



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Ingeniería Química

Evaluación de la remoción de cloruro de metiltionina, empleando cultivos monospóricos de hongos aislados provenientes de aguas residuales

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico.

Autoras:

Erika Johan Sánchez Andrade
johan.sancheza25@gmail.com
C.I: 0350199584

Tamya Jhomira Montúfar Guevara
tammym1295@gmail.com
C.I: 1600643124

Directora:

Ing. Verónica Patricia Pinos Vélez PhD.
CI. 0103550711

Asesora:

Biotecnóloga. María del Carmen Menacho Miralles
CI. 17771606N

**Cuenca- Ecuador
18/02/2021**

RESUMEN

Los tratamientos biológicos que usan hongos como estrategia para la remoción de colorantes son una alternativa rentable y amigable con el medioambiente. El cloruro de metiltionina es uno de los colorantes más utilizados en varias industrias, entre ellas la industria textil, papelería, alimentaria, etc., pero no es fácilmente degradable y ocasiona daños medioambientales y alteraciones a la salud. El presente trabajo busca evaluar un método de adsorción del colorante cloruro de metiltionina, utilizando tres cepas fúngicas provenientes de aguas residuales para su adsorción. La biomasa fúngica obtenida de los cultivos monospóricos aislados, fue sembrada en dos sustratos contaminados con el colorante, que simulan diferentes tipos de efluentes, siendo estos: residuos domésticos para el medio Malta y residuos industriales para el medio Mineral. Las muestras de cada medio contaminado, Mineral y Malta, se realizaron por triplicado, y los blancos de los medios por duplicado; dando un total de 22 muestras para la evaluación.

Los resultados se obtuvieron al analizar los datos registrados entre dos períodos. El primero constó de 62 días, intervalo en el que se evaluó la degradación del colorante a una temperatura de 20 ± 2 °C. Al registrar solamente un mecanismo de adsorción/ desorción, se dispuso evaluar la temperatura óptima de adsorción para las cepas de estudio, las temperaturas a las cuales se realizaron las pruebas fueron 25 °C, 30 °C y 35 °C.

De acuerdo a los análisis realizados, se evidenció que el medio Malta rico en compuestos carbonatados favorecía el crecimiento de biomasa fúngica, la cual facilita el proceso de absorción. Finalmente, al comparar la absorción entre las cepas estudiadas, se afirma que la cepa fúngica denominada SS14 *Penicillium echinulatum* en medio Malta presenta el mayor porcentaje de adsorción a una temperatura de 20 ± 2 °C, alcanzando un 72 % de remoción, mientras que, al elevar la temperatura de desarrollo, la cepa que presentó un mayor porcentaje de remoción fue PT14 *Fusarium Oxysporum* en medio Malta a una temperatura de 30 °C.

Palabras Clave: Cloruro de metiltionina. Hongos. Adsorción. Desorción.

ABSTRACT

Biological treatments that use fungi as a strategy for dye removal, are a profitable and environmentally friendly alternative. Methylthionine chlorpride is one of the most widely used colorants in various industries, including the textile, paper, food industry, etc., but it is not easily degradable and causes environmental damage and alterations to health. This thesis seeks to evaluate a method of adsorption the methylthionine chloride dye, using three fungal strains from wastewater for its absorption. The fungal biomass obtained from isolated monosporic cultures, was sown on two substrates contaminated with the dye, which simulate different types of effluents, such as; domestic waste for the Malta environment and industrial and waste for the Mineral environment. Samples of each contaminated medium, Mineral and Malta, were run in triplicate, and the media blanks in duplicate, giving a total of 22 samples for evaluation.

The results were obtained by analyzing the data recorded between two periods. The first one consisted of 62 days, an interval in which the degradation of the dye was evaluated at a temperature of 20 ± 2 ° C. By registering only an adsorption / desorption mechanism, it was decided to evaluate the optimal absorption temperature for the study strains, the temperatures at which the tests were carried out were 25 ° C, 30 ° C and 35 ° C.

According to the analyzes carried out, it was evidenced that the Malta medium rich in carbonate compounds favored the growth of the fungal biomass, which facilitates the absorption process. Finally, when comparing the absorption between the strains studied, it is stated that the fungal strain called SS14 *Penicillium echinulatum* in Malta medium presents the highest absorption percentage at a temperature of 20 ± 2 ° C, reaching a 72% removal, while, at raise the development temperature, the strain that presented a higher percentage of removal was PT14 *Fusarium Oxysporum* in Malta medium at a temperature of 30 ° C.

Keywords: Methylthionine chloride. Fungi. Adsorption. Desorption.



ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	18
JUSTIFICACIÓN	21
CAPÍTULO 1	23
MARCO TEÓRICO	23
1.1. COLORANTES COMO CONTAMINANTES EMERGENTES	23
1.1.1. CONTAMINANTES EMERGENTES	23
1.1.2. COLORANTE CLORURO DE METILTIONINA	33
1.1.3. MÉTODOS DE REMOCIÓN DE COLORANTES	36
1.2. REINO FUNGI: HONGOS	40
1.2.1. DEFINICIÓN	40
1.2.2. FORMAS DE CRECIMIENTO	41
1.2.3 CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS	41
1.2.4. MORFOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN	43
1.2.5. CULTIVOS MONOSPÓRICOS USADOS EN EL TRABAJO	44
CAPÍTULO 2	49
MATERIALES Y MÉTODOS	49
2.1. MATERIALES	49
2.2. EQUIPOS	50
2.3 PROCEDIMIENTOS	52
CAPÍTULO 3	60
RESULTADOS Y DISCUSIONES	60
3.1. IDENTIFICACIÓN DE CEPAS FÚNGICAS	60
3.2. EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN	61
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	74
CONCLUSIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	86



Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Colorantes azoicos ejemplos: a) Ácido rojo 2, b) Amarillo disperso 7 y c) Negro directo 22.	28
Ilustración 2. Ejemplos de colorantes de antraquinona.	29
Ilustración 3. Ejemplo de colorante indigoide: Carmín de índigo.	29
Ilustración 4. Ejemplo de colorante ftalocianina.	30
Ilustración 5. Ejemplo estructura colorante de sulfuro.	30
Ilustración 6. Ejemplo estructura colorante nitro.	31
Ilustración 7. Estructura cloruro de metiltionina.	34
Ilustración 8. Clasificación de los hongos.	42
Ilustración 9 . Características macroscópicas de <i>F. oxysporum</i> .	45
Ilustración 10. Características microscópicas de <i>F. oxysporum</i> .	45
Ilustración 11. Características macroscópicas de <i>P. echinulatum</i> .	46
Ilustración 12. Características microscópicas de <i>P. echinulatum</i> .	46
Ilustración 13. Características macroscópicas de <i>B. ranarum</i> .	47
Ilustración 14. Características microscópicas de <i>B. ranarum</i> .	47
Ilustración 15. Blanco de Malta 1, contaminado con <i>R. mucilaginoso</i> .	48
Ilustración 16. Blanco de Malta 2, contaminado con <i>A. fumigatus</i> .	48
Ilustración 17. Potenciómetro.	50
Ilustración 18. Conductímetro.	51
Ilustración 19. Microscopio.	51
Ilustración 20. Espectrofotómetro.	52
Ilustración 21. Biomasa fúngica en cultivo sumergido.	54
Ilustración 22. Prueba de pares para PT14 en medio Mineral.	79
Ilustración 23. Prueba de Pares para SS1 en medio Mineral	79
Ilustración 24. Prueba de pares para PT14 en medio Malta.	81



Índice de Gráficas

Gráfica 1. Curva de Calibración obtenida para el medio Mineral.	57
Gráfica 2. Curva de Calibración obtenida para el medio Malta.	57
Gráfica 3. Evolución de la concentración del colorante, usando (PT14) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	62
Gráfica 4. Curva de crecimiento <i>F. oxysporum</i> (PT14) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	62
Gráfica 5. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS14) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	63
Gráfica 6. Curva de crecimiento de <i>P. echinulatum</i> (SS14) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	63
Gráfica 7. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS1) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	64
Gráfica 8. Curva de crecimiento de <i>B. ranarum</i> (SS1) en medio Mineral a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	65
Gráfica 9. Evolución de la concentración del colorante, usando (PT14) en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	66
Gráfica 10. Curva de crecimiento <i>F. oxysporum</i> (PT14) en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	66
Gráfica 11. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS14) en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	67
Gráfica 12. Curva de crecimiento de <i>P. echinulatum</i> (SS14) en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	67
Gráfica 13. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS1), en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	68
Gráfica 14. Curva de crecimiento de <i>B. ranarum</i> (SS1), en medio Malta a $(20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$.	68
Gráfica 15. Rectas de adsorción usando <i>F. oxysporum</i> (PT14) en medio Mineral.	69
Gráfica 16. Rectas de adsorción usando <i>P. echinulatum</i> (SS14) en medio Mineral.	70
Gráfica 17. Rectas de adsorción usando <i>B. ranarum</i> (SS1) en medio Mineral.	70
Gráfica 18. Rectas de adsorción usando <i>F. oxysporum</i> (PT14) en medio Malta.	71
Gráfica 19. Rectas de adsorción usando <i>P. echinulatum</i> (SS14) en medio Malta.	71
Gráfica 20. Rectas de adsorción usando <i>B. ranarum</i> (SS1) en medio Malta.	72
Gráfica 21. Evolución de cepas fúngicas en medio Mineral pH = 9.	73



Índice de Tablas

Tabla 1. Cantidad y concentración de color en el agua generada por algunas industrias.	32
Tabla 2. Efecto del efluente de una industria textil sobre la calidad del cuerpo receptor.	33
Tabla 3. Peso de la biomasa colocada en cada una de las muestras en medio Mineral.	55
Tabla 4. Peso de la biomasa colocada en cada una de las muestras en medio Malta.	56
Tabla 5. Características macroscópicas de <i>F. oxysporum</i> (PT14), <i>P. echinulatum</i> (SS14), <i>B. ranarum</i> (SS1).	60
Tabla 6. Datos de concentración de cepas fúngicas con pH = 9.	72
Tabla 7. Parámetros de control de cepas fúngicas con pH = 9.	73
Tabla 8. Datos de concentración utilizados para análisis estadístico.	74
Tabla 9. Tabla resumen - Prueba t de Student de cada hongo entre medios (20 ± 2 °C).	74
Tabla 10. Resumen análisis ANOVA para cada medio (20 ± 2 °C).	75
Tabla 11. Resumen - Prueba t de Student de Rectas de Adsorción entre medios.	76
Tabla 12. Análisis ANOVA para cada medio.	76
Tabla 13. Análisis ANOVA para las pruebas en medio Mineral.	77
Tabla 14. Análisis ANOVA para las pruebas en medio Malta.	77
Tabla 15. Análisis ANOVA – Hongos a diferentes temperaturas en medio Mineral.	78
Tabla 16. Análisis ANOVA – Hongos a diferentes temperaturas en medio Malta.	80
Tabla 17. Análisis ANOVA a diferentes temperaturas entre medios.	81
Tabla 18. Datos de la Concentración de cepas contaminantes.	82
Tabla 19. Análisis ANOVA para las cepas contaminantes.	82



Anexos

Anexo 1. Puntos obtenidos para la construcción de curvas de Calibración - medio Mineral y medio Malta.	97
Anexo 2. Registro de Absorbancia medio Malta.	97
Anexo 3. Registro de Absorbancia Medio Mineral y muestras pH = 9.	98
Anexo 4. Conteo de Esporas.	98
Anexo 5. Registro de Biomasa obtenida.	99
Anexo 6. Tabla de control de parámetros.	100
Anexo 7. Puntos obtenidos para las rectas de absorción.	101
Anexo 8. Prueba t de Student para PT14 entre medios a 20 ± 2 °C.	101
Anexo 9. Prueba t de Student para SS14 entre medios 20 ± 2 °C.	102
Anexo 10. Prueba t de Student para SS1 entre medios 20 ± 2 °C.	102
Anexo 11. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos 20 ± 2 °C.	102
Anexo 12. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos 20 ± 2 °C.	103
Anexo 13. Prueba t de Student para PT14 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.	103
Anexo 14. Prueba t de Student para SS14 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.	103
Anexo 15. Prueba t para SS1 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.	104
Anexo 16. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos – Rectas de Adsorción.	104
Anexo 17. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos – Rectas de Adsorción.	104
Anexo 18. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 25 °C - Rectas de Adsorción.	105
Anexo 19. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 30 °C - Rectas de Adsorción.	105
Anexo 20. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 35 °C - Rectas de Adsorción.	105
Anexo 21. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 25 °C - Rectas de Adsorción.	106
Anexo 22. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 30 °C - Rectas de Adsorción.	106
Anexo 23. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 35 °C - Rectas de Adsorción.	106
Anexo 24. Análisis ANOVA para PT14 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	107
Anexo 25. Análisis ANOVA para SS14 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	107
Anexo 26. Análisis ANOVA para SS1 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	107
Anexo 27. Análisis ANOVA para PT14 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	108
Anexo 28. Análisis ANOVA para SS14 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	108



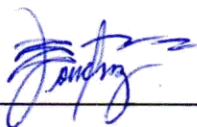
Anexo 29. Análisis ANOVA para SS1 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.	108
Anexo 30. Análisis ANOVA entre medios a 25 °C.	109
Anexo 31. Análisis ANOVA entre medios a 30 °C.	109
Anexo 32. Análisis ANOVA entre medios a 35 °C.	109
Anexo 33. Análisis ANOVA entre cepas contaminantes.	110
Anexo 34. Análisis estadístico RStudio.	121
Anexo 35. Resultados de Identificación de cepas fúngicas utilizadas para las pruebas de remoción.	122
Anexo 36. Resultados de Identificación de cepas fúngicas contaminantes.	123
Anexo 37. Carta de Certificación de obtención especies fúngicas.	124
Anexo 38. Evolución de Muestras en medio Mineral.	125
Anexo 39. Evolución de Muestras en medio Malta.	126

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Erika Johan Sánchez Andrade en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación de la remoción de cloruro de metiltionina, empleando cultivos monospóricos de hongos aislados provenientes de aguas residuales", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 18 de febrero de 2021.



Erika Johan Sánchez Andrade
C.I. 0350199584

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Tamya Jhomira Montúfar Guevara en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación de la remoción de cloruro de metiltionina, empleando cultivos monospóricos de hongos aislados provenientes de aguas residuales", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 18 de febrero de 2021.



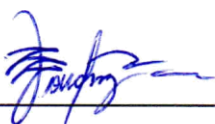
Tamya Jhomira Montúfar Guevara

C.I. 1600643124

Cláusula de Propiedad Intelectual

Erika Johan Sánchez Andrade, autor/a del trabajo de titulación "Evaluación de la remoción de cloruro de metiltionina, empleando cultivos monospóricos de hongos aislados provenientes de aguas residuales", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 18 de febrero de 2021.



Erika Johan Sánchez Andrade

C.I: 0350199584

Cláusula de Propiedad Intelectual

Tamya Jhomira Montúfar Guevara, autor/a del trabajo de titulación "Evaluación de la remoción de cloruro de metiltionina, empleando cultivos monospóricos de hongos aislados provenientes de aguas residuales", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 18 de febrero de 2021.



Tamya Jhomira Montúfar Guevara

C.I. 1600643124



Agradecimientos

Gracias a Dios por la vida de mis padres y familiares, y a su vez a ellos por apoyarme a lo largo de mi vida en derrotas y triunfos.

Por su guía de conocimientos, ética y amabilidad, por su compromiso y dedicación como tutora agradezco de manera especial a la Dra. Verónica Pinos, a su vez agradezco a la Biotecnóloga Carmen Menacho por su apoyo en el ámbito práctico del desarrollo de este trabajo, y al Dr. Giovanni Larriva por ser el intermediario y colaborador para el uso de los laboratorios de análisis de aguas Campus Balzay.

Agradezco la perseverancia y comunicación a lo largo de esta tesis, con mi compañera de trabajo Tammya Montúfar, lo que nos ha permitido finalizar el mismo con optimismo y un gran lazo de amistad y hermandad.

Erika



Agradecimientos

Expreso mi más profundo agradecimiento a mis padres por apoyarme en este largo camino.

A todas las personas que fueron parte de mi educación y formación profesional.

Mi sincero agradecimiento a la Dra. Verónica Pinos, quien nos acompañó y orientó en cada parte de este trabajo, compartiéndonos su conocimiento y cordialidad, también agradezco a la Biotecnóloga Carmen Menacho por su apoyo durante el desarrollo experimental de este trabajo.

Agradezco a mi amiga Erika Sánchez, por todo el apoyo y esfuerzo brindado para el desarrollo y culminación de este trabajo.

Tamya



Dedicatorias

Al llegar a la cúspide de tu triunfo, recorres tu camino trazado en segundos, saboreas el cansancio y el esfuerzo de las obligaciones pasadas, traducidas en felicidad y calma, es entonces cuando a tu lado se abren lazos que recorren tus manos, como brújulas que guiaron tu camino hacia nuevos comienzos y grandes peldaños, aquel timón que supo guiarme en las tormentas profundas de un mar tan inmenso como la vida eres tú madre Cecilia Andrade, por ello siento necesario dedicarte este logro, como el principal motor que me impulsa a seguir adelante. De manera especial también dedico mi trabajo a mi padre John Sánchez, quien con su implacable carácter me enseñó fortaleza, fuerza y voluntad para luchar con cualquier obstáculo, y el aprecio del silencio entre dos mentes que se dicen todo sin necesidad de palabras, a mi hermano Iván Sánchez, quien, con su personalidad egocéntrica, poeta y extrovertida a sido el compañero de mis miedos y batallas, recordándome el deber de seguir en pie ante cualquier tropiezo, a mi abuelita Elsa Rodríguez por ser el pilar de mis valores y apoyarme a cada latido en este largo sendero, a mis tíos Rolando, José y Javier por ser los defensores de mis pasos, a mi tía Mónica por ser la ayudante de mis locuras, a mis primos Natalia, Wilson, Carlos, acompañantes de mi infancia, penas y alegrías.

Dedicó mi trabajo, a mi compañero de carrera y porque no decirlo, mi compañero de vida, Paúl Abril, has sabido impulsar mi luz propia complementando mis días.

Para finalizar dedicó este logro, a aquella mujer que mimaba mis caprichos y guía mis pasos desde el cielo, mi abuelita Judith Ortiz.

Erika



Dedicatorias

Me dedico este trabajo como recompensa por haber alcanzado una de las metas más importantes de mi vida.

Tamya

INTRODUCCIÓN

El desarrollo y crecimiento industrial, es el causante del deterioro ambiental, siendo uno de los principales responsables de este suceso los efluentes industriales, se estima que alrededor del 90 % de este tipo de efluentes, son vertidos a los cuerpos de agua sin ningún tipo de tratamiento previo (Robledo Zacarías et al., 2017). Entre la gran variedad de sustancias contaminantes descargadas en los efluentes tenemos desde metales tóxicos (mercurio, cadmio, cromo, arsénico, plomo, etc.), contaminantes emergentes (compuestos orgánicos persistentes, disruptores endocrinos, antibióticos, etc.), hidrocarburos, materia orgánica, hasta compuestos que producen la coloración de los efluentes (colorantes y pigmentos) (Barrios-Ziolo et al., 2015). Los colorantes de acuerdo a Bermeo y Tinoco (2016), y de manera especial los de origen sintético, generan un deterioro estético y pérdida de la calidad de los cuerpos de agua, siendo los responsables de la disminución del oxígeno disuelto, la eutrofización, la formación de compuestos recalcitrantes y tóxicos para las células, y la obstaculización del paso de luz.

Los métodos de tratamiento de aguas residuales convencionales no son completamente óptimos para la remoción de colorantes, debido a que se ha detectado que estos compuestos permanecen sin alteración aún después de aplicar tratamientos terciarios, además de acuerdo al método de tratamiento existe la posible generación de productos secundarios tóxicos debido a oxidaciones o reducciones parciales (Barrios-Ziolo et al., 2015; Garzón, 2019). Para tratar los efluentes afectados por la coloración de sus aguas, y al encontrar que pese a obtenerse resultados considerablemente satisfactorios usando tratamientos químicos o físicos, solo existe eliminación parcial del contaminante y poseen un elevado costo, se propone aplicar tratamientos biológicos, debido a que son considerados efectivos para la remoción de sustancias persistentes en el medio ambiente y del exceso de materia orgánica presente en el medio (Robinson et al., 2001). Para este propósito los tratamientos biológicos utilizan diferentes microorganismos, tales como: algas, bacterias, levaduras y hongos (Garzón, 2009). De acuerdo a Martínez (2018), los hongos son capaces de degradar sustratos complejos a través de un sistema enzimático no específico, además estos poseen una pared celular que presenta cierta afinidad con los colorantes, lo que facilita o da lugar a la biosorción cinética, por lo que la metodología aplicada a continuación se basa en este principio.

El propósito de esta investigación fue evaluar la remoción del colorante cloruro de metiltionina preparado a nivel de laboratorio, utilizando cultivos monospóricos de tres cepas de hongos: *F. oxysporum*, *P. echinulatum* y *B. ranarum*, aislados e inoculados a partir de aguas residuales provenientes de la Planta de tratamiento Ucubamba, mismos que fueron colocados en dos medios contaminados diferentes, medio Mineral y medio Malta. Se analizó el comportamiento de los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos y concentración establecida de acuerdo con la curva de calibración del colorante.

La metodología explicada se planteó con el objetivo general de proponer un método de remediación de aguas contaminadas con cloruro de metiltionina usando cultivos monospóricos de hongos aislados, provenientes de una planta de tratamiento de agua residual, y para su cumplimiento se estableció; Caracterizar macroscópicamente los tres cultivos monospóricos, pertenecientes a las tres cepas de hongos provenientes de las aguas residuales, en donde se registra su crecimiento, topografía y color; Organizar los tiempos de la marcha experimental, (tiempo de partida - registros de mediciones – final de la experimentación), a llevarse a cabo para la remoción del contaminante cloruro de metiltionina en dos medios acuosos diferentes (medio Mineral y medio Malta) y tres cultivos monospóricos (*F.oxysporum* *P. echinulatum* y *B. ranarum*); Evaluar la capacidad de remoción de cloruro de metiltionina empleando cultivos monospóricos de hongos aislados, al analizar los parámetros ya planteados anteriormente.

El presente trabajo de titulación consta de tres capítulos, en el primer capítulo se establece el marco teórico referencial que está compuesto por: los colorantes como contaminantes emergentes, su clasificación, daños ambientales y a la salud que estos ocasionan, además, se profundizan los efectos y características del colorante de estudio (cloruro de metiltionina), finalizando con los métodos de remoción de aguas residuales contaminadas por este tipo de productos.

La segunda parte del primer capítulo se refiere al marco teórico que estudia los hongos y su capacidad degradadora, su clasificación, morfología, y reproducción. También se especificó y detalló las características de las tres cepas de hongos utilizados para el proceso de remoción: *F. oxysporum*, *P. echinulatum*, *B. ranarum*.



En el segundo capítulo se indica la metodología la cual engloba: materiales, equipos y procedimientos, este último ítem abarca la siembra de cultivos monospóricos de cada cepa fúngica, adaptación del hongo a un medio líquido, preparación de los medios Mineral y Malta contaminados con colorante (100 ppm), construcción de la curva de calibración del colorante cloruro de metiltionina, lecturas de pH, conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, concentración del colorante y conteo de esporas de las diferentes muestras preparadas.

El tercer capítulo se centra en el análisis de datos de las lecturas de los parámetros citados anteriormente, la construcción de gráficas de evolución del colorante, rectas de absorción a temperatura controlada y análisis estadístico de los datos obtenidos durante la experimentación, finalmente se detallan las conclusiones.

JUSTIFICACIÓN

Las actividades industriales y domésticas generan una gran demanda del recurso agua, debido a que la mayoría de las actividades realizadas por el ser humano giran en torno a ella, por ello se considera este recurso esencial para el desarrollo de la humanidad, tomándose como una obligación, el aseguramiento y manejo adecuado del recurso hídrico, desde las fuentes empleadas para su uso, hasta el final de su cadena de trabajo, gestionando el correcto saneamiento de esta (Tognelli et al., 2016). De acuerdo a Gastañaga (2018), el aprovechamiento y desuso posterior del recurso agua, ha generado grandes problemas de contaminación de naturaleza biológica y química, las cuales requieren costosos sistemas de control y remediación para corregir esta situación. Entre las industrias que contribuyen a la contaminación del agua está la industria textil debido entre otros contaminantes a los colorantes y pigmentos.

