



**Diseño De Un Sistema De Tratamiento Biológico De Aguas Residuales De Amonio
Cuaternario Utilizado En La Prevención Del *Fusarium Oxysporum* R4T En Las Plantaciones
De Banano -Zona Bananera Del Magdalena.**

Juan Luis Cueto Tilano

Universidad Magdalena

Facultad de Ingeniería
Ingeniería Ambiental y Sanitaria
Santa Marta, Colombia

2022



**Diseño De Un Sistema De Tratamiento Biológico De Aguas Residuales De Amonio
Cuaternario Utilizado En La Prevención Del *Fusarium Oxysporum* R4T En Las Plantaciones
De Banano -Zona Bananera Del Magdalena.**

Juan Luis Cueto Tilano

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:

Ingeniero Ambiental y Sanitario

Director (a):

M.Sc. Isaac Manuel Romero Borja

Línea de Investigación:

Calidad de agua

Universidad del Magdalena

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Santa Marta, Colombia

2022

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por el Acuerdo Superior N° 11 de 2017 y Acuerdo Académico N° 41 de 2017 para optar al título de Ingeniero Ambiental y Sanitario

Jurado

Jurado

Santa Marta, 1 de noviembre de 2022

Dedicatoria

A mis padres Alberto Cueto Estrada y Mercedes Tilano Molina por brindarme la oportunidad de acceder a la educación superior y siempre creer que era posible que un campesino se convirtiera en profesional.

A mi esposa Ruth Rodríguez Velásquez por creer en mí y esperar pacientemente a que esto fuese posible.

A mi hermana Deilis María Cueto Tilano, por ofrecerme apoyo en mis procesos académicos y en conjunto con mis padres brindarme la posibilidad tener un equipo portátil para mi desarrollo académico y científico.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Magdalena por permitirme usar sus instalaciones para llevar a cabo este proyecto y ser escenario de diversos conocimientos y experiencias a lo largo de mi formación.

De manera especial a mi tutor, M.Sc. Isaac Manual Romero Borja, por todos los conocimientos transmitidos durante este arduo proceso de investigación y por depositar su confianza, tiempo, esfuerzo y paciencia.

A Carlos Samuel España Rangel, por brindarnos su apoyo y experiencia durante la realización de laboratorios y temas afines.

A mi familia y amigos por el apoyo durante toda mi formación académica.

Al programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria por formarme en el ámbito profesional y científico.

A mi amigo Martín López por su gran ayuda en los ensayos microbiológicos en el trascurso de esta investigación.

A todos muchas Gracias.

CONTENIDO

	Pág.
CONTENIDO	VI
Resumen	X
1. Introducción	1
2. Marco Teórico	3
3. Planteamiento del Problema	9
4. Justificación	13
5. Hipótesis	15
6. Objetivos	15
7. Metodología	16
8. Resultados y Discusión	28
9. Conclusiones	51
10. Bibliografía	52

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de Muestreo para Muestras de Agua.

Anexo 2. Registros Fotográficos.

Anexo 3. Acta de Toma de muestras.

Lista de Tablas

Tabla 1. Eficiencias típicas de remoción de los principales tipos de humedales de tratamiento.	7
Tabla 2. Límites Máximos Permisibles de los Parámetros de Vertimientos para Aguas Residuales Provenientes de los Procesos de Postcosecha de Plátano y Banano.	19
Tabla 3. Técnica de análisis de parámetros / variables de agua residual.	24
Tabla 4. Análisis del agua residual de entrada y salida del reactor anaerobio empleando el método de atenuación natural.....	29
Tabla 5. Análisis de agua residual de la finca 2 antes del tratamiento y después del tratamiento...	30
Tabla 6. Resultados de los análisis de parámetros de entrada y salida del sistema de tratamiento de aguas residual de amonio cuaternario (TRH 10 días).	32
Tabla 7. Resultados de análisis del agua residual con concentración de 1500 mg/L de amonio cuaternario de los diferentes componentes del sistema de la PTAR. (TRH 24 días).....	33
Tabla 8. Caracterización microbiológica del afluente del reactor concentración de 1500 mg/L de amonio (expuestos TRH de 1 día) y siembra de 100µL a partir de dilución 10 ⁻¹	34
Tabla 9. Caracterización microbiológica del Efluente del reactor con bioaumentación y estimulación con melaza (expuestos a TRH de 5 días) y siembra de 100µL a partir de dilución 10 ⁻¹	35
Tabla 10. Caracterización microbiológica del Efluente del reactor con bioaumentación y estimulación con melaza (expuestos a TRH de 24 días) y siembra de 100µL a partir de dilución 10 ⁻¹	35
Tabla 11. Resultados de los efectos ocasionados por el vertimiento de agua residual en una muestra de suelo de la finca 2.	49

Lista de Ilustraciones

Pág.

Ilustración 1. Localización del Municipio Zona Bananera.	17
Ilustración 2. Planigrafía de la PTAR de aguas residuales de amonio cuaternario.....	21
Ilustración 3. Humedal artificial de la planta <i>Ludwigia</i> sp para tratamiento de aguas residuales ...	23
Ilustración 4. Ensayo con coliformes en distintas concentraciones de Qac.	36
Ilustración 5. Ensayos con <i>Salmonella</i> sp a distintas concentraciones de amonio cuaternario.	37
Ilustración 6. Ensayos con <i>Pseudomona</i> sp a distintas concentraciones de Qac.	38
Ilustración 7. Hongo Asilado del Afluente de la PTAR a distintas concentraciones de Qac.....	39
Ilustración 8. <i>Trichoderma</i> sp en el día 0 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.	40
Ilustración 9. <i>Trichoderma</i> sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.	41
Ilustración 10. <i>Trichoderma</i> sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.	42
Ilustración 11. <i>Levadura</i> en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.	43
Ilustración 12. <i>Levadura</i> en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.	44
Ilustración 13. <i>Levadura</i> en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.	45
Ilustración 14. <i>Fusarium</i> sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.	46
Ilustración 15. <i>Fusarium</i> sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.	47
Ilustración 16. <i>Fusarium</i> sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.	48

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
(símbolo)	Ordenados alfabéticamente; siglas en glosario.
m	Metro
mm	Milímetro
nm	Nanómetro

Resumen

Los productores colombianos de banano para la exportación se enfrentan a un gran reto. La llegada del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cubense* raza 4 tropical (Foc R4T); un hongo patógeno para los cultivos de musáceas que representa un gran peligro para la seguridad alimentaria de cientos de familias que se benefician de forma directa o indirecta de esta actividad agrícola.

En Colombia, como método de prevención y control contra la infección por Foc R4T, el ICA dentro del marco de sus competencias, reglamentó mediante la resolución 17334 del 2019, el uso de amonio cuaternario y cloruro de benzalconio como agentes desinfectantes, no obstante, la normativa no contempla el tratamiento y/o disposición final de las aguas residuales generadas en el uso de estos productos, los cuales representan un riesgo para el ambiente y salud pública si no se les da disposición final adecuada.

El objetivo de esta investigación propuso una solución técnica referente a la gestión inadecuada de las aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario, generadas por las industrias bananeras debido a las actividades de limpieza y desinfección reglamentadas en la resolución 17334 de 2019 para la prevención y el control del *Foc R4T*. Este estudio presenta una alternativa para el tratamiento de estos residuos líquidos que se generan en el lavado de botas y vehículos en fincas bananeras; utilizando métodos de depuración biológicos de fácil implementación, operación y bajo costo. Conjuntamente, se demuestra el impacto de la disposición inadecuada de estos residuos líquidos en el suelo sin un tratamiento previo. Además, se presentan pruebas que indican la posible ineficacia del amonio cuaternario frente a cepas de *Fusarium* sp bajo concentraciones superiores a las recomendadas para la disposición final de este tipo de aguas.

Con la aplicación de la tecnología de tratamiento propuesta, se logró una remoción de más del 99% del amonio cuaternario y más del 90% de la DBO y la DQO del agua residual; demostrando que es posible mediante la aplicación de un proceso de biodepuración, empleando la bioaumentación y estimulación de los microorganismos incorporados, es posible remover altas concentración de amonio cuaternario de las aguas residuales que se generan en el control y prevención del *Foc R4T* en las fincas de banano para la exportación.

Palabras claves: Foc R4T, Musáceas, Amonio cuaternario, cloruro de benzalconio, DBO, DQO.

Abstract

Colombian banana producers for export are facing a major challenge. The arrival of the fungus *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cubense* race 4 tropical (Foc R4T); a pathogenic fungus for musaceous crops that represents a great danger for the food security of hundreds of families that benefit directly or indirectly from this agricultural activity.

In Colombia, as a method of prevention and control against infection by Foc R4T, the ICA within the framework of its competences, regulated through resolution 17334 of 2019, the use of quaternary ammonium and benzalkonium chloride as disinfectant agents, however, the regulation does not contemplate the treatment and/or final disposal of wastewater generated in the use of these products, which represent a risk to the environment and public health if they are not given adequate final disposal.

The objective of this research proposed a technical solution regarding the inadequate management of wastewater contaminated with quaternary ammonium, generated by banana industries due to cleaning and disinfection activities regulated in resolution 17334 of 2019 for the prevention and control of Foc R4T. This study presents an alternative for the treatment of these liquid wastes generated in the washing of boots and vehicles in banana farms; using biological purification methods of easy implementation, operation and low cost. In addition, the impact of the inadequate disposal of these liquid wastes in the soil without previous treatment is demonstrated. In addition, evidence is presented indicating the possible ineffectiveness of quaternary ammonium against strains of *Fusarium* sp at concentrations higher than those recommended for the final disposal of this type of water.

With the application of the proposed treatment technology, a removal of more than 99% of quaternary ammonium and more than 90% of BOD and COD from wastewater was achieved, demonstrating that it is possible through the application of a biodepuration process, using bioaugmentation and stimulation of the incorporated microorganisms, it is possible to remove high concentrations of quaternary ammonium from wastewater generated in the control and prevention of Foc R4T in banana farms for export.

Keywords: Foc R4T, Musaceae, Quaternary ammonium, benzalkonium chloride, BOD, COD.

1. Introducción

Los Compuestos de amonio cuaternario (QAC en adelante) son agentes tensoactivos catiónicos, compuesto por una fracción catiónica de nitrógeno unido a cuatro cadenas alquílicas y un halógeno (anión) que generalmente es cloro o bromo para formar la sal QAC (Gerba, 2015; Proquimia, 2020).

Los QAC se introdujeron en el año 1916 por Jacobs, quien destacó las propiedades biocidas del mismo (Jacobs, 1916). Posteriormente modificado en 1935 por Domagk, desarrollando el amonio cuaternario de primera generación o cloruro de alquildimetilbencil amonio (Domagk, 1935).

En 1955 se creó la tercera generación de amonios cuaternarios, el cual proporcionaba mejoras en su actividad biocida y detergencia a la par que disminuía su toxicidad. En 1965, debido a mejores técnicas en la síntesis química, se desarrolló la cuarta generación; cloruro de alquil dimetil amonio, el cual se caracteriza por una mayor eficacia biocida respecto a las generaciones anteriores; especialmente en presencia de suciedad orgánica y/o aguas duras (Proquimia, 2020).

Finalmente, los compuestos de quinta generación corresponden a mezclas de moléculas de segunda y cuarta generación, como cloruro de alquil-dimetil-etil-bencil amonio, cloruro de didecil-dimetil amonio más otras moléculas según las diferentes formulaciones, obteniendo un mayor rendimiento microbicida especialmente en condiciones ambientales difíciles (Diomedi *et al.*, 2017)

‘Los biocidas desempeñan un papel fundamental en el control de la propagación de agentes patógenos transmitidos por el medio ambiente en los entornos de atención médica y procesamiento de alimentos, así como en el hogar’ (Gerba, 2015).

Por lo que el amonio cuaternario tiene una gran utilidad a nivel industrial, agroindustrial y hospitalario como un desinfectante y/o limpiador (Diomedi , et al., 2017)

Por otra parte, aunque Madueña-Delgado (2018) demostró que el amonio cuaternario en conjunto con el hierro puede ser utilizados en la remoción de la turbidez, materia orgánica y descontaminación de efluentes provenientes de reactores UASB. Teniendo en cuenta que las moléculas de amonio cuaternario están cargadas positivamente y que además es conocida la eficacia

del hierro en los procesos de coagulación. No existen investigaciones orientadas al tratamiento de aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario.

En Colombia, como método de prevención y control contra la infección con *Fusarium oxysporum f. sp. Cubense* raza 4 tropical, el ICA dentro de sus competencias, reglamentó mediante la resolución 17334 del 2019, el uso de amonio cuaternario y cloruro de benzalconio como agentes desinfectantes, no obstante, la normativa no contempla el tratamiento y/o disposición final de las aguas residuales generadas en los procesos de desinfección, que se encuentran contaminadas con estos agentes tensoactivos catiónicos. ‘A pesar del gran número de aplicaciones y de las ventajas que presentan estos compuestos en el ámbito industrial y sanitario; desde un punto de vista ambiental, son considerados como un importante contaminante del medio acuático’ (Ríos Ruiz, 2015).

Lo anterior puede desencadenar problemas de contaminación por subproductos del amonio cuaternario en el suelo y agua, que podrían afectar la productividad de la Zona Bananera. Debido a malas prácticas de disposición final de las aguas usadas en los procesos de desinfección, que en conjunto con los ciclos biogeoquímicos y otros procesos que tienen lugar en el planeta, pueden generar disminución de la productividad de los suelos, debido a interrupciones en las interacciones bióticas, y a su vez, podría generar toxicidad en el agua, en especial para los organismos acuáticos como se especifica en las distintas fichas de manejo de este tipo de compuestos.

La contaminación con amonio cuaternario y subproductos de este podría extenderse hasta la Ciénaga Grande de Santa Marta (CGSM), debido a procesos de escorrentía que pueden arrastrar los contaminantes hasta distintos cuerpos lóticos que convergen en la CGSM. ‘Los compuestos nitrogenados, tienen un alto efecto tóxico sobre los anfibios y sobre la biodiversidad en general, dependiendo de los niveles a los cuales se encuentren expuestos’ (Marco, 2002).

La polución del acuífero con compuestos nitrogenados por infiltración, debido a la disposición final de aguas contaminadas con amonio cuaternario en pozos de absorción a profundidades que oscilan entre 1 y 1,5 metros, podría desencadenar problemas de salud pública, debido a que el municipio Zona Bananera se abastece de aguas subterráneas para el consumo, sin tratamiento previo. Sumado a ello, muchos habitantes cuentan con pozos subterráneos construidos de manera artesanal con profundidades no superiores a 10 metros, de los cuales se abastecen.

Asimismo, se puede generar contaminación cruzada en la fruta, debido al uso de aguas del subsuelo para riego de cultivos.

La implementación de diseños de sistemas de tratamientos biológicos de aguas residuales derivadas de la utilización de amonio cuaternario apunta a garantizar la seguridad alimentaria de las familias que sustentan su economía en el banano. Aunado a ello, contribuirá a la mitigación de los impactos de contaminantes nitrogenados a la CGSM, lo cual, beneficiaría a las poblaciones que viven de la pesca y conservación de los ecosistemas.

El tratamiento biológico asistido por aireación difusa empleando la bioaumentación y bioestimulación con materia orgánica y melaza de caña, constituye una tecnología de fácil diseño, operación y representa una alternativa de bajo costo para el tratamiento biológico de las aguas contaminadas con amonio cuaternario.

Se comprobó que los porcentajes de remoción superan el 99% para el amonio cuaternario y más del 90% para la DQO; con tratamientos complementarios orientados al pulimiento del efluente, es posible conseguir el cumplimiento de los LMP de los parámetros de vertimiento estipulados por la resolución 0631 de 2015 para la postcosecha de banano.

2. Marco Teórico

El *didecil dimetil* amonio y el Cloruro de benzalconio, son compuestos a base de sales de amonio; este conjunto de compuestos representa una familia de antimicrobianos en los cuales las cuatro valencias del átomo de nitrógeno están ocupadas por grupos tipo alquilo de complejidad variable (Martí-Solé, Alonso-Espadalé, & Constans-Aubert, 1999; Cuenca-Osorio & Elena, 2006).

A diferencia del ion amonio (NH_4^+); los cationes de amonio cuaternario están cargados permanentemente, independientemente del pH de la solución. Si bien, esta familia de compuestos es considerablemente potentes en cuanto a su actividad bactericida, especialmente en bacterias gram

positivas y gram negativas, la efectividad sobre las segundas es menor que en las primeras. Al mismo tiempo que son menos efectivos en medios ácidos (Vallejos, 2009; Madueño-Delgado, 2018)

Los compuestos de amonio cuaternario, son entonces biocidas que eliminan, contrarrestan, neutralizan o impiden la acción de diversos tipos de microorganismos considerados nocivos para el ser humano; su uso indiscriminado y poco selectivo también afecta a otros microorganismos beneficiosos que cumplen roles fundamentales en la naturaleza. Además, las aguas residuales contaminadas con estos compuestos contaminan los ríos y la fauna (Cardona-López & Drada-Hurtado, 2022).

Aunque comúnmente los compuestos de amonio cuaternario pueden ser incompatibles con las sales de calcio y magnesio, disminuyendo su eficacia a medida que aumenta la dureza; Los productos de quinta generación son reconocidos por su excelente eficiencia en presencia de material orgánico, incluyendo aguas duras y suelos pesados, teniendo como características particulares la no dependencia de pH, el amplio rango de temperaturas al que actúa y la resistencia a la luz (Troya-Chavarriaga, 2007; Basicfarm, 2020).

Lo anterior, permite inferir que el amonio cuaternario puede disminuir su eficacia en presencia de materia orgánica, por tanto, existe la posibilidad de un tratamiento biológico de aguas contaminadas con amonio cuaternario, bajo las condiciones hidráulicas y biológicas adecuadas.

La biorremediación de las aguas está basada en la función natural de los microorganismos para cerrar los ciclos elementales en la tierra. En sistema de tratamiento biológico de aguas residuales se emplean los microorganismos que proliferan de forma natural en el medio ambiente. Mediante la ingeniería del sistema, los requerimientos naturales para alcanzar la bioconversión, como la aireación y la cantidad necesaria de biomasa, pueden ser satisfechos. Además, el diseño de estos procesos está fundado en la creación y explotación de nichos ecológicos para seleccionar los microorganismos mejores adaptados. La presión selectiva puede surgir a partir de la disponibilidad de un donador de electrones (generalmente materia orgánica), un aceptor de electrones (tales como oxígeno o nitrato), nutrientes, pH, temperatura, hidrodinámica (arrastre de microorganismos no adheridos), entre otros factores (Comeau, 2017).

