- 0.433761 [6.846; 7.71352]

95.0% confidence interval for the difference between the means

assuming equal variances: 0.152942 +/- 0.371496 [-0.218554; 0.524438]

### t test to compare means

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

Assuming equal variances: t = 0.828694 P-value = 0.411557

Do not reject the null hypothesis for alpha = 0.05.

### Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.276308	1	0.276308	0.69	0.4116
Within groups	18.5082	46	0.402351		
Total (Corr.)	18.7845	47			

### **The StatAdvisor**

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0.686735, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0.05, there is not a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level.

### Prueba de rango múltiple

Method: 95.0 percent LSD

<i>Nivel</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
2	21	7.27976	X
1	27	7.4327	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2		0.152942	0.371496

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

- **Segunda concentración**

### Comparación de medias

95.0% confidence interval for mean of Co1\_5=1: 7.43545 +/- 0.0248754 [7.41058; 7.46033]

95.0% confidence interval for mean of Co1\_5=2: 7.18589 +/- 0.335492 [6.8504; 7.52138]

95.0% confidence interval for the difference between the means

assuming equal variances: 0.249566 +/- 0.236359 [0.013207; 0.485924]

t test to compare means

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

Assuming equal variances: t = 2.12187 P-value = 0.0389299

Reject the null hypothesis for alpha = 0.05.

**Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.725414	1	0.725414	4.50	0.0389
Within groups	7.89487	49	0.16112		
Total (Corr.)	8.62029	50			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 4.50233, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

**Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Columnas</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
2	18	7.18589	X
1	33	7.43545	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2	*	0.249566	0.236359

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

• **Tercera concentración**

**Comparación de medias**

95.0% confidence interval for mean of Col\_9=1: 7.46104 +/- 0.0523528 [7.40869; 7.51339]

95.0% confidence interval for mean of Col\_9=2: 6.11317 +/- 0.466222 [5.64694; 6.57939]

95.0% confidence interval for the difference between the means

assuming equal variances: 1.34788 +/- 0.389693 [0.958182; 1.73757]

t test to compare means

Null hypothesis: mean1 = mean2

Alt. hypothesis: mean1 NE mean2

Assuming equal variances:  $t = 6.99054$  P-value =  $1.93323E-8$   
 Reject the null hypothesis for  $\alpha = 0.05$ .

**Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	18.6867	1	18.6867	48.87	0.0000
Within groups	15.2958	40	0.382395		
Total (Corr.)	33.9826	41			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 48.8676, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

**Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Columna</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
2	18	6.11317	X
1	24	7.46104	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2	*	1.34788	0.389693

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 1 pair, indicating that this pair shows a statistically significant difference at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## APÉNDICE 9: PRUEBAS ESTADÍSTICAS PARA LOS DATOS DE CONDUCTIVIDAD.

- **Primera concentración**

**Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	599477.	1	599477.	88.53	0.0000
Within groups	311486.	46	6771.44		
Total (Corr.)	910963.	47			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 88.5302, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Nivel</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1	27	206.2	X
2	21	431.476	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2	*	-225.276	48.1939

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

- **Segunda concentración**

**Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	475470.	1	475470.	86.65	0.0000
Within groups	268876.	49	5487.27		
Total (Corr.)	744346.	50			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 86.6497, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Columns</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1	33	205.064	X
2	18	407.111	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2	*	-202.047	43.6189

\* Denota diferencia estadísticamente significativa.

- **Concentración 3**

### **Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	87822.2	1	87822.2	13.34	0.0007
Within groups	263390.	40	6584.75		
Total (Corr.)	351212.	41			

The ANOVA table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 13.3372, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 2 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

### **Prueba de rango múltiple**

Method: 95.0 percent LSD

<i>Columns</i>	<i>Valores</i>	<i>Promedio</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1	24	224.042	X
2	18	316.444	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Limites</i>
1 - 2	*	-92.4028	51.1371

\* Denota diferencia estadísticamente significativa