Los colorantes sintéticos generan grandes cantidades de efluentes contaminados, que presentan fluctuaciones extremas en sus parámetros; estudios realizados por Unlu et al. (2009), registran que las aguas residuales de la industria textil presentan un aumento en la demanda química de oxígenos (DQO), la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), pH, color y salinidad, por lo que se puede asegurar que la industria textil genera un alto impacto en el medio ambiente, sobrepasando los valores establecidos por la Norma de calidad ambiental ecuatoriana Anexo 1, siendo necesario el desarrollo de tecnologías eficientes para el tratamiento de este tipo de efluentes. El cloruro de metiltionina o azul de metileno es uno de los colorantes más utilizados por la industria textil, pero al poseer una estructura compleja, no es fácilmente degradable en el medio ambiente, ocasionando daño y alteraciones en la vida acuática, y a su vez suprimiendo procesos fotosintéticos (Losada et al., 2017). De acuerdo a los estudios realizados por Ramos y Blanco (2017) debido a su composición química y estructura, el colorante azul de metileno puede generar daños a la salud, como aumento del ritmo cardíaco, vómitos, mareos, cianosis y necrosis de tejido expuesto, además la mayor parte de los colorantes son mutágenos y/o cancerígenos lo que lo convierte en un problema de salud pública.

La biorremediación como estrategia para la remoción de colorantes, es una buena alternativa, debido a que la decoloración biológica es un método rentable y amigable con el medio



ambiente. Este proceso se lleva a cabo mediante las actividades metabólicas de los organismos, pues ellos toman como fuente de carbono a los contaminantes (Cortázar et al. 2014). Los tratamientos biológicos que han usado cultivos de hongos han demostrado gran capacidad para degradar los colorantes, así también requieren menor costo de inversión debido a su rápida reproducción en medios acuosos de los cuales pueden obtener alimento y nutrientes (Cardona, Osorio & Quintero. 2009).

Esta investigación pretende evaluar la capacidad de degradación del Azul de Metileno, de tres hongos monospóricos aislados (*F. oxysporum*, *B. ranarum* y *P. echinulatum*), con la finalidad de analizar la posible reutilización de una parte de los efluentes de deshecho o aguas residuales, debido a que los organismos empleados para la experimentación fueron extraídos de estas. Además, al evaluar la capacidad de degradación de cada cepa de hongo, y sus parámetros óptimos de desarrollo y crecimiento, se busca determinar la efectividad que presentaría el uso de estos hongos para la implementación de un tratamiento biológico alternativo de aguas.

CAPÍTULO 1

Marco Teórico

1.1. Colorantes como contaminantes emergentes

1.1.1. Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes (CE) son compuestos de diferente origen y naturaleza química, que provienen del uso de algunos aditivos industriales (plastificantes, plaguicidas, agentes tensoactivos, fármacos, colorantes, etc.) estos se liberan al finalizar su cadena de producción, generando efectos negativos o adversos al depositarse en el medio ambiente. De acuerdo con Oropesa et al. (2017), el conocimiento acerca de estos compuestos y sus impactos es escasa, por ello se ha puesto gran énfasis en su evaluación y monitoreo, resaltando que en los últimos años organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS), Agencia de Protección ambiental de Estados Unidos (EPA) y la Comisión Europea están impulsando su investigación. Una de las características de los CE es que se encuentran en bajas concentraciones (ppm/ppt) dificultando su determinación analítica, por ello los sistemas que regulan la calidad de agua no incluyen este monitoreo.

“Los CE son bioacumulables existiendo la posibilidad de ingresar a la cadena trófica y afectar a los seres vivos, se ha detallado evidencias que demuestran que estos pueden tener efectos tóxicos, catalogados como cancerígenos, mutágenos y en algunos casos disruptores endocrinos” (Pachés, 2020). Las fuentes emisoras de este tipo de contaminantes son aguas residuales industriales y domésticas, efluentes hospitalarios, actividad ganadera y agrícola, etc.

1.1.1.2. Tipos de contaminantes emergentes

El concepto de CE incluye a una gran variedad de compuestos, a continuación, citaremos algunos que forman parte de estos:

- **Pesticidas o plaguicidas:** La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), establece que un plaguicida es “cualquier sustancia o mezcla de sustancias con ingredientes químicos o biológicos destinados a repeler, destruir o controlar cualquier plaga o a regular el crecimiento de las plantas” (FAO, 2014).

Independientemente de los beneficios que estos presten, “los plaguicidas son sustancias químicas tóxicas creadas para interferir en un sistema biológico careciendo de selectividad al momento de actuar, pues sólo el 10 % de su aplicación alcanza el organismo objetivo y un alto porcentaje se deposita sobre el suelo, agua y sedimentos, afectando a otros organismos” (Schaaf, 2016). Los plaguicidas presentan un comportamiento ambiental denominado contaminación difusa, esto se debe a que no actúan o se originan en un punto definido, originándose en múltiples puntos que no son fácilmente identificables (Schaaf, 2016). En los últimos años se ha incrementado la preocupación acerca de los plaguicidas, y con mayor énfasis en sus productos de degradación, pues estos últimos se encuentran en concentraciones mayores que sus productos de origen, siendo más persistentes en el medio, bioacumulables y tóxicos, ocasionando daños en el ambiente y en la salud (defectos congénitos en personas y animales, cáncer).

- **Productos farmacéuticos:** “Son un grupo de contaminantes que, a pesar de encontrarse en bajas concentraciones, poseen alta polaridad y baja volatilidad, estos pueden producir efectos a largo plazo sobre el medio ambiente ocasionando daños irreversibles del ecosistema y la salud humana” (Asela, Suárez & Palacios, 2014). En su mayoría los residuos provenientes de fármacos tienen origen en la excreción de sus consumidores, ya que estos no son absorbidos en su totalidad por el cuerpo humano, siendo eliminadas al medio ambiente a través de las aguas residuales, que terminan en cuerpos de agua superficiales, que a su vez contaminan el suelo cercano en contacto (Peña-Álvarez & Castillo-Alanís, 2015). De acuerdo con Pachés (2020), debido a las propiedades fisicoquímicas que poseen los fármacos, en conjunto con sus metabolitos, productos de degradación y características generales del suelo, es posible que este tipo de compuestos alcancen las aguas subterráneas, contaminen los acuíferos y permanezcan acumulados en el suelo, afectando el ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica.
- **Surfactantes:** Los surfactantes son sustancias que pueden modificar las propiedades superficiales de un compuesto o su tensión superficial, es decir, pueden alterar la suspensión de partículas, emulsificación y formación de espumas, debido a esta gran capacidad este tipo de compuesto es ampliamente usado en la industria para: fabricación de pasta de papel, celulosa, metalurgia, curtido, detergentes, plásticos, barnices y en la industria alimenticia (Isch, 2016). La mayor problemática que presenta este tipo de

compuestos es su tratamiento, puesto que en las plantas de tratamiento de agua incrementan la resistencia a la transferencia de oxígeno u ozono, degradándose parcialmente y llegando directamente al ambiente.

- **Drogas ilícitas:** Las drogas como: las anfetaminas, heroína y cocaína luego de ser consumidas, son eliminadas por el organismo ya sea por la saliva, sudor o excreción a las aguas residuales (Pachés, 2020). Tanto el producto inicial como los compuestos degradados de las drogas presentan características recalcitrantes, siendo necesarios métodos de tratamiento avanzado para su eliminación. Lamentablemente los costos de tratamientos más sofisticados son muy elevados y por ello las plantas de tratamiento de agua no cuentan con esta adecuación, es decir estos contaminantes llegan a los cuerpos de aguas y pese a encontrarse en bajas concentraciones, no son eliminados (Ferreira, 2019).
- **Productos de aseo personal:** son productos usados para limpieza corporal o facial, algunos ejemplos de estos son: champús o jabones líquidos en los que parte de sus componentes artificiales al degradarse son tóxicos o dañinos para el medio ambiente y salud humana, formando parte de la lista de contaminantes emergentes. Algunos estudios realizados por León & Esperanza (2018), revelan que los productos de aseo personal representan un riesgo significativo para el medio ambiente, ya que la concentración de compuestos como benzofena, ftalato de dietilo, butilparabeno, triclosán, etc supera la concentración de los límites permitidos para las aguas superficiales.
- **Productos para el tratamiento de aguas:** como parte del proceso de potabilización de agua se incluyen los procesos químicos de desinfección, con la finalidad de reducir el riesgo de infecciones patógenas, durante estos procesos en su mayoría se usa cloro y en algunos casos este reacciona con la materia orgánica natural presente en el agua, generando subproductos de desinfección, específicamente compuestos orgánicos sintéticos como los trihalometanos y los ácidos halo acéticos que son compuestos orgánicos potencialmente cancerígenos y mutágenos en algunas casos (Pérez-Monteza & Romero-Mejía, 2017).
- **Colorantes:** son sustancias orgánicas fluorescentes que tienen la capacidad de impartir color a una sustancia incolora a través de absorción selectiva a la luz. De acuerdo a

Stagnaro y Yamila (2017) la estructura química de un colorante es la responsable de su color, y su estructura está compuestas de grupos: cromógenos (sustancias coloreadas, como el benceno, anillos aromáticos, entre otros), cromóforos (conjunto de átomos en una molécula responsable de su color) y auxocromos (grupo de átomos que aumenta la capacidad de los cromógenos para actuar como colorante), además son compuestos xenobióticos es decir no se encuentran de forma natural, sino son sintetizados por el ser humano, estos pueden ser de diferente tipo (azo, ácidos, básicos, dispersos, directos y reactivos) presentando algunos mayor persistencia en el medio ambiente que otros. “Existen alrededor de 10 000 colorantes que se encuentran disponibles en el mercado actual, y se estima una producción anual aproximada de 700 000 toneladas de estos compuestos sintéticos” (Zaruma et al., 2018).

1.1.1.2. Clasificación de los Colorantes

De acuerdo con Domínguez (2016), los colorantes pueden clasificarse en tintes y pigmentos, donde, los tintes son solubles en agua mientras que los pigmentos no. Sin embargo, a lo largo del tiempo se ha utilizado el término colorante a la hora de referirse también a los tintes, otros autores indican que los colorantes pueden clasificarse de acuerdo con su método de aplicación o en función de su estructura química.

1.1.1.2.1 Clasificación de acuerdo con su método de aplicación

1. Colorantes directos

Se fijan de manera directa sobre la fibra, son colorantes aniónicos tipo azo, son solubles en agua debido a la presencia de uno o más grupos ácido sulfúrico-salificados. Para su aplicación la fibra es suspendida en un baño neutro o alcalino, este tipo de colorantes son utilizados generalmente para teñir seda, lana y en algunos casos algodón (Domínguez, 2016).

2. Colorantes dispersos

Son colorantes aniónicos que pueden ser de tipo azo, antraquinónicos o nitro, cuyas moléculas tienen un menor tamaño y se absorben en las fibras formando una solución sólida, por ello son utilizados para productos sintéticos o de difícil teñido como acetato de celulosa o poliésteres. Son considerados también hidrofóbicos y poco solubles razón por la cual su método de aplicación debe realizarse a presión y temperatura altas (Zaruma et al., 2018).

3. **Colorantes ácidos**

Su nombre se debe al uso de un ácido mineral u orgánico durante su aplicación, son colorantes aniónicos de tipo azo, antraquinona, trifenilmetano, nitro o nitroso. Estos son solubles en agua, siendo normalmente aplicados en baños ácidos, se utilizan en el teñido de nylon, lana, seda, en la industria alimentaria y papelería (Anilema & Martínez, 2018).

4. **Colorantes básicos**

Su nombre se debe a su capacidad de formar cationes al disolverse en agua. La mayoría de estos colorantes son tipo azo, trimetilmetano, antraquinona, empleados en baños de tintura básicos, pueden teñir fibras animales o vegetales, utilizados generalmente para teñir papel, poliacrilonitrilos, nylon, poliéster y seda (Domínguez, 2016).

5. **Colorantes reactivos**

Este tipo de colorante reacciona para formar un enlace covalente entre el colorante y la fibra celulósica bajo influencia de calor y pH, son de tipo azo o antraquinona, contienen también grupos cromóforos, y son utilizados para teñir algodón, lana, seda y nylon. Presentan alta resistencia a la humedad, brillantez y gama de tonalidades (Domínguez, 2016).

6. **Colorantes mordientes**

Son colorantes tipo azo o antraquinona, combinados con sales metálicas de Cr con la finalidad de formar materiales coloreados insolubles, estos son más conocidos como lacas. Utilizados para el teñido de lana, piel y algodón (Domínguez, 2016).

1.1.1.2.2. Clasificación de acuerdo con su estructura química

Los colorantes se pueden clasificar de acuerdo con sus grupos funcionales cromóforos y su estructura principal en:

1. Colorantes azoicos

Los colorantes azoicos representan el grupo más antiguo y variado de colorantes, constituyendo el 70 % de los colorantes utilizados a escala industrial, su estructura molecular está formada por uno o más grupos azo (grupo cromóforo), el grupo azo consta de dos átomos de nitrógeno que se encuentran unidos por un enlace doble (-N=N-), a los cuales se unen grupos alifáticos o aromáticos. Todos los colorantes azoicos presentan color, existiendo algunas excepciones que no son aptas para su uso. Los colorantes azoicos presentan una gran versatilidad debido a su gran número de sustituyentes y síntesis simple, comprendiendo de esta manera el grupo más importante de colorantes artificiales o sintéticos, estos son usados en la industria textil, farmacéutica, curtiembres, papel y de plástico. “La mayor parte de este tipo de colorantes se preparan mediante disociación de una amina aromática primaria seguida de acoplamiento de la sal de diazonio resultante con un nucleófilo rico en electrones” (Gürses et al., 2016).

En la figura a continuación se presenta algunos ejemplos de colorantes azoicos:

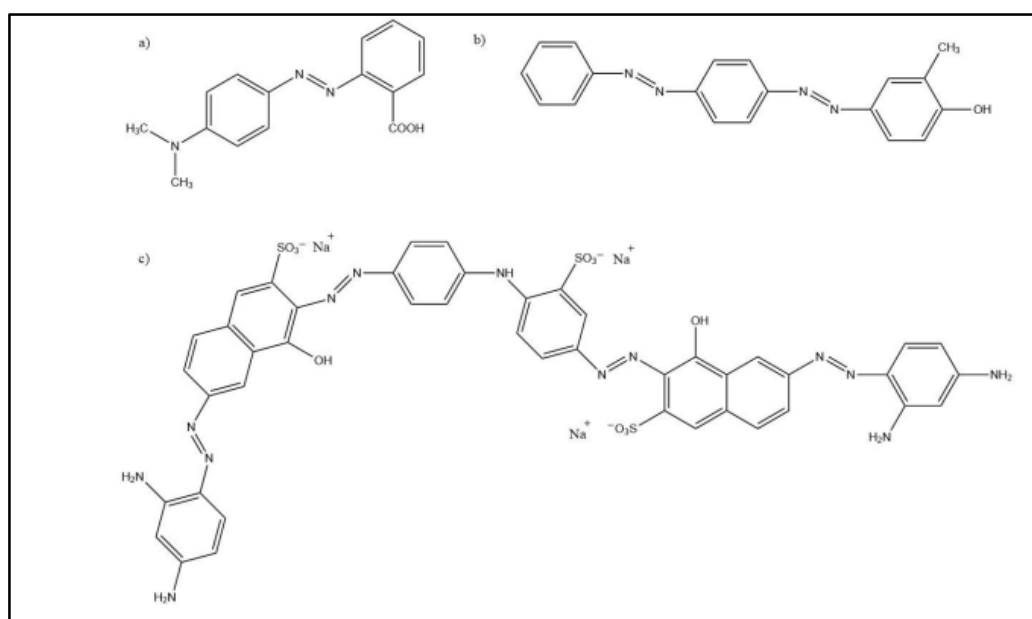


Ilustración 1. Colorantes azoicos ejemplos: a) Ácido rojo 2, b) Amarillo disperso 7 y c) Negro directo 22.

Tomado de Rodríguez (2019)

2. Colorantes de antraquinona

Este tipo de colorantes presentan ciertas ventajas en su uso, como el brillo, y buenas propiedades de firmeza, pero son de síntesis complicada, por ello su costo de producción es más elevado que la síntesis de colorantes azoicos (Gürses et al., 2016). Las antraquinonas a diferencia de los colorantes azoicos son productos naturales, provenientes de bacterias, hongos, líquenes y plantas, se derivan del antraceno y se encuentran constituidas por núcleo antraquinona con grupos auxocromos, hidroxilo y/o sulfónicos (Rodríguez, 2019).

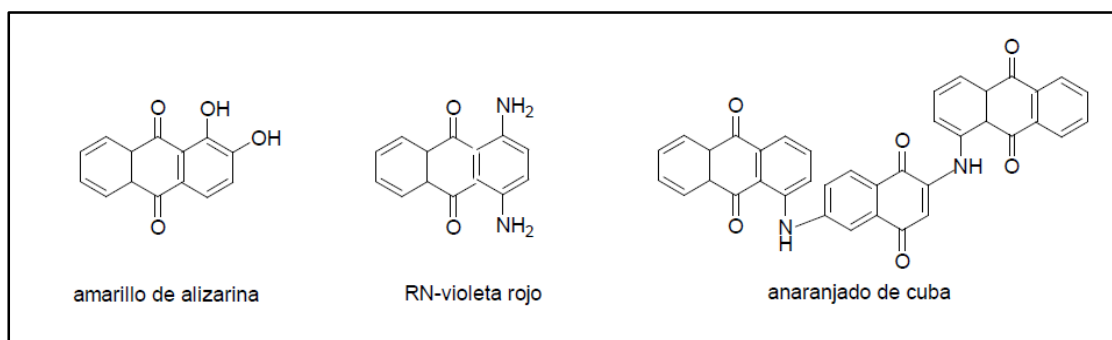


Ilustración 2. Ejemplos de colorantes de antraquinona.

Tomado de Sanz (2015)

3. Colorantes indigoides

El colorante índigo es uno de los tintes más remotos existentes en la actualidad, este es extraído a partir de plantas y usado en la industria textil para el teñido de jeans y chaquetas, este posee un color azul muy singular y característico. Su estructura molecular está formada por un grupo índigo con grupos auxocromos hidroxilo y/o sulfónicos y sustituyentes amino o halógeno, entre otros (Domínguez, 2016). De acuerdo con Rodríguez (2019), el índigo se obtiene a partir de la reacción de anilina, formaldehído y cianuro de hidrógeno.

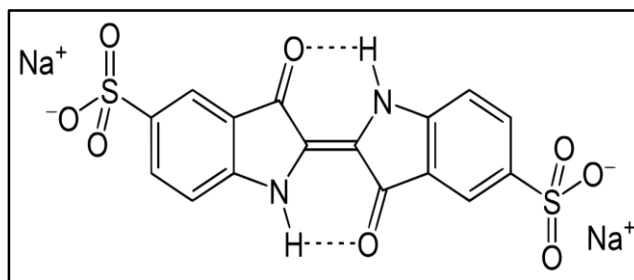


Ilustración 3. Ejemplo de colorante indigoide: Carmín de índigo.

Tomado de Sanz (2015)

4. Colorantes de ftalocianina

Las ftalocianinas son una clase de compuestos macrocíclicos, estos se forman cuando se unen cuatro grupos denominados isoindol (la fusión de dos anillos: bencénico y piridina), a través de cuatro átomos de N formando de esta manera un anillo de 16 átomos, alterados con enlaces dobles conjugados, las propiedades que poseen este tipo de colorantes son: mayor flexibilidad estructural y estabilidad (Zaruma et al., 2018).

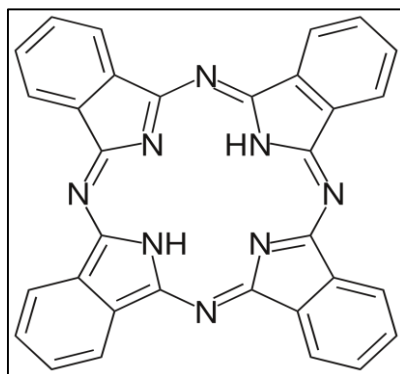


Ilustración 4. Ejemplo de colorante ftalocianina.

Tomado de Zaruma et al. (2018)

5. Colorantes de azufre

Este tipo de colorantes son usados para teñir fibras celulósicas, producen tonalidades opacas rentables, especialmente el negro, son de bajo costo, presentan buena resistencia a la luz, el lavado y los ácidos, pero son muy sensibles al cloro. “Son insolubles en agua, pero solubilizados por reducción, para su aplicación se usa una solución de sulfuro de sodio, el tinte se forma dentro de los poros de la fibra por oxidación atmosférica o química” (Rodríguez, 2019).

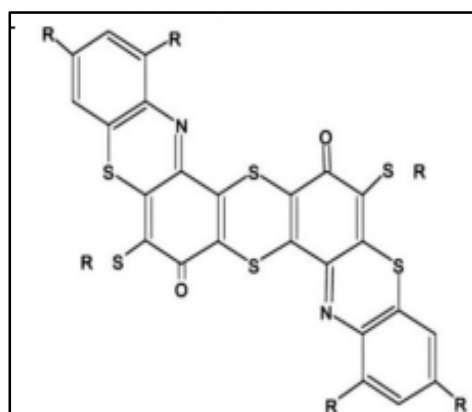


Ilustración 5. Ejemplo estructura colorante de sulfuro.

Tomado de Zaruma et al. (2018)

6. Colorantes nitro y nitrosos

Son un grupo de colorantes incoloros cuando se encuentran aislados, estos presentan grupos nitro o nitroso que se unen con un grupo donador de electrones, este fenómeno sucede sistema aromático. “Su absorción se encuentra muy cerca del campo visible por combinación de grupos auxocromos débiles, adquiriendo una tonalidad amarillenta. Estos compuestos hidroxí nitrosos se forman por la acción del ácido nitroso sobre fenoles y naftoles” (Gürses et al., 2016).

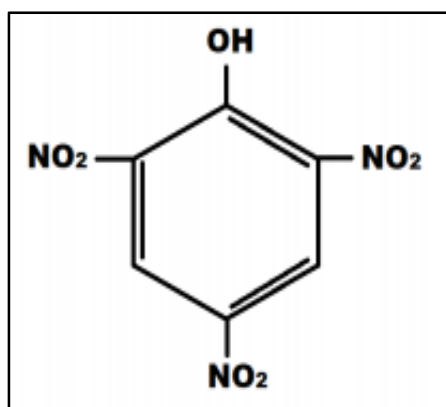


Ilustración 6. Ejemplo estructura colorante nitro.

Tomado de Zaruma et al. (2018)

1.1.1.3. Daños ambientales ocasionados por el uso de colorantes

Debido a la gran cantidad de agua utilizada en producción, y la composición de sus efluentes, la industria textil se categoriza como la industria más contaminante en lo que refiere a efluentes residuales con colorantes, además esta utiliza dos terceras partes de la producción total de colorantes. En la actualidad se genera alrededor de 700 0000 toneladas de colorante, los cuales son utilizados como parte esencial en industrias textiles (ropa, bolsos), papelería, etc., por lo cual la producción de aguas residuales generadas es una gran problemática de contaminación ambiental en la actualidad (Hussein & Scholz, 2018). Las aguas residuales producto del uso industrial de colorantes representan un gran riesgo ambiental y de salud pública, debido a que este tipo de aditivos sintéticos, al poseer una estructura aromática incorporada con diferentes grupos funcionales, presentan alta toxicidad y potencial cancerígeno. Se ha determinado de acuerdo con algunos estudios realizados por Lara (2017) que algunos colorantes pueden ser causantes de alergia, dermatitis, irritación de la piel,

cáncer, y mutaciones en los seres humanos, ya que al ser ingeridos se degradan en el tracto intestinal y producen aminas alifáticas o aromáticas.

Es importante mencionar que durante el proceso de teñido también se generan metales como arsénico, cadmio, cromo, cobalto, manganeso, cobre, mercurio, níquel, plata, platino, estaño, zinc, entre otros, esto dependiendo del tipo de colorante utilizado. La acumulación de estos metales puede generar efectos negativos en cultivos vegetales (disminución de la fertilidad del suelo) y acumulaciones tóxicas en los tejidos de los organismos acuáticos. Los efluentes industriales con coloración presentan fluctuaciones en algunos parámetros, tales como SST (sólidos suspendidos totales), carga iónica, color, pH, compuestos orgánicos expresados en DQO, DBO y AOX (haluros orgánicos absorbibles) (Lara, 2017).

En la Tabla 1, se señala la variación de concentración de color en efluentes de algunas industrias, señalando la industria textil como la principal fuente emisora.

Tabla 1. Cantidad y concentración de color en el agua generada por algunas industrias.

Tomado de Cortázar et al. (2014).

Industria	Cantidad de agua generada (m³/ton)	Concentración de color (unidades hazen)
Azucarera	0.4 m ³ /ton caña triturada	150-200
Cervecería	0.25 m ³ /ton cerveza producida	200-300
Destilería	12 m ³ /ton de alcohol producido	200-300
Curtido	28 m ³ /ton de piel	400-500
Pulpa y papel	175 m ³ /ton de papel	100-600
Textil	120 m ³ /ton de fibra	1100-1300

Dentro de los problemas que generan los efluentes residuales con presencia de colorantes, tenemos la absorción y reflexión de luz solar en los cuerpos de agua, que interfiere con el crecimiento de las bacterias, limitando su proceso de degradación biológica, mismo que ayuda en la remoción de impurezas del agua (Seow & Lim, 2016).