Los procesos que se presentan en un sistema de tratamiento de aguas residuales reproducen los procesos naturales que tienen lugar en un cuerpo de agua después de una descarga de aguas

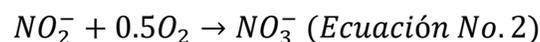
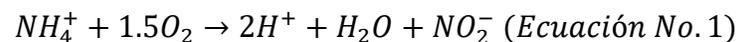
residuales, pero la diferencia radica en la introducción de tecnología. El objeto de esta tecnología es la depuración bajo condiciones controladas (Von-Sperling & De Lemons-Chenicharo, 2005, P. 297)

La teoría biológica tradicional de eliminación de nitrógeno es la nitrificación y desnitrificación secuenciales basadas en los metabolismos bacterianos. Inicialmente, el nitrógeno orgánico de las aguas residuales es descompuesto y transformado en nitrógeno amoniacal por bacterias heterótrofas. Posteriormente, el nitrógeno amoniacal es transformado en nitrito por las bacterias autótrofas oxidantes del amoníaco (AOB) y luego se transforma en nitrato por las bacterias oxidantes del nitrito (NOB). De esta manera, el proceso completo de nitrificación se logra mediante el esfuerzo conjunto de AOB y NOB. Finalmente, el nitrato en las aguas residuales se convierte en nitrógeno gaseoso por acción de las bacterias desnitrificantes heterótrofas, lo que se conoce como desnitrificación (Zheng & Ni, 2019).

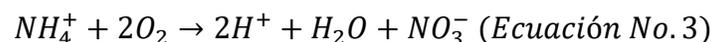
Para que se dé la conversión del amonio libre (NH_3) y amonio salino (NH_4^+) a nitrito, es necesaria la presencia de oxígeno (superior a 2.0 mg/L), subsecuentemente el nitrito es oxidado a nitrato. Una enzima funcional clave que poseen todas estas bacterias es la Amoníaco Monooxigenasa (AMO). Esta enzima oxida el amoníaco a hidroxilamina, que posteriormente se convierte en nitrito por la hidroxilamina oxidoreductasa (United States Environmental Protection Agency [USEPA], 2010; Hernández, *et al.*, 2017)

La nitrificación biológica, seguida de la desnitrificación, es ampliamente utilizada para la eliminación de nitrógeno en aguas residuales contaminadas con compuestos que contienen amoníaco y nitrógeno orgánico (Weon, Lee, & Koopman, 2004)

La USEPA (1993) afirma que la ecuación estequiométrica para la oxidación de amonio a nitrito por Nitrosomonas y para nitrito por Nitrobacter son:



La expresión de la oxidación general del amonio por ambos grupos se obtiene sumando las ecuaciones:



En concordancia con lo expresado, sobre la Biorremediación; la fitorremediación también contribuye, a esos procesos de degradación del nitrógeno por absorción directa y/o participación en el ciclo biogeoquímico de este elemento y se refiere a un conjunto de métodos que utilizan plantas para remover, transferir, estabilizar y concentrar contaminantes en el agua, suelo y lodos. Los mecanismos de la fitorremediación comprenden el uso de plantas para la degradación en la rizosfera, la extracción, degradación y estabilización de los contaminantes (USEPA, 2000).

Los humedales artificiales son tecnologías que implementan la utilización de plantas con bajos requisitos de operación y mantenimiento, el rendimiento es menos susceptible a las variaciones del flujo y fluctuaciones en las concentraciones del influente. Si las condiciones del terreno lo permiten pueden operar sin bombas, por tanto, sin ningún aporte de energía externa. Lo que los hace especialmente adecuados para su uso como pequeños sistemas de tratamiento descentralizados (Dotro, et al., 2017).

Esta tecnología es una combinación de agua, medios, plantas, microorganismos y otros animales. Lo que eventualmente origina que actúe como un biofiltro, eliminando contaminantes tales como metales pesados y contaminantes orgánicos de las aguas. Las plantas pueden suministrar carbono y otros nutrientes a través de sus raíces, facilitando el crecimiento y rápida multiplicación de la microbiota. Además permite la formación de un gradiente de concentración de oxígeno en el sistema, generando la aparición de una zona aerobia, una zona anóxica y una zona anaerobia en el humedal (Verma, Tiwari, Tripathi, & Ramteke, 2019). Los humedales artificiales tienen un gran potencial para la eliminación de nitratos del agua residual, sin embargo, requieren tiempos de retención muy prolongados en comparación con los métodos tradicionales.

En los humedales artificiales se desarrollan un amplio rango de procesos biológicos, químicos y físicos. Por tanto, la influencia e interacción de cada componente involucrado es bastante compleja; permitiendo la remoción de sólidos mediante la sedimentación y filtración, nitrógeno amoniacal, patógenos y remoción de materia orgánica por degradación microbiana (aeróbica y anaeróbica) y por la acumulación de material orgánico en la superficie del sedimento ver tabla 1. Por su parte, las macrófitas proveen buenas condiciones para la filtración física y una superficie grande para el crecimiento microbiano adjunto. Otra de sus propiedades es la transferencia de oxígeno a la rizosfera. El consumo de nutrientes por la planta no juega un rol importante. Sin embargo, en los

humedales se dan las condiciones para la amonificación, seguida por nitrificación y desnitrificación amoniacal (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010).

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó la planta acuática de sistemas pantanosos *Ludwigia* sp. *Ludwigia* es un género pantropical, descrito por Linneo en honor al botánico alemán Christian G. Ludwig (1709-1773); representado por 82 especies a nivel mundial, distribuido ampliamente en Sur y Norte América. El género comprende hierbas erectas o postradas, acuáticas o helófitas, flotantes, los tallos sumergidos forman neumatóforos, esponjosos, blancos; algunas especies se desarrollan en lugares pantanosos (Cumana, 2010).

Tabla 1. Eficiencias típicas de remoción de los principales tipos de humedales de tratamiento.

Parámetro	Flujo Horizontal	Flujo Vertical ^a	Flujo Vertical Frances	De lámina libre
Aplicación Principal	Secundario	Secundario	Primario y Secundario combinado	Terciario
Sólidos Suspendidos totales	>80%	>90%	>90%	>80%
Nitrógeno Amoniacal	>80%	>90%	>90%	>80%
Nitrógeno Total	20-30%	>90%	>90%	>80%
Fosforo Total (Largo Plazo)	30-50%	<20%	<20%	30-50%
Coliformes	2 Log ₁₀	2-4 Log ₁₀	1-3 Log ₁₀	1 Log ₁₀

a: Lecho de una etapa, capa principal de arena (tamaño de grano 0,06 – 4 mm)

Nota. Los porcentajes típicos de remoción de nutrientes de los principales tipos de humedales construidos teniendo en cuenta la fase del tratamiento donde se utilice. Tomado de *Biological Wastewater Treatment Series: Treatment Wetlands* (p. 4), por Dotro, *et al.*, 2017. IWA Publishing.

3. Planteamiento del Problema

El banano es el cuarto cultivo alimentario más importante a nivel mundial en cuanto a producción bruta. Es un producto de exportación; como alimento básico, los bananos, incluidos los plátanos y otros tipos de bananos de cocción, contribuyen a la seguridad alimentaria de millones de personas y proporcionan ingreso y empleo a las poblaciones rurales (Arias, P., Dankers, Liu, & Pilkauskas, 2004).

El Banano en Colombia, se constituye en el tercer producto agrícola de exportación. Este sector aporta 168.781 empleos en el contexto nacional, de los cuales 42.069 son directos y 126.713 indirectos, de estos, 51.821 son aportados por la Región Caribe, es decir, un 30,7%; 12.916 directos y 38.905 indirectos, con una contribución estimada de 8,66% al empleo del Magdalena y de 1,54% de La Guajira (Asociación de Bananeros del Magdalena y La Guajira [ASBAMA], 2019).

El sector bananero constituye entonces un aporte importante a la economía regional y nacional: ‘En 2019, los ingresos del subsector bananero en el país superaron los novecientos treinta millones de dólares’ (Departamento Administrativo Nacional De Estadísticas [DANE], 2021)

Actualmente los bananeros se enfrentan a un reto, que pone en peligro la seguridad alimentaria de millones de familias, debido a la entrada al país del hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 4 tropical (FOC R4T), agente productor de la mancha de madurez por *fusarium* sp. En la Actualidad no se conoce a nivel mundial, ninguna variedad de *musáceas* resistentes a esta especie. Martínez et. al. (2020) afirmaron que “FOC R4T a través de sus variantes tropicales y subtropical, ataca a todos los clones Cavendish y no existen clones naturales que puedan sustituir a los actuales”.

El ICA dentro del marco de sus competencias, frente a este agente biológico que amenaza todos los cultivos bananeros del país, reglamentó mediante la resolución No. 00017334 ‘Usar un producto desinfectante a base de cloruro de didecil dimetil amonio (amonio cuaternario) al 12% de ingrediente activo (120 g/L) (120.000 mg/L) o cloruro de benzalconio con ingrediente activo mayor o igual al 10%. Diluir el producto desinfectante a una concentración del 1%’ significaría utilizar disolución de 1200 mg/L de Amonio cuaternario (Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2019). A pesar, que la normativa apunta a disminuir el impacto por el FOC R4T, la resolución no considera

el tratamiento y/o disposición final de las aguas residuales generadas durante los procesos de desinfección de lavado de botas y vehículos.

El amonio cuaternario es un compuesto tensoactivo catiónico utilizado para la desinfección dada sus características biocidas. Incorporar estos compuestos al ambiente sin ningún tipo de control puede causar efectos altamente negativos sobre la naturaleza y ocasionar deterioro a la salud de las personas y, puede ser un componente importante de contaminación cruzada en la fruta por lavado de esta o por efectos del ciclo hidrológico y riego del cultivo.

Desde una visión ecosistémica, las alteraciones se dan de forma individual o en conjunto sobre el suelo, agua, fauna y flora. La naturaleza química del contaminante constituye un papel sustancial sobre los impactos. “Los amonios cuaternarios son agentes tensoactivos catiónicos potentes en cuando a su actividad desinfectante con un amplio espectro que incluye hongos, bacterias y virus encapsulados, debido a su gran actividad química” (Alba Torres & Araujo Estrada, 2008).

En este sentido, cualquier concentración es capaz de ocasionar daños en el medio, en menor o mayor proporción. Los compuestos xenobióticos como el amonio cuaternario pueden causar eliminación selectiva de las especies más sensibles y interrupciones de las interacciones bióticas que amplifican la vulnerabilidad de distintas especies a estresantes naturales (Gutierrez, 2012).

En consecuencia, descargar estas aguas contaminadas con amonio cuaternario y/o cloruro de benzalconio directamente sobre el suelo, tiene efectos adversos sobre la microbiota, restringiendo la capacidad de mantenimiento natural y preservación del suelo; sin microorganismos no hay bioestructura, movilización de nutrientes, fijación de nitrógeno del aire, retención de agua contra la gravedad (Primavesi, 1984).

Pueden existir otro tipo de interacciones con el medio; debido a las precipitaciones, una fracción de los compuestos del amonio cuaternario o subproductos de este podrían ser transportados por las corrientes hídricas superficiales y contaminar sistemas adyacentes como la CGSM, lo cual no solo incluye los efectos adversos sobre la biodiversidad de la región, la economía de cientos de familias y la posible limitación de los procesos de depuración que ahí dan lugar. Sino que el conjunto

de todo lo anterior, engloba un componente internacional que podría llevar a la descategorización de la CGSM como reserva de biosfera y de humedales Ramsar. Asimismo, los organismos reguladores del sector bananero podrían asumir implicaciones jurídicas, teniendo en cuenta que existen políticas internacionales de conservación de este tipo de ecosistemas. Al tiempo, que toda esta contaminación, contraviene al esfuerzo de la Corporación Autónoma Regional del Magdalena, a las estipulaciones del Ministerio del Medio Ambiente y a las políticas de desarrollo departamental que buscan que la CGSM sea un sistema de explotación turística ecológica. Lo que a futuro puede generar que estos sistemas continentales costeros ocasionen alteraciones en la zona litoral del departamento del Magdalena.

La contaminación de los acuíferos por infiltraciones generadas en el suelo es otra de las alteraciones o implicaciones por utilización de amonio cuaternario, un porcentaje importante de productores bananeros vierten estos residuos en pozos de absorción con profundidades entre 1 y 1,5 metros; generando posiblemente contaminación a las aguas freáticas, lo que puede afectar de manera indirecta los sistemas de riego, los cuales podrían bioacumularse en la fruta, afectando de forma negativa su exportación, dados los límites máximos de residuos -MRL en alimentos; para el caso de amonio cuaternario en Europa, es de 0,1 mg/Kg (Reglamento (UE) n° 1119/2014 de la Comisión, de 16 de octubre de 2014, 2014). Ocasionando así, posibles pérdidas en el sector económico. Las aguas del subsuelo constituyen un recurso importante para el municipio Zona Bananera, usualmente es el recurso con el cual se abastecen de agua para consumo humano. ‘Localidades como Orihueca, Riofrío, La Gran Vía, Soplador, Sevilla, Guamachito y Tucurínca se abastecen de agua de pozos profundos’ (Alcaldía Municipio Zona Bananera, 2001, P. 184)

La contaminación de un acuífero depende en gran medida del tipo de actividad que realice:

Hirata (2002), afirmó que la intensidad de la contaminación de un acuífero no es una función directa del tamaño de la actividad antrópica. Pequeñas actividades, pueden causar gran impacto en las aguas subterráneas, puesto que muchas veces actúan clandestinamente, sin registros comerciales ni fiscalización de entidades de control ambiental y de salud pública.

En esta medida, los pequeños productores bananeros son un importante foco de contaminación dado que sus vertimientos se realizan semana a semana. No obstante, los grandes productores suman un aporte considerable, teniendo en cuenta que no existe regulación dentro de la resolución 17334 del 2019. Adicional a esto, las medidas de bioseguridad adoptadas para prevenir la infección con *Fusarium* sp serán utilizadas hasta que se encuentre y reemplace el cultivo con un clon natural resistente al FOC R4T. En tal efecto, no se tiene certeza por cuánto tiempo se extenderá el uso de estos biocidas.

Anexo a todos los efectos adversos anteriormente expuestos. El amonio cuaternario es capaz de causar distintas afecciones a la salud de las personas. Las cuales pueden darse por distintas vías de exposición, como lo afirman (Peña, Carter, & Ayala-Fierro, 2001):

Cuando un toxico alcanza el torrente sanguíneo, se considera que penetró el organismo y desde el momento en que estas sustancias penetran en el organismo, entran en procesos de biotransformación, pudiendo generar sustancias más dañinas, con la capacidad de causar daños permanentes en uno varios órganos.

Patiño-Bello *et al.* (2018) afirman que estos daños se pueden dar a nivel endocrino cuando las vías de exposición están relacionadas con el consumo de alimentos con altos residuos de contaminantes químicos.

Si bien es cierto que “el amonio es un producto tóxico procedente del metabolismo proteico y otra parte se genera en los músculos ejercitados y en los riñones...” (Carrillo-Esper *et al.*, 2008; Idrovo, 2003) Disrupciones en este ciclo pueden ocasionar unas patologías clínicas potencialmente peligrosas, como “...daños el sistema nervioso central en animales y en humanos hipertonia y convulsiones (Piola, Ezpeleta, Prada, & Evangelista, 2004).

El consumo de aguas contaminadas con compuestos nitrogenados puede dar lugar a deformaciones congénitas, durante la formación de los fetos; Oliva y Caravaca (2017) afirman que la presencia de nitratos en aguas subterráneas puede provocar metahemoglobinemia, en la población lactante. Estos nitratos unidos a otras sustancias como son las amidas/aminas pueden dar lugar a la formación de compuestos conocidos como nitrosaminas, con efectos teratogénicos.

Por otra parte, aunque Madueña-Delgado (2018) demostró que el amonio cuaternario en conjunto con el hierro puede ser utilizados en la remoción de la turbidez, materia orgánica y descontaminación de efluentes provenientes de reactores UASB. Teniendo en cuenta que las moléculas de amonio cuaternario están cargadas positivamente y que además es conocida la eficacia del hierro en los procesos de coagulación. No existen investigaciones orientadas al tratamiento de aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario.

Por lo expresado anteriormente sobre los diferentes efectos ambientales, donde radica la importancia de establecer medidas para mitigar la contaminación por el uso de amonio cuaternario en plantaciones de banano se plantea ¿son los Sistemas de Tratamientos Biológicos asistidos por aireación difusa una opción viable para disminuir la contaminación por cloruro de didecil dimetil amonio?

4. Justificación

El banano es el tercer producto agrícola de mayor exportación en el contexto nacional. En 2021, los ingresos del subsector superaron los mil millones de dólares y se generaron más de 168.000 empleos entre directos e indirectos (ASBAMA, 2019; DANE. 2021).

La entrada del FOC R4T al País constituye un riesgo que pone en peligro la seguridad alimentaria de cientos de familia. Debido a esto, el ICA mediante la resolución No. 00017334 reglamentó un sistema de bioseguridad que incluye el uso de desinfectantes a base de cloruro de didecil dimetil amonio con ingrediente activo de 120 g/L o cloruro de benzalconio con ingrediente activo no inferior al 10%; ambos productos deben ser diluidos al 1% (ICA, 2019). A pesar de apuntarle a la mitigación del riesgo de contaminación de los cultivos con el FOC R4T, la resolución no considera el tratamiento y/o disposición final de las aguas residuales generadas durante la desinfección y lavado de botas y vehículos.

Según Asbama existen alrededor de 781 productores de acuerdo con el censo de 2014, agremiados en diferentes comercializadoras como Uniban, Tecbaco, Banasan, Banarica, Fullfruits,

compras Américas, la Samaria y otras comercializadoras. En la actualidad según encuesta adelantada en el marco de esta investigación cada parcela productora estaría produciendo a la semana aproximadamente 20 L de agua residual de Cloruro de didecil dimetil amonio, lo que se constituye en 15,6 m³ semanales y 187,4 m³ producción anual de residuos líquidos.

Esta investigación permitió estudiar y proponer un método orientado a la mitigación del problema de disposición final inadecuada de estas aguas contaminadas con amonio cuaternario generadas en los procesos de desinfección de botas y lavado de vehículos en las fincas bananeras en su esfuerzo por salvaguardar las plantaciones de la infección con FOC R4T.