Además, se ha evidenciado que los colorantes azoicos también inhiben otros procesos biológicos, como la fotosíntesis de algas y reducción de DQO (demanda bioquímica de

oxígeno). Gracias al análisis de Ademorotti et al., (1992) se logró evidenciar que la calidad del agua en el cuerpo receptor se afecta considerablemente al recibir efluentes contaminados con colorantes, en la Tabla 2 se detalla la variación de parámetros.

Tabla 2. Efecto del efluente de una industria textil sobre la calidad del cuerpo receptor.

Tomado de Ademorotti et al. (1992).

Parámetro	Propiedades del efluente proveniente de una industria textil	Calidad del cuerpo de agua antes de la descarga del efluente	Calidad del cuerpo de agua después de la descarga del efluente
Color	Azul	Claro	Azul cielo
pH	8.4 - 10	7.2	7.7
Sólidos suspendidos (mg/L)	185.0 - 294.0	11.3	67.6
Sólidos totales (mg/L)	1500 - 2470	23.4	298.3
Oxígeno disuelto (mg O ₂ /L)	***	8.3	1.3
DBO (mg O ₂ /L)	420.0 - 674.0	2.0	98.7

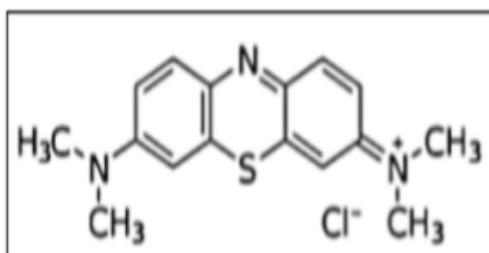
De acuerdo con el tipo de colorante y su capacidad reducida de fijación, se ha estimado que las aguas residuales poseen del 2 % - 50 % de estos compuestos, encontrando de esta manera concentraciones superiores a 1500 mg/L. Los colorantes presentan alta resistencia a factores de luz, calor y oxidación, debido a que poseen estructuras complejas, por ello se considera que son persistentes en el ambiente, siendo necesarios métodos más avanzados para su remoción, dado que los tratamientos convencionales de aguas no aseguran su remoción (Lara, 2017).

1.1.2. Colorante cloruro de metiltionina

El colorante catiónico cloruro de metiltionina, más conocido como Azul de metileno, es un compuesto heterocíclico aromático, cuya fórmula científica es: C₁₆H₁₈N₃SC.3H₂O, este pertenece a un grupo de colorantes conocido como fotosensibilizador. Fue creado para uso de

la industria textil a finales del siglo XIX, posterior a ello sería introducido en el mundo científico en el campo microbiológico (Garduño, 2019).

Su estructura se puede observar en la siguiente figura:



*Ilustración 7. Estructura cloruro de metiltionina.
Tomado de Academic (2010)*

A nivel de laboratorio este colorante presenta múltiples usos, tales como: aditivo, cicatrizante, antiséptico y materia prima, ya que con este se puede fabricar agentes antipalúdicos (De la Cruz Solano, 2016).

1.1.2.1 Propiedades Físicoquímicas

Algunas de las propiedades fisicoquímicas del colorante cloruro de metiltionina se enuncian a continuación:

- Masa molecular: 319.85 g/mol.
- Color característico: color azul oscuro con brillo bronceado.
- Al tener una gran capacidad para aceptar o donar iones de H, el cloruro de metiltionina posee propiedades redox (Garduño, 2019).
- Su punto de fusión se encuentra a 100 °C.
- Solubilidad: Es soluble en agua, cloroformo y moderadamente en alcohol, sus disoluciones se tornan de color azul profundo.
- Presión de vapor 7×10^{-7} mm Hg a una temperatura de 25 °C.
- Su determinación espectrofotométrica en UV-Vis se realiza a 664 nm (Ocampo, 2019).
- Se encuentra dentro de un grupo de colorantes denominado fotosensibilizadores, ya que se encuentra en el rango de luz visible (585 - 670 nm) (Ocampo, 2019; Zambrano & Ramírez, 2019).

1.1.2.2. Daños a la Salud

El cloruro de metiltionina no es considerado tóxico pero su presencia durante largos períodos de tiempo puede ocasionar efectos nocivos para la población humana y algunos animales, ya que al encontrarse en solución o estado triplete forma electrones de oxígeno diatómico que permiten la formación de radicales superóxidos, moléculas biológicamente dañinas capaces de oxidar ADN, polisacáridos y lípidos directamente o por generación secundaria de otros radicales. Su toxicología indica un LD50 = 1.180 mg/kg, y una ecotoxicidad para distintas especies acuáticas de 45 - 2.260 mg/L (Gil et al. 2012).

Algunos estudios han indicado que al encontrarse cloruro de metiltionina en el agua potable puede causar irritación en piel y ojos, náuseas vómitos, confusión mental, y dolores abdominales, debido a esto se considera importante su remoción de aguas contaminadas (Cruz, 2019; Garduño, 2019).

1.1.2.3. Daños al Medio Ambiente

Al pertenecer al grupo azo, el colorante cloruro de metiltionina posee uno o más grupos cromóforos N=N y una estructura aromática, volviendo su proceso de remoción complicado, debido a esto, los tratamientos convencionales o aquellos que implican un proceso químico no son eficaces en su eliminación, descargándose el contaminante al medio ambiente generando efectos nocivos para la vida acuática, además del efecto estético generado sobre la superficie del agua y la formación de compuestos recalcitrantes y tóxicos (Albis Arrieta et al., 2017; Bermeo & Tinoco, 2016).

1.1.2.4. Tecnologías Utilizadas para remover el cloruro de metiltionina

En la actualidad las tecnologías más utilizadas para la remoción del Azul de metileno son:

- Coagulación-Floculación.
- Adsorción con carbón Activado.
- Tecnologías de Membrana.
- Tratamientos con Ozono (Garduño, 2019).

1.1.3. Métodos de Remoción de Colorantes

1.1.3.1. Tratamiento Físicos

Los métodos que han de contemplarse en esta categoría son: adsorción, filtración e intercambio iónico (Barrios, 2016; Roca, 2019). El pH tiene una influencia significativa, pues los medios ácidos favorecen la remoción de los colorantes ácidos, reactivos, directos y dispersos, y los medios alcalinos favorecen la remoción de colorantes básicos.

- **Adsorción:** “Proceso en el cual una sustancia (adsorbato), se concentra en la superficie de otra fase (adsorbente), esta fase puede ser sólida o líquida, en este proceso las fuerzas de unión son de tipo superficial” (Peña, 2016). “Las interacciones electrostáticas que se llevan en los procesos de adsorción pueden aumentar realizando tratamientos con agentes químicos modificadores, los cuales causarán protonación o desprotonación en la superficie del material adsorbente” (Garduño, 2019). Los estudios nos indican que los residuos pertenecientes a las agroindustrias como aceite de palma, virutas, aserrín y materiales adsorbentes de origen mineral como lignito, carbón activado y bentonitas, han reportado los mejores porcentajes de remoción (Garduño, 2019). Este método puede ser aplicado para una amplia variedad de colorantes azo, reactivos, ácidos y de manera especial para tintes básicos, pero insatisfactorio para colorantes dispersos y de azufre debido a que su eliminación depende del pH. También es importante mencionar que una de las desventajas de este tipo es el costo de regeneración del material adsorbente y su pérdida (Rodríguez, 2019).
- **Filtración / Nanofiltración:** De acuerdo con Lara (2017), el mecanismo de separación mediante membranas consiste en que estas actúen como barreras permeables selectivas, que permiten a algunas sustancias (agua) pasar a través de ellas, mientras retienen a otras. En un proceso de membranas, la corriente de ingreso se divide en dos: un permeado o filtrado. La filtración se fundamenta en la diferencia de tamaños, en base a ello se puede señalar el tipo de filtración, a continuación, se señalan los tamaños de separación y su clasificación:
 - **Microfiltración:** Los compuestos que pueden ser separados a través de esta membrana deben poseer un tamaño mayor a 100 nm, se usa para retener bacterias y otros tipos de macromoléculas.

- **Ultrafiltración:** Este proceso tiene la capacidad de eliminar un 31 % - 76 % del color y compuestos contaminantes que se encuentran en aguas residuales. La membrana de este proceso retiene compuestos con diámetros mayores a 10 nm.
- **Nanofiltración:** Puede separar compuestos orgánicos de bajo peso molecular, con diámetros mayores a 1 nm, este proceso puede retener iones divalentes y monovalentes, logrando separar sales de los baños de tintura para su posterior uso.
- **Osmosis inversa:** Esta membrana es capaz de retener sales minerales, colorantes pequeños y algunos aditivos químicos, este proceso alcanza la purificación que ofrece la nanofiltración, obteniéndose como resultado agua pura y sales minerales (Jiménez & Vallve, 2014; Macario, 2016).
- **Intercambio Iónico:** Es una transferencia de materia fluido - sólido, la cual, se lleva a cabo mediante el paso de uno o más iones de la fase fluida al sólido por intercambio o desplazamiento de iones de la misma carga, que se encuentran unidos por fuerzas electrostáticas a grupos funcionales superficiales (Macario, 2016). La principal ventaja de esta técnica es que no hay pérdida de adsorbente durante su regeneración, sin embargo, el coste y los disolventes necesarios para la limpieza son caros y no es apta para todo tipo de colorantes (Macario, 2016).

1.1.3.2. Tratamientos Químicos

Algunos de los procesos químicos aplicados en la remoción de efluentes contaminados por colorantes son: ozonificación, reactivo de Fenton, ultrasonido, fotocátalisis (ultravioleta), coagulación / floculación y electrocoagulación, entre otras tecnologías (Barrios, 2016; Roca, 2019). Este tipo de tratamientos no se recomienda en colorantes altamente solubles (Castellar et al., 2013).

- **Procesos oxidativos:** Son los métodos más utilizados en los procesos de decoloración química, debido a su simple aplicación, el principal agente oxidante usado es, por lo general, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual debe ser activado con luz ultravioleta. La oxidación química permite la eliminación del colorante en el efluente, como resultado de la rotura del anillo aromático de las moléculas del colorante (Zambrano, 2018). Los

métodos de oxidación avanzada (AOPs) se basan en la formación de radicales libres que son altamente reactivos y no selectivos. Pueden verse afectados por la presencia de carbonatos y bicarbonatos en el agua, pues actúan como agentes inhibidores disminuyendo la eficiencia degradativa del proceso (Valdés et al., 2009). “Este proceso no se recomienda para colorantes dispersos y se estudia la posible mineralización, liberación de aminas aromáticas y contaminación adicional con cloro” (Rodríguez, 2019).

- **Reactivo de Fenton:** Este método se basa en la reacción entre el peróxido de hidrógeno y los cationes Fe^{+2} y Fe^{+3} , para la generación del radical hidroxilo (OH), el cual ataca y oxida a los agentes contaminantes adsorbidos o en fase acuosa (Macario, 2016). Los beneficios que se obtienen al utilizar este método son; reducción de DQO, degradación de color y reducción de la toxicidad del efluente (Zambrano, 2018). Esta técnica ha demostrado gran capacidad de degradación para compuestos como fenoles, bifenoles y colorantes azo (Montiel et al., 2017).
- **Ozonificación:** La ozonificación de los efluentes contaminados, generan especies incoloras y más biodegradables (Mota, 2019). Al igual que los procesos físicos de adsorción, el pH del medio se relaciona con la naturaleza del colorante. Con este método fácilmente se pueden alcanzar porcentajes de remoción del 98 % y 100 %, en períodos muy cortos de tiempo, 15 minutos aproximadamente (Garduño, 2019).
- **Coagulación y precipitación:** Este método utiliza especies químicas para realizar una remoción del color, además remueve cargas contaminantes presentes en los efluentes. “Los reactivos como el sulfato de aluminio y el cloruro férrico, pueden remover del 53 % al 100 % de color en efluentes que presentan concentraciones de (40 mg/L – 4000 mg/L), en períodos relativamente cortos, pues la remoción puede darse en tiempos inferiores a las dos horas” (Garduño, 2019).
- **Electrocoagulación:** En esta técnica, la corriente eléctrica genera coagulantes que pueden ser $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_2$ o $\text{Al}(\text{OH})_3$, los cuales desestabilizan a las partículas contaminantes que se encuentran en un medio acuoso, una vez que ha finalizado el proceso los compuestos que se han formado son más estables, y precipitan fácilmente, lo

cual favorece su remoción con ayuda de un método secundario como la filtración (Henao & Ramirez, 2016).

- **Fotocatálisis:** Está basada en la absorción de energía ultravioleta o radiante, mediante un fotocatalizador, que generalmente es de TiO_2 . Las partículas se excitan al recibir radiación, y generan pares electrón - hueco, que migran a la superficie para dar lugar a reacciones de oxidación y reducción con las especies adsorbidas, lo cual facilita la degradación de colorantes (Montiel et al., 2017).

1.1.3.3. Métodos Biológicos de Remoción

Son tratamientos de remoción en los cuales se usan microorganismos para degradar colorantes (Barrios, 2016; Roca, 2019). El proceso se lleva a cabo debido al metabolismo natural de los microorganismos en un medio acuoso, debido a que se alimentan de los materiales orgánicos en las aguas residuales, generando reacciones redox, hidroxilación, hidrólisis, deshalogenación y desalquilación (Rodríguez, 2019).

“Los procesos biológicos se pueden aplicar para efluentes de tipo: industrial y doméstico, pueden ser sistemas aerobios y anaerobios, con hongos y bacterias para la decoloración y mineralización de los colorantes” (Rodríguez, 2019). Los métodos biológicos se pueden clasificar en:

- **Fitorremediación:** “Este proceso utiliza plantas con la capacidad fisiológica y bioquímica para absorber y degradar metales pesados, compuestos orgánicos, radioactivos y petroderivados a formas menos tóxicas” (Velásquez, 2017).
- **Tratamientos fúngicos:** Debido a la capacidad que poseen los hongos para degradar compuestos aromáticos complejos son usados para degradar compuestos xenobióticos, el principio de su funcionamiento se basa en la producción de radicales libres, que permite que las enzimas sean activas sobre diversos compuestos orgánicos (De la Cruz Solano, 2016; Lara, 2017).
- **Biosorción:** Este método se basa en la acumulación de sustancias químicas con el uso de biomasa microbiana, esta puede estar viva o muerta, el proceso depende de la afinidad del

sorbente (biomasa) por el sorbato (efluente) y continúa hasta que se establezca un equilibrio entre el sorbato enlazado al sorbente (Martínez-Peña et al., 2020).

- **Sistemas anaerobios:** Se basan en la transformación de materia orgánica, la cual atraviesa algunas reacciones bioquímicas en un entorno gaseoso, donde sus principales componentes son dióxido de carbono y metano. Estos sistemas se basan en el tipo de crecimiento microbiano y pueden ser de lecho fijo, de crecimiento libre o suspendido, la eficiencia del proceso depende de la capacidad del sistema para formar una suspensión adecuada para los microorganismos (Ferrer Polo et al., 2018).

1.2. Reino Fungi: Hongos

1.2.1. Definición

Se puede definir a los hongos como organismos pertenecientes al reino Fungi, su hábitat natural pueden ser residuos orgánicos, agua o suelos, los hongos son eucarióticos, y heterótrofos, pueden ser uni (levaduras) o pluricelulares, capaces de reproducirse sexual y asexualmente (Salazar, 2016). “Los hongos se diferencian de las algas por su carencia de clorofila, y de las bacterias por su estructura más compleja” (UNPSJB, 2017).

Los hongos se consideran secretores de enzimas o quimiótrofos, lo cual les permite degradar sustratos. Algunos son aerobios estrictos o facultativos (Estrada, 2019). Los hongos se alimentan de compuestos carbonatados que están presentes en otros organismos. La asimilación de nutrientes se lleva a cabo por absorción, más conocida como osmotrofia, en la cual los hongos se encuentran en contacto directo con los sustratos o fuentes de alimentación a través de sus hifas.

Poseen una versatilidad metabólica que les permite alimentarse de una gran variedad de sustratos, en los cuales se incluyen nitratos, amonio, acetato y etanol (Salazar, 2016). Se estima que existen más de cinco millones de especies de hongos, sin embargo, actualmente se conoce menos del 15 % (Sánchez, 2017).

1.2.2. Formas de crecimiento

Los hongos tienen dos formas representativas de crecimiento:

1. **Levaduras (Unicelulares):** este tipo de hongo se caracteriza por presentar formas esféricas o elípticas, su tamaño oscila entre 3 μm -15 μm .
“Reproduciéndose principalmente por brotación que da origen a una cadena de levaduras conocidas como pseudohifas, este nombre se debe a que la célula brotada no se separa de la célula madre. Las colonias sembradas de la mayoría de las especies son pálidas, opacas generalmente de color crema” (UNPSJB, 2017).
2. **Mohos (forma miceliar):** “Son la forma multicelular en la que se desarrolla o crece un hongo, su unidad estructural son tubos denominados hifas, estos se dividen en cadenas de células a través de tabiques o paredes transversales, o en forma continua como hifas no tabicadas” (UNPSJB, 2017). El conjunto o agrupación de hifas entrelazadas y ramificadas compone el micelio, denominándose micelio vegetativo a aquella parte del micelio que se ubica en los extremos y se encarga de absorber el alimento, también se denomina micelio aéreo o reproductor a la parte del micelio que se ubica en la parte superior y contienen las esporas. Los mohos pueden reproducirse sexual y asexualmente y ello depende de la especie y condiciones del ambiente en que se encuentran, aquellos que se reproducen de manera sexual son considerados hongos perfectos, estos al suponer una formación de estructuras de morfología complicada, facilitan la fecundación y fusión nuclear dando por resultado esporas especializadas llamadas cigotos, por otro lado tenemos los hongos imperfectos o aquellos que se reproducen de manera asexual, es decir sus esporas son generadas de manera directa por el micelio o a partir de, el tipo de espora que produce cada hongo sirve para su identificación (UNPSJB, 2017).

1.2.3 Clasificación de los Hongos

Debido a las múltiples características que presentan los hongos existen muchas propuestas de clasificaciones basadas en diferentes argumentos, a continuación, se indica una posible clasificación general:

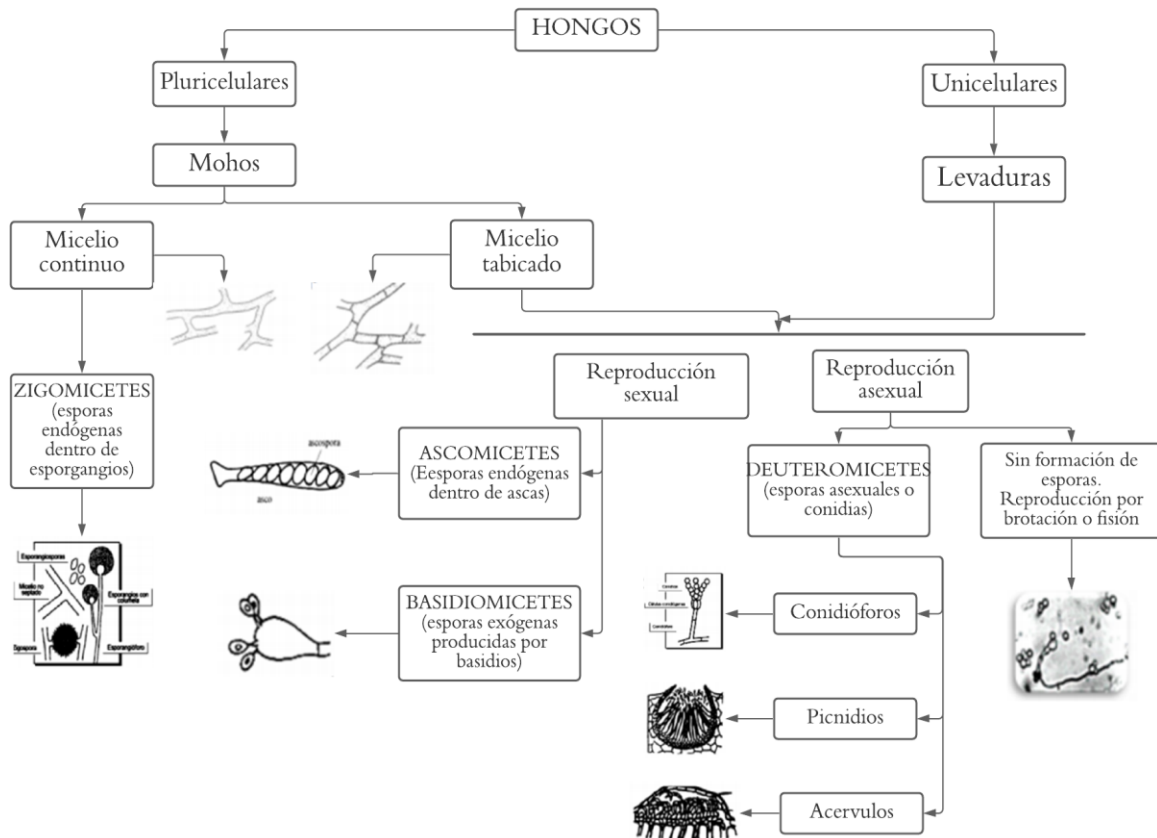


Ilustración 8. Clasificación de los hongos.
Tomado de UNPSJB (2017)

También se reconoce que estudios actuales han utilizado técnicas de secuenciación de ADN logrando definir los siguientes filos (L. Ortiz, 2016):

- **Chytridiomycota** (hongos inferiores)

Esta categoría contiene hongos Zoospóricos aeróbicos, saprófitos y parásitos, que pueden encontrarse en agua dulce y salina, así como también en los suelos (Longcore, 2001; Salazar, 2016) soportan también ambientes hostiles como la nieve del ártico (Powell, 2017). Se reproduce asexualmente mediante zoosporas (Gould, 2009).

- **Zygomycota** (hongos inferiores)

Hongos terrestres, saprófitos, asociados con las plantas, causan pudrición y moho poscosecha. Se reproducen asexualmente, mediante esporas inmóviles (Gould, 2009). Este tipo de hongo posee un micelio no tabicado, continuo o cenocítico, su reproducción

es asexual a través de liberación de esporas, estas provienen al romperse el tallo o tabique del micelio.

- **Ascomycota** (hongos superiores)

Hongos filamentosos y algunas especies de levaduras comprenden esta categoría (Piepenbring, 2015). Pueden reproducirse sexual y asexualmente (Sánchez, 2015).

- **Basidiomycota** (hongos superiores)

Se caracterizan por presentar estructuras macroscópicas, la constituyen principalmente las setas (Hernandez et al., 2017). Pueden reproducirse sexual y asexualmente (Sánchez, 2015).

De acuerdo con su alimentación puede clasificarse en:

- **Saprófitos**

Son aquellos que descomponen sustancias orgánicas de origen vegetal o animal, actuando como recicladores, debido a que los nutrientes asimilados regresan al suelo (Salazar, 2016).

- **Parásitos**

Son hongos que necesitan de un hospedador, pues obtienen su energía de un organismo vivo, en algunos casos pueden ser letales para el hospedador y en otros solo lo debilitan (Salazar, 2016).

- **Micorrícicos**

Presentan simbiosis con las raíces de las plantas, pues al estar asociados el hongo obtiene hidratos de carbono y la planta aumenta su superficie de absorción para agua y minerales en las raíces, este proceso resulta beneficioso para los dos organismos (Salazar, 2016).

1.2.4. Morfología y Reproducción

Las células de los hongos poseen un núcleo verdadero, y pared celular de quitina. Sus células son de tipo alargado y se denominan hifas, a su vez una red compleja de hifas se denomina micelio, el mismo que, al encontrarse muy desarrollado se puede ver como una masa de color

a simple vista, caso contrario el de las células, pues solo pueden observarse a través de un microscopio (Sánchez, 2017). En cuanto a la reproducción de los hongos, se considera la de tipo asexual como la más importante debido a que puede realizarse varias veces en el año, la reproducción sexual, por otra parte, puede llevarse a cabo una vez por año, o cada cinco o diez años (Estrada, 2019; Rocabado, 2011).

1.2.5. Cultivos Monospóricos usados en el trabajo

Se define como cultivo monospórico, a un cultivo que ha sido sembrado e incubado a lo largo de un periodo de tiempo determinado, durante el cual se ha asegurado la uniformidad de biomasa creciente en el mismo, es decir que, mediante varias diluciones del medio en donde habitan las diferentes cepas, se ha aislado una sola espora, y se ha incubado la misma, con la finalidad de tener un cultivo con características homogéneas.