Las implicaciones de la gestión inadecuada de estas aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario podrían acarrear consecuencias a nivel ambiental, socioeconómico y de salud pública en el área de influencia y zonas contiguas. Las consecuencias en cuanto a salud pública involucran cuadros clínicos que van desde alteraciones en el ciclo de la urea en el organismo, hasta mutaciones genéticas, debido a la exposición en diferentes escalas de tiempo y concentraciones de contaminantes nitrogenados en las aguas de consumo (Peña *et al.*, 2001; Piola *et al.*, 2004; Oliva & Caravaca, 2017)

Desde esta perspectiva, esta investigación es necesaria para salvaguardar la salud ambiental, el sector económico y la salud pública, teniendo en cuenta los efectos que podrían presentarse en el mediano y largo plazo por la contaminación con amonio cuaternario y subproductos del mismo en conjunto con los procesos que se dan de forma natural, como son el ciclo hidrológico, ciclo del nitrógeno, entre otros, que podrían contaminar los acuíferos, afectar los distintos biotopos y por consiguiente el equilibrio de los ecosistemas.

Mitigar la contaminación de acuíferos por amonio cuaternario y disminuir el riesgo sanitario de miles de familias, las cuales se abastecen de aguas subterráneas extraídas de profundidades que no superan los 15 metros. La implementación de diseños de sistemas de tratamientos biológicos de aguas residuales derivadas de la utilización de amonio cuaternario apunta a garantizar la seguridad alimentaria de las familias que sustentan su economía en el banano. Aunado a ello, contribuirá a la mitigación de los impactos de contaminantes nitrogenados a la CGSM, lo cual, beneficiaría a las poblaciones que viven de la pesca. Así mismo disminuir los riesgos de contaminación cruzada en el

banano, asegurando la inocuidad del producto, tanto, contribuye con las certificaciones internacionales que rigen la exportación de la fruta en seco, tales como HACCP, GLOBAL G.A.P, RAINFOREST, entre otras.

5. Hipótesis

La combinación de adicionar materia orgánica, y aireación difusa en aguas residuales es una técnica apropiada para mitigar la contaminación por cloruro de didecil dimetil amonio.

La adición de materia orgánica en aguas residuales con cloruro de didecil dimetil amonio contribuye a restablecer el crecimiento microbiano.

A mayores concentraciones de cloruro de didecil dimetil amonio menor es el crecimiento microbiano.

6. Objetivos

1.1 General

Diseñar e implementar un sistema de tratamiento biológico piloto para mitigar la contaminación por la utilización de amonio cuaternario a base de cloruro de didecil dimetil amonio en la Zona Bananera del Magdalena.

1.2 Específicos

- Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente las aguas residuales de las zonas de bioseguridad de las empresas productoras de banano.
- Diseñar e implementar un sistema de tratamiento biológico para el tratamiento de amonio cuaternario a base de cloruro de didecil dimetil amonio.
- Cuantificar las cargas y porcentajes de remoción del sistema de tratamiento.
- Determinar la dinámica de crecimiento microbiano frente a diferentes concentraciones de cloruro de didecil dimetil amonio.

7. Metodología

7.1. Área de Estudio

El estudio se adelantó en el municipio Zona Bananera. Este municipio se encuentra al Norte del Departamento del Magdalena, limitando al Sur con el municipio de Aracataca (agua divisoria del río Tukurinca); al Norte con el municipio de Ciénaga (Quebrada de Aguja); al Oriente con el municipio de Ciénaga (pie de monte Sierra Nevada de Santa Marta) y al Occidente con el municipio de Pueblo Viejo (terrenos de aluvión de la Ciénaga Grande de Santa Marta). El Municipio se encuentra a una distancia de 87 Kilómetros de la capital (Santa Marta), desde el extremo sur del municipio y a 40 Kilómetros. desde la cabecera municipal, Prado Sevilla. (Alcaldía Municipio Zona Bananera, 2001).

El municipio se encuentra conformado por 14 corregimientos y 56 veredas, los corregimientos que lo conforman son los siguientes: Sevilla, Rio frío, Guamachito, Soplador, Palomar, Varela, La Gran Vía, Santa Rosalía, Orihueca, Guacamayal, Tukurinca, Candelaria, San José de Kennedy y Julio Zawady (Alcaldía de Zona Bananera, 2020).

Las condiciones ambientales del municipio registra un clima cálido con temperaturas que superan los 30° en periodos secos con humedad relativa del 84% con precipitaciones entre 0 - 0.4 mm en periodos secos y rangos de 168 -192 mm en periodos lluviosos la precipitación anual oscila entre 100- 1200 mm sin embargo el municipio registra déficit de precipitaciones por lo que existe un requerimiento entre 700 -900 mm/año viéndose en la necesidad de recurrir a sistemas de riego para el sostenimiento de cultivos. (Alcaldía de Zona Bananera, 2020).

El municipio cuenta con tres cuencas (ríos Tukurinca, Sevilla y Riofrío) que mantienen agua durante todo el año; a pesar que el número de microcuencas afluentes es bastante alto, la mayoría son sistemas intermitentes, Sin embargo, la zona plana baja tiene un alto volumen de agua subterránea, debido a que el nivel freático está cerca de la superficie del suelo; esto influenciado por la relativa cercanía a la Ciénaga Grande. La extracción de esta agua ha permitido el avance de la cuña salina con graves efectos para la agricultura. En épocas de fuerte lluvia se desbordan los ríos y sus afluentes, ocasionando inundaciones en ciertos sectores de sus cauces produciendo daños

7.2. Secuencia General de Sistema de Tratamiento del Agua Residual

Inicialmente se realizó una caracterización del agua residual de los pediluvios de las fincas # 1 y 2, llamadas así con el objetivo de mantener la confidencialidad solicitada por el productor bananero; ambas fincas se encuentran ubicadas en el corregimiento de Orihueca. Las aguas residuales de dichas fincas contenían una concentración de amonio cuaternario de 1150 y 1200 mg/L respectivamente ver tabla 4 y 5 sección antes del tratamiento. Posterior a la caracterización se proyectó un proceso de depuración biológica del agua residual, que consistió en la aplicación de métodos de atenuación natural, bioaumentación y bioestimulación.

El método de atenuación natural se hizo con el objetivo de observar si se registraba una actividad biológica que contribuyera a la remoción y degradación del contaminante por acción de la posible presencia microorganismos en el agua, para este ensayo se utilizó un tanque plástico de 50 litros de capacidad y agua residual con una concentración de 1150 mg/L proveniente de la Finca 1.

El método de bioaumentación se hizo en tanques plásticos de 50 litros y con el agua residual de la finca # 2 agregando estiércol bovino fresco al 5% p/v (contiene gran variadas de comunidades microbianas con actividad facultativas y metanogénicas), con el fin de observar el comportamiento del contaminante frente a la presencia de materia orgánica y poder estimular la cinética de crecimiento y metabolismo de los microorganismos presente en la muestra de agua residual.

Una vez realizados los ensayos de Biorremediación por los métodos de Atenuación Natural y Bioaumentación, cada uno de manera independiente; se procedió a la puesta en marcha del diseño o tren de tratamiento propuesto, se realizó con agua residual preparada a partir de agua subterránea con una conductividad de 876 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y una dureza de 150 mg/L CaCO_3 adicionando amonio cuaternario hasta obtener una concentración inicial de amonio cuaternario de 1500 mg/L, superior a la concentración de desinfección utilizada por los productores bananeros (1200mg/L). Posteriormente se llevó a cabo un proceso de bioaumentación, agregando estiércol bovino fresco con concentración al 10% p/v y estimulación aplicando 500 mililitros melaza de caña al 50% v/v, es decir, una concentración final de melaza del 1%.

Complementarios a dicho sistema de bioaumentación, se implementó un humedal artificial horizontal de lámina libre, empleando la planta *Ludwigia* sp con el objetivo de pulir el efluente proveniente de los reactores anaerobio y aerobio, con el propósito de garantizar el cumplimiento de los límites máximos permisibles de los parámetros de vertimiento estipuladas en la resolución 0631 de 2015, los cuales se detallan en la Tabla 2.

Finalmente se realizó una serie de ensayos de sensibilidad basados en la metodología propuesta por Luna. 2020 y con el objeto de determinar la dinámica de crecimiento microbiano frente a diferentes concentraciones de cloruro de didecil dimetil amonio, teniendo en cuenta que este compuesto actúa como un biocida y puede representar una interferencia en los procesos de depuración.

Estos ensayos se adelantaron de manera simultánea con la puesta en marcha del sistema de tratamiento. Este tipo de pruebas pueden brindar herramientas para determinar las concentraciones de Amonio que inhiben el crecimiento microbiano y posiblemente como una aproximación para determinar los límites máximos permisibles para realizar vertimientos de este tipo de agua residual a los ecosistemas (sistemas hídricos y suelo).

Tabla 2. Límites Máximos Permisibles de los Parámetros de Vertimientos para Aguas Residuales Provenientes de los Procesos de Postcosecha de Plátano y Banano.

PARÁMETRO	UNIDADES	PROCESOS POSTCOSECHA DE PLÁTANO Y BANANO
Generales		
pH	Unidades de pH	6,00 a 9,00
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O ₂	200,00
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L O ₂	50,00
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	100,00
Sólidos Sedimentables (SSED)	mg/L	5,00
Grasas y Aceites	mg/L	10,00
Compuestos Semivolátiles Fenólicos	mg/L	Análisis y Reporte
Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	mg/L	Análisis y Reporte
Hidrocarburos		
Hidrocarburos Totales (HTP)	mg/L	
Compuestos de Fósforo		
Ortofosfatos (P-PO ₄ ³⁻)	mg/L	
Fósforo Total (P)	mg/L	Análisis y Reporte
Compuestos de Nitrógeno		
Nitratos (N-NO ₃ ⁻)	mg/L	

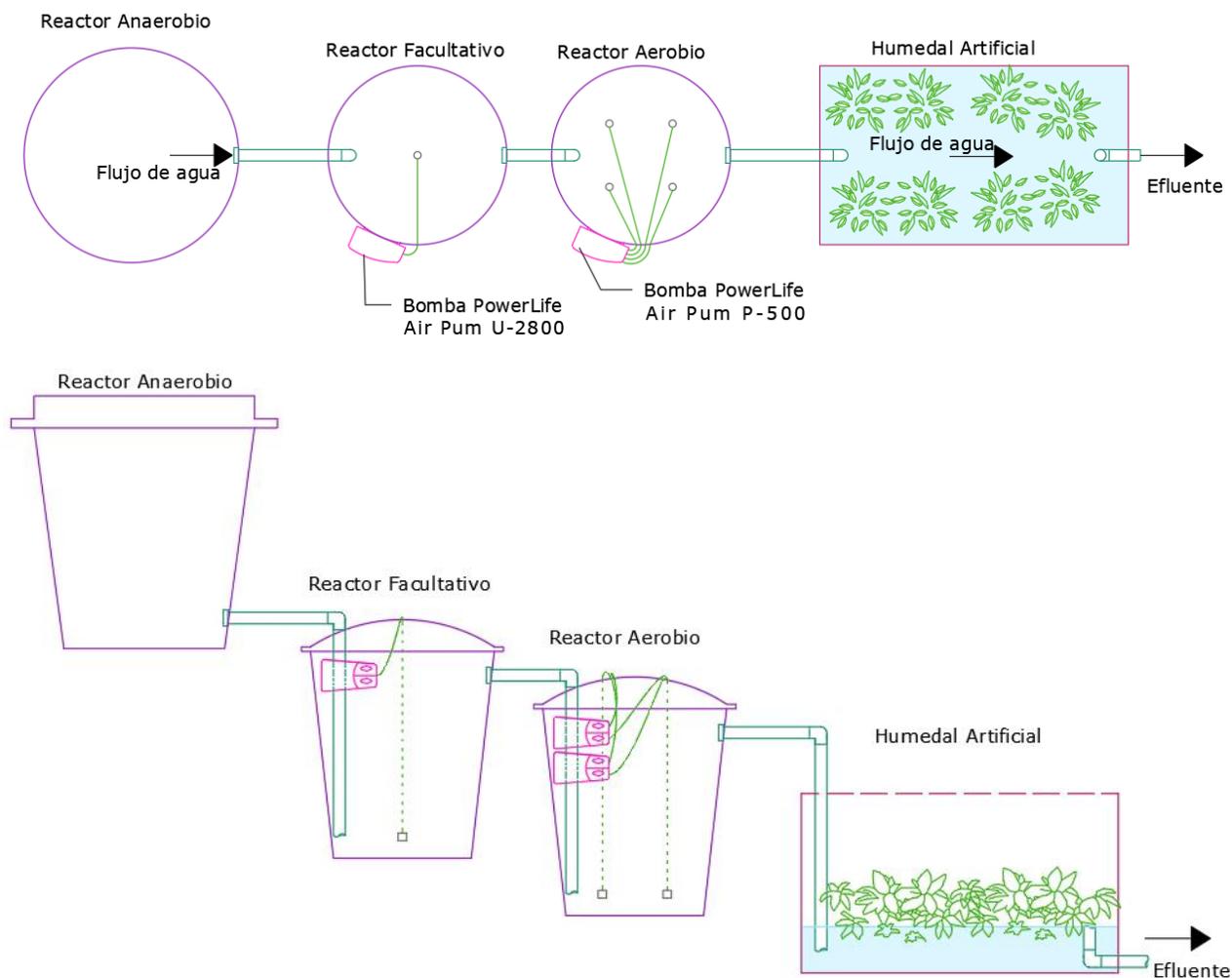
Nitritos (N-NO ₂ ⁻)	mg/L	
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₃)	mg/L	
Nitrógeno Total (N)	mg/L	
Iones		
Cloruros (Cl ⁻)	mg/L	
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	mg/L	
Metales y Metaloides		
Arsénico (As)	mg/L	
Cadmio (Cd)	mg/L	
Cinc (Zn)	mg/L	
Cobre (Cu)	mg/L	
Mercurio (Hg)	mg/L	
Níquel (Ni)	mg/L	
Plomo (Pb)	mg/L	
Otros Parámetros para Análisis y Reporte		
Acidez Total	mg/L CaCO ₃	Análisis y Reporte
Alcalinidad Total	mg/L CaCO ₃	Análisis y Reporte
Dureza Cálctica	mg/L CaCO ₃	Análisis y Reporte
Dureza Total	mg/L CaCO ₃	Análisis y Reporte
Color Real (Medidas de absorbancia a las siguientes longitudes de onda: 436 nm, 525 nm, 620 nm)	m ⁻¹	Análisis y Reporte

Nota. La tabla 2 muestra los parámetros de vertimientos para agua residuales de los procesos de postcosecha de la actividad productiva del banano reglamentados por la resolución 0631 de 2015. Modificado de (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible [MINAMBIENTE], 2015).

7.3. Diseño y Construcción del Sistema de Tratamiento

La planta Piloto de tratamiento de aguas residuales de amonio cuaternario, es un tren de tratamiento propuesto por el autor de esta investigación, y está compuesta por los siguientes componentes: biorreactor anaerobio de primera generación, reactor biológico facultativo, reactor aerobio y un humedal artificial de flujo horizontal con lamina libre; cada uno de los competentes se describe a continuación y detallados en el orden descrito en la ilustración 2.

Ilustración 2. Planigrafía de la PTAR de aguas residuales de amonio cuaternario



Nota. La ilustración 2, muestra los planos en vista superior y perfil de PTAR para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario.

7.3.1. Reactor Biológico Anaerobio

Para la construcción de este componente se empleó un tanque plástico con capacidad de 50 litros con salida en tubería en PVC a 10 cm el fondo. Este reactor tenía un tiempo de retención hidráulica- TRH de cinco (5) días, donde ocurría un proceso de digestión anaerobia para dar paso al siguiente reactor (reactor Facultativo) con salida en el fondo en tubería PVC de diámetro de 1 pulgada con una válvula del mismo diámetro y material integrada (llave) para el control del caudal.

7.3.2. Reactor Biológico Facultativo

Este reactor se encontraba posterior al reactor anaerobio. Se construyó empleando un tanque plástico con capacidad útil de 30 litros 0,45 metros de alto y 0,4 metros de diámetro, asistido por una bomba de aire AIR PUMP modelo U-2800 y un difusor de burbuja fina localizado en el fondo del tanque, garantizando el suministro mínimo de aire 0,7 a 1mg/LO₂.

7.3.3. Reactor Aerobio de Lecho Móvil -MBBR

Este reactor se localizaba inmediatamente después del reactor biológico facultativo. Se construyó empleando un tanque plástico con capacidad útil de 30 litros de 0,45 metros de alto y 0,4 metros de diámetro, para la aireación se emplearon dos bombas Power AIR PUMP P-500 y 4 difusores de burbuja fina localizados en el fondo del reactor garantizando concentraciones de aire por encima de los 3 mg/LO₂. Además, como medio de soporte se empleó material sintético con forma cilíndrica de 25 mm de diámetro y 15 mm de altura en polietileno de alta densidad especial para reactores (lecho Móvil) MBBR.

7.3.4. Humedal Artificial de Flujo Superficial

El humedal artificial de flujo superficial se construyó con el objetivo de pulir el agua y mejorar las condiciones de vertimientos; fue realizado en fibra de vidrio, con 0,64 metros de largo, 0,40 metros de ancho y 0,15 metros de profundidad útil. La planta acuática seleccionada y empleada en el sistema de humedales correspondió a *ludwigia* sp. ver Ilustración 3.

Reino: Plantae

Filo: Magnoliopsida

Familia: Onagraceae

Género: Ludwigia

Especie: *Ludwigia* sp

La selección de esta especie de planta obedece a que es un espécimen frecuente en las zonas pantanosas de la Zona Bananera del Magdalena, ha sido reportada para sistemas de aguas eutrofizadas con las siguientes características conductividad de 520 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 8 mg/L PO_4 , 16 mg/L NO_3 y amonio 10 mg/L NH_4/NH_3 (Pérez, 2009).

Ilustración 3. Humedal artificial de la planta *Ludwigia* sp para tratamiento de aguas residuales



7.3.5. Monitoreo del Sistema de Tratamiento - Planta Piloto

El monitoreo y los ensayos de la planta piloto de tratamiento de aguas residuales (PTAR) se realizaron durante 3 meses, comprendidos entre finales de marzo y comienzos de junio del 2022. Los análisis de agua fueron llevados a cabo en los siguientes componentes del sistema: afluente del sistema, efluente del reactor anaerobio, efluente del reactor aerobio y efluente de la PTAR (tabla 6 y 7).

Los análisis de los diferentes parámetros o variables se adelantaron en un tiempo no mayor a 24 horas siguientes al muestreo y siguiendo los protocolos de los métodos descritos en (APHA-

AWWA-WEF, 2017). Los parámetros analizados en este estudio son los descritos en la Tabla 3. Las mediciones de pH se tomaron en campo, monitoreando el agua dentro de los reactores biológicos.

Tabla 3. Técnica de análisis de parámetros / variables de agua residual.

PARÁMETRO	UNIDADES	Técnica de análisis
Generales		
Alcalinidad	mg/L CaCO ₃	Volumétrico con HCl, SM 2320-B
pH	Unidades de pH	Potenciométrico, SM 4500-H+-B
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O ₂	SM 5220 D - Método volumétrico
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L O ₂	Método incubación a 5 días y Modificación de azida 5210 B y 4500-O C
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	SM 2540 D - Método Gravimétrico secado a 103°C - 105°C
Sólidos Sedimentables (SSED)	mg/L	Volumetrico 2540 F
Grasas y Aceites	mg/L	SM 5520 D - Método de gravimétrico de partición
Compuestos de Fósforo		
Ortofosfatos (P-PO ₄ ³⁻)	mg/L	SM 4500 -P B, E – Método espectrofotométrico
Compuestos de Nitrógeno		
Nitritos (N-NO ₂ ⁻)	mg/L	Sulfanilamida /colorimetría, SM 4500 – NO ₂ - B.
Amonio (N-NH ₃)	mg/L	SM 4500 N C 4500NH ₃ B-C Destilación Volumetría
Dureza Total (CaCO ₃)	mg/L	Titulación con EDTA, SM 2340-C
Coliformes totales	NMP/100 ml	Método Fermentación en tubos Múltiples, SM 9221 B
Coliformes fecales	NMP/ 100ml	Método Fermentación en tubos Múltiples, SM 9221 B

7.4. Caracterización Microbiológica

Para la caracterización microbiológica de las aguas residuales de amonio cuaternario se utilizó la técnica de NMP para coliformes totales y fecales y la siembra en superficie con rastrillo, la cual permite obtener colonias y estimar la densidad poblacional de microorganismos de metabolismo aerobios o facultativos, para la siembra se utilizaron medios de cultivos selectivos EMB para coliformes, BD Baird-Parker (*Staphylococcus aureus*), BD Agar Listeria (*Listeria monocytogenes*), Agar SS para *Salmonella* sp, agar cetrimida para *Pseudomonas aeruginosa* y PDA para cultivar hongos y Levaduras. Para la caracterización se tomaron 100µL de agua residual y se depositaron en placa de petri por cada uno de los medios referenciados, la muestra fue extendida con asa Digraslky estéril en toda la superficie de la placa petri. Cada una de las placas fueron

rotuladas e incubadas a 35 ± 2 °C durante 24 horas (Luna, 2020). Se utilizaron cepas ATCC para realizar una aproximación a la identificación de los microorganismos.

Escherichia coli ATCC 25922 x 5 Loops. Lote 320896 fecha vencimiento 2022/12/29.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 x 5 Loops. Lote 325890 fecha de vencimiento 2023/01/05.

Salmonella Entérica ATCC 14028 x 5 Loops. Lote 320871 fecha de vencimiento 2022/12/28.

Listeria Monocytogenes ATCC 7644 x 5 Loops. Lote 251038 fecha de vencimiento 2022/08/24.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 x 5 Loops. Lote 189494 fecha de vencimiento 2022/12/29.

Para cada uno de las especies identificadas se le realizó pruebas enzimáticas para su comprobación: catalasa, coagulasa, oxidasa, y pruebas de staphylase.

A partir de las especies identificadas del agua residual se realizaron las pruebas de sensibilidad y tolerancias para determinar las dinámicas de crecimiento microbiano frente a diferentes concentraciones de cloruro de didecil dimetil amonio como se describe a continuación:

7.4.1. Pruebas de Sensibilidad de Microorganismos Frente al Amonio Cuaternario.

Se realizaron dos pruebas de sensibilidad por dilución adaptadas de Luna. 2020 : la primera prueba consistió en adicionar amonio 200 µL en la superficie de cada medio específico servido en placa petri, una vez solidificado se le adicionó las siguientes concentraciones de amonio cuaternario por cada medio utilizado 100 mg/L, 200 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, 1000 mg/L, 1100 mg/L, 1200 mg/L y 1500 mg/L, las especies de microorganismos sometidos a los ensayos fueron levaduras *Saccharomyces* sp, y los hongos *Trichoderma* sp y *Fusarium* sp. Las levaduras fueron aisladas del agua residual contenida en el reactor anaerobio, siguiendo el procedimiento descrito en

el apartado 7.4; a partir de ahí, se aisló y purificó la cepa de levadura mediante la técnica de siembra de estrías por agotamiento en medio oxitetraciclina-glucosa extracto de levadura (OGYE). Las cepas de *Trichoderma* sp y un *Fusarium* sp fueron suministradas por el laboratorio de fitopatología de la Universidad del Magdalena y cultivadas para esta prueba, en agares (PDA).

Adicionalmente, esta primera prueba, fue ensayada para un grupo específico de bacterias utilizando los siguientes medios de cultivo EMB para coliformes, BD Baird-Parker (*Staphylococcus aureus*), BD Agar Listeria (*Listeria monocytogenes*), Agar SS para *Salmonella* sp (Luna, 2020).

En el segundo ensayo o prueba de sensibilidad por dilución, se adicionaron las siguientes concentraciones de amonio cuaternario 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L y 1200 mg/L durante el proceso de preparación del medio, es decir, antes de la solidificación y a una temperatura aproximada de 40 °C para evitar la desnaturalización del Amonio, quedando incorporado el amonio completamente en el medio y con la concentración específica mencionada. En este segundo ensayo se utilizaron los mismos medios de cultivos y las mismas especies mencionadas en la primera Prueba.

La concentración máxima a las que fueron sometidos los microorganismos fue de 1200 mg/L y mínima de 100 mg/L de amonio, la primera corresponde a la concentración recomendada por el ICA en la resolución 17334 de 2019 y empleada por los productores bananeros en los pediluvios para el lavado de botas y vehículos; y, la segunda concentración corresponde a una concentración menor a la concentración final del vertimiento (200 mg/L), que actualmente implementa los productores.

7.4.2. Pruebas de Sensibilidad a Microorganismos del Suelo

Se tomaron dos muestras (2) de suelo de la finca # 2 de la Zona Bananera del Magdalena, con el objetivo de observar el efecto del vertimiento directo del amonio cuaternario sobre el suelo. El agua residual empleada para el ensayo, también se tomó de la finca # 2 con una concentración de amonio cuaternario de 1200 mg/L.

7.4.2.1. Identificación y Cuantificación de Grupos Funcionales:

Inicialmente se realizó una caracterización de comunidades microbianas en las muestras de suelo; a partir de 10 gramos de suelo se realizó una dilución en 90 ml de agua desionizada estéril correspondiendo a una primera dilución 10^{-1} a partir de esta se realizaron diluciones de 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} de cada una de estas, se tomó 1ml de cada dilución por separado y se depositó en placas petri estéril vacías y posteriormente se adicionó 15 ml de agar SPC para bacterias y Agar AM para hongos y se procedió a mezclar homogéneamente el medio de cultivo con el inóculo; una vez solidificado cada medio específico fue incubado a 35°C por 24 horas para el caso de bacterias y 25°C por 72 horas para hongos. Seguidamente al periodo de incubación se procedió a realizar el recuento de total de poblaciones bacterianas y fúngicas.

El recuento de grupos funcionales celulíticos amilolíticos, proteolíticos amonizantes y desnitrificantes se realizó por el método del número más probable NMP propuesto por Luna. 2020.

Los microorganismos celulíticos se cultivaron en agar celulosa incubados a 35°C por 15 días.

Los microorganismos amilolíticos cultivados en caldo almidón incubados a 35°C por 7 días.

Los microorganismos proteolíticos cultivados en gelatina incubados a 35°C por 7 días.

Los microorganismos amonizantes cultivados en caldo Asparagina incubados a 35°C por 7 días.

Los microorganismos desnitrificantes cultivados en caldo nitrato glucosa incubados a 35°C por 7 días.

7.4.2.2. Ensayos de Sensibilidad en Suelo

Para la realización de los ensayos de sensibilidad de los diferentes grupos funcionales bacterianos y fúngicos, se dispuso tres muestras de suelo de 500 g aproximadamente en bandejas de aluminio, sobre cada uno de las bandejas con el suelo procedente de la finca #2 se le adiciono 200 ml de agua residual que contenía 1200 mg/L amonio cuaternario, pasado un tiempo de exposición de 24 horas se adelantó nuevamente la realización de los ensayos de identificación y cuantificación de grupos funcionales como se describió en el apartado 7.4.2.1.

8. Resultados y Discusión

8.1. Tratamiento del Agua Residual Atenuación Natural.

Durante los diez (10) días de tratamiento del agua residual de la Finca 1, empleando el método de atenuación natural, no se evidenció remoción de materia orgánica (Tabla 4) esto obedece posiblemente a la eliminación del microorganismo especialmente bacterias, las cuales son de las comunidades que mayor remoción representa en los sistemas de tratamiento de aguas residuales; según Aquino-Nalvarte, 2019. Las altas concentraciones de amonio pueden reducir la cantidad de microorganismos a un valor seguro que no presente algún riesgo para la salud, sirven para limpiar, y evitar la presencia de bacterias, virus peligrosos y pueden mantener su concentración de amonio durante 18-20 días. Teniendo en cuenta lo expresado y que las concentraciones de amonio en una muestra de agua mantienen en el medio, puede conllevar a retardar los procesos de eliminación de materia orgánica. Sin embargo, se registró una disminución considerable de los sólidos suspendidos debido posiblemente a alteraciones del pH durante los ensayos y al efecto del amonio cuaternario en los procesos de coagulación y floculación, en aguas residuales (Madueño-Delgado 2018), dicha coagulación ocasiona un proceso de sedimentación, que conduce a un aumento considerable de los sólidos sedimentables o lodos en el efluente.

Para el caso de materia orgánica representada por los parámetros DBO y DQO no se evidenció una remoción significativa, similar comportamiento registraron los demás parámetros analizados, lo que puede estar mediado por la inviabilidad microbiana.

Por tanto, y de acuerdo a los resultados obtenidos en estos ensayos, se puede afirmar que, este tipo de agua residual no pueden ser tratadas mediante procesos de atenuación natural, dado a

las elevadas concentraciones de amonio cuaternario, que no permiten el desarrollo de los microorganismos. Muchos contaminantes, especialmente los compuestos altamente complejos, no son biodegradados eficientemente por microorganismos; pueden ser resistentes a la biodegradación y, en consecuencia, persistir en las aguas residuales, comprometiendo así la calidad del agua. Para superar estas limitaciones, Nzila *et al.* 2016. sugiere utilizar estrategias de bioaumentación, las cuales se documentan en el apartado 8,2.

Tabla 4. Análisis del agua residual de entrada y salida del reactor anaerobio empleando el método de atenuación natural.

PARÁMETRO	Finca 1 Antes del Tratamiento	Finca 1 después del Tratamiento
Alcalinidad mg/L CaCO ₃	432	288
pH unidades de pH	9,23	9,30
Dureza Total, mg/L CaCO ₃	<5	<5
DBO mg/L O ₂	5,58	5,20
DQO mg/L O ₂	8800,00	8800,00
Solidos suspendidos Totales mg/L	1075,00	25,00
Solidos sedimentables ml/L	<0,1	1
Amonio Cuaternario mg/L N-NH ₃	1150,00	1150,00
Nitritos mg/L NO ₂	0,23	0,22
Fósforo total mg/L	<0,02	<0,02
Grasas y Aceites mg/L	2098,40	2102,40
Coliformes totales NMP/100 ml	<2	<2
Coliformes fecales NMP/100ml	<2	<2

8.2. Tratamiento del Agua Residual Bioaumentación.

Este procedimiento realizó la bioaumentación para lo cual se requirió de bacterias con capacidad para degradar compuestos diversos, para ello se utilizó el estiércol de Bovino fresco al 5% p/v, el cual se constituyó en un elemento importante en esta investigación. Este al provenir de un sistema digestivo contiene una gran diversidad de microorganismos especialmente bacterias facultativos, metanogénicas, celulolíticas, amilolíticas, proteolíticas, amonizantes, que favorecen la absorción de compuestos nitrogenados (Ballina *et al.*, 2015) con el propósito de bioaumentar los microorganismos en el agua residual proveniente de la finca 2.

Los resultados descritos en la tabla 5 demostraron que la Bioaumentación aplicando únicamente estiércol bovino fresco no proporciona la remoción adecuada del amonio cuaternario al finalizar los 5 días de tratamiento, alcanzado porcentajes de remoción del 26,66 %; lo cual se debe a que posiblemente la concentración inicial de 1200 mg/L de amonio, bloquea la cinética y metabolismo microbiano (Aquino-Nalvarte, 2019) y la remoción registrada puede ser producto de la absorción o consumo de amonio cuaternario por la adición de materia orgánica a través del contenido de Carbono orgánico y celulosa proveniente del estiércol bovino fresco (Madueño-Delgado, 2018), dando como resultado un efluente con una carga de 880 mg/L de amonio cuaternario, considerándose esta una concentración que ocasiona inhibición del crecimiento bacteriano.

Tabla 5. Análisis de agua residual de la finca 2 antes del tratamiento y después del tratamiento.

PARÁMETRO	Finca 2 antes del tratamiento	Finca 2 después del tratamiento
Alcalinidad mg/l CaCO ₃	432	288
pH	7,98	7,56
DBO mg/L O ₂	286	178
DQO mg/L O ₂	646	323
Sólidos sedimentables ml/L	0,1	12
Sólidos suspendidos mg/L	123,65	34,5
Amonio cuaternario total mg/L N-NH ₃	1200	880
Nitritos mg/L NO ₂	12,34	7,98
Fósforo total mg/L	6,45	3,21
Fosfatos mg/L PO ₄	4,32	1,43
Grasas y aceites mg/L	77,45	34,76

De acuerdo a los resultados obtenidos en la implementación del método de Bioaumentación (5 días de tratamiento) y comparándolos con el procedimiento de Atenuación natural (10 días de tratamiento), se puede establecer que la Bioaumentación se constituye un procedimiento viable para la eliminación o consumo del amonio cuaternario por la adición de materia orgánica, disminuyendo la concentración de amonio y posiblemente de cabida al crecimiento de algunas comunidades microbianas. Estos resultados son concordantes con los resultados o teorías propuestas por Madueño-Delgado, 2018. Quien afirma que la utilización del amonio cuaternario, es eficiente, en sistemas de tratamientos químicos para reducir las altas cargas de materia orgánica en aguas

residuales y que finalmente la materia orgánica termina por absorber las concentraciones de amonio y dar paso posiblemente a la presencia de microorganismos.

En concordancia con lo expresado, se procedió a dar continuidad con el tratamiento del agua residual de amonio cuaternario, pero ahora implementando el *sistema de tratamiento o diseño piloto*.

8.3. Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales -Planta Piloto

Obtenido el resultado de la bioaumentación y considerando que se lograron porcentajes cercanos al 30 % de remoción, siendo estos mejores a los resultados de los procesos de atenuación Natural donde se registró remociones cercanas al 1%; se procedió a dar inicio a la puesta en marcha del sistema de tratamiento implementando la secuencia descrita en la Ilustración 2. Esta vez, utilizando 10 días de tiempo de tratamiento con un agua residual preparada con 1500 mg/L de amonio Cuaternario y aumentando la concentración de estiércol bovino fresco al 10%, estimulando la biomasa microbiana con de melaza de caña a una concentración del 1% v/v.

Los resultados de los análisis globales del sistema de tratamiento del agua residual sometida a digestión anaerobia por 5 días y 10 días de tratamiento total. Se evidenció que la adición de materia orgánica (estiércol Bovino) logró la eliminación del 99%, demostrando que el amonio se reduce sustancialmente como se observa en la tabla 6.

Lo anterior indica que es posible tratar el agua residual contaminada con altas cargas de amonio cuaternario mediante la adición de materia orgánica, microorganismos y una estimulación de la biomasa microbiana autóctona incorporada en el reactor.

Es importante mencionar que una vez adicionada la materia orgánica y la melaza disminuyen las concentraciones de amonio, sin embargo, la adición de materia orgánica (estiércol) aumenta los resultados de los parámetros de DBO de 818 mg/LO₂, comparados con los resultados de un agua residual de amonio cuaternario sin adición de materia orgánica con resultados de 5,58 DBO mg/LO₂

tabla 4. Esto obedece a los contenidos de lignina y celulosa que son el material que componen el rumen Bovino (Galindo, 2017). Sin embargo, los residuos de este tipo de componente sedimentan en los reactores anaerobios, facultativos y aerobios de donde puede ser sustraídos y utilizados para la elaboración de biocompost (Londoño, 2003).

Se recomienda la implementación de sistemas de trampas de grasas, como pretratamiento al sistema propuesto; teniendo en cuenta que este parámetro excede los niveles máximos permisibles para realizar el vertimiento Tabla 6. Asimismo, se recomienda aumentar el tiempo de tratamiento y tiempos de retención hidráulica para mejorar los procesos de degradación de la materia orgánica representada en mayor medida por lignina y celulosa, además de adicionar hongos que representa una estrategia posiblemente más eficiente al momento de remover este tipo de material (Vallejos, 2013).

Tabla 6. Resultados de los análisis de parámetros de entrada y salida del sistema de tratamiento de aguas residual de amonio cuaternario (TRH 10 días).

Parámetro	AFLUENTE	EFLUENTE PTAR	% REMOCIÓN PTAR	Valor de máximo
Alcalinidad mg/l CaCO ₃	439	236	N/A	Análisis y Reporte
pH unidades de pH	7,04	8,21	N/A	6,00 a 9,00
DBO mg/LO ₂	818,00	533,00	35%	50,00
DQO mg/LO ₂	8000,00	640,00	92%	200,00
Amonio mg/L N-NH ₃	1500	0,01	99,998%	Análisis y Reporte
Nitrito mg/L NO ₂	0,69	0,23	66%	Análisis y Reporte
Fosfato mg/L PO ₄	37,61	18,80	50%	Análisis y Reporte
Grasas y Aceites mg/L	405,5	29,2	93%	10,00
Sólidos sedimentables ml/L	1,0	0,2	80%	5,00
Sólidos suspendidos mg/L	3700,00	93,33	97%	100,00
Dureza mg/L CaCO ₃	1000,00	200,00	N/A	Análisis y Reporte

N/A= no aplica

En la tabla 7 se muestran los resultados de los análisis de un agua residual con concentración de 1500 mg/L de amonio cuaternario, sometidos al mismo procedimiento Bioamuentacion con estiercol al 10 % p/v y 500 ml de melaza de caña al 50% v/v. En esta ocasiona aumentando el tiempo de retención hidráulica de 24 días; como se puede observa en la tabla, la eficiencia de remoción de la DBO del sistema, es mayor comparada con el resultado de DBO del agua residual que es sometida a 10 dias de tratamiento; esto puede obedecer a la disminucion del efecto germinicida del amonio cuaternario al entrar en contacto con la biocenosis y a una posterior fase de recuperación de la

microbiota, lo que permite el desarrollo de todas las fases del proceso anaerobio: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Parra -Huertas, 2015).