Los cultivos monospóricos empleados, pertenecen a las siguientes cepas:

- **PT14: *Fusarium oxysporum***

Es la especie de *Fusarium* de mayor importancia, es un hongo de tipo asexual, este hongo es transmitido por el suelo cultivado o no cultivado, en el cual alberga cepas patógenas y no patógenas (Edel-Hermann & Lecomte, 2018; Lombard et al., 2019). Las especies pertenecientes a *F. Oxysporum*, son un grupo de hongos filamentosos patógenos que infectan animales y plantas (Torres, 2019), durante la cosecha y posterior almacenamiento (Lecomte et al., 2016). Comprende alrededor de 150 formas específicas hospedador, es decir cepas que se encuentran determinadas por la planta hospedadora (Hernández et al., 2017). Todas las cepas correspondientes a *F. Oxysporum*, son saprofitas, lo cual les permite sobrevivir por largos períodos de tiempo sobre la materia orgánica del suelo, su ciclo vital inicia con la germinación de las esporas, en una planta hospedadora. Cuando se han formado las hifas, el patógeno penetra y coloniza al hospedador a través de las raíces, lo que facilita la formación de micelios (Hernández et al., 2017). Considerado de gran importancia en el sector agrícola, pues se considera un patógeno devastador que ataca los cultivos causando pérdidas. Se caracteriza por causar pudrición de las raíces de las plantas y marchitez a más de 100 especies de plantas, en los cuales se encuentra una amplia gama de cultivos hortícolas (Hernández et al., 2017). Al crecer la colonia de *F. oxysporum* toma una coloración blanquecina, esta genera un pigmento vino que va expulsando al medio en el que se encuentra, el micelio de

esta cepa está formado por hifas septadas y los conidióforos presentan racimos de macroconidios (hifas hialinas, multiseptada en forma fusiforme, ovales o elipsoidales).

Las colonias sembradas en PDA (Potato Dextrose Agar) alcanzan un diámetro de 3.5 cm a 5 cm en 7 días a 25 °C, son aterciopelados de color blanco con tono rosado, y el reverso amarillo o de colores púrpuras (Arias & Piñeros, 2008).

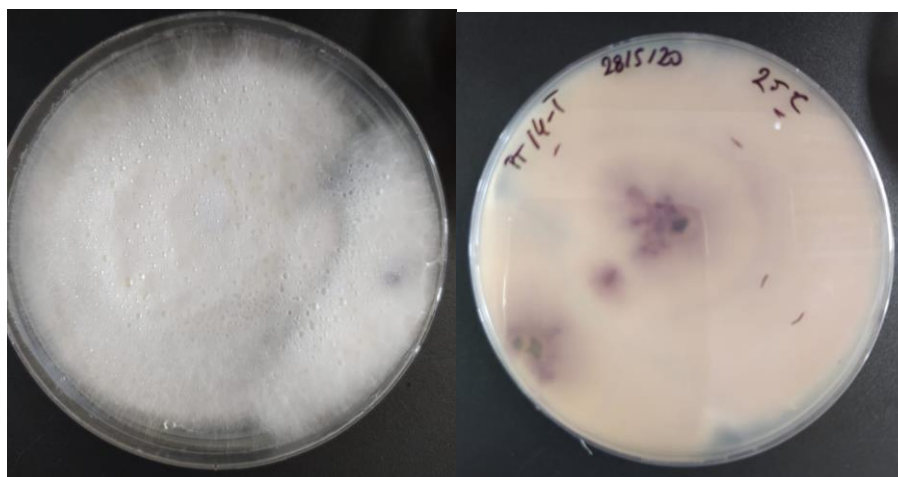


Ilustración 9. Características macroscópicas de *F. oxysporum*.



Ilustración 10. Características microscópicas de *F. oxysporum*.

Tomado de Arias y Piñeros (2008).

- **SS14: *Penicillium echinulatum***

Las especies pertenecientes al género *Penicillium*, pueden adaptarse a varios hábitats, se consideran saprófitas y pueden encontrarse en el suelo o en materia orgánica en descomposición (Martínez, 2003). *P. echinulatum* es considerada una cepa apta para la hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósica (Arias & Piñeros, 2008).

Las colonias sembradas en agar con base de nitrato sódico como Czapeck son aterciopeladas, el color de estas puede variar entre tonalidad gris a gris olivo, crecen lentamente alcanzando

diámetros de 2.5 cm - 3.5cm en 7 días a 25 °C, poseen un reverso incoloro o amarillento. Esta cepa posee conidióforos cortos y paredes rugosas (Arias & Piñeros, 2008).

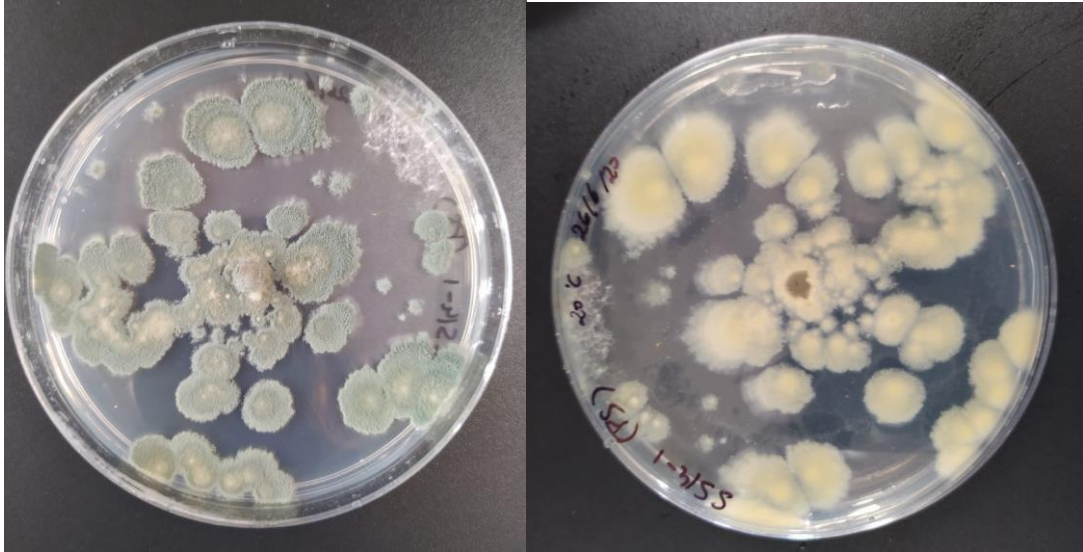


Ilustración 11. Características macroscópicas de *P. echinulatum*.

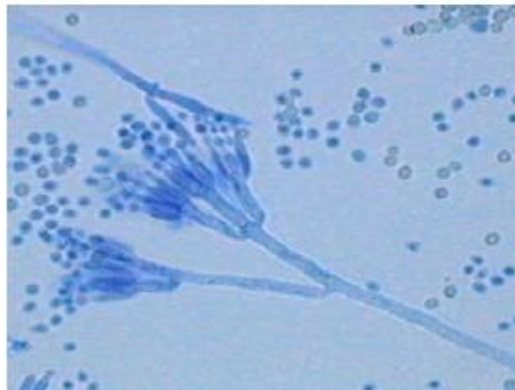


Ilustración 12. Características microscópicas de *P. echinulatum*.

Tomado de Arias y Piñeros (2008).

- **SS1: *Basidiobolus ranarum***

Hongo filamentoso de tipo saprófito, suele encontrarse en el suelo y la materia vegetal en descomposición, se encuentran también en las heces de anfibios y reptiles (Freitas et al., 2020; Grooters, 2014).



Ilustración 13. Características macroscópicas de *B. ranarum*.

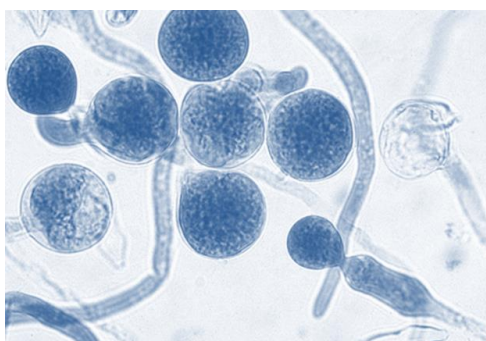


Ilustración 14. Características microscópicas de *B. ranarum*.

Tomado de Arias y Piñeros (2008).

1.2.5.1 Cepas contaminantes encontradas

Durante la experimentación, los blancos de medio malta, en los cuales no se sembró ninguna de las cepas mencionadas, se contaminaron por esporas del medio de trabajo, por lo cual se realizó el reconocimiento de las mismas, estas se enuncian a continuación:

- ***Rhodotorula mucilaginosa***

La especie *R. mucilaginosa*, pertenece a los hongos denominados levaduriformes, pertenecen al filo *Basidiomycota*; esta especie se encuentra ligada a infecciones sistémicas, renales y pulmonares y también a infecciones que afectan al sistema nervioso central (Reyes et al., 2013; Rodríguez, 2016a). Puede desarrollarse en hábitats acuáticos y terrestres, por lo cual se considera que su distribución es universal; es de fácil proliferación al encontrar ambientes que le proporcionen carbono y nitrógeno como nutrientes. Es considerada un patógeno oportunista

(Rivera, 2019). Pertenecen a la microflora de la piel uñas y mucosas, también pueden encontrarse en los derivados de productos lácteos y otras fuentes como suelo, aire y océanos (Reyes et al., 2013). Vázquez (2016) expuso que las sustancias poliméricas extracelulares (EPSs), producidas por esta cepa poseen la capacidad de adsorber colorantes, por lo cual se las considera útiles en los tratamientos de biorremediación.



Ilustración 15. Blanco de Malta 1, contaminado con *R. mucilaginosa*.

- ***Aspergillus fumigatus***

El género *Aspergillus*, puede encontrarse en el agua, el suelo, el aire; pueden permanecer en el ambiente en suspensión debido a su pequeño tamaño, por lo cual el ser humano se encuentra expuesto a su inhalación constantemente (Abarca, 2000; De la Hoz, 2014). *A. fumigatus* es el agente más común, y se encuentra relacionado a infecciones fúngicas nosocomiales, micosis invasivas resultan fatales para individuos inmunocomprometidos (Abarca, 2000). Presentan un crecimiento rápido (48 horas), y al inicio de su desarrollo son de apariencia plana y algodonosa y su color es verde con un halo blanco, más tarde su apariencia es pulverulenta y fina, y su color es gris (Rodríguez, 2016b; Salazar & Rua, 2012).



Ilustración 16. Blanco de Malta 2, contaminado con *A. fumigatus*.

CAPÍTULO 2

Materiales y Métodos

2.1. Materiales

- **Colorante:** Para el desarrollo de este trabajo se utilizó el colorante cloruro de metiltionina, más conocido como azul de metileno ($\lambda = 664 \text{ nm}$), perteneciente a la familia de colorantes azoicos, este fue adquirido en la Botica y droguería central de la ciudad Cuenca, Azuay.
- **Cultivos monospóricos:** Se utilizaron tres cepas de hongos: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium echinulatum* y *Basidiobolus ranarum*, provenientes de los lodos residuales de la planta de tratamiento 'Ucubamba', estos fueron aislados por sus características macroscópicas e incubados durante 1 mes aproximadamente, para el uso posterior de su biomasa.
- **Medio Malta:** Es una fuente de energía preparada con alta concentración de maltosa y otros sacáridos para el aislamiento, cultivo y enumeración de levaduras, mohos y hongos. En la investigación realizada el medio preparado con extracto de malta fue adquirido bajo pedido a través de mercado libre Ecuador, su composición se compara a las aguas residuales domésticas debido a su composición en azúcares.
- **Medio Mineral:** En el presente trabajo, el medio Mineral se compara al agua residual de procesos industriales la cual no contiene más que agentes químicos, la composición con la que debe dosificarse este medio según Wetzstein, et al. (1997) es: 0.8 mMol de MgSO_4 , 0.2 mMol de CaCl_2 0.12 μMol de H_3BO_3 , 0.4 μMol CoSO_4 , 0.2 μMol CuSO_4 , 0.04 μMol $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, 2 μMol MnSO y 0.4 μMol ZnSO_4 , 20 μMol FeSO_4 ; vitaminas por litro: 20 mg de Sal sódica del ácido 4-aminobenzoico, 6 mg de D-(1)-biotina, 50 mg de ácido DL-a-lipoico, 50 mg de nicotinamida, 10 mg de sal sódica del ácido D- (1) -pantoténico, 100 mg de piridoxina z HCl, 50 mg de (2) -riboflavina, 20 mg de ácido fólico, 10 mg de tiamina z HCl (Merck), 20 mg de cloruro de pirofosfato de tiamina y 50 mg de

cianocobalamina), dicha composición fue replicada a excepción de la composición de vitaminas, utilizando otro tipo del cual más adelante se especifica su composición (Wetzstein et al., 1997).

2.2. Equipos

- **Potenciómetro:** Este es utilizado para medir la acidez o alcalinidad de cada medio con su respectivo hongo, de esta manera se comprueba la variación de pH que genera el hongo durante su proceso de adaptación, crecimiento y remoción del colorante. Para el desarrollo de esta investigación se utilizó un pHmetro “Water Quality Meter 850081 - Sper Scientific”.

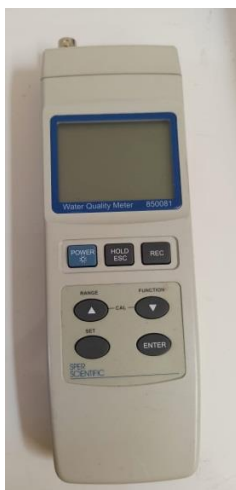


Ilustración 17. Potenciómetro.

- **Conductímetro:** Este aplica un campo eléctrico entre dos electrodos y mide la resistencia eléctrica de la disolución, se obtiene de esta manera la conductividad eléctrica de la solución. Este equipo fue utilizado para registrar la conductividad eléctrica de cada medio con su respectivo hongo, y debido a que la conductividad es utilizada también como un indicador de la cantidad de materia disuelta, se registró los sólidos totales disueltos presentes, expresados en ppm. El equipo utilizado para el desarrollo de esta prueba fue conductímetro marca Hach.



Ilustración 18. Conductímetro.

- **Microscopio óptico:** Se utilizó un equipo marca “Olympus CX22LED”, con la finalidad de observar las diferentes características micro y macroscópicas de los hongos a utilizarse.



Ilustración 19. Microscopio.

- **Cámara de recuento celular Neubauer:** Fue utilizada para contabilizar el número de esporas presente en cada medio, el proceso se realizó con ayuda del microscopio óptico y un contador manual, tomando 1 μL de muestra. Al finalizar el conteo, la concentración de esporas totales es calculado analíticamente mediante una ecuación.
- **Espectrofotómetro UV-Visible:** Se utilizó un espectrofotómetro (Genesys UV-Visible Spectrophotometer) con la finalidad de cuantificar la concentración de colorante presente, en cada medio con una cepa específica, a lo largo del tiempo, el principio de su

funcionamiento radica en que las moléculas absorben radiaciones electromagnéticas dependiendo la cantidad de luz que se absorbe de manera lineal a su concentración (Lara, 2017). Además, el equipo brinda la posibilidad no solamente de medir la absorbancia de cada muestra, sino de realizar una curva de calibración a la longitud de onda del colorante ($\lambda = 664$) para la cual se utilizó soluciones patrón en una escala de 0 ppm - 100 ppm, y cuantificar la absorbancia dentro de este intervalo, permitiéndonos establecer la concentración y a su vez el porcentaje de remoción.



Ilustración 20. Espectrofotómetro.

- **Agitador mecánico:** Fue utilizado con la finalidad de permitir una mayor homogeneización del medio, a la vez que controla la temperatura del ambiente al que se encuentran expuestas las muestras.

2.3 Procedimientos

2.3.1. Buenas prácticas en el laboratorio

Las buenas prácticas en el laboratorio, recogen las indicaciones necesarias para llevar a cabo un trabajo seguro y eficiente, debido a los riesgos potenciales que se relacionan directamente con las actividades y materiales que se manejan dentro de un laboratorio.

Con la finalidad de mantener un ambiente seguro y mitigar algunos de los riesgos potenciales, a los que podemos estar expuestos, se utilizaron equipos de protección individual (EPI), a continuación, se señalan los EPI utilizados:

- **Guantes de protección:** Su uso pretende impedir el contacto y penetración de sustancias tóxicas, corrosivas o irritantes a través de la piel, especialmente a través de las manos, ya que es la zona de mayor contacto con las sustancias que se manipulan (Baelo et al. 2013). En este caso, se utilizó este implemento con la finalidad de evitar el contacto con materia infecciosa, como son los hongos con la piel, y a la vez asegurar un procedimiento aséptico que evita la contaminación de las muestras.
- **Mascarilla N95:** Usualmente en la mayoría de trabajos dentro de laboratorios se utilizan mascarillas quirúrgicas, pero actualmente el mundo atraviesa una pandemia, por lo cual se recomienda el uso de mascarillas N95 para una mayor seguridad, debido a su gran capacidad de filtrar partículas del ambiente.
- **Bata de laboratorio:** Está diseñada para proteger la ropa y la piel de sustancias químicas o biológicas que puedan derramarse o producir salpicaduras. Debe llevarse siempre abrochada y debe tener puños, con la finalidad de evitar que los instrumentos de trabajos sean jalados o arrastrados por la tela sobrante.

2.3.1. Microorganismos

Las cepas fúngicas *F. oxysporum*, *P. echinulatum* y *B. ranarum* fueron obtenidas de muestras de fango fresco de la depuradora de Ucubamba, para el uso de su biomasa fueron aislados, clasificados de acuerdo con sus características macroscópicas e incubados aproximadamente 2 meses por Carmen Menacho Biotecnóloga investigadora de la Universidad de Zaragoza, quien facilitó los cultivos para una resiembra (Anexo 37). A partir de los cultivos macroscópicos mencionados, se realizó una resiembra de cada uno de los hongos en medio PDA y medio Malta a una concentración de 0.5 %. Los medios fueron autoclavados para evitar cualquier tipo de contaminación, y una vez colocados en su respectiva caja petri, con un asa de siembra estéril, se tomó una pequeña porción de colonia fúngica, finalmente se dejó cada siembra a 25 °C durante 3 días.

2.3.2. Preparación de la biomasa fúngica en cultivo sumergido

Para cada cepa, se preparó en un erlenmeyer, un medio de cultivo que estuvo formado por una solución de 100 mL de extracto de malta al 20 %, esta fue autoclavada durante 40 minutos, finalmente con ayuda de un asa de siembra estéril se colocó una porción de colonia fúngica.

Los tres erlenmeyers sembrados, fueron sellados con papel filme y algodón, para evitar el ingreso de cualquier contaminante, además permanecieron en agitación durante 6 días para una correcta homogeneización del medio, y posterior crecimiento de la biomasa fúngica.



Ilustración 21. Biomasa fúngica en cultivo sumergido.

Transcurrido ese tiempo fue filtrado, de esta manera se obtuvo una cantidad suficiente de biomasa fúngica para dividirse en las diferentes muestras preparadas con el colorante.

2.3.3. Preparación de muestras en medio Mineral

Para cada cepa, se prepararon tres réplicas; los blancos en medio Mineral se prepararon por duplicado. Inicialmente se preparó una solución de 1 L con la siguiente composición: 80 mMol de $MgSO_4$, 0.2 mMol de $CaCl_2$, 24 mMol de H_3BO_3 , 0.4 mMol de $CuSO_4$, 0.56 mMol de $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, 4 mMol de $MnSO_4$ y 0.8 mMol de $ZnSO_4$. Para la preparación de cada litro de medio Mineral se añadió 0.5 mL de la solución antes enunciada, consiguiendo parte de las concentraciones necesarias para la simulación del medio Mineral de acuerdo con Wetzstein, et al. (1997), luego se añadió antibiótico tilmicosina hasta una concentración de 5 ppm, con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación y 0.1 g/L de colorante cloruro de metiltionina logrando una concentración de 100 ppm. La solución se agitó durante unos minutos asegurando una total homogeneización. Se autoclavó durante 40 minutos, al finalizar su esterilización se agregó 1 mL de $FeSO_4$ a una concentración de 0.02 mMol/mL; además se agregó una solución de vitaminas (El litro de esta solución contiene: vitamina A (retinol) 10000 UI, vitamina D (ergosterol) 2000 UI, tiamina mononitrato (Vit. B1) 20 mg, riboflavina (Vit. B2) 20 mg, nicotinamida (macinamida) 70 mg, piridixina clorhidrato (Vit. B6) 3 mg,

pantotenato de calcio 10 mg, cianocobalamina (Vit. B12) 10 µg, ácido fólico 50 µg, ácido ascórbico (Vit. C) 300 mg, sulfato ferroso 68 mg, fosfato de calcio 678.90 mg, sulfato de cobre 5.6 mg, iodato de calcio 402 µg, sulfato de cobalto 980 µg, sulfato de manganeso 6 mg, sulfato de magnesio 80 mg, sulfato de zinc 7.8 mg, molibdeno 900 µg, sulfato de potasio 22 mg), estos dos últimos fueron agregados después del autoclavado para evitar su descomposición con la temperatura. Se reguló el pH del medio Mineral hasta 6 con una solución 2.5 M de NaOH, también se realizó una experimentación elevando el pH del medio a 9, acercándose más a los parámetros de aguas industriales. Finalmente, con todas las medidas de asepsia y esterilidad, evitando cualquier tipo de contaminación, se trabajó en medio de dos mecheros encendidos, dentro de una cabina de flujo laminar. En un frasco de 300 mL de capacidad, previamente autoclavado, se colocó 225 mL de la solución o medio Mineral preparada anteriormente y luego con ayuda de una espátula se añadió un peso determinado de biomasa fúngica obtenida de la siembra, los pesos de cada cepa en las diferentes muestras se exponen a continuación:

Tabla 3. Peso de la biomasa colocada en cada una de las muestras en medio Mineral.

Códigos	Pesos (g)		
	1	2	3
PT14	0.1169	0.1126	0.1171
SS14	0.0910	0.0982	0.0986
SS1	0.092	0.091	0.093

2.3.4. Preparación de muestras en medio Malta

Para cada cepa, se prepararon tres réplicas; los blancos en medio Malta se prepararon por duplicado. Para la elaboración de muestras en medio Malta se prepararon 3 L de una solución de extracto de malta al 20 %, esta fue agitada mecánicamente para luego ser autoclavada durante 40 minutos; al finalizar el autoclavado se añadió antibiótico tilmicosina hasta una concentración de 5 ppm, con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación, también se añadió al medio 0.1 g/L de colorante cloruro de metiltionina logrando una concentración de

100 ppm. Finalmente, con todas las medidas de asepsia y esterilidad, evitando cualquier tipo de contaminación, se trabajó en medio de dos mecheros encendidos, dentro de la cabina de flujo laminar. En un frasco de 300 mL de capacidad, previamente autoclavado, se colocó 225 mL de la solución preparada anteriormente y luego con ayuda de una espátula, se añadió un peso determinado de biomasa fúngica obtenido de la siembra antes mencionada, los pesos de cada cepa en las diferentes muestras se exponen a continuación:

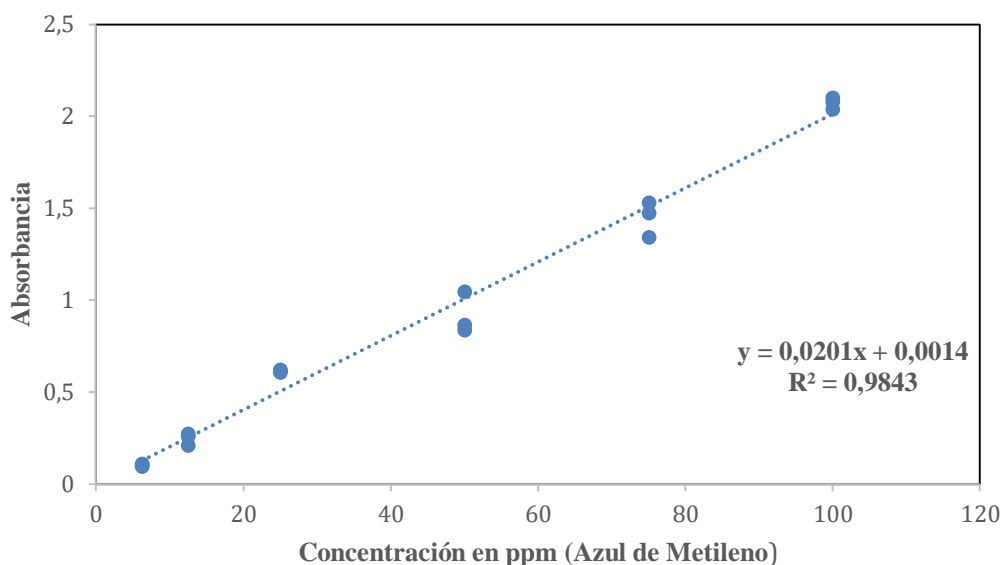
Tabla 4. Peso de la biomasa colocada en cada una de las muestras en medio Malta.