En este caso, la remoción del amonio cuaternario sigue siendo superior al 99%, demostrando que el sistema cumple efectivamente con su función de remoción del amonio cuaternario, los resultados de remoción obtenida en esta investigación, superan las remociones reportadas por DeLeo *et al.* (2020), quienes registraron remoción biológica de compuestos de amonio cuaternario cercanas al 85 % en condiciones anaerobias, utilizando un inoculo de planta de tratamiento de aguas residuales con tiempos de retención de 28 días, y de hasta un 90% en sistemas de lodos activados aclimatados. Donde, más del 80% se eliminó a través de la biotransformación.

El alto contenido de grasas en el efluente, puede deberse a que el método de análisis empleado puede estar cuantificando residuos de celulosa y lignina que se desprende por la hidrólisis del estiercol. Esto debe ser analizado con mayor detenimiento en investigaciones futuras y para dar una mejor interpretación y exactitud de los resultados (Severiche *et al.*, 2013).

Los resultados obtenidos en la implementación de esta PTAR no lograron la remoción de la materia orgánica hasta los LMP en cuanto DQO y DBO de acuerdo con la resolución 0631 de 2015 para la actividad productiva en cuestión (producción de Banano). No obstante, es posible seguir puliendo el efluente mediante el uso y combinación de celdas de humedales de flujo subsuperficial y de lámina libre u otros tratamientos complementarios orientados al pulimento del efluente. Además, con tiempos de retención hidráulica mayores en el reactor anaerobio y con el uso de sistemas de tratamiento que permitan un mayor control hidráulico, se pueden lograr procesos mucho más eficientes en cuanto a la remoción de estos parámetros.

Tabla 7. Resultados de análisis del agua residual con concentración de 1500 mg/L de amonio cuaternario de los diferentes componentes del sistema de la PTAR. (TRH 24 días).

MUESTRA	AFLUENTE	EFLUENTE R.An. 24d	EFLUENTE AEROBIO	EFLUENTE PTAR	% REMOCIÓN PTAR
Alcalinidad mg/L CaCO ₃	483	345	278	221	N/A
pH unidades de pH	7,12	5,96	8,51	8,13	N/A
DBO mg/LO ₂	671,00	628,50	748,00	213,00	68%
DQO mg/LO ₂	8000,00	6400,00	4800,00	640,00	92%

Amonio mg/L N-NH ₃	1500	3,79	0,07	0,14	99,97%
Nitrito mg/L NO ₂	1,34	0,55	0,98	0,37	72%
Fosfato mg/L PO ₄	34,00	56,37	25,07	10,56	69%
Grasas y Aceites mg/L	567	244,78	227,50	48,5	91,4%
Sólidos suspendidos mg/L	3200,00	1000,00	680,00	90,00	97%
Sólidos sedimentables ml/L	1,2	9,6	8,7	0,2	99,8%
Dureza mg/L CaCO ₃	500,00	750,00	250,00	110,00	78%

N/A= no aplica.

8.4. Caracterización Microbiológica del agua

En la caracterización microbiológica del agua residual del Afluente del reactor anaerobio con digestión con un día (1) de reacción con amonio cuaternario a 1500 mg/L, no se encontró reporte de colonias de *Salmonella* sp, *Coliformes* totales, coliformes fecales, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* y recuento de hongos. Los resultados pueden ser observados en la tabla 8. Dichos resultados se deben a la acción de desinfección del biocida del amonio cuaternario, acción que ha sido debidamente sustentada, es decir, cualquier concentración es capaz de ocasionar daños en el medio, en menor o mayor proporción. Ocasionando una eliminación selectiva de las especies más sensibles y disrupciones de las interacciones bióticas que amplifican la vulnerabilidad de distintas especies a estresantes naturales (Gutierrez, 2012).

Lo expuesto confirma el peligro que representa las concentraciones de amonio cuaternario en los ecosistemas hídricos. Sin embargo los resultados obtenidos de los efluentes expuestos a concentraciones de 4,0 y 0,14 mg/L de amonio cuaternario y tiempos de retención hidráulica de 5 y 24 días respectivamente y siembras directas sobre medios de cultivos selectivos y específicos (tablas 9 y 10) demuestran que la efectividad de desinfección del amonio cuaternario, se puede perder cuando este se somete a sistemas con cargas orgánicas superiores a 640 mg/L en DBO, y /o cuando su concentración disminuye; por lo que posiblemente, el amonio es un desinfectante que funciona por acción de contacto, y considere una medida poco adecuada para los procedimientos de control del Hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cubense* raza 4 tropical (Foc R4T)

Tabla 8. Caracterización microbiológica del afluente del reactor concentración de 1500 mg/L de amonio (expuestos TRH de 1 día) y siembra de 100µL a partir de dilución 10⁻¹

Microrganismos	Valor
----------------	-------

Coliformes totales NMP/100ml	< 2
Coliformes fecales NMP/100ml	< 2
<i>Salmonella</i> sp UFC/ml	<1
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/ml	<1
<i>Listeria monocytogenes</i> UFC/ml	<1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC/ml	4
Recuento total de Hongos UFC/ml	<1

Tabla 9. Caracterización microbiológica del Efluente del reactor con bioaumentación y estimulación con melaza (expuestos a TRH de 5 días) y siembra de 100µL a partir de dilución 10⁻¹

Microrganismos	Valor
Concentración de amonio mg/L	4,0
Coliformes totales NMP/ml	52
Coliformes fecales NMP/ml	37
<i>Salmonella</i> sp UFC/ml	21,00
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/ml	8,00
<i>Listeria monocytogenes</i> UFC/ml	4,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC/ml	6
Recuento total de hongos UFC/ml	4

Tabla 10. Caracterización microbiológica del Efluente del reactor con bioaumentación y estimulación con melaza (expuestos a TRH de 24 días) y siembra de 100µL a partir de dilución 10⁻¹

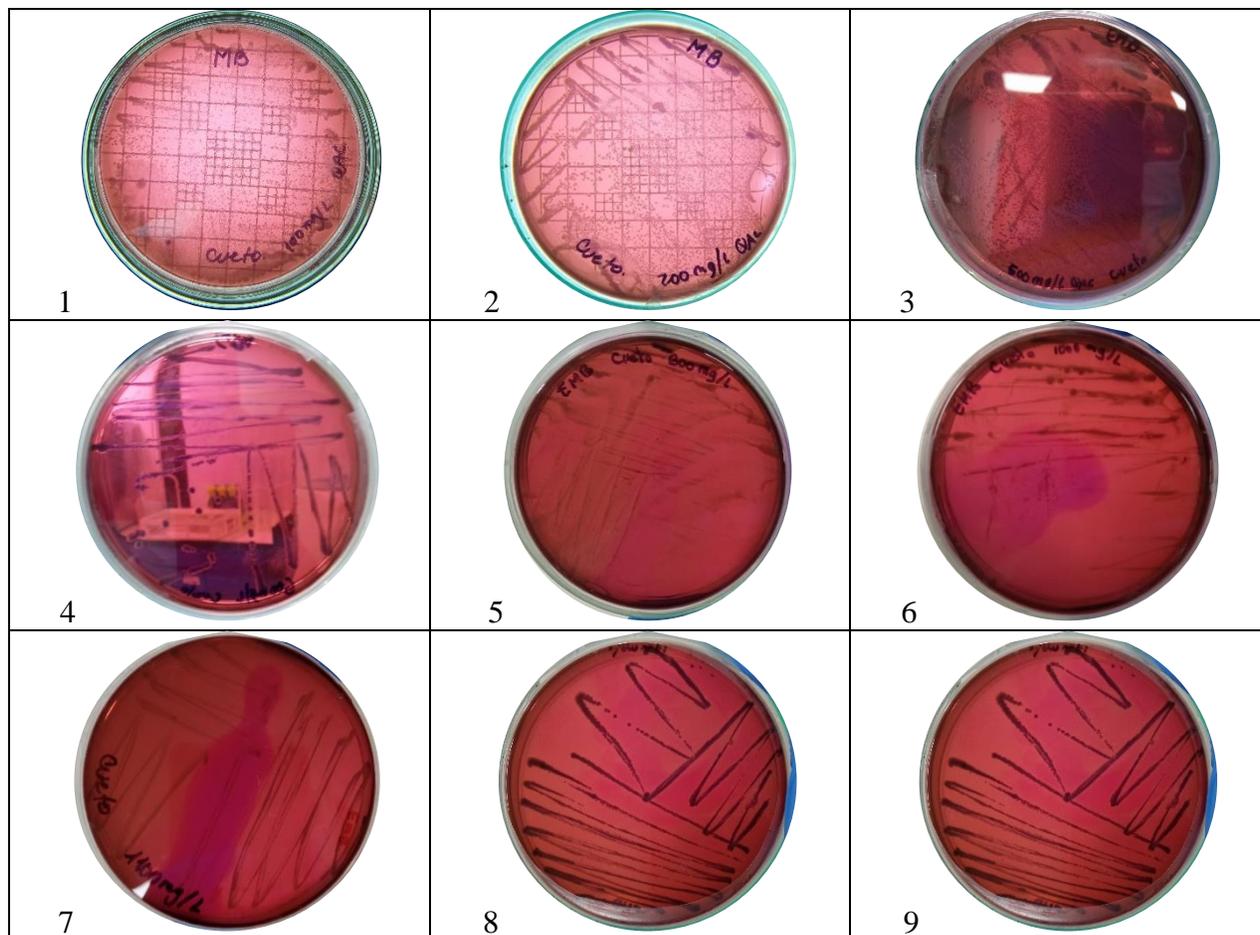
Microrganismos	Valor
Concentración de amonio mg/L	0,14
Coliformes totales NMP/ml	3480
Coliformes fecales NMP/ml	1220
<i>Salmonella</i> sp UFC/ml	45
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/ml	18
<i>Listeria monocytogenes</i> UFC/ml	35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC/ml	14
Recuento total de hongos UFC/ml	26

8.5. Pruebas de Sensibilidad de Microorganismos Frente al Amonio Cuaternario.

Las prueba de sensibilidad como se mencionó en la metodología, no se realizó con la finalidad de cuantificar las unidades formadoras de colonia; su finalidad era verificar la letalidad de diferentes concentraciones ensayadas sobre el grupo de microorganismos evaluados en esta

investigación. Los resultados del primer ensayo, el cual consistió en vertir 200 microlitros de amonio cuaternario preparado en las concentraciones de 100 mg/L, 200 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, 1000 mg/L, 1100 mg/L, 1200 mg/L y 1500 mg/L sobre la superficie de los agares sólidos.

Ilustración 4. Ensayo con coliformes en distintas concentraciones de Qac.

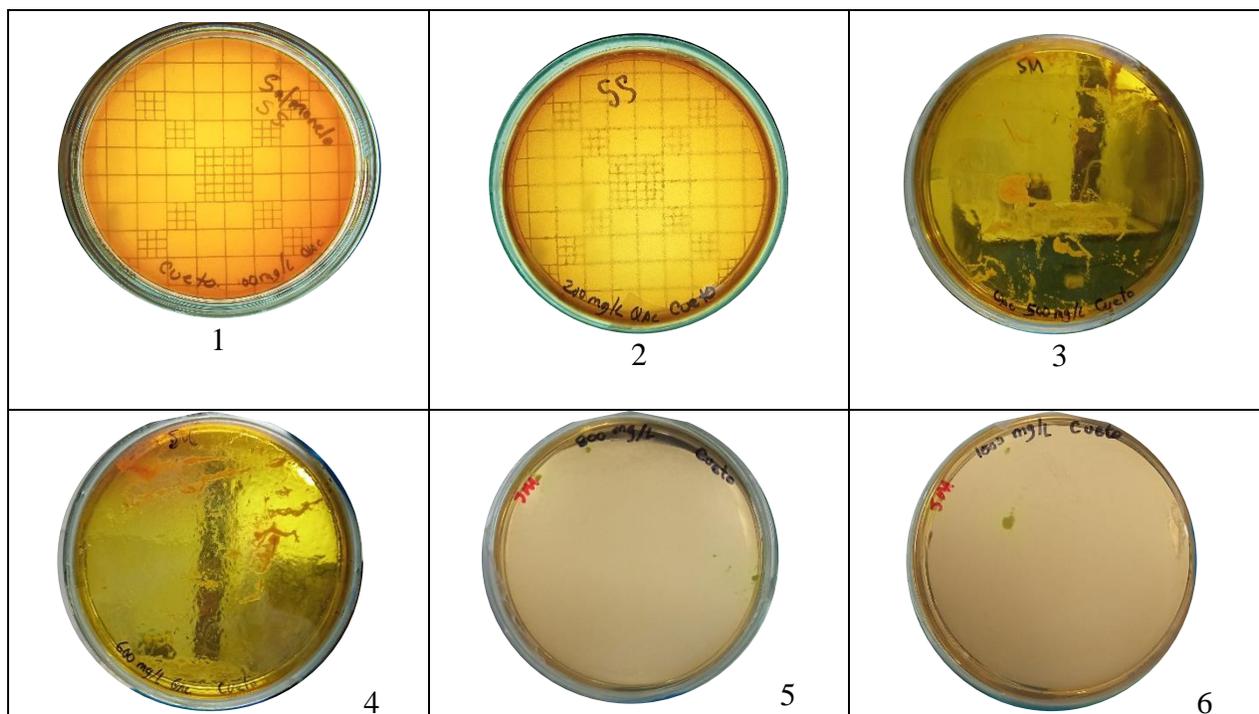


Nota: en la ilustración 4 se presentan las fotografías de los ensayos con distintas concentraciones de amonio cuaternario después de 24 horas incubación. 1) 100 mg/L, 2) 200 mg/L, 3) 500 mg/L, 4) 600 mg/L, 5) 800 mg/L, 6) 1000 mg/L, 7) 1100 mg/L, 8) 1200 mg/L, 9) 1500 mg/L.

Se observó que las cepas de E. Coli no presentaron ninguna variación en su crecimiento a las distintas concentraciones de amonio cuaternario. Es posible que se haya presentado un proceso de volatilización del biocida debido a la temperatura de incubación ($35^{\circ} \pm 2$). No obstante, de acuerdo con Chacón-Jiménez y Rojas-Jiménez (2020) se han evidenciado genes resistentes en

Escherichia Coli frente a derivados del amonio cuaternario, que le permiten modificar su composición lipídica, lo cual amerita conocer las verdaderas causas de su prevalencia.

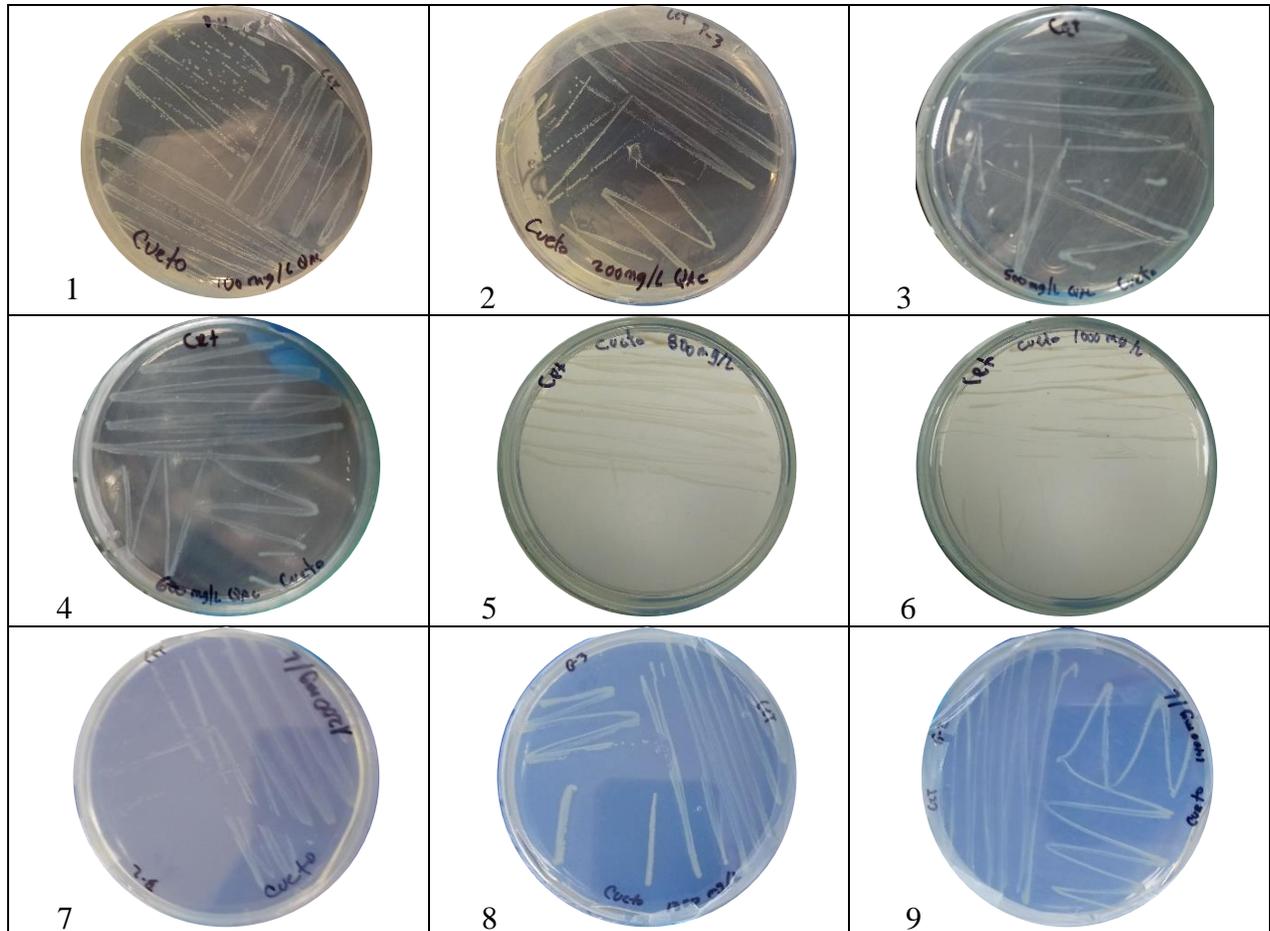
Ilustración 5. Ensayos con *Salmonella* sp a distintas concentraciones de amonio cuaternario.