Códigos	Peso (g)		
	1	2	3
PT14	0.114	0.113	0.114
SS14	0.1192	0.1115	0.1106
SS1	0.091	0.093	0.092

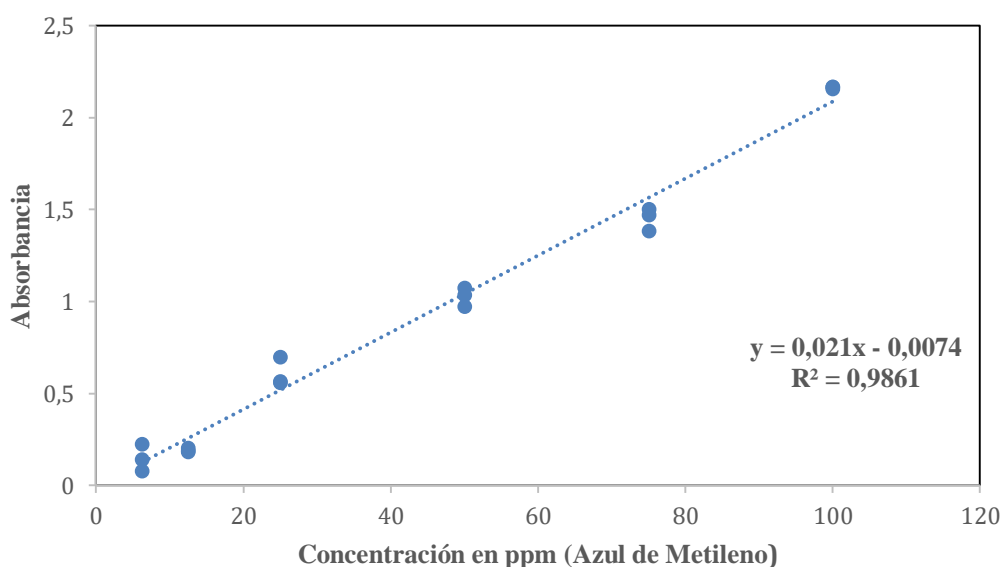
2.3.5. Curvas de calibración del colorante cloruro de metiltionina

Se realizaron dos curvas de calibración con la finalidad de poder registrar la concentración del colorante cloruro de metiltionina presente durante en el proceso de adsorción de cada cepa y medio simulado, para ello se prepararon diferentes concentraciones de colorante (5 ppm, 10ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm) a las cuales se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 664 nm. Las curvas se realizaron midiendo cada punto por triplicado. Al graficar los valores correspondientes a la concentración en ppm en el eje de abscisas y los valores de absorbancia en el eje de ordenadas, utilizando un ajuste de tendencia lineal se obtiene la ecuación de la recta, la cual nos permite calcular el valor de la concentración (x), cuando obtenemos el valor de absorbancia medido por el espectrofotómetro.

A continuación, se muestran las curvas de calibración obtenidas para los medios Mineral y Malta:



Gráfica 1. Curva de Calibración obtenida para el medio Mineral.



Gráfica 2. Curva de Calibración obtenida para el medio Malta.

2.3.6. Lecturas de pH, sólidos totales disueltos y conductividad

Para realizar las lecturas de STD se realizó una disolución 1 : 10, debido a que las muestras son fácilmente contaminables, por lo que no se puede introducir el electrodo directamente, con todas las normas de asepsia, se coloca la botella rotulada en medio de dos mecheros y con ayuda de una pipeta, destapando parcialmente la botella se extrae aproximadamente 3 mL de la solución, de este volumen obtenido 1 mL sirve la para disolución y medida de sólidos

totales disueltos y conductividad, los 2 mL restantes son utilizados para la medida directa del pH.

2.3.7. Conteo de esporas

El conteo de esporas fue realizado con el uso de un hemocitómetro o Cámara de Neubauer, la muestra (suspensión de esporas) se aplica en el borde del cubre objetos, esta ingresa por capilaridad en el espacio libre, llenando la cámara, la cual posee 4 zonas o cuadrantes con dimensiones conocidas, que a su vez se subdividen en 25 subcuadrantes, se contabilizó las esporas presentes dentro de los cuadrantes mencionados y con ayuda de la fórmula general para el cálculo de número de esporas de la Cámara de Neubauer enunciada a continuación, se establece la concentración de esporas.

$$\text{Concentración de esporas} = \frac{N^{\circ} \text{ esporas}}{N^{\circ} \text{ cuadrantes} * 10^{-4} \text{ mL}}$$

2.3.8. Estudios de concentración del colorante

Para el estudio de remoción del colorante cloruro de metiltionina, se registró la evolución de la concentración de este en cada muestra a lo largo de 10 semanas. Para las lecturas, se tomaron 2 mL de cada muestra a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), en condiciones de asepsia y colocando la muestra madre en medio de dos mecheros, para evitar cualquier tipo de contaminación; el volumen tomado fue filtrado con la finalidad de impedir el paso de materia que pueda interferir con la lectura de absorbancia. Finalmente, se registran los valores de absorbancia de cada muestra. Se determinaron las concentraciones comparando el valor de absorbancia dentro de la curva de calibrado ingresada en el espectrofotómetro directamente.

2.3.9 Rectas de Adsorción

Tomando en consideración, el proceso de adsorción y desorción que presentaron las colonias fúngicas, se realizó la medición de absorbancia de las muestras en un período de 8 días, en los cuales las muestras permanecían en agitación y temperatura constante.

La concentración inicial de cada muestra fue 100 ppm, para los ensayos de adsorción a diferentes temperaturas, se mantuvieron las muestras agitadas durante los 8 días; las temperaturas testeadas fueron 25 °C, 30 °C y 35 °C. Después de cada ensayo se comprobó

que se producía la desorción completa del colorante, debido a la manipulación en la toma de muestras entre las 24 y 48 horas posteriores.

2.3.10 Análisis Estadísticos

Los datos fueron analizados para saber si cumplen con los supuestos de normalidad y homocedasticidad y de acuerdo con los resultados se eligieron las pruebas de inferencia más adecuadas con el software R versión 4.0.2. Debido a que cumplen con los mencionados supuestos (Anexo 34), se realizaron las pruebas estadísticas de t de Student y ANOVA de una vía usando R y Excel.

- **Prueba t de Student**

Se realizaron pruebas para la determinación de diferencias significativas entre las medias de dos grupos. Las hipótesis de esta prueba son: Hipótesis nula (H_0), afirma la inexistencia de asociación entre dos variables estudiadas; Hipótesis alternativa (H_a), afirma la existencia de asociación o relación entre dos variables. Para las pruebas se consideró un valor de significancia, alfa de 0.05, recomendado para investigación científica, lo que representa un valor de 95 % de seguridad en el análisis (Martinez, 2016). La aceptación o rechazo de las hipótesis, puede valorarse a través del valor de “p”, si en los diferentes análisis realizados se obtienen valores en los cuales ($p < 0.05$) se acepta la hipótesis alternativa en la cual existen diferencias significativas, caso contrario si ($p > 0.05$) se acepta la hipótesis nula en la cual no existen diferencias significativas (Navarro, 2015).

- **Análisis ANOVA**

Mediante el análisis ANOVA se comparan las medias de varias poblaciones a partir de sus varianzas. Al igual que en la prueba t se establecen H_0 , H_a y un alfa = 0.05. Se incluye el estadístico F, que es la relación entre la intervarianza y la intravarianza (Ordan et al., 2010).

Para realizar estos análisis se usaron datos recolectados durante la experimentación, y la herramienta de análisis de datos Excel.

CAPÍTULO 3

Resultados y discusiones



3.1. Identificación de cepas fúngicas

La Identificación de las cepas fúngicas fue realizada por la Dra. Carmen Lucía López Cisneros investigadora de la Universidad de Cuenca (Anexo 35 y Anexo 36).

3.1.1 Caracterización de cepas

F. oxysporum (PT14), *P. echinulatum* (SS14) y *B. ranarum* (SS1) se sembraron en medio PDA (Potato dextrose agar), los hongos presentaron las características macroscópicas detalladas a continuación.

Tabla 5. Características macroscópicas de *F. oxysporum* (PT14), *P. echinulatum* (SS14), *B. ranarum* (SS1).

CLASIFICACION MACROSCÓPICA DE COLONIAS FÚNGICAS				
CÓDIGO		PT14	SS14	SS1
Crecimiento	Tiempo de incubación (días)	3 días	3 días	3 días
	Diámetro (mm)	2.7 – 4 cm	6.2 – 7.3 cm	5.8 – 6.4 cm
	Limitado o invasivo	Invasivo	Invasivo	Invasivo
	Velocidad	Rápido	Rápido	Rápido
Topografía	Textura	Velosa	Pulvulento	Algodonosa
	Forma	Rizoide	Pulvulento	Rizoide
	Elevación	Plana	Embonada	Plana
	Margen	Filamentoso	Con anillos concéntricos	Ondulado
Color	Superficie	Cerebriforme	Ondulada	Cerebriforme
	Opacidad	Mate	Mate	Mate
	Pigmentación	En anverso y reverso	En anverso y reverso	En anverso y reverso
	Exudado	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Fotografía				

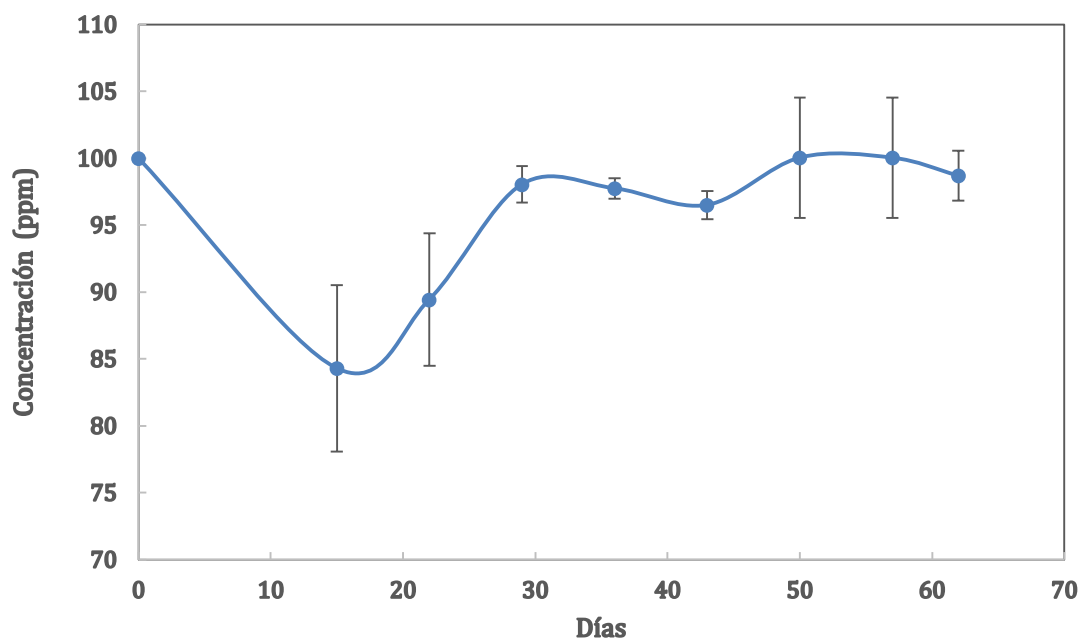
3.2. Evolución de la concentración

En diversos estudios se ha demostrado que los hongos son secretores de enzimas y se alimentan de compuestos carbonatados, nitratos, amonio, acetato, etc., a través de sus hifas, al poseer una versatilidad metabólica estos son capaces de degradar sustratos (Estrada, 2019; Salazar, 2016), partiendo de este principio se utilizó tres cepas *F. Oxysporum* (PT14), *P. echinulatum* (SS14) y *B. ranarum* (SS1) en la evaluación de la remoción del colorante cloruro de metiltionina en dos medios: Mineral y Malta.

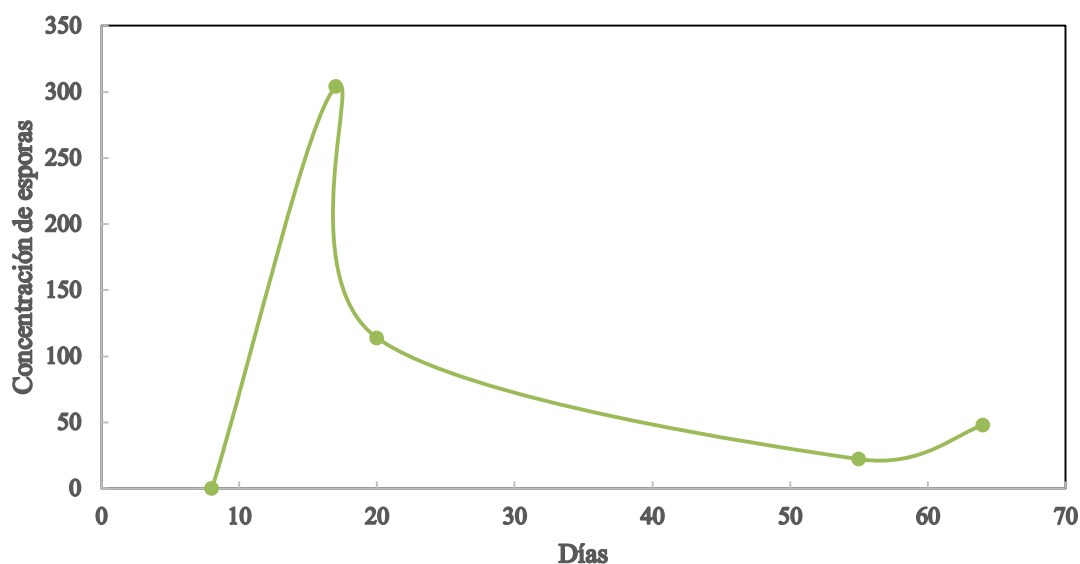
A continuación, se muestran las gráficas de evolución de la concentración del colorante cloruro de metiltionina en un período de tiempo de 62 días, para cada cepa y medio empleado, se realizaron lecturas una vez por semana. Actualmente no existen trabajos de investigación que reporten el uso de las cepas fúngicas utilizadas en este trabajo, motivo por el cual no es posible comparar los resultados obtenidos.

- **Evolución del colorante en medio Mineral**

La Gráfica 3, nos indica la evolución de la concentración del colorante cloruro de metiltionina, usando *F. oxysporum* (PT14) en medio Mineral, durante los primeros 15 días este alcanzó un porcentaje de remoción del 15.6 % al haber alcanzado su máximo crecimiento de acuerdo a la Gráfica 4, durante las siguientes semanas este porcentaje de remoción decreció, la causa de esta disminución es originada por el medio en el que se encuentra el hongo, pues al ser un medio Mineral, este carece de compuestos carbonatados que son utilizados por este tipo de microorganismos para su desarrollo, por lo tanto disminuye el crecimiento de la biomasa fúngica, y como consecuencia disminuye la capacidad de adsorción del hongo. A partir del día 30 en adelante se observa que la concentración presenta algunas fluctuaciones de semana a semana, variando entre 89 ppm a 100 ppm, esto se debe a que el hongo no metabolizó el colorante, es decir no lo degradó, por el contrario, la biomasa actuó solamente como un cuerpo adsorbente. La concentración mínima alcanzada del colorante fue de 84.4 ppm, registrada el día 15 de la experimentación.



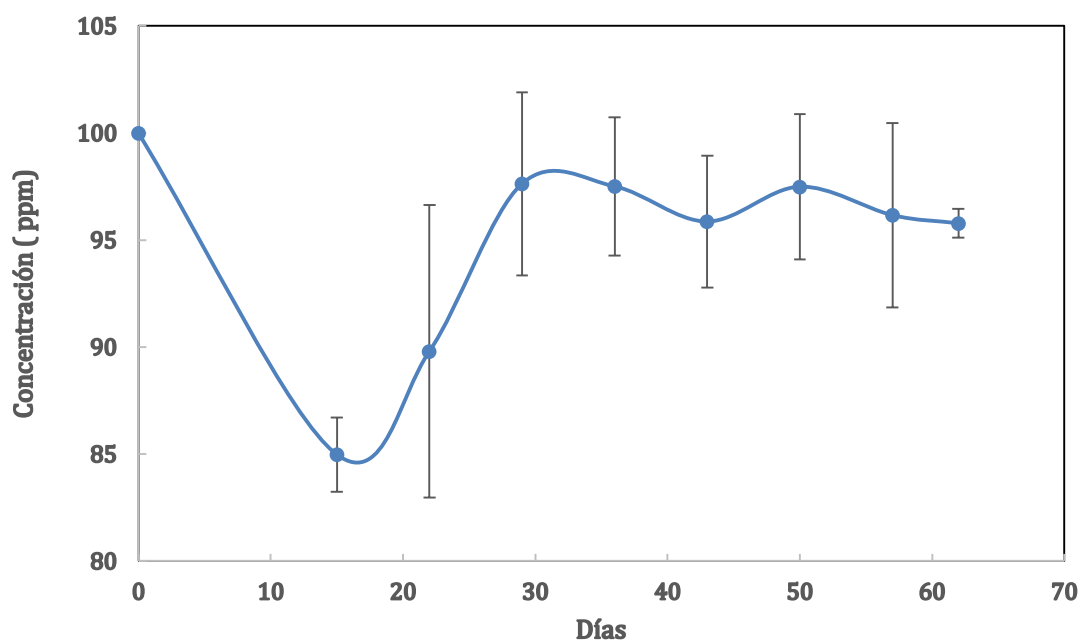
Gráfica 3. Evolución de la concentración del colorante, usando (PT14) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).



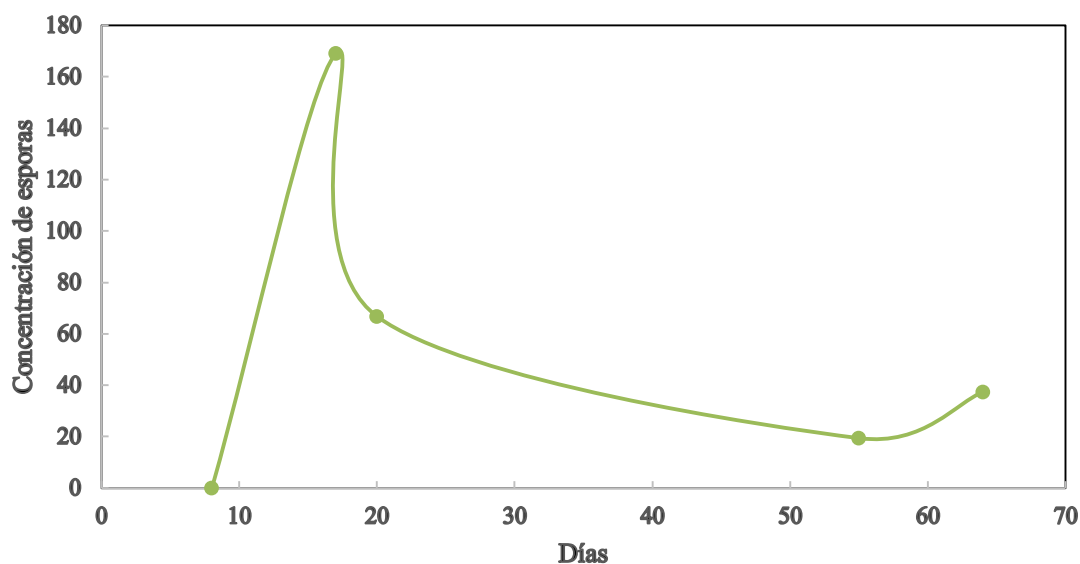
Gráfica 4. Curva de crecimiento *F. oxysporum* (PT14) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).

En la Gráfica 5, se indica la evolución de la concentración del colorante cloruro de metiltionina, usando *P. echinulatum* (SS14), este alcanza una concentración de 85 ppm después de 15 días de experimentación, es decir se alcanzó un porcentaje de remoción del 15%, este valor no se mantiene, y como se observa en la Gráfica 5, existen variaciones que oscilan entre 95 a 97 ppm, demostrándose de igual manera que no hay metabolización por parte de este hongo. Al analizar la Gráfica 6, que representa la curva de crecimiento del *P.*

echinulatum (SS14), podemos observar la disminución de población del hongo en las últimas semanas, datos que coinciden con las variaciones del porcentaje de remoción representada en la Gráfica 5, es decir que la disminución es ocasionada por la pérdida de biomasa del hongo



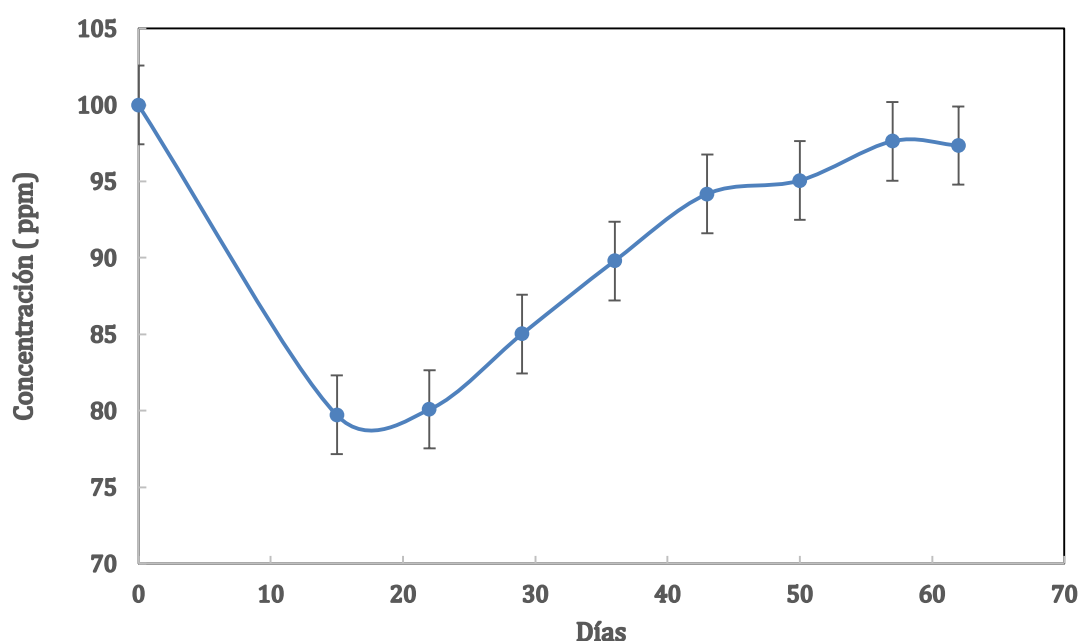
Gráfica 5. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS14) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).



Gráfica 6. Curva de crecimiento de *P. echinulatum* (SS14) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).

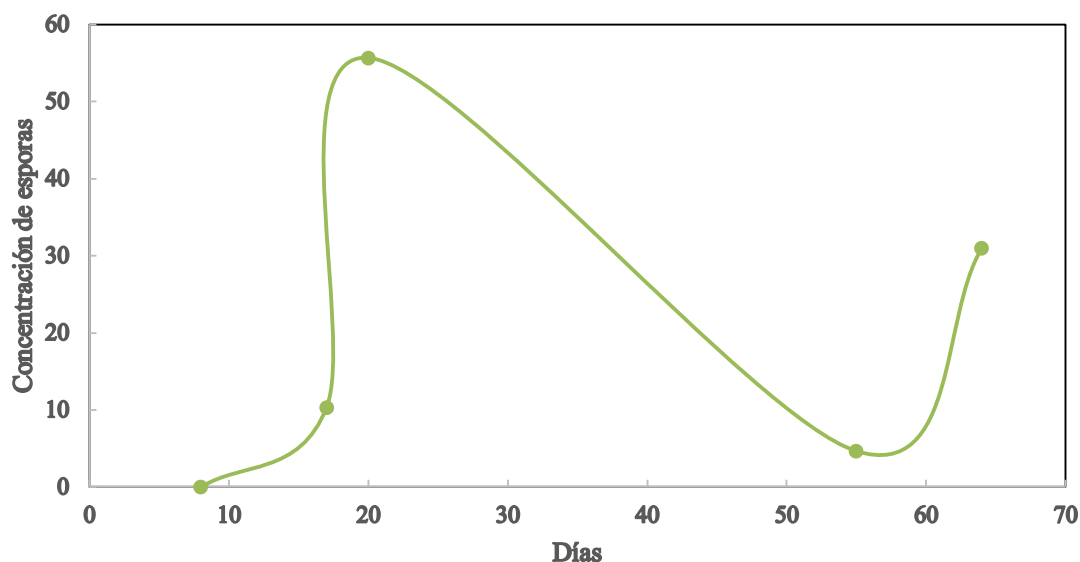
La Gráfica 7, nos indica la evolución de la concentración del colorante cloruro de metiltionina, usando *B. ranarum* (SS1) en medio Mineral, durante la primera semana este alcanzo un porcentaje de remoción del 20 %, a pesar de haber obtenido el mayor porcentaje

de remoción a diferencia de las otras cepas utilizadas para el análisis, su comportamiento posterior es diferente, puesto que este no presenta fluctuaciones. Las fluctuaciones se explican como tendencias en las que la curva sube y baja, indicando adsorción o desorción del colorante, en la Gráfica 7, no se observan dichas fluctuaciones, por lo que se afirma que a partir de su adsorción máxima, el hongo se encuentra en desorción, evidenciándose un total decrecimiento del porcentaje de remoción, obteniéndose por resultado que el hongo no está metabolizando el colorante, y luego de alcanzar su adsorción máxima como se mencionó anteriormente, se encontró en desorción durante los 47 días de experimentación restantes. La concentración mínima del colorante fue registrada el día 15, alcanzando 80 ppm.