Nota: en la ilustración 5, se registra las fotografías de los ensayos con *Salmonella* sp a distintas concentraciones de amonio después de 24 horas de incubación. 1= 100 mg/L , 2 = 200 mg/L, 3 = 500 mg/L, 4 = 600 mg/L, 5= 800 mg/L y 6 = 1000 mg/L

En la ilustración 5, se observó una afectación de la cepa *salmonella* sp, a partir de la concentración de 800 mg/L de amonio, disminuyendo considerablemente su prevalencia y crecimiento. Es posible que el amonio cuaternario no ejerza el mismo efecto biocida sobre distintas cepas bacterianas o posiblemente cada una de las cepas bacterianas desarrollo estrategias de resistencia y al volatilizarse, permitiera el desarrollo de las unidades formadoras de colonia que se pueden observar en la concentración de 800 mg/L y 1000 mg/L. siendo 800 mg/L la concentración que disminuye la prevalencia para este grupo de microorganismos.

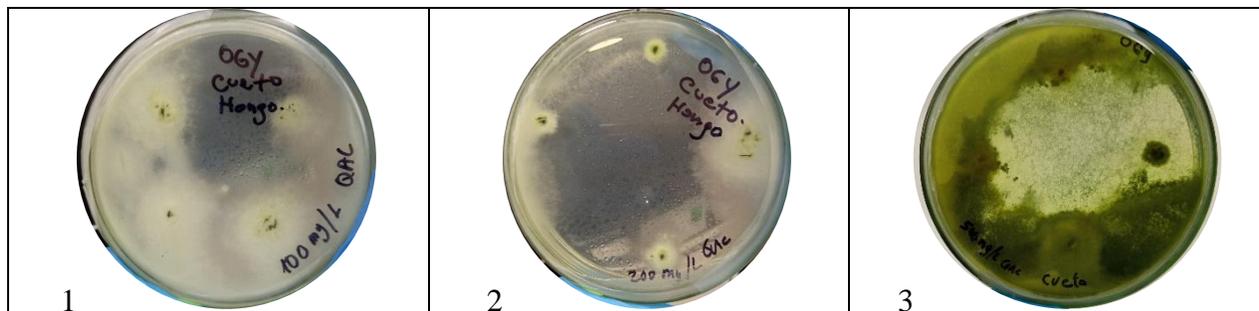
Ilustración 6. Ensayos con *Pseudomona* sp a distintas concentraciones de Qac.



Nota: en la ilustración 6 se presenta un mosaico de fotografías tomadas 24 horas después de la incubación de una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* a distintas concentraciones de amonio cuaternario en un medio de Cetrinida. 1) 100 mg/L, 2) 200 mg/L, 3) 500 mg/L, 4) 600 mg/L, 5) 800 mg/L, 6) 1000 mg/L, 7) 1200 mg/L, 8) 1300 mg/L, 9) 1500 mg/L.

Al igual que con las cepas de *E.coli*, la *Pseudomonas aeruginosa* se registra crecimiento y revalencia, lo cual demuestra que el amonio cuaternario no elimina a los individuos de estas especies. Ramos y Alonso (2011), encontraron que *Escherichia Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus* sp, son resistentes a compuestos de amonio cuaternario. Sin embargo cada individuo de acuerdo con los resultados reportados experimenta diferentes respuestas de crecimiento y prevalencia.

Ilustración 7. Hongo Asilado del Afluente de la PTAR a distintas concentraciones de Qac

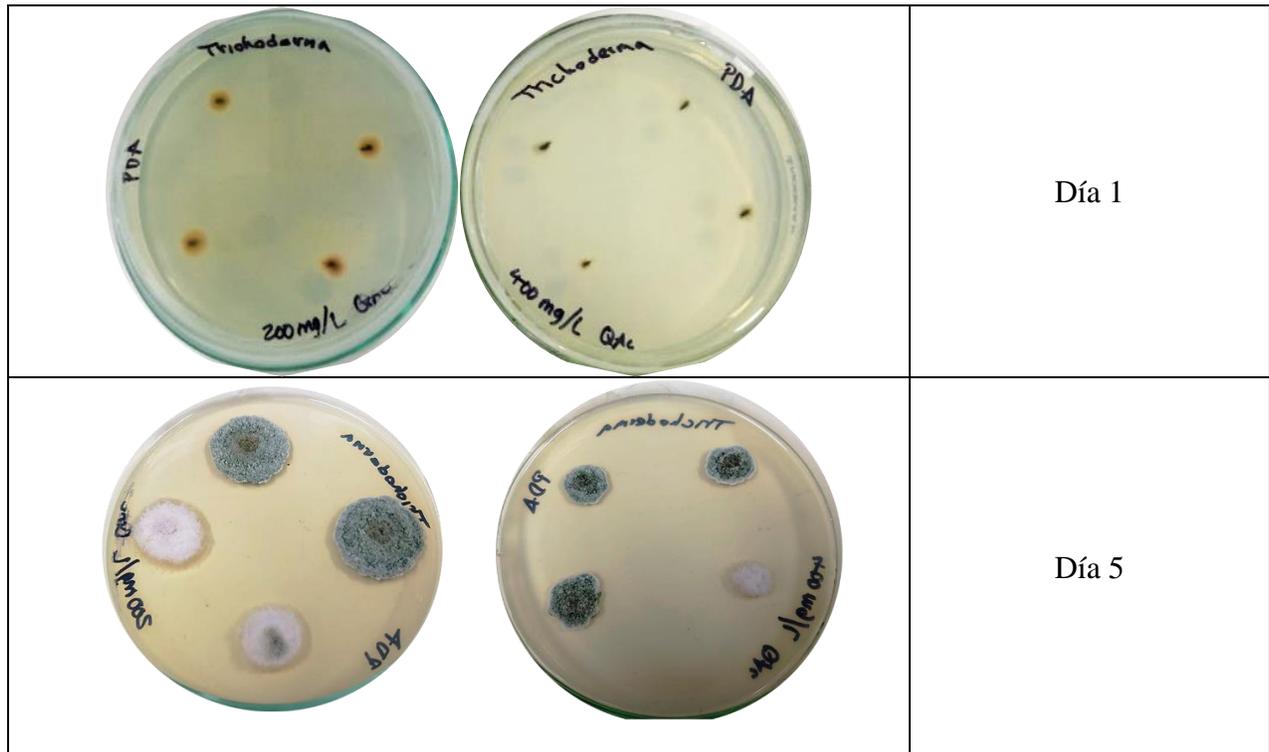


En la ilustración 7, se presenta un mosaico con las fotografías 24 horas después de la incubación de un hongo aislado del agua residual de entrada del sistema a concentraciones de amonio cuaternario de 1) 100 mg/L, 2) 200 mg/L y 3) 500 mg/L respectivamente.

Con este método, el hongo aislado del agua residual no se vio afectado en concentraciones superiores a los 200 mg/L. Esto indica que el amonio cuaternario no elimina al hongo, solo inhibe su crecimiento durante el contacto con este. Como se mencionó anteriormente, es posible, que el amonio cuaternario debido a la temperatura de incubación se volatilizara y permitiera el crecimiento de los organismos de estudio.

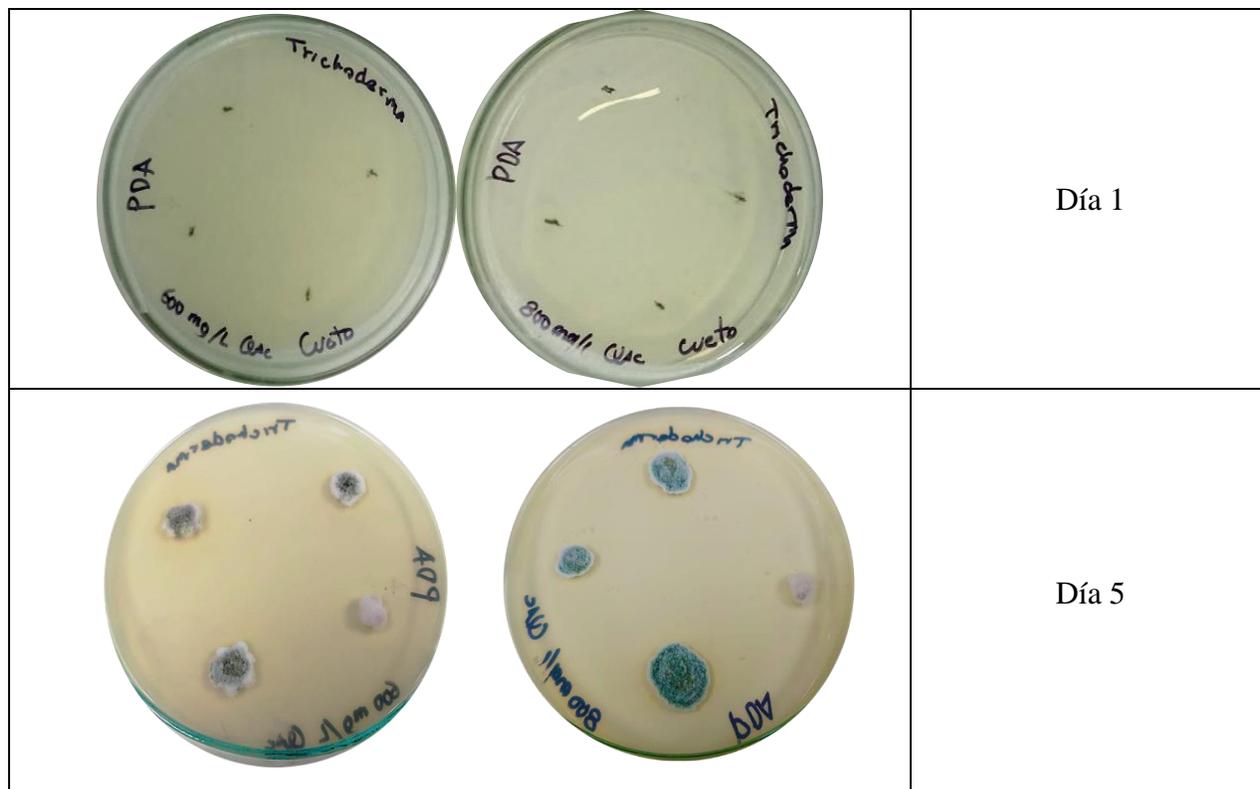
Teniendo en cuenta estos resultados, de la primera prueba de sensibilidad que consistía en adicionar amonio cuaternario sobre la superficie de los agaros y posterior inoculación de los microorganismos que en este caso parece no demostraba el efecto biocida, se procedió a realizar la segunda fase o prueba de sensibilidad por dilución, adicionando las siguientes concentraciones de amonio cuaternario 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L y 1200 mg/L durante el proceso de preparación del medio, es decir, antes de la solidificación y a una temperatura aproximada de 40 °C un ensayo, que garantiza que el amonio cuaternario se encontrará en las mismas concentraciones en todo el medio de cultivo y que no se presentara una posible volatilización del antimicrobiano, los resultados se documentan en la ilustraciones de la 8 a la 16.

Ilustración 8. *Trichoderma* sp en el día 0 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.



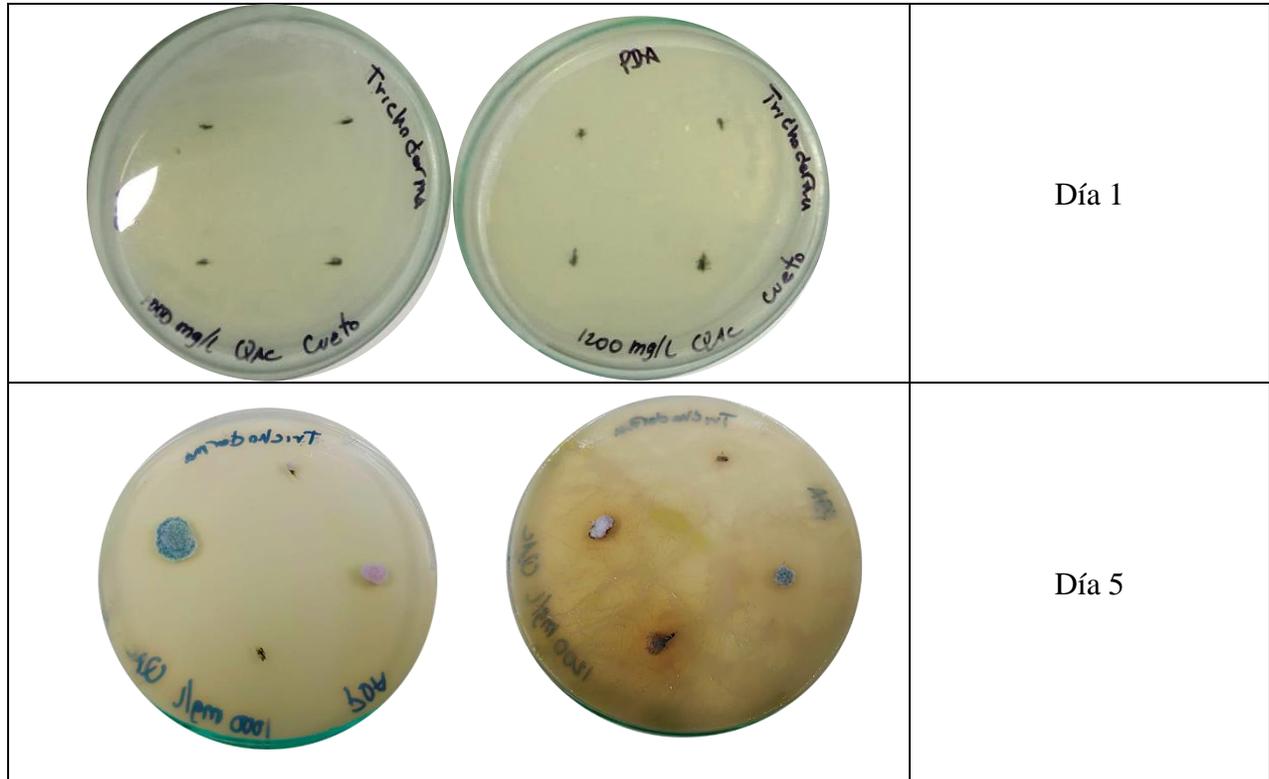
Nota: la ilustración 6, registra las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 200 mg/L y 400 mg/L después de la inoculación de una cepa de *Trichoderma* sp en el día 1 y el día 5.

Ilustración 9. *Trichoderma* sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.



Nota: la ilustración 7, se registran las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 600 mg/L y 800 mg/L después de la inoculación de una cepa de *Trichoderma* sp en el día 1 y el día 5.

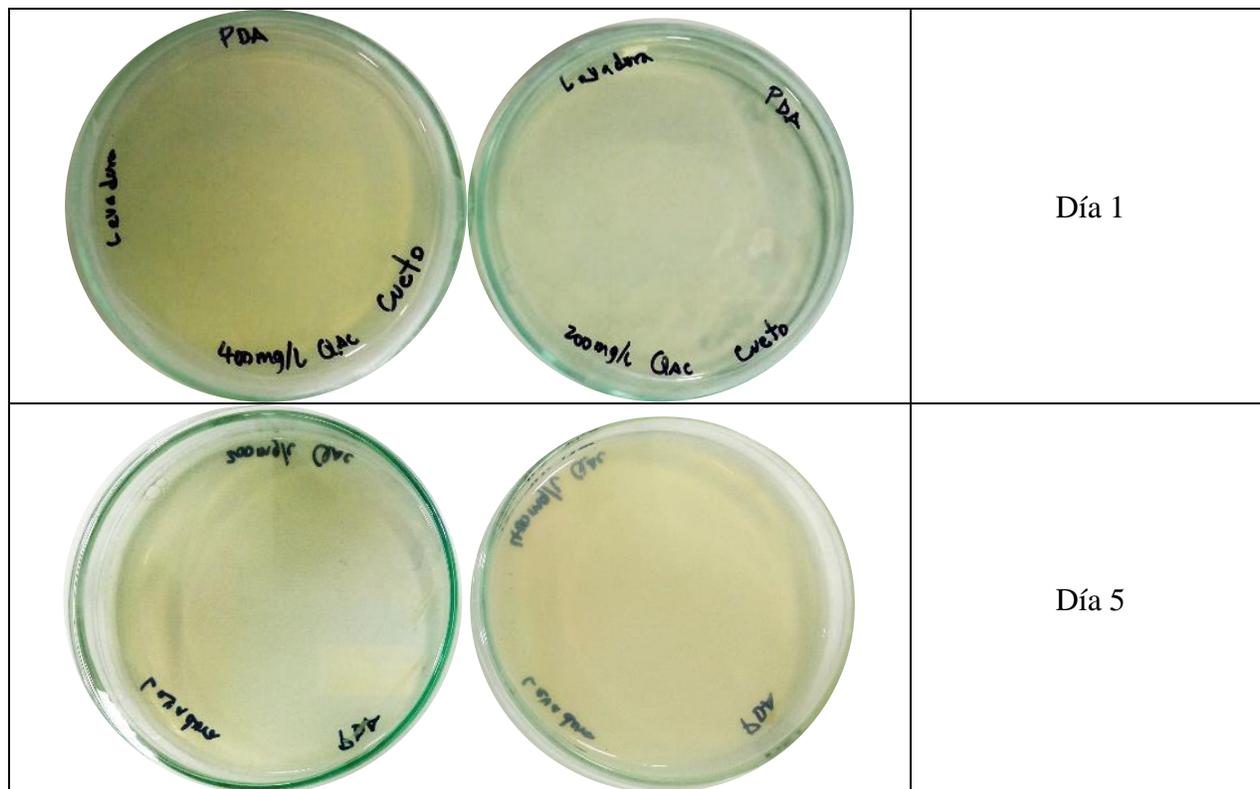
Ilustración 10. *Trichoderma* sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.



Nota: la ilustración 8, presenta las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 1000 mg/L y 1200 mg/L después de la inoculación de una cepa de *Trichoderma* sp en el día 1 y el día 5.

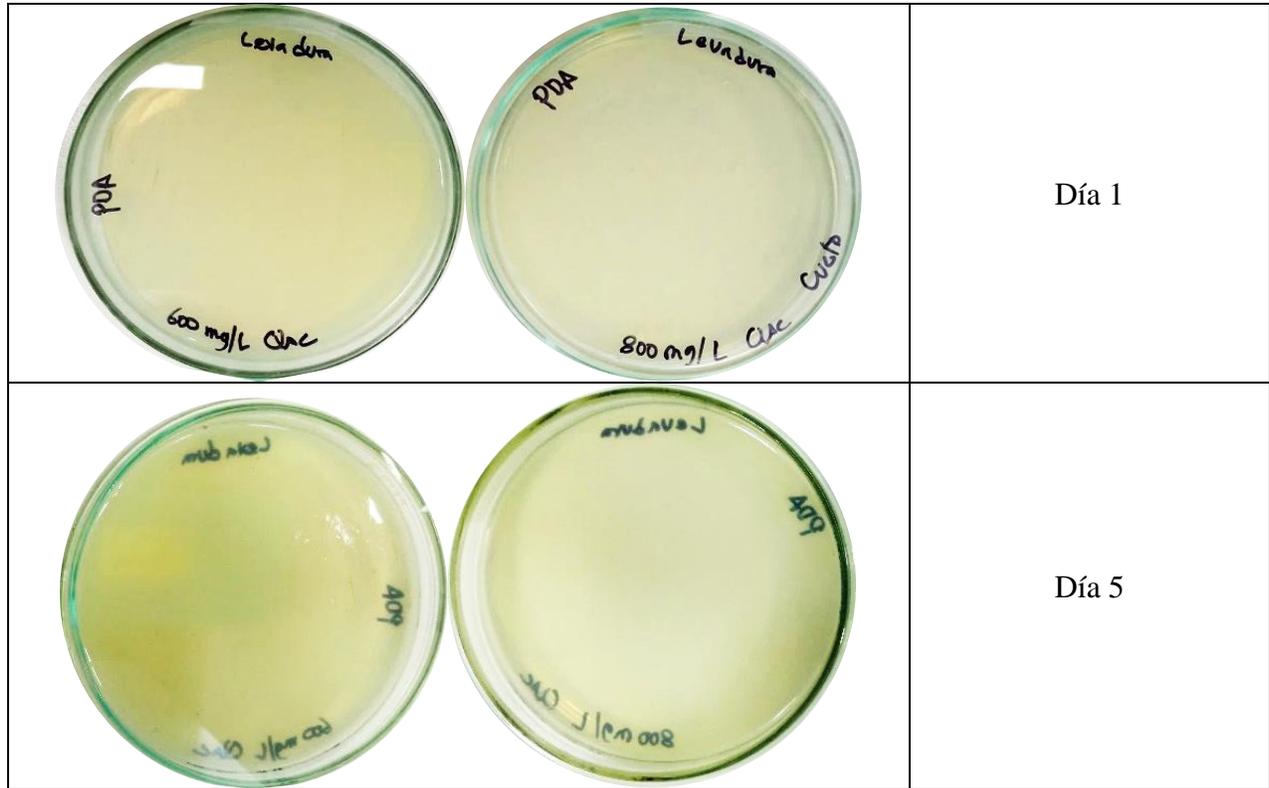
Se observó que la cepa de *Trichoderma* sp, no registró alteración en la dinámica de crecimiento a las diferentes concentraciones de amonio cuaternario a las que fue expuesto. El agua empleada por los productores bananeros para los procesos de bioseguridad reglamentados por el ICA, tiene una concentración inicial de 1200 mg/L. Los experimentos adelantados con este tipo de hongos demostró que este microorganismo, puede desarrollarse bajo concentraciones extremas de desinfección, siempre y cuando cuente con las condiciones ambientales y con un aceptor final de electrones; asimismo, es posible que existan otros tipos de desinfectantes distintos a las sales de amonio cuaternario que pueden mitigar o eliminar a este microorganismo (Rivero-Acosta, 2014).

Ilustración 11. *Levadura* en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.



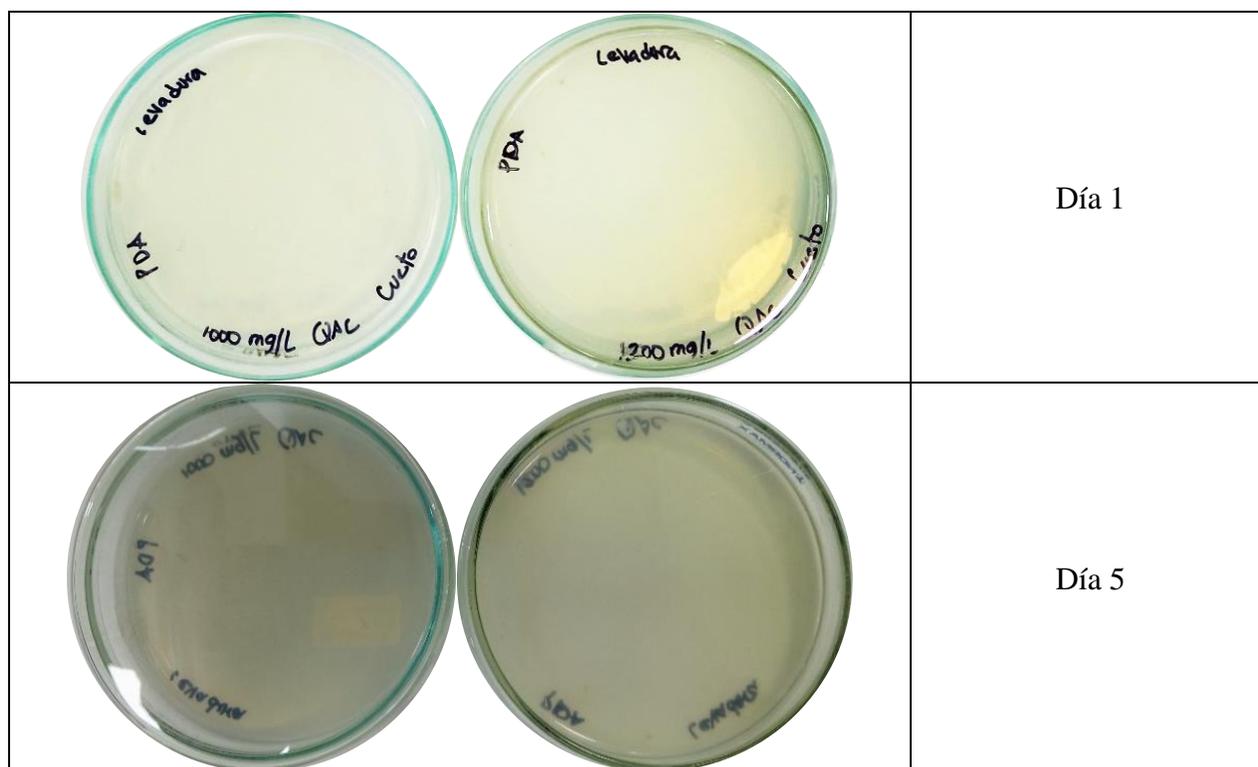
Nota: la ilustración 9, presenta una tabla con las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 200 mg/L y 400 mg/L en el día 1 y el día 5 después de la inoculación de una cepa de *Levadura* no identificada, aislada del afluente del reactor anaerobio.

Ilustración 12. *Levadura* en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.



Nota: la ilustración 10, presenta una tabla con las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 600 mg/L y 800 mg/L en el día 1 y el día 5 después de la inoculación de una cepa de *Levadura* no identificada, aislada del afluente del reactor anaerobio.

Ilustración 13. *Levadura* en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.

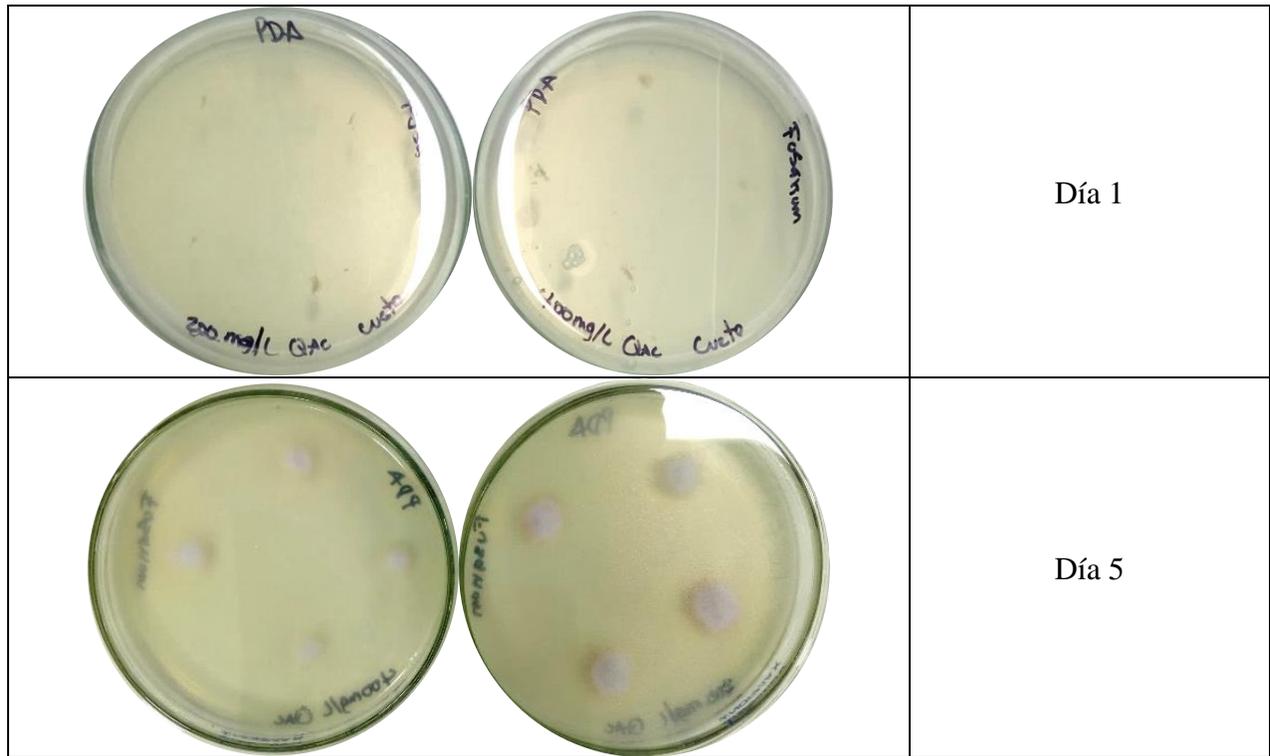


Nota: la ilustración 11, presenta una tabla con las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 1000 mg/L y 1200 mg/L en el día 1 y el día 5 después de la inoculación de una cepa de *Levadura* no identificada, aislada del afluente del reactor anaerobio.

Como puede observarse en la ilustración 9, 10 y 11, se determinó que las distintas concentraciones de amonio cuaternario no permiten el desarrollo de las levaduras. Esto puede indicar que estas concentraciones se constituyen en dosis inhibitorias, lo cual debe ser estudiado más a profundidad en investigaciones futuras.

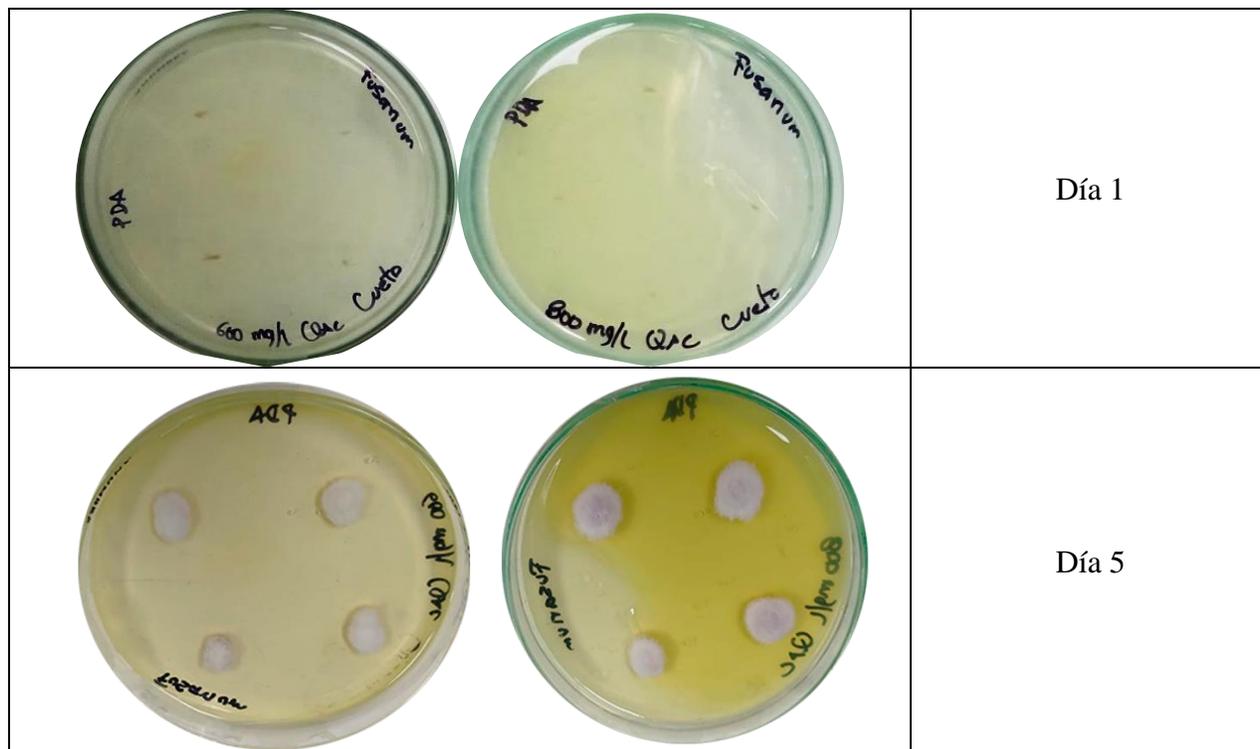
Con el objetivo de validar la posibilidad de utilizar las aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario generadas en las fincas bananeras para la elaboración de fertilizantes orgánicos a base de estiércol de bovinos, se realizó un ensayo con una cepa de *Fusarium* sp con características similares a la del *FOC R4T* a distintas concentraciones de amonio cuaternario en un agar PDA.

Ilustración 14. *Fusarium* sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 200 mg/L y 400 mg/L de Amonio cuaternario.



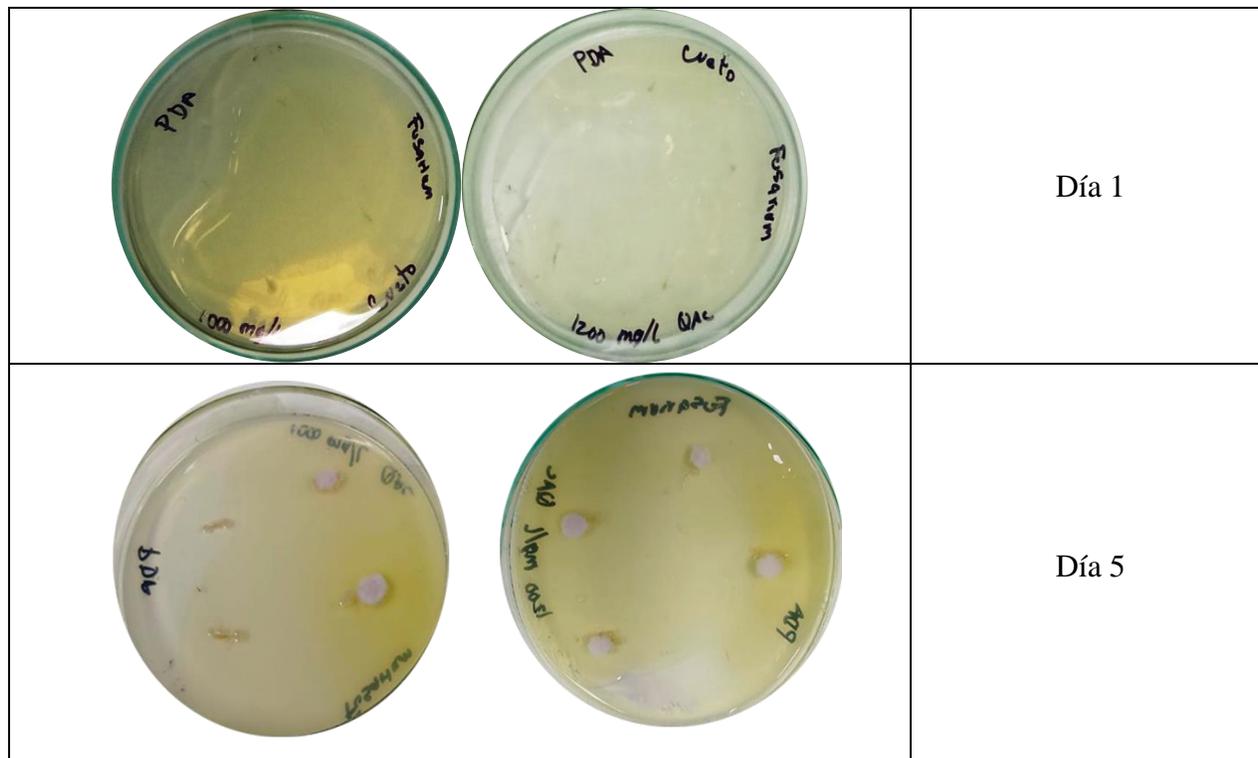
Nota: la ilustración 13, presenta una tabla con las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 200 mg/L y 400 mg/L en el día 0 y el día 5 despues de la inoculación de una cepa de *Fusarium* sp suministrada por el laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena.

Ilustración 15. *Fusarium* sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 600 mg/L y 800 mg/L de Amonio cuaternario.



Nota: la ilustración 14, presenta una tabla con las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 600 mg/L y 800 mg/L en el día 1 y el día 5 después de la inoculación de una cepa de *Fusarium* sp suministrada por el laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena.

Ilustración 16. *Fusarium* sp en el día 1 y día 5 de incubación con concentración de 1000 mg/L y 1200 mg/L de Amonio cuaternario.



Nota: la ilustración 16, presenta las fotografías de los agares de PDA con concentración de amonio cuaternario de 1000 mg/L y 1200 mg/L en el día 1 y el día 5 después de la inoculación de una cepa de *Fusarium* sp suministrada por el laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena.

Se puede observar en la ilustración 14, 15 y 16 que el *Fusarium* sp se desarrolló bajo todas las concentraciones; no obstante, a medida que aumenta la concentración de Quac, su crecimiento se ve limitado, mostrando un efecto altamente inhibitorio a concentraciones de 1200 mg/L, sin embargo, este mismo cultivo fue observado a los 8 días de incubación y se encontró que el *Fusarium* sp había empezado a formar el micelio. Esto indica la posibilidad de que el amonio cuaternario en las concentraciones a las cuales es empleado, no sea una dosis letal para el *FOC* R4T, y que este funcionando como una dosis inhibitoria. De acuerdo con Gutiérrez *et al.* (2008): el amonio cuaternario carece de actividad esporicida y se puede contaminar con micobacterias.