Gráfica 7. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS1) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).

En la Gráfica 8, se puede observar que el mayor desarrollo de biomasa fúngica para *B. ranarum* se registró el día 22, a partir de esta fecha hasta el día 55 solo se registró una disminución en el crecimiento de la biomasa, en los últimos 7 días de experimentación se observó un leve crecimiento de biomasa fúngica, sin embargo, este crecimiento no influyó en el proceso de desorción.



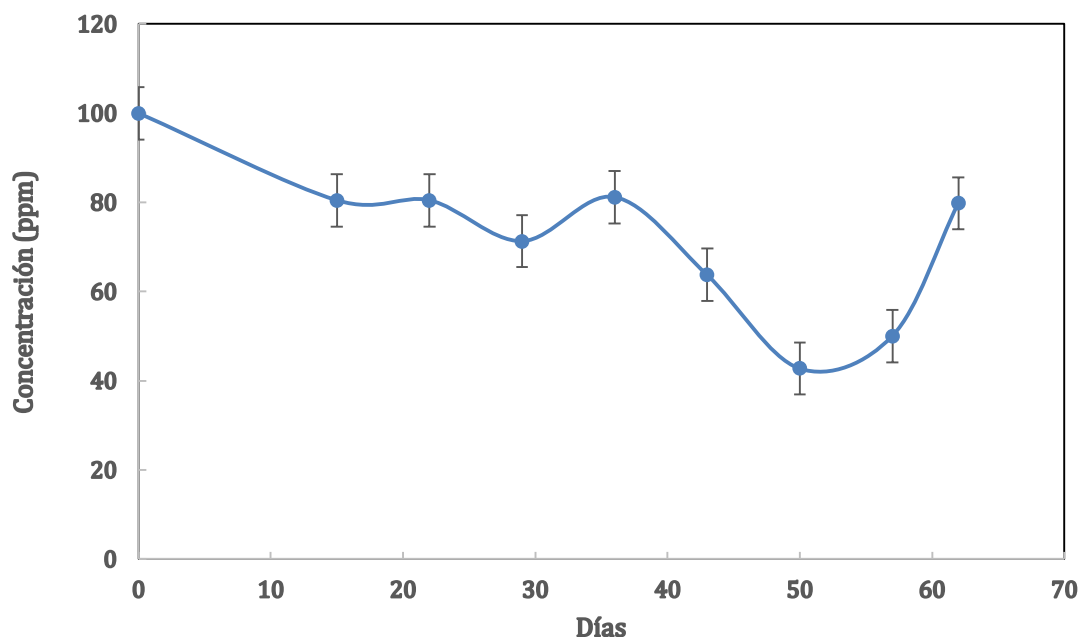
Gráfica 8. Curva de crecimiento de *B. ranarum* (SS1) en medio Mineral a (20 ± 2 °C).

En base a lo expuesto, se puede afirmar que las tres cepas utilizados para la remoción del colorante son resistentes y pueden sobrevivir en un medio Mineral, carente de compuestos carbonatados, pero es importante reconocer que el desarrollo y crecimiento de su biomasa fúngica es escasa, dificultándose su proceso de metabolización o adsorción.

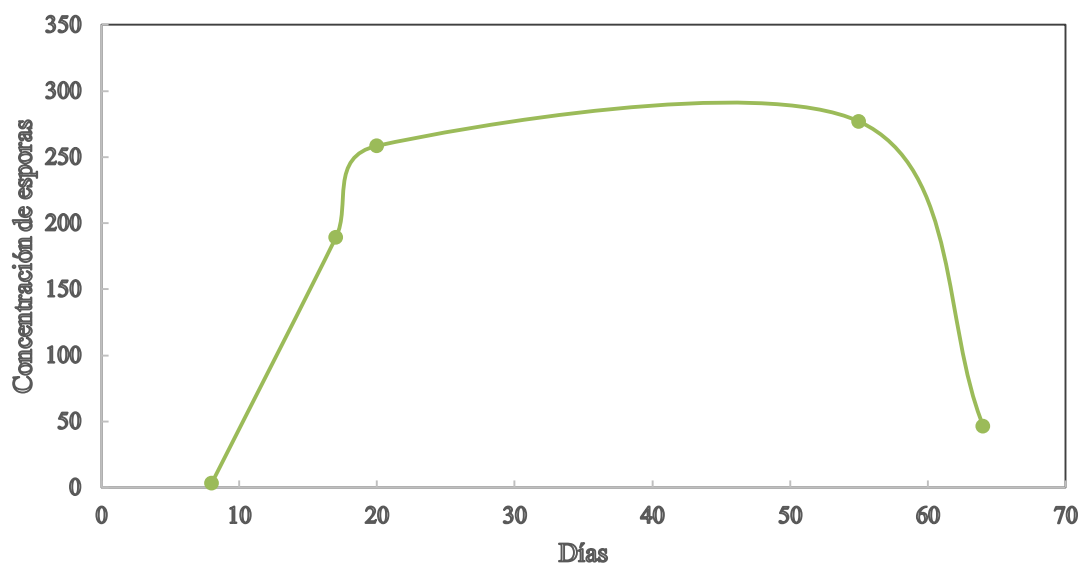
- **Evolución de la concentración en medio Malta**

A continuación, se exponen las gráficas que corresponden a la evolución de la concentración del colorante cloruro de metiltionina en medio Malta. Inicialmente observamos la Gráfica 9, la cual nos indica la evolución de la concentración del colorante usando *F. oxysporum* (PT14), como se observa a lo largo de los 62 días han existido fluctuaciones relacionadas con un proceso de adsorción y desorción, por lo cual no se obtiene una gráfica lineal, es decir no hay un comportamiento que nos indique una remoción permanente o metabolización del colorante, sin embargo, se alcanza un porcentaje de adsorción de hasta un 57.2 % alcanzando una concentración de 42.8 ppm. En el último punto al finalizar los 62 días, la concentración del colorante incrementa, y luego de analizar los datos presentados, así también como el desarrollo de la toma de muestras, se encontró que este incremento es ocasionado al agitar las muestras para su homogenización previa a su lectura, es decir que al agitar los frascos y realizar la lectura, posterior a este proceso, la biomasa fúngica del hongo empieza a desorber

el colorante antes removido, por ello para las pruebas de adsorción las muestras fueron evaluadas manteniendo los frascos estáticos.

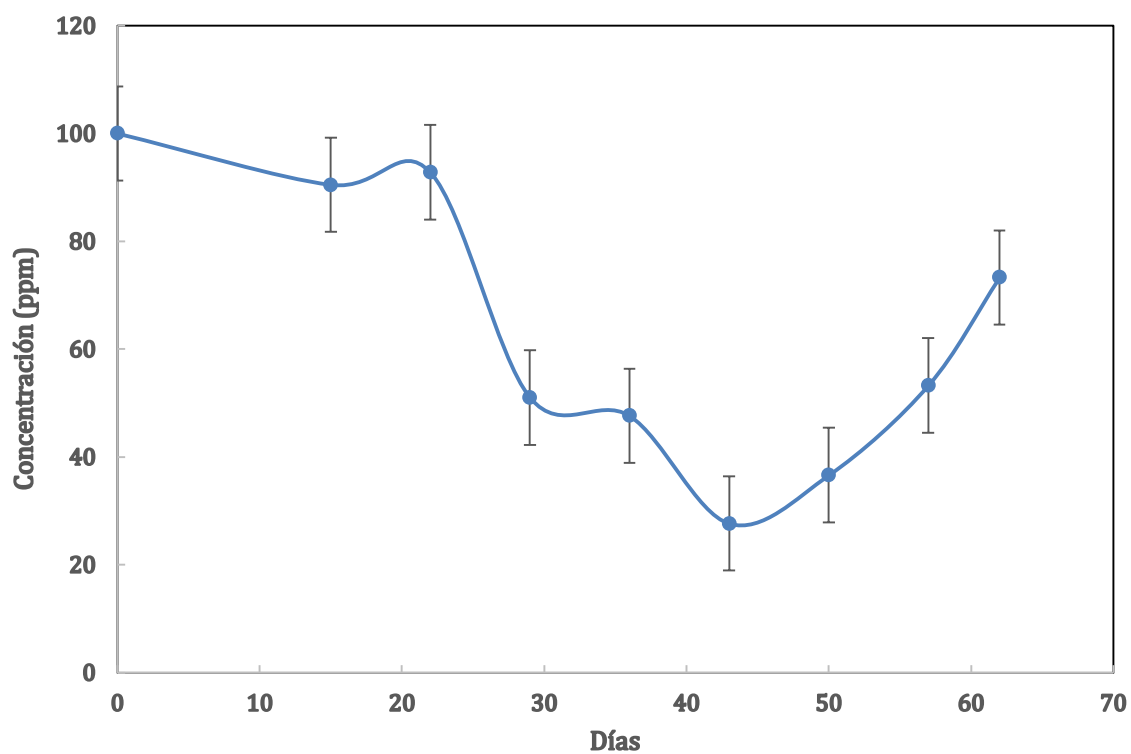


Gráfica 9. Evolución de la concentración del colorante, usando (PT14) en medio Malta a (20 ± 2 °C).

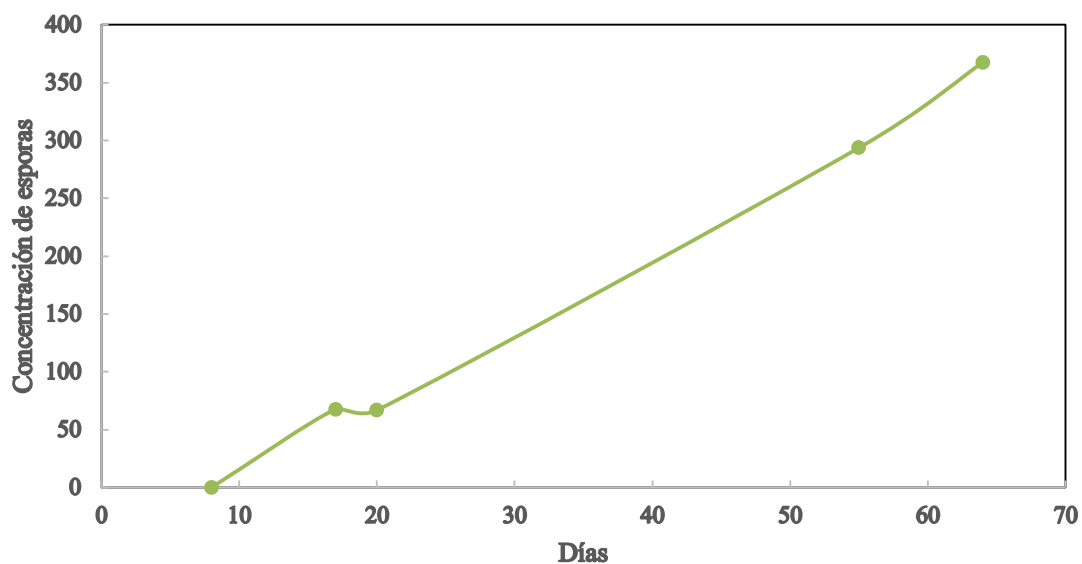


Gráfica 10. Curva de crecimiento *F. oxysporum* (PT14) en medio Malta a (20 ± 2 °C).

La Gráfica 11, nos indica la evolución de la concentración del colorante usando *P.echinulatum* (SS14) en medio Malta, el cual alcanzó un porcentaje de adsorción de 72.3 % con una concentración de 27.8 ppm el día 42 de la experimentación, luego de obtenerse este porcentaje la concentración empezó a incrementar, debiéndose esto al proceso de desorción.



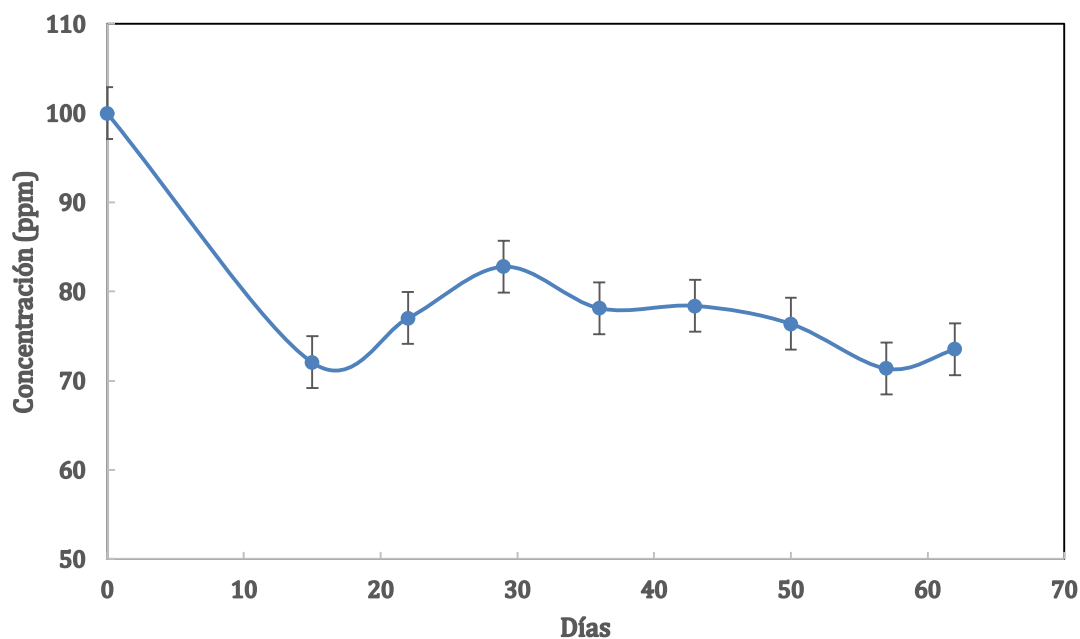
Gráfica 11. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS14) en medio Malta a (20 ± 2 °C).



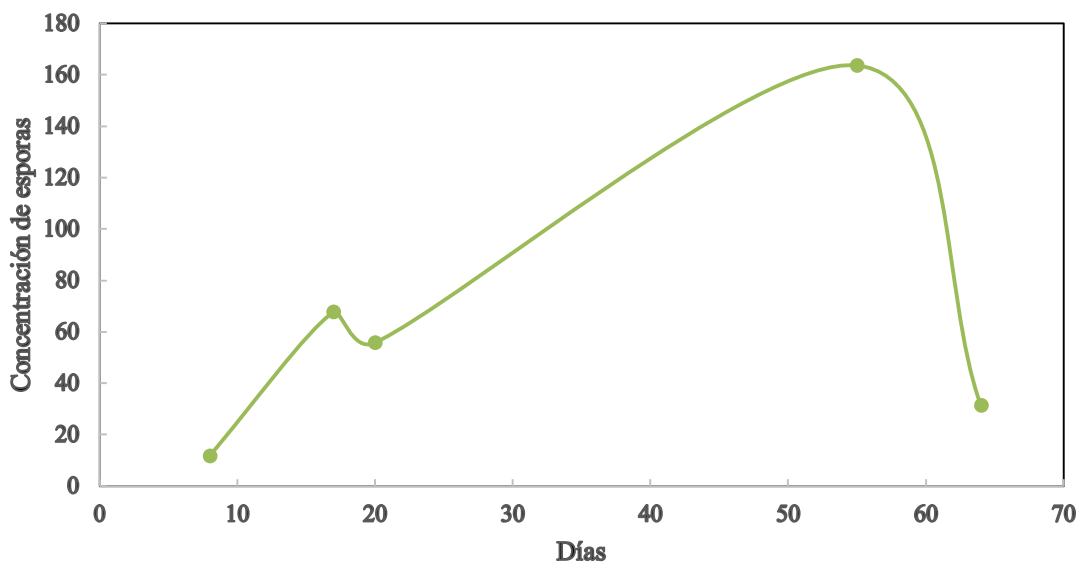
Gráfica 12. Curva de crecimiento de *P. echinulatum* (SS14) en medio Malta a (20 ± 2 °C).

Como se puede apreciar en la Gráfica 13 el máximo porcentaje de remoción del colorante alcanzado por *B. ranarum* se obtiene en el día 57, donde la concentración desciende hasta 71.38 ppm, como se explicó en los anteriores casos, la biomasa fúngica actúa como

adsorbente, por lo que se estudiará la temperatura a la cual existe una mayor adsorción para cada cepa de hongo.



Gráfica 13. Evolución de la concentración del colorante, usando (SS1), en medio Malta a (20 ± 2 °C).



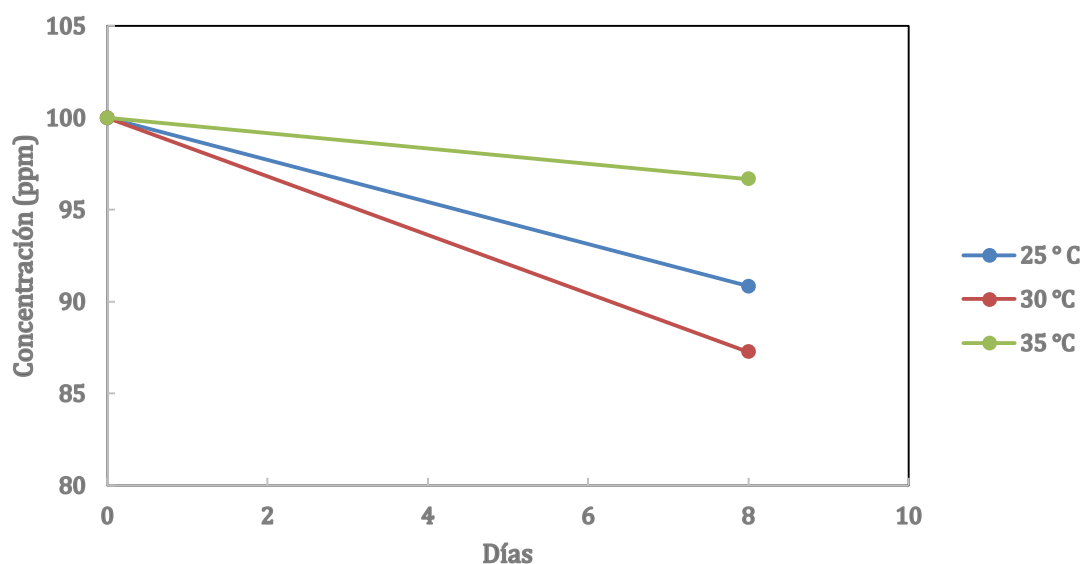
Gráfica 14. Curva de crecimiento de *B. ranarum* (SS1), en medio Malta a (20 ± 2 °C).

Finalmente, luego de obtener datos que indican que las cepas no metabolizan el colorante, sino lo adsorben durante un periodo de tiempo de aproximadamente una semana y, posterior a ello lo desorben al medio, se resolvió incrementar la temperatura.

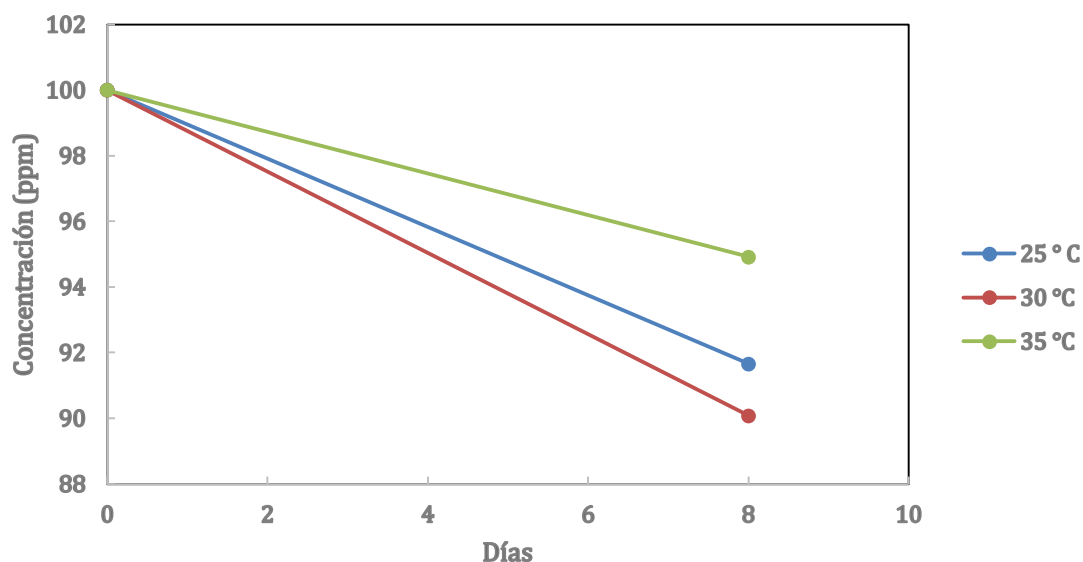
Como se indicó inicialmente todas las muestras permanecieron a una temperatura ambiente de 20 ± 2 °C, y al concluir la desorción de los hongos, se estudió la temperatura óptima, a la cual, cada cepa registra una mayor adsorción, las temperaturas usadas con un gradiente de 5 °C entre ellas fueron 25 °C, 30 °C y 35 °C, a continuación, se presentan los resultados de la remoción de cada uno de los hongos en los dos tipos de medio a las temperaturas mencionadas.

- **Pruebas a temperatura controlada en medio Mineral**

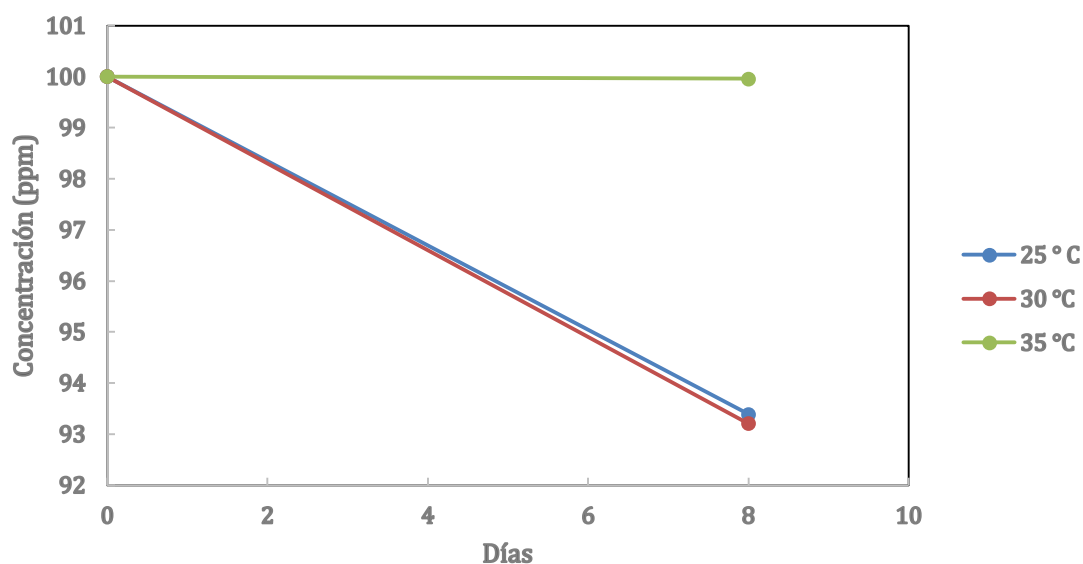
En la Gráfica 15, 16 y 17 observamos las rectas de adsorción en medio Mineral del *F.oxysporum* (PT14), *P. echinulatum* (SS14) y *B. ranarum* (SS1) respectivamente, como se indicó anteriormente cada semana el hongo desorbe el colorante que retuvo a lo largo de ese tiempo, por lo cual el punto de partida de cada semana se representa a una concentración de 100 ppm, debido a que esta fue la concentración inicial.



Gráfica 15. Rectas de adsorción usando *F. oxysporum* (PT14) en medio Mineral.



Gráfica 16. Rectas de adsorción usando *P. echinulatum* (SS14) en medio Mineral.

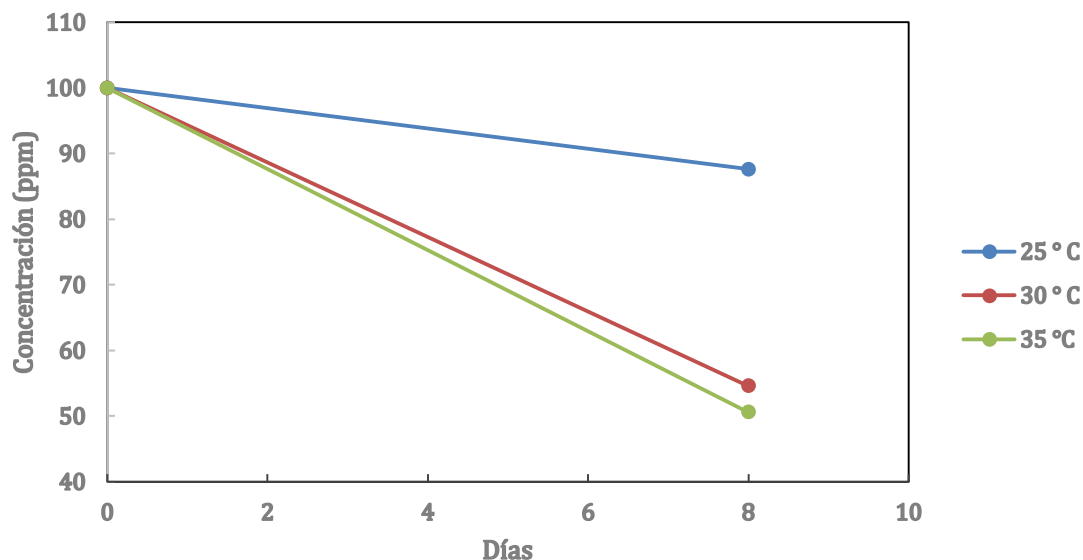


Gráfica 17. Rectas de adsorción usando *B. ranaeum* (SS1) en medio Mineral.