8.6. Ensayos de Sensibilidad en Suelos

Tabla 11. Resultados de los efectos ocasionados por el vertimiento de agua residual en una muestra de suelo de la finca 2.

Parámetros	Metodología	Unidad	Resultado sin Amonio Cuaternario	Resultado con Amonio Cuaternario de 1200 mg/L
Amilolíticos	NMP	NMP/10g	58×10^2	0
Celulíticos			166×10^2	0
Proteolíticos			14.6×10^2	0
Amonizante			16.9×10^2	0
Desnitrificante			18.6×10^2	0
Nematodos	Método de Bailenger modificado SM 10750 B	Número de huevos/g	<1	<1
Recuento de bacterias	Recuento en Placa	UFC/10g	450×10^3	0
Recuento total de hongos	Recuento en Placas	UFC/10g	33×10^3	2×10^3

Los resultados registrados en la tabla 9 se puede evidenciar que, el vertimiento del agua residual contaminada con amonio cuaternario, ocasiona eliminación total de microorganismos amilolíticos, celulíticos, proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes en la muestra de suelo de la finca 2. Esta alteración puede ocasionar alteraciones en los ciclos biogeoquímicos dado que gran parte de la movilidad de los elementos que componen este ciclo se encuentra mediado por microorganismos que participan en diferentes actividades, a través de las cuales se movilizan los elementos esenciales para la vida, construyendo así grupos funcionales. Esta microbiota participa en las transformaciones de los procesos de humificación y mineralización de la materia orgánica. Son los microorganismos los encargados de transformar y fijar los compuestos nitrogenados, solubilizar los compuestos fosfatados mediante asociaciones con las raíces de las plantas, micorrizas, aportando aproximadamente un 50% de los requerimientos de fósforo de las plantas (Ramírez-Carvajal, 1997; García Vargas, 2015).

Es posible que, en un vertimiento real, no se elimine la totalidad del microbiota del suelo, sobre todo en estos casos, donde el volumen de agua descargada por los pequeños productores, solo supera los 20 litros por semana, con concentraciones que varían de 200 mg/L a 1200 mg/L. No

obstante, estos vertimientos pueden causar eliminación selectiva de las especies más sensibles y disrupciones en las interacciones bióticas.

En el caso de los grandes productores, las descargas podrían ser diarias y sus volúmenes superiores a los 40 litros. Verter estas aguas de forma consecutiva, podría amplificar el daño originado a la microbiota, causando eliminación total de los microorganismos en los puntos de vertimiento, generando un deterioro en la calidad del suelo y podría modificar el flujo y la tasa de liberación de nutrientes en esos puntos específicos (García-Vargas, 2015).

9. Conclusiones

El vertimiento de aguas residuales contaminadas con amonio cuaternario por parte de los productores de fincas bananeras incumple con lo dispuesto en la resolución 0631 de 2015, toda vez que la DQO generada, supera el límite máximo permisible dispuesto para dicho parámetro.

En los ensayos realizados en la presente investigación, se demostró que el vertimiento sin tratamiento previo, causa efectos adversos sobre la microbiota en el punto de descarga del vertimiento final; la periodicidad de este vertimiento y las concentraciones a las cuales se realice determinan el daño a la biocenosis.

El vertimiento en un pozo de absorción con una profundidad de 1.20 metros con carbón activado, no es una solución viable, dado que el tratamiento con carbón activado no está orientado a la remoción de estos contaminantes establecidos por la normativa legal vigente de Colombia.

Se demostró la eficacia de la biorremediación como un proceso adecuado para mitigar la polución por este tipo de contaminantes. El tratamiento biológico empleando la bioaumentación y bioestimulación con materia orgánica y melaza de caña, se constituye en una tecnología de fácil diseño, operación y representa una alternativa de bajo costo para el tratamiento biológico de las aguas contaminadas con amonio cuaternario. Estas tecnologías de tratamiento pueden ser llevadas a cabo a pequeña, mediana y gran escala por las cooperativas y grandes productores bananeros.

Se comprobó que los porcentajes de remoción superan el 99% para el amonio cuaternario y más del 90% para la DQO; con tratamientos complementarios orientados al pulimiento del efluente, es posible conseguir el cumplimiento de los LMP de los parámetros de vertimiento estipulados por la resolución 0631 de 2015 para la postcosecha de banano.

Las pruebas de sensibilidad de los microorganismos frente al amonio cuaternario, demuestran una posible ineficacia del cloruro de didecil-dimetil amonio de quinta generación frente a cepas de hongos, especialmente *Fusarium*. lo cual debe ser estudiado más a fondo en investigaciones futuras.

10. Bibliografía

- Alba Torres, N. E., & Araujo Estrada, F. L. (2008). *Evaluación De Los Desinfectantes Utilizados En El Proceso de Limpieza y Desinfección Del Área De Fitoterapeuticos En Laboratorios Pronabell LTDA*. [Tesis pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositori Institucional Pontificia Universidad Javeriana. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8246>
- Alcaldía de Zona Bananera. (2020). Plan de Desarrollo Territorial 2020 - 2023 "Unidos Somos Más, Liderando el Progreso". 9-10. Retrieved from <https://www.zonabananera-magdalena.gov.co/Transparencia/PlaneacionGestionControl/Plan%20de%20Desarrollo%202020%20-%202023.pdf>
- Alcaldía Municipio Zona Bananera. (2001). *Plan Básico de Ordenamiento Territorial "Un Nuevo Amanecer"*. Zona Bananera. Retrieved 08 10, 2020, from "Un Nuevo Amanecer". Recuperado el 10 de 08 de 2020, de <https://repositoriocdim.esap.edu.co/handle/123456789/13311>
- APHA-AWWA-WEF. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste-water* (21st ed ed.). Washington, DC: American Public Health Association.
- Aquino-Nalvarte, S. K. (2019). *Analisis de la Eficacia del Amonio Cuaternario y Acido Paracetito para la Remoción de Escherichia Coli en la Planta Biofisica de Tratamiento de Aguas Superficiales con Fines de Riego - San Borja*. Villa el Salvador: [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur]. Repositorio Institucional UNTELS. Obtenido de <http://repositorio.untels.edu.pe/jspui/handle/123456789/223>
- Arias, P., Dankers, C., Liu, P., & Pilkauskas, P. (2004). *La Economía Mundial del Banano 1985-2002 (Estudios Fao: Productos Básicos)* (Vol. 50). Roma: Food & Agriculture Org. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-y5102s.pdf>
- Asociación de Bananeros del Magdalena y La Guajira [ASBAMA]. (2019). *ICA y ASBAMA, Capacitaron y Entregaron Insumos a 165 Pequeños Productores Bananeros, Para La*

-
- Prevención Del Fusarium R4T*. Recuperado el 10 de 11 de 2020, de ASBAMA: <http://asbama.com/home/detallesnoticias/2205>
- Basicfarm. (28 de 05 de 2020). *Sporekill Solución Desinfectante*. Bogotá. Obtenido de https://basicfarm.com/wp-content/uploads/2020/06/FT_Sporekill_V8.pdf
- Cardona-López, R., & Drada-Hurtado, G. (2022). *Semillas del Saber - Edición Especial*, 179-188. Obtenido de <https://www.revistas.unicatolica.edu.co/revista/index.php/semillas/article/view/443/251>
- Carrillo-Esper, R., Noriega-Iriondo, M. F., & Sánc. (2008). Amonio e Hiperamonemia. Su Significado Clínico. *Med Sur*, 15(3), 209-213. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2008/ms083f.pdf>
- Chacón-Jiménez, L., & Rojas-Jiménez, K. (2020). Resistencia a Desinfectantes y su Relación con la Resistencia a los Antibióticos. *Acta médica Costarricense*, 62(1), 7-12.
- Comeau, Y. (2017). Metabolismo Microbiano. In C. M. López Vázquez, G. Buitron Méndez, H. A. García, & F. J. Cervantes Carrillo, *Tratamiento Biológico de Aguas Residuales: Principios Modelación y diseño* (pp. 9-10). IWA Publishing.
- Cuenca, B. H. (2006). *Evaluación de Tres Materiales Químicos como Fungicidas y su Efecto Sobre Algunos Papeles y Tintas*. [Tesis Pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Institucional - Pontificia Universidad Javeriana. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8282/tesis262.pdf?sequence=1>
- Cumana Campos , L. J. (2010). Clave para especies de Ludwigia L.(Onagraceae) de la región nor-oriental e insular de Venezuela depositadas en el herbario IRBR. *Acta Botánica Venezuelica*, 33(2), 299-327.
- DeLeo, P. C., Huynh, C., Pattanayek, M., Schmid, K. C., & Pachacek, N. (2020). Assessment of ecological hazards and environmental fate of disinfectant quaternary ammonium

compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 1-10.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111116>

Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L. F., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. (N. A. Durán, Ed.) Cochamba, Bolivia: Universidad Mayor de San Simón. doi:ISBN: 978-99954-766-2-5

Departamento Administrativo Nacional De Estadísticas [DANE]. (2021). *Boletín Técnico Exportaciones (EXPO) Diciembre de 2021*. DANE. Obtenido de Boletín Técnico Exportaciones (EXPO):
https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/exportaciones/boletin_exportaciones_dic21.pdf

Diomedi , A., Chacón, E., Delpiano, L., Hervé, B., Jemenao, I., Mendel, M., . . . Cifuentes, M. (2017). Antiseptics and disinfectants: aiming at rational use. Recommendations of the Advisory Committee on Healthcare Associated Infections. Sociedad Chilena de Infectología. *Revista chilena de infectología*, 32(2), 156-174. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000200010>

Domagk, G. (1935). Eine Neue Klasse Von Desinfektionsmitteln. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 61(21), 829-832.

Dotro, G., Langergraber, G., Molle, P., Nivala, J., Puigagut, J., Stein, O., & Von-Sperling, M. (2017). *Biological Wastewater Treatment Series: Treatment Wetlands* (Vol. 7). IWA Publishing.

García-Vargas, C. G. (2015). Evaluación de Grupos Funcionales como Indicadores de la Calidad del Suelo, en la Ciénaga de Chalapa, Michoacán. 29-41. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/25766>

Gerba, C. P. (2015). Quaternary Ammonium Biocides: Efficacy in Application. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(2)(464-469). doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.02633-14>

-
- Gutierrez, M. F. (2012). *Impacto de Xenobióticos y comunicadores químicos sobre algunos procesos biológicos en Organismos del Zooplancton*. Santa Fe, Univeridad Litoral del Santa Fe, Argentina: [Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Litoral]. Biblioteca Virtual Universidad Nacional del Litoral. Obtenido de <http://hdl.handle.net/11185/483>
- Gutiérrez, S. J., Dussán, D. C., Leal, S. C., & Sánchez, A. (2008). Microbiological Evaluation of the disinfection in dental units (Pilot Study). *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 37(2), 133-149.
- Hernández-Leon, R., Velázquez-Sepúlveda, Orozco-Mosqueda, & Santoyo, G. (2010). Soil Metagenomics: new challenges and biotechnological opportunities. *Phyton*, 79, 133-139.
- Hirata, R. (2002). Carga Contaminante y Peligro a las aguas subterráneas. *Revista Latino-Americana de Hidrogeología*, 81-92. Obtenido de <https://revistas.ufpr.br/hidrogeologia/article/view/Filw/2624/2166>
- Idrovo, V. (2003). Encelopatía Hepática. *Rev Col Gastroenterol*, 18(3), 163-167. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572003000300009
- Instituto Colombiano Agropecuario [ICA]. (2019). Resolución No. 00017334. *Por medio de la cual se establece el plan de bioseguridad y vigilancia fitosanitaria para la Marchitez por Fusarium en predios de producción de plátano y banano registrados ante el ICA para la exportación en fresco*. Obtenido de <https://www.ica.gov.co/normatividad/normas-ica/resoluciones-oficinas-nacionales/2019/2019r17334>
- Jacobs, W. A. (1916). Tile Bacterical Properties Of The Quaternary Salts Of Hexamethylenetetramine. I. The Problem Of The Chemotherapy Of Experimental Bacterial. 23(5), 563. Obtenido de <https://www.ncib.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2125541/pdf/563.pdf>
- Luna, J. f. (2020). *Métodos Analíticos de Microbiología General y Aplicada*. Santa Marta: Editorial Unimagalena.

- Madueño-Delgado, R. (2018). *Tratamiento de Efluentes de un Reactor UASB Mediante una Mezcla de Amonio Cuaternario y Hierro*. Lima: [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria la Molina. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3737>
- Marco, A. (2002). Contaminación Global Por Nitrógeno y Declive De Anfibios. *Revista Española de Hepertología*, 97-110. Obtenido de http://www.herpetologica.org/revespherp/volespecial_2002/097-109%20MARCO.pdf
- Martí-Solé, C., Alonso-Espadalé, R. M., & Constans-Aubert, A. (1999). *NTP 429: Desinfectantes: características y Usos más Corrientes*. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales España. Obtenido de https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1647.pdf
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible [MINAMBIENTE]. (2015). *Resolución 0631 de 2015 "Por la cual se establecen los parámetros y los límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado publico y se dictan otras disposiciones"*. MINAMBIENTE. Obtenido de <https://www.minambiente.gov.co/documento-normativa/resolucion-631-de-2015/>
- Nzila, A., Razzak, S. A., & Zhu, J. (2016). Bioaugmentation: An Emerging Strategy of Industrial Wastewater Treatment for Reuse and Discharge. *International Journal of Enviromental Research and Public Health*, 13(9), 846. doi:10.3390/ijerph13090846
- Oliva, C. V., & Caravaca, M. T. (2017). *Trabajo de Fin de Grado: Problemas Ambientales y De Salud Derivados Del Uso De Fertilizantes Nitrogenados*. universidad Complutense: [Tesis de Pregrado, Universidad Complutense]. Obtenido de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CRISTINA%20VEGA%20OLIVA.pdf>
- Patiño-Bello, D. P., Pérez-Acevedo, L. V., Caycedo, D. A., & Di Filippo-Iriarte, G. (2018). Use Of Biocides And Bacterial Response Mechanisms. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 37(3), 1-17. Retrieved from <http://www.reviomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/136/html>

-
- Peña, C. E., Carter, D. E., & Ayala-Fierro, F. (2001). *Toxicología Ambiental: Evaluación De Riesgos y Restauración Ambiental*.
- Piola, J. C., Ezpeleta, D. C., Prada, D. B., & Evangelista, M. (2004). Adolescentes Con Cuadros Neurológicos e Hiperamonemia, Asociado Al Antecede De Ingestión De Jugos De Fruta Semi-Sintéticos. *Acta Toxicol. Argent.*, 12(1), 15-18. Retrieved from https://www.toxicologia.org.ar/bibliotecavirtual/acta_toxicologica/ata12_1.pdf
- Primavesi, A. (1984). *Manejo Ecológico Del Suelo La agricultura en Regiones Tropicales* (Quinta ed.). Rio Grande do Sul, Brasil: Editorial Libería "El Ateneo". Obtenido de <https://dl036.vdocuments.pub/dlv2/dbc06ab7810799833206f886665cae88d4dba82cc4147e853b23022c3c140fe9f9029f57a6e35561d3a0a9592ea9083d9d964b162a6276a0fe53a8c046c1b9fbx5r1EMSEoRtjTNBpm4H+tXPZBslhCT4EFxZCrZHTxgOGUdB44u6oV5ajesYpCM9fJiRnOmEBj5zoW090p%2FXMuQ57s2+>
- Proquimia. (1 de abril de 2020). Obtenido de Evolución y características de los amonios cuaternarios para desinfección de superficies: <https://www.proquimia.com/evolucion-y-caracteristicas-de-los-amonios-cuaternarios-para-desinfeccion-de-superficies/#.XyirLSgzbIV>
- Ramírez-Carvajal, R. (1997). *Propiedades Físicas, Químicas y Biológicas de los Suelos*. (C. Naranjo, Ed.) Convenio Fenalce - SENA - SAC.
- Ramos, Y., & Alonso, G. (2011). Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2), 130-137.
- Ríos Ruiz, F. (2015). *Comportamiento Ambiental De Tensoactivos Comerciales: Biodegradabilidad, Toxicidad y Ozonización*. [Tesis Doctoral, Universidad de Granada]. Digibug. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10481/42048>
- Troya Chavarriaga, J. A. (2007). *Evaluación de la Efectividad de Los Desinfectantes Divosan Forte y MH en la Desinfección de Equipos y Áreas de Trabajo en una Empresa Procesadora de Helados*. Bogotá: [Tesis Pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio

- Institucional - Pontificia Universidad Javeriana. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8304>
- UE. (2014). *Reglamento (UE) n° 1119/2014 de la Comisión, de 16 de octubre de 2014*. Obtenido de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2014-83133#:~:text=Reglamento%20%28UE%29%20n%C2%BA%201119%2F2014%20de%20la%20Comisi%C3%B3n%20de,benzalconio%20y%20cloruro%20de%20didecildimetilamonio%20en%20determinados%20productos>.
- United States Environmental Protection Agency [USEPA]. (2010). *Nutrient Control Design Manual*. Cincinnati: United States Environmental Protection Agency. Obtenido de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.174.6716>
- USEPA. (1993). *Manual Nitrogen Control*. Washington D.C.: United Environmental Protection Agency. Obtenido de <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/30004MI0.PDF?Dockey=30004MI0.PDF>
- USEPA. (2000). *Introduction to Phytoremediation*. Washintong, DC: United States Environmental Protection Agency. Recuperado el 13 de 06 de 2022, de <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/30003T7G.PDF?Dockey=30003T7G.PDF>
- Vallejos, Y. S. (2009). *Valoración de la Efectividad Antimicrobiana de Un Desinfectante de Amonio Cuaternario*. León: [Tesis Pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]. Repositorio Institucional UNAN LEON. Obtenido de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/2940/1/214512.pdf>
- Verma, T., Tiwari, S., Tripathi, M., & Ramteke, P. W. (2019). Treatment and Recycling of Wastewater From Tannery. In R. L. Singh, & R. P. Singh, *Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future*. (p. 72). Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Von-Sperling, M., & De Lemons-Chenicharo, C. A. (2005). *Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions*. Brazil: IWA Publishing.

Weon, S.-Y., Lee, S.-Y., & Koopman, B. (2004). Effect of Temperature and Dissolved Oxygen on Biological Nitrification at High Ammonia Concentrations. *Environmental Technology*, 25(11), 1211-1219.

Zheng, M., & Ni, J. (2019). *Nitrogen Removal Characteristics of Aerobic Denitrifying Bacteria and Their Applications in Nitrogen Oxides Emission Mitigation*. Beijing: Springer Nature Singapore Pte Ltd.