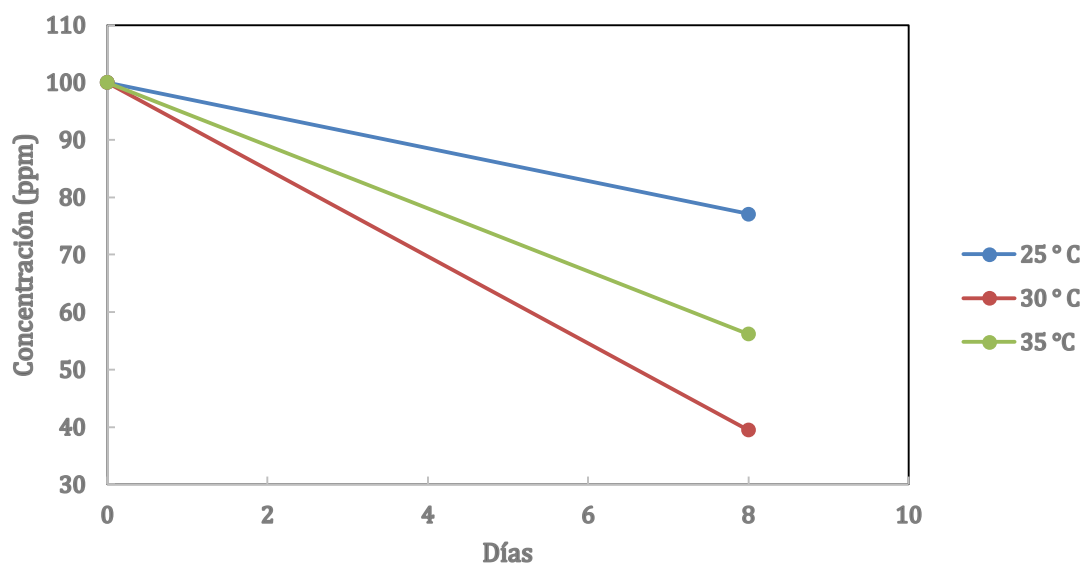
Se afirma que existe una mayor adsorción de colorante cloruro de metiltionina, para las tres cepas estudiadas, a una temperatura de 30 °C, se puede destacar que al trabajar a una misma temperatura aquel que presenta un mayor porcentaje de adsorción es *F. oxysporum* con 12.7 % de remoción.

- **Pruebas a temperatura controlada en medio Malta**

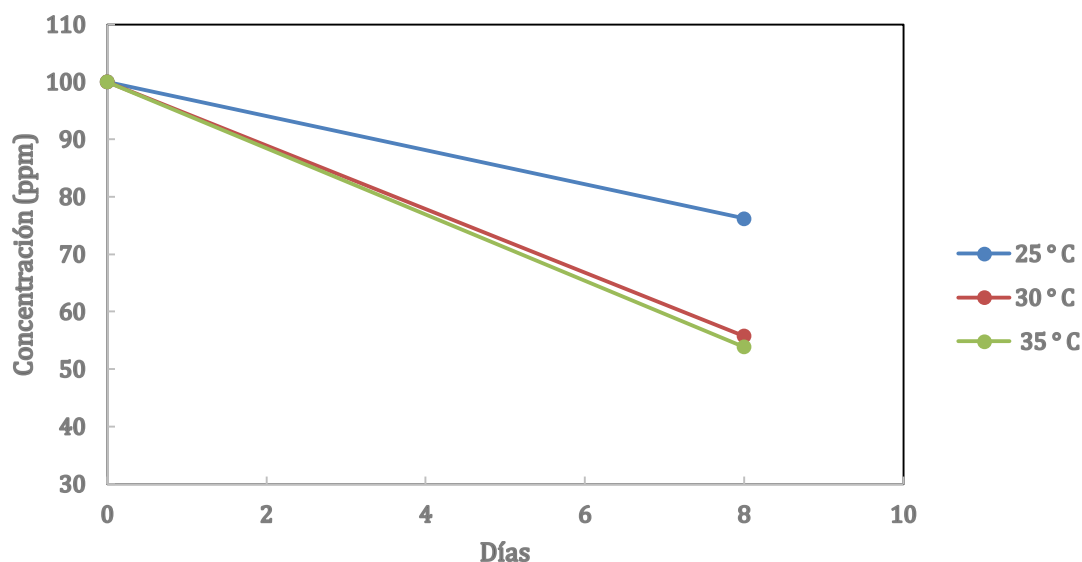
En las Gráficas 18, 19 y 20 observamos las rectas de adsorción en medio Malta para (PT14), (SS14) y (SS1) respectivamente, como se puede apreciar la temperatura óptima para *P.echinulatum* (SS14) es de 30 °C, mientras que para *F. oxysporum* (PT14) y *B. ranarum* (SS1) la temperatura óptima es de 35 °C. En cuanto a los porcentajes de adsorción el hongo que mejor actúa es *P.echinulatum* (SS14) alcanzando 60% de adsorción.



Gráfica 18. Rectas de adsorción usando *F. oxysporum* (PT14) en medio Malta.



Gráfica 19. Rectas de adsorción usando *P. echinulatum* (SS14) en medio Malta.



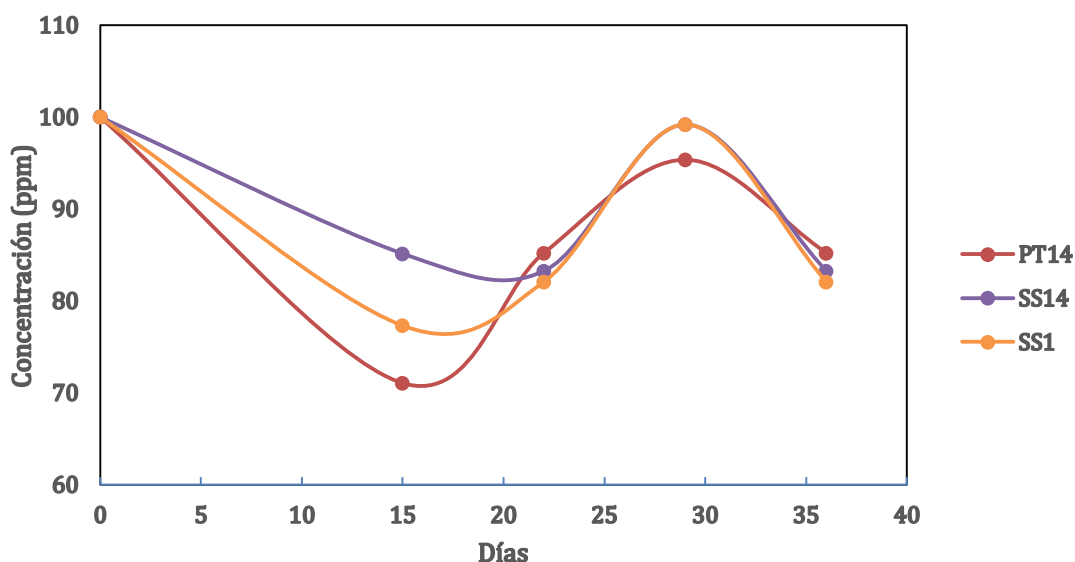
Gráfica 20. Rectas de adsorción usando *B. ranarum* (SS1) en medio Malta.

- Experimento con pH = 9

Los resultados obtenidos para las cepas fúngicas utilizando pH = 9, se pueden observar en la Gráfica 21, la cual nos muestra la evolución de la concentración de los hongos a través de 36 días. La mayor adsorción de colorante se presentó en el día 15, al igual que las cepas desarrolladas en medio Mineral a pH = 6, en este intervalo de tiempo se desarrolló la mayor cantidad de biomasa fúngica. El mayor porcentaje de adsorción fue reportado por la cepa PT14 con un valor de 29 %, seguido por la cepa SS1 con un porcentaje de adsorción de 18 %, finalmente se encuentra la cepa SS1 que alcanzó un porcentaje máximo de 15 % de adsorción.

Tabla 6. Datos de concentración de cepas fúngicas con pH = 9.

Días	Concentración (ppm)		
	PT14	SS14	SS1
0	100	100	100
15	71.025	85.104	77.294
22	85.204	83.214	82.070
29	95.353	99.184	99.184
36	85.204	83.214	82.070



Gráfica 21. Evolución de cepas fúngicas en medio Mineral pH = 9.

También se realizaron mediciones de control de parámetros como pH, conductividad, y sólidos totales, los cuales se detallan a continuación:

Tabla 7. Parámetros de control de cepas fúngicas con pH = 9.

	7-ago			14-ago			19-ago			28-sep		
	pH	Cond µmho/cm	TDS ppm	pH	Cond µmho/cm	TDS ppm	pH	Cond µmho/cm	TDS ppm	pH	Cond µmho/cm	TDS ppm
PT14	8.38	1219.9	695	6.08	361	876	5.67	854	413	5.93	829	420
SS14	8.35	1214.9	688	6.03	357	867	5.73	887	429	6.19	820	416
SS1	8.05	1220.9	697	5.53	336	821	5.96	900	432	5.85	838	421

Al analizar el control de parámetros correspondientes a las cepas desarrolladas a pH = 9 se pudo determinar que se comportan de manera similar a las cepas con sustrato Mineral pH = 6 (Anexo 6). Igualmente presentaron un comportamiento de adsorción y desorción, como se muestra en la Gráfica 21, por lo cual se determinó concluir con su estudio a los 36 días de experimentación. Se realizó una última medición de control al finalizar con los estudios de absorbancia que se realizaron durante 62 días, como se había previsto su comportamiento, no se evidenció cambios significativos.

3.4 Análisis Estadístico

3.4.1. Análisis de Estudios de Absorción (Dos meses)

Para realizar el análisis estadístico se ha tomado como referencia la medida de concentración de las réplicas de cada cepa fúngica de cada medio del día 28 de septiembre del presente año, con una temperatura ambiente de 20 ± 2 °C.

Tabla 8. Datos de concentración utilizados para análisis estadístico.

Medio	Concentración (ppm)		
	PT14	SS14	SS1
Mineral	92.866	91.423	92.766
	95.950	93.960	93.463
	96.199	99.184	94.109
Malta	89.543	76.829	87.305
	75.829	75.448	67.210
	74.067	67.590	66.114

A continuación, se muestran los resultados de la Prueba t de Student, la cual fue utilizada para analizar las diferencias entre las medias de porcentaje de concentración obtenidas para cada hongo, entre cada medio; es decir la *Variable 1* se considera la concentración del colorante en el medio Mineral, mientras que la *Variable 2* se considera la concentración del colorante en el medio Malta. Se realizó una prueba t de manera individual para cada hongo. Se asume un nivel de confianza del 95 %, es decir ($p < 0.05$). (Resultados completos en Anexos 7, 8 y 9).

Tabla 9. Tabla resumen - Prueba t de Student de cada hongo entre medios (20 ± 2 °C).

Código	Prueba t de Student		
	Mineral Concentración (ppm)	Malta Concentración (ppm)	p: una cola
PT14	95.00	79.81	0.047*
SS14	94.86	73.29	0.002**
SS1	93.45	73.55	0.050

En base a los resultados, se ha podido determinar que para PT14 $p (0.0468) < 0.05$ y para SS14 $p (0.0021) < 0.05$ existen diferencias estadísticamente significativas, lo cual indica que

el medio o sustrato de desarrollo influye en el porcentaje de adsorción, en este caso el medio Malta favorece la adsorción, pues al ser rico en compuestos carbonatados permite el un mayor desarrollo de biomasa fúngica, la cual favorece la capacidad de adsorción del colorante, mientras que para SS1 $p(0.051) > 0.05$ no existen diferencias significativas con lo que se concluye que no existió más adsorción debido al medio en este hongo.

Se ha realizado el análisis ANOVA para cada medio, con el cual se pretende establecer la existencia o no de diferencias significativas de adsorción entre las cepas utilizadas.

Tabla 10. Resumen análisis ANOVA para cada medio (20 ± 2 °C).

Medio	Código	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	Análisis ANOVA	
				F	p
Mineral	PT14	95.00	3.45	0.34	0.72
	SS14	94.86	15.66		
	SS1	93.45	0.45		
Malta	PT14	79.81	71.78	0.51	0.62
	SS14	73.29	24.83		
	SS1	73.54	142.34		

Al realizar el análisis ANOVA para cada sustrato; se ha determinado que no existen diferencias significativas entre los valores medios de adsorción, es decir que los hongos que se han desarrollado en medio Mineral, tuvieron un crecimiento y posterior absorción similar. Igualmente, los hongos que se han desarrollado en medio Malta presentan un desarrollo en la biomasa fúngica similar y porcentajes de adsorción semejantes entre ellos. En otras palabras, los hongos cultivados en un mismo medio muestran igual comportamiento en cuanto a adsorción, esto es explicable al ser el mecanismo la adsorción y esta depende de la biomasa generada.

4.2.2. Análisis de las Rectas Adsorción (3 semanas)

Se realizaron tres pruebas t de Student; en cada prueba se analiza el hongo de manera individual, con su porcentaje promedio de adsorción a las temperaturas 25 °C, 30 °C y 35°C; la *Variable 1* corresponde al medio Mineral y la *Variable 2* corresponde al medio Malta. Este análisis se realiza con la finalidad de comparar el comportamiento de adsorción de cada

hongo según el sustrato en el cual se desarrolló. (Resultados completos en Anexos 12, 13 y 14).

Tabla 11. Resumen - Prueba *t* de Student de Rectas de Adsorción entre medios.

<i>Código</i>			<i>Prueba t</i>
	Medio Mineral Concentración (ppm)	Medio Malta Concentración (ppm)	p: una cola
<i>PT14</i>	91.59	59.22	0.08
<i>SS14</i>	90.09	70.04	0.13
<i>SS1</i>	91.59	71.07	0.11

Los resultados indican que no existen diferencias significativas entre las cepas fúngicas y los medios en los cuales se desarrollaron los procesos de adsorción a diferentes temperaturas.

El siguiente análisis ANOVA (Tabla 12), se ha realizado para cada medio, en este análisis se considera un porcentaje de adsorción promedio entre las medidas de concentración obtenidas a las diferentes temperaturas, para cada cepa fúngica. Este análisis pretende comparar el comportamiento de las cepas en cada medio.

Tabla 12. Análisis ANOVA para cada medio.

<i>Análisis ANOVA para cada medio</i>					
Medio	Código	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	P
<i>Mineral</i>	<i>PT14</i>	91.59	22.61	0.085	0.92
	<i>SS14</i>	90.09	27.48		
	<i>SS1</i>	91.59	29.02		
<i>Malta</i>	<i>PT14</i>	59.22	634.52	0.25	0.78
	<i>SS14</i>	70.04	498.12		
	<i>SS1</i>	71.07	397.31		

Los valores de *p* obtenidos en cada medio superan el valor de alfa = 0.05. Es decir; que los porcentajes de adsorción de las cepas en medio Mineral; no presentan diferencias significativas entre ellas; igualmente, los porcentajes de adsorción de las cepas en medio Malta no presentan diferencias significativas entre ellas. Al igual que las pruebas realizadas a temperatura ambiente, las cepas desarrolladas en un mismo medio comparten características de crecimiento y adsorción.

Se realizó un análisis ANOVA (Tabla 13), para cada temperatura en medio Mineral; a continuación, se muestra una tabla resumen con los resultados obtenidos para cada análisis.

Tabla 13. Análisis ANOVA para las pruebas en medio Mineral.

<i>Análisis ANOVA para las pruebas en medio Mineral</i>					
Temperatura	Código	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	p
25 °C	PT14	90.84	10.78	0.27	0.76
	SS14	91.66	42.37		
	SS1	93.39	4.66		
30 °C	PT14	87.26	7.96	0.98	0.43
	SS14	90.08	65.16		
	SS1	93.21	8.62		
35 °C	PT14	96.68	12.33	0.81	0.49
	SS14	94.92	58.24		
	SS1	99.96	1.84		

Todos los valores de p son mayores al valor establecido para alfa de 0.05; por lo cual se determina que no existen diferencias significativas en cada temperatura en la cual se desarrolló en análisis. Esto significa que el comportamiento de las tres cepas es semejante, mientras se encuentran a la misma temperatura.

Tabla 14. Análisis ANOVA para las pruebas en medio Malta.

<i>Análisis ANOVA para las pruebas en medio Malta</i>					
Temperatura	Código	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	P
25 °C	PT14	87.59	1.87	0.59	0.59
	SS14	77.09	190.75		
	SS1	76.21	422.86		
30 °C	PT14	54.57	223.25	0.99	0.42
	SS14	39.48	471.75		
	SS1	55.78	51.76		
35 °C	PT14	50.59	22.49	0.23	0.80
	SS14	56.19	270.59		
	SS1	53.86	16.98		

Igualmente se realizó un análisis ANOVA (Tabla 14), para cada temperatura en medio Malta. En cada temperatura se evidencia que no existen diferencias significativas; pues los valores de p sobrepasan el valor de alfa de 0.05. Es decir, que a determinada temperatura los hongos trabajan aproximadamente igual en cuanto a la adsorción del contaminante cloruro de metiltionina.

A continuación, en la Tabla 15 y Tabla 16, se indican los resultados obtenidos al realizar el análisis ANOVA, a cada hongo de manera individual a diferentes temperaturas. Se realizó la prueba para determinar si existen o no diferencias significativas en la medida de absorción alcanzada por cada hongo a una temperatura dada en medio Mineral y medio Malta respectivamente.

Tabla 15. Análisis ANOVA – Hongos a diferentes temperaturas en medio Mineral.

Análisis ANOVA para las pruebas en medio Mineral

Código	Temperatura °C	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	p
<i>PT14</i>	25	90.84	10.78	6.55	0.03**
	30	87.26	7.96		
	35	96.68	12.33		
<i>SS14</i>	25	91.66	42.37	0.33	0.73
	30	90.08	65.16		
	35	94.92	58.24		
<i>SS1</i>	25	93.39	4.66	8.79	0.016**
	30	93.21	8.62		
	35	99.96	1.85		

Este análisis ha reflejado que para PT14 y SS1 si existen diferencias significativas en cuanto a las temperaturas de prueba para el análisis; como se mostró en las Gráficas 15 y 17; a 30 °C se obtienen porcentajes más altos de remoción, se ha observado también que el proceso de adsorción a diferentes temperaturas no tiene una tendencia lineal; esto se debe a las diferentes características que pueden poseer los microorganismos, en cuanto a las temperaturas de desarrollo, pues el intervalo de crecimiento de los hongos se encuentra entre 25 °C y 45 °C, por esta razón, las temperaturas óptimas pueden variar entre cepa y cepa. Para SS14 no

existen diferencias significativas, por lo cual se asume que las diferentes temperaturas utilizadas en el estudio no influyen en el porcentaje de remoción del hongo.

Para determinar las temperaturas en las cuales existen las diferencias significativas se ha usado la prueba de pares del programa R con interface de RStudio, este análisis ayuda a identificar las temperaturas en las cuales se encuentran las diferencias significativas.

A continuación, se muestra la prueba de pares realizada para la determinación de diferencias estadísticamente significativas en PT14 en medio Mineral.

```
> AbsPT14M <- c(87.09, 92.22, 93.21,84.01, 89.08, 88.69,92.67, 99.18, 98.19)
> Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))
> anova= aov(lm(AbsPT14M ~ Temp))
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Temp          2  135.66    67.83   6.552  0.031 *
Residuals    6   62.11    10.35
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> pairwise.t.test(AbsPT14M,Temp)

      Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data:  AbsPT14M and Temp

      T25  T30
T30 0.222 -
T35 0.136 0.035

P value adjustment method:holm
```

Ilustración 22. Prueba de pares para PT14 en medio Mineral.

En base a la prueba de pares se ha determinado la existencia de diferencias significativas entre 30 °C y 35 °C pues el valor de $p = 0.035 *$. Al evaluar las concentraciones del colorante a estas temperaturas se puede observar que existe una mayor adsorción a 30 °C; mientras que a 35 °C prácticamente no existe adsorción, por lo cual la cepa no trabaja a esta temperatura.

Igualmente se realizó una prueba de pares para SS1 en medio Mineral.

```
> AbsSS1M <- c(91.42, 93.06, 95.70, 90.08, 93.66, 95.90,101.52, 99.33, 99.03)
> Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))
> anova= aov(lm(AbsSS1M ~ Temp))
> summary(anova)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Temp          2   88.67    44.34   8.792  0.0165 *
Residuals    6   30.26     5.04
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> pairwise.t.test(AbsSS1M,Temp)

      Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data:  AbsSS1M and Temp

      T25  T30
T30 0.925 -
T35 0.031 0.031

P value adjustment method:holm
```

Ilustración 23. Prueba de Pares para SS1 en medio Mineral

Se determinaron diferencias significativas entre 25 °C y 35 °C con $p = 0.031^*$ y entre 30 °C y 35 °C con $p = 0.031^*$. Al evaluar los datos de concentración del colorante se encontró que a 35 °C no existe adsorción, mientras que; entre 25 °C y 30 °C el porcentaje de adsorción prácticamente es el mismo; por lo cual se ha determinado que entre este intervalo existe adsorción del colorante.

A continuación, en la Tabla 16, se expone un resumen en el cual se ha realizado un análisis ANOVA, el cual intenta determinar si existen o no diferencias significativas entre las medias de remoción obtenidas a diferentes temperaturas en cada hongo en el medio de Malta.

Tabla 16. Análisis ANOVA – Hongos a diferentes temperaturas en medio Malta.

Análisis ANOVA para las pruebas en medio Malta

Código	Temperatura	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	p
PT14	25	87.59	1.87	14.99	0.004**
	30	54.57	223.25		
	35	50.59	22.49		
SS14	25	77.09	190.75	3.43	0.1
	30	39.48	471.75		
	35	56.19	270.59		
SS1	25	76.21	422.86	2.8	0.14
	30	55.78	51.76		
	35	53.86	16.98		

Las pruebas a diferentes temperaturas en el medio Malta han demostrado que no existen diferencias significativas para SS14 y SS1 en cuanto a la influencia de la temperatura en la capacidad de adsorción; para PT14 sí existen diferencias significativas, por lo cual la temperatura es un parámetro importante en su capacidad de adsorción, pues al aumentar la temperatura se favorece el proceso, esto se puede observar en la Gráfica 18. Se realizó una prueba post hoc para determinar entre que temperaturas se encuentran las diferencias significativas, las cuales se ubicaron entre las absorciones halladas entre 25 °C y 30 °C con $p = 0.0087^{**}$ y entre 25 °C y 35 °C con un valor de $p = 0.0074^{**}$.

Lo cual nos indica que a 25 °C disminuye el proceso de adsorción, pues se registró una concentración de 87.59 ppm, mientras que a 30 °C y 35 °C se registraron concentraciones finales de 54.57 ppm y 50.59 ppm respectivamente, por lo cual se puede demostrar que a este intervalo de temperatura la cepa se desarrolla mejor y es capaz de adsorber más colorante. Los resultados de la prueba de pares para PT14 en medio Malta se muestran a continuación:

```

> AbsPT14Ma <- c(86.02, 88.26, 88.50, 71.45, 49.26, 43.02, 56.07, 47.92, 47.78)
> Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))
> anova= aov(lm(AbsPT14Ma ~ Temp))
> summary(anova)
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Temp    2 2475.2  1237.6   14.99 0.00464 **
Residuals 6  495.3    82.6
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> pairwise.t.test(AbsPT14Ma, Temp)

      Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

data:  AbsPT14Ma and Temp

      T25   T30
T30 0.0087 -
T35 0.0074 0.6103

P value adjustment method: holm
  
```

Ilustración 24. Prueba de pares para PT14 en medio Malta.

Se realizó también un análisis ANOVA (Tabla 17), entre medios a una temperatura determinada, con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas de adsorción en cada sustrato a igual temperatura.

Tabla 17. Análisis ANOVA a diferentes temperaturas entre medios.

<i>Análisis ANOVA entre medios</i>					
Temperatura	Medio	Promedio Concentración (ppm)	Varianza	F	p
25 °C	Mineral	91.94	15.73	6.13	0.025**
	Malta	80.00	183.92		
30 °C	Mineral	90.18	27.09	52.87	0.000**
	Malta	49.94	248.57		
35 °C	Mineral	97.19	23.010	160.98	0.000**
	Malta	53.55	83.460		

Al realizar esta comparación entre medidas de adsorción para el medio Mineral y Malta se han determinado la existencia de diferencias significativas en las tres temperaturas en las cuales se realizaron las pruebas. En base a este análisis se puede reafirmar que el medio Malta favorece los procesos de adsorción por su alta concentración de compuestos carbonatados que permite un mejor desarrollo y crecimiento de la biomasa fúngica.

- **Cepas Contaminantes**

En el día 21 de experimentación se logró observar crecimiento fúngico en los blancos de medio Malta 1 y 2, se evidenció que las cepas que contaminaron los blancos también poseían características de adsorción y posterior desorción, por lo cual se incluyó su estudio en la experimentación a temperaturas controladas.

Finalmente se realiza un análisis ANOVA de los blancos en medio Malta, con las cepas contaminantes. Este análisis compara la capacidad de remoción de cada hongo, tomando un promedio entre la remoción del colorante a diferentes temperaturas.

Tabla 18. Datos de la Concentración de cepas contaminantes.

Temperaturas	Concentración ppm	
	Blanco 1	Blanco 2
25 °C	54.02	60.26
30 °C	63.92	48.45
35 °C	48.88	64.92

Tabla 19. Análisis ANOVA para las cepas contaminantes.

Análisis ANOVA para las Cepas contaminantes- Medio Malta

Cepa	Blanco	Promedio ppm	Varianza	F	p
Rhodotorula mucilaginosa	1	55.61	58.50	0.12	0.75
Aspergillus fumigatus	2	57.88	72.12		

Al realizar un análisis de las concentraciones promedio a diferentes temperaturas (25 °C, 30°C y 35 °C) se ha determinado que no existen diferencias significativas entre las medias de



adsorción del colorante, entre las cepas contaminantes. Dicho de otro modo, las cepas contaminantes presentan porcentajes semejantes de adsorción, al desarrollarse en el mismo medio y a temperaturas iguales.

CONCLUSIONES

Se determinó un método de adsorción en el cual, los hongos aislados denominados PT14, SS14 y SS1 pueden ser utilizados en procesos de adsorción de colorantes, como cuerpos adsorbentes, considerando principalmente su temperatura óptima de trabajo con la finalidad de mejorar su capacidad de adsorción.

Mediante el análisis microbiológico se reconoció y caracterizó a las cepas a las cuales pertenecen los hongos utilizados; (PT14, SS14 y SS1), los cuales fueron identificados como; *Fusarium oxysporum*, *Penicillium echinulatum* y *Basidiobolus ranarum* respectivamente. Así también se identificó a las cepas contaminantes presentes en el blanco 1 y blanco 2 en medio Malta como: *Rhodotorula mucilaginosa* y *Aspergillus fumigatus* respectivamente.

Las cepas que obtuvieron porcentajes de adsorción más altos a 20 ± 2 °C durante 62 días fueron: *P. echinulatum* y *F. oxysporum* en medio Malta, alcanzando porcentajes máximos de remoción promedio de 73 % y 58 % respectivamente. Lo que indicó que el medio Malta al ser rico en compuestos carbonatados favorece el desarrollo y crecimiento de la biomasa fúngica.

Se determinó la temperatura óptima de adsorción de las cepas fúngicas sometiéndolas a estudios con varias temperaturas (25 °C, 30 °C y 35 °C), donde se estableció que a 30 °C se optimiza la adsorción para las tres cepas en medio Mineral, donde *F. oxysporum* presentó el porcentaje de adsorción más alto alcanzando un valor de 12.7 %, mientras que; en el medio Malta las temperaturas óptimas fueron de 35 °C para PT14 y SS1 que registraron porcentajes de adsorción de 49 % y 42 % respectivamente, mientras que SS14 alcanzó el porcentaje de adsorción más alto del estudio de rectas adsorción a 30 °C, alcanzando un porcentaje de 60 %.

Mediante el análisis estadístico realizado al conjunto de datos obtenidos a temperatura ambiente 20 ± 2 °C y a temperaturas controladas (25 °C, 30 °C y 35 °C), se definió que : Las cepas que se desarrollan en un mismo medio e igual temperatura comparten porcentajes similares de adsorción, además existe una temperatura óptima para cada cepa, dependiendo el medio en cual se desarrolle, sin embargo al no existir una tendencia lineal al aumentar la temperatura, se atribuye este valor a características propias del microorganismo.



RECOMENDACIÓN:

Se recomienda realizar estudios de adsorción utilizando las cepas contaminantes: *Rhodotorula mucilaginosa* y *Aspergillus fumigatus*, debido a su capacidad de adsorción presentada en este trabajo.



BIBLIOGRAFÍA

- Ademoroti, C. M. A., Ukponmwan, D. O., & Omode, A. A. (1992). Studies of textile effluent discharges in Nigeria. *International Journal of Environmental Studies*, 39(4), 291-296. <https://doi.org/10.1080/00207239208710704>
- Albis Arrieta, A. R., López Rangel, A. J., & Romero Castilla, M. C. (2017). Removal of methylene blue from aqueous solutions using cassava peel (*Manihot esculenta*) modified with phosphoric acid. *Prospectiva*, 15(2), 60-73. <https://doi.org/10.15665/rp.v15i2.777>
- Anilema, L., & Martínez, K. (2018). *Remoción de colorantes de efluentes de plantas textileras usando arcilla como material adsorbente de bajo costo* [De Grado, Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4702/1/UNACH-EC-ING-AMBT-2018-0004.pdf>
- Arias, E., & Piñeros, P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de guasca y cruz verde*. [De Grado, Universidad Javeriana]. <https://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
- Asela, M., Suárez, S., & Palacio, E. (2014). *Effects of pesticides on health and the environment*. Scielo. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010
- Baelo, M.E., Martínez, F., Machado, G., Casanova., Trinidad, F., & Llamazares, J. (2013). *Universidad de León*. Obtenido de <http://servicios.unileon.es/gestion-de-residuos/wp-content/blogs.dir/34/files/2014/03/guia-de-seguridad-y-buenas-practicas-en-el-laboratorio.pdf>
- Barrios, L. (2016). *Diseño y evaluación de un sistema de tratamiento secuencial a escala piloto para la remoción del colorante rojo N°40 presente en aguas residuales* [De Grado, Universidad Nacional de Colombia]. <http://bdigital.unal.edu.co/55011/1/1128399151.2016.pdf>



- Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., Agudelo, E. A., & Gallo, S. A. C. (2015). Tecnologías para la remoción de colorantes y pigmentos presentes en aguas residuales. *DYNA*, 82(191), 118-126. <https://doi.org/10.15446/dyna.v82n191.42924>
- Bermeo, M., & Tinoco, Ó. (2016). Remoción de colorantes de efluente sintético de industria textil aplicando tecnología avanzada de electrocoagulación. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 19(38), 125-128. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v19i38.13578>
- Cardona, M., Osorio, J., & Quintero, J. (2009). Degradación de colorantes industriales con hongos lignolíticos. *Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/430/43016337003.pdf>
- Cortazar, A., Coronel, C., Escalante, A., & González, A. (2014). Contaminación generada por colorantes de la industria textil. *Boletines científicos Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n3/e1.html>
- De La Cruz Solano, H. M. (2016). *Degradación del azul de metileno, del efluente de la industria Textil Grupo Grande Sac, mediante oxidación combinada ozono/H2O2* [Universidad Nacional del Centro del Perú]. https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNCP_d198b4fee6cde02b67c8b2421eff56d5/Details#tabnav
- De la Hoz, I. (2014). El diagnóstico diferencial de *Aspergillus fumigatus* es una necesidad en ambientes carboníferos. *Biociencias*, 9, 87-96.
- Domínguez, D. (2016). *Degradación de colorantes por la actividad fotocatalítica de nanomateriales* [De Grado, Universidad de Sonora]. <http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/bitstream/handle/unison/982/domingueztalamant/esdianagabrielal.pdf?sequence=1>
-



- Edel-Hermann, V., & Lecomte, C. (2018). Current Status of *Fusarium oxysporum* Formae Speciales and Races. *Phytopathology*®, 109(4), 512-530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- Estrada. (2019). *Micología General*. Manizales: Centro Editorial Universidad Católica de Manizales. Obtenido de http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia_general.pdf
- UNPSJB. (2017). Microbiología Ambiental. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>
- FAO. (2014). *Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas*. OMS & FAO. <http://www.fao.org/3/a-i3604s.pdf>
- Ferreira, A. P. (2019). Estimaciones del consumo de drogas ilícitas derivadas del análisis de aguas residuales: Una revisión crítica. *Salud UIS*, 51(1), 69-80.
- Ferrer Polo, J., Seco Torrecillas, A., & Robles Martínez, Á. (2018, noviembre 9). Tratamientos biológicos de aguas residuales. *Colección Académica. Editorial UPV*. Colección Académica. Editorial UPV. <https://riunet.upv.es/handle/10251/113132>
- Freitas, D. F. S., de Macedo, P. M., Gutierrez-Galhardo, M. C., & Francesconi, F. (2020). Subcutaneous Fungal Infections. En *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21014-5>
- Garduño, C. (2019). *Remoción del colorante Azul de Metileno empleando residuos de Té verde* [Grado, Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/104539/UAEM-FaPUR-TESIS-Carolina%20Gardu%c3%b1o%20Urbina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Garzón, R. (2009). *Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibra de Agave tequilana Webber var. Azul* [Tesis de Grado, Pontificia Universidad Javeriana]. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8222/tesis217.pdf?sequence=1>
-



- Gastañaga, M. (2018). Agua, Saniamiento y salud. *Research Gate*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/326612671_Agua_Saneamiento_y_Salud
- Gil, M., Soto, A., Usma, J., & Gutiérrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia*, 7, 22.
- Gould, A. B. (2009). Fungi: Plant Pathogenic. En M. Schaechter (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)* (pp. 457-477). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00347-3>
- Gürses, A., Açıkyıldız, M., Güneş, K., & Gürses, M. S. (2016). Dyes and Pigments: Their Structure and Properties. *Dyes and Pigments*, 13-29. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33892-7_2
- Henao, N., & Ramirez, S. (2016). *Tratamiento de aguas residuales del sector textil mediante proceso acoplado electro-coagulación-electro-oxidación* [De Grado, Universidad EAFIT]. <https://core.ac.uk/download/pdf/159381452.pdf>
- Hernandez, N., Vilaró, M., & Medina, J. (2017). *Hongos y myxomycetes*. AMA. http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/1454/5/044-059_Libro_Biodiversidad_Cuba_Cap%C3%ADtulo%204.pdf
- Hussein, A., & Scholz, M. (2018). Treatment of artificial wastewater containing two azo textile dyes by vertical-flow constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(7), 6870-6889. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0992-0>
- Isch, T. (2016). *Estudio de un sistema para el tratamiento de efluentes contaminados con compuestos surfactantes por un método Fenton y Fenton modificado con agente quelante (EDTA)*. [De Grado, Escuela Politécnica Nacional]. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/15234/1/CD-7008.pdf>
- Jiménez, M. G. G., & Vallve, M. V. (2014). *Nanofiltración de colorantes reactivos para la reutilización del permeado* [De Grado, Universitat Politècnica de Catalunya].



https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/88238/Maria.gracia.garcia_102046.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Lara, L. (2017). *Fitorremediación para la extracción del colorante «azul de metileno» mediante el uso de Eichhornia crassipes* [De Grado, Universidad Autónoma del Estado de México].
<http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/67471>

León, R., & Esperanza, J. (2018). Determinación de triclosán en productos de higiene personal (jabón líquido y gel antibacterial) de diferentes marcas que se expenden en Lima. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. Obtenido de
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/8603/Risco_lj%20-%20Resumen.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Lamprecht, S. C., & Crous, P. W. (2019). Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos. *Persoonia : Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 43, 1-47. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.43.01>

Longcore, J. E. (2001). Chytridiomycota. En *ELS*. American Cancer Society.
<https://doi.org/10.1038/npg.els.0000349>

Macario, J. (2016). *Eliminación del colorante Acid brown-83 en efluentes líquidos mediante membranas de nanofiltración* [De Grado, Universidad de Murcia].
https://www.um.es/documents/3456781/6237738/Documento+6+Macario_Legaz_Jos%C3%83%C2%A9_Antonio.pdf/732a0f16-df82-466e-b998-831208ec22c8

Martinez, A. (2018). *Contaminación generada por colorantes de la industria textil*.
<https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n3/e1.html>

Martinez, E. (2003). *Estudio de especies micotoxígenas del género Penicillium: Penicillium verrucosum Dierckx* [Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona].
<https://core.ac.uk/download/pdf/13277641.pdf>



Martínez, J. (2016, junio 13). Distribución “T” de Student. *Estadística en Investigación*.

<https://estadisticaeninvestigacion.wordpress.com/distribucion-t-de-student/>

Martínez-Peña, V. I., Ilyina, A., Álvarez-Reyna, V. de P., Ramos-González, R., Contreras-Esquivel, J. C., Chávez-González, M. L., & Vásquez-Arroyo, J. (2020). Aprovechamiento de residuo de biomasa fúngica en la obtención de un sistema magnético nanoestructurado para remover arsénico del agua. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 36(2), 383-397.

<https://doi.org/10.20937/53233>

Ministerio del Ambiente. (2006). *Legislación secundaria del ministerio del ambiente: Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes al recurso Agua*.

<http://www.cip.org.ec/attachments/article/1579/PROPUESTA%20ANEXO%201.pdf>

Montiel, E., Vergara, J., & Torres, C. (2017). Degradación de colorantes en aguas residuales mediante oxidación. *Inventio, la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, 13(31), 35-42.

Mota, A. (2019). *Remoción del colorante azul directo 71 en disolución acuosa mediante columnas empacadas con Phanerochaete chrysosporium inoculado sobre cáscara de tamarindo* [De postgrado, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo].

http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1806/FB-M-2019-0421.pdf?sequence=1

Navarro, E. (2015). *Guía para la interpretación de resultados en el contraste de hipótesis estadísticas*. <https://es.slideshare.net/navarroenrique/gua-contraste-de-hipotesis-blog>

Ocampo, J. (2019). *Fotodegradación de azul de metileno en medio acuoso mediante SnS₂ sintetizado por baño químico*. [Grado, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla].

<https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/4679/795319TL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



- Ordan, J., Melgar, M., & Rubio, C. (2010). *Métodos Estadísticos y Econométricos en la Empresa y para Finanzas*. Universidad Pablo de Olavide.
<https://libros.metabiblioteca.org/bitstream/001/362/5/978-84-694-7251-4.pdf>
- Oropesa, A., Moreno, J., & Gómez, L. (2017). Lesiones histopatológicas en peces originadas por la exposición a contaminantes emergentes: Recopilando y analizando datos. *Revista Toxicología*, 34(2), 99-108.
- Ortiz. (2015). *Occurrence and effects of pharmaceuticals and personal care products: New contributions in predictive models, potential risk assessments and rankings of hazard* [Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid].
<https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/16198/Tesis813-160222.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ortiz, L. (2016). *Biodiversidad fúngica en el suelo del Bosque Protector Aguarongo, provincia del Azuay—Ecuador* [De Grado, Universidad Politécnica Salesiana].
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12814/1/UPS-CT006692.pdf>
- Pachés, G. (2020). *Contaminantes Emergentes*.
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/142675/Pach%C3%A9s%20-%20Contaminantes%20emergentes.pdf?sequence=1>
- Peña, D. (2016). *Remoción de Cd por Musa cavendishii, L* [De Grado, Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/58718/UAEM-FAPUR-TESIS-PE%C3%91A%20MENDIETA%20DIANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pérez Monteza, J., & Romero Mejía, M. (2017). *Determinación de la concentración de Cloro Residual y Trihalometanos (Thm's) y su impacto en la salud según sectores de abastecimiento de agua potable en la ciudad de Moyobamba -2015* [De Grado, Universidad Nacional de San Martín]. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/2565>
-



- Piepenbring, M. (2015). Ascomycota. En *Introducción a la Micología en los Trópicos* (Vol. 1-0, pp. 137-258). The American Phytopathological Society.
<https://doi.org/10.1094/9780890546147.005>
- Powell, M. J. (2017). Chytridiomycota. En J. M. Archibald, A. G. B. Simpson, & C. H. Slamovits (Eds.), *Handbook of the Protists* (pp. 1523-1558). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_18
- Ramos, & Blanco. (2017). *Decoloración y degradación de azul de metileno presente en agua*.
Obtenido de
https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/11182/TRABAJO%20DE%20GRADO_Fernando%20Ramos%20y%20Brayan%20Banco_CorreccionesJunio.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Reyes, I., Pérez, L., Morffi, M., & Barletta, J. (2013). Aislamiento de *Rhodotorula*. Presentación de un caso en paciente con leucemia mieloide aguda. *Medisur*, 11, 542-545.
- Rivera, N. (2019). *Caracterización molecular y biotecnológica de levaduras pigmentadas aisladas de quesos artesanales elaborados en la parroquia Jima* [De Grado, Universidad del Azuay].
<http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/9372/1/15010.pdf>
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, 77(3), 247-255. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(00\)00080-8](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(00)00080-8)
- Robledo Zacarías, V. H., Velázquez Machuca, M. A., Montañez Soto, J. L., Pimentel Equihua, J. L., Vallejo Cardona, A. A., López Calvillo, M. D., & Venegas González, J. (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano industriales de Morelia, Michoacán, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(2), 221-235.
<https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.04>
-



- Roca, A. (2019). *Estudio comparativo del poder biosorbente de la cáscara de naranja y hojas de neem para la remoción de colorantes en soluciones acuosas* [De Grado, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/40865/1/BCIEQ-T-0393%20Roca%20Garc%c3%ada%20Adri%c3%a1n%20Arturo.pdf>
- Rodríguez, B. (2016a, marzo 23). *Rhodotorula sp. Atlas de Identificación micológica*. <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/03/23/rhodotorula-sp/>
- Rodríguez, B. (2016b, junio 22). *Aspergillus spp. Atlas de Identificación micológica*. <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/06/22/aspergillus-spp/>
- Rodríguez, J. (2019). *Aplicación de polímeros metal-orgánicos para la remoción de colorantes azoicos en soluciones acuosas* [De postgrado, Universidad Veracruzana]. <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/49329/RodriguezGironJesus.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Salazar, C., & Rua, A. (2012). Características morfológicas microscópicas de especies de *Aspergillus* asociadas a infecciones en humanos. *Hechos Microbiológicos*, 3(2), 93-96.
- Salazar, V. (2016). *Manual de Micología básica* (1 ed). https://92d2d64e-4b6e-4fd3-b827-f20605bb7177.filesusr.com/ugd/5ad394_b488385eff7a4d4fb09a503b14f7a90c.pdf
- Sánchez, L. (2017). (PDF) *Hongusto, innovación social en torno a los hongos silvestres y cultivados en Aysén* (1 ed). Universidad de Magallanes. https://www.researchgate.net/publication/325828488_Hongusto_innovacion_social_en_torno_a_los_hongos_silvestres_y_cultivados_en_Aysen
- Sanz, A. (2015). *Química Orgánica Industrial*. <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-11.php>
- Schaaf, A. A. (2016). Valoración de impacto ambiental por uso de pesticidas en la región agrícola del centro de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(6), 1237-1247.



- Seow, T. W., & Lim, C. K. (2016). *Removal of Dye by Adsorption: A Review*. /paper/Removal-of-Dye-by-Adsorption-%3A-A-Review-Seow-Lim/f47985bcf2c1e02d268599f5e07abdb4a917db16
- Stagnaro, M., & Yamila, S. (2017). *Evaluación sobre el uso de arcillas para la adsorción de colorantes utilizados en la industria textil* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/59441>
- Tognelli, M., Lasso, C., Bota-Sierra, C., Jimenez, L., & Cox, N. (2016). *Estado de conservación y distribución de la biodiversidad de agua dulce en los andes tropicales*. Gland, Suiza, Cambridge, UK y Arlington, USA. https://www.researchgate.net/profile/Cornelio_Bota-Sierra/publication/308880019_Estado_de_Conservacion_y_Distribucion_de_la_Biodiversidad_de_Agua_Dulce_en_los_Andes_Tropicales/links/57f40e7008ae91deaa5ad3eb.pdf
- Torres, A. (2019). *Mycoviruses that infect Fusarium oxysporum f. sp dianthi: genomic and biological characterization*. Obtenido de <https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/19156/2019000001994.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Unlu, M., Yukseler, H., & Yetis, U. (2009). Indigo dyeing wastewater reclamation by membrane-based filtration and coagulation processes. *Desalination*, 240(1), 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.02.026>
- Vázquez, J. (2016). *Síntesis y Análisis de las propiedades antimicrobianas y antibiopelícula de materiales biopolímero-plata* [De Postgrado, Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/14436/1/1080252152.pdf>
- Velásquez, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 151-167. <https://doi.org/10.22490/21456453.1846>



Wetzstein, H., Schmeer, N., & Karl, W. (1997). Degradation of the Fluoroquinolone Enrofloxacin by the Brown Rot Fungus *Gloeophyllum striatum*: Identification of Metabolites. *NCBI*, 10.

Zambrano, L. (2018). *Remoción de colorantes sintéticos de las aguas residuales de la industria alimentaria usando como material adsorbente biomasa de arroz*. [De postgrado, Instituto Politécnico de Leiria].

<https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/3473/1/Disserta%20a7%20a3o%20IPL%20E%20STM.pdf>

Zambrano, N. M., & Ramírez, M. A. N. (2019). *Evaluación de la degradación de azul de metileno mediante la técnica de oxidación de aire húmedo con peróxido de hidrógeno empleando óxidos mixtos de Mn, Cu y/o Fe como catalizador para el tratamiento de aguas residuales provenientes del laboratorio de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana*. [De Grado, Pontificia Universidad Javeriana].

<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7394/1/6132170-2019-1-IQ.pdf>

Zaruma, P., Proal, J., Hernández, I., & Salas, H. (2018). Los colorantes textiles industriales y tratamientos óptimos de sus efluente de agua residual: Una breve revisión. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 10.

ANEXOS
1. Puntos obtenidos para la construcción de curvas de calibración.

Concentración	Medios	
	Mineral	Malta
PPM	Absorbancia	Absorbancia
100	2.103	2.168
100	2.082	2.165
100	2.041	2.156
75	1.475	1.501
75	1.343	1.469
75	1.53	1.384
50	0.866	0.972
50	0.839	1.035
50	1.046	1.074
25	0.608	0.696
25	0.614	0.557
25	0.623	0.563
12,5	0.26	0.182
12,5	0.212	0.19
12,5	0.273	0.203
6,2	0.111	0.141
6,2	0.097	0.078
6,2	0.107	0.222

Anexo 1. Puntos obtenidos para la construcción de curvas de Calibración - medio Mineral y medio Malta.
2. Mediciones de absorbancia

		Registro de Absorbancia								
		7-ago	12-ago	19-ago	26-ago	2-sep	9-sep	16-sep	23-sep	28-sep
Medio Malta	Blanco 1	1.792	1.520	1.670	-	2.013	1.970	1.779	1.639	1.579
	Blanco 2	0.249	1.564	2.930	-	1.237	1.273	1.181	1.047	1.744
	PT145-1	0.655	1.772	1.609	1.540	1.983	1.493	1.025	0.924	1.873
	PT14 - 2	0.930	1.753	1.878	1.560	1.563	1.245	0.912	1.450	1.585
	PT14 - 3	0.935	1.523	1.805	1.371	1.547	1.257	0.736	0.756	1.548
	SS14 - 1	0.849	1.901	1.864	1.198	1.184	0.578	0.344	0.284	1.606
	SS14 - 2	0.400	1.862	1.952	0.938	0.757	0.429	0.804	1.167	1.577
	SS14 - 3	0.672	1.915	2.007	1.057	1.037	0.713	1.137	1.884	1.412
	SS1 - 1	0.768	1.508	1.594	1.796	1.483	1.456	1.529	1.441	1.826
	SS1 - 2	0.828	1.451	1.661	1.638	1.634	1.636	1.424	1.451	1.404
	SS1 - 3	0.402	1.560	1.576	1.760	1.784	1.826	1.838	1.583	1.381

Anexo 2. Registro de Absorbancia medio Malta.

		Registro de Absorbancia								
		7-ago	12-ago	19-ago	26-ago	2-sep	9-sep	16-sep	23-sep	28-sep
Medio Mineral	Blanco 1	1.326	1.514	1.842	-	1.957	1.923	1.946	1.891	2.022
	Blanco 2	1.988	1.544	1.754	-	1.956	1.953	1.991	1.923	1.933
	PT14- 1	1.074	1.744	1.686	1.945	1.949	1.920	1.949	1.949	1.868
	PT14 - 2	1.389	1.554	1.873	1.971	1.969	1.941	1.971	1.971	1.930
	PT14 - 3	1.089	1.789	1.838	2.000	1.980	1.962	2.116	2.116	1.935
	SS14 - 1	1.208	1.632	1.650	1.914	1.897	1.863	1.904	1.862	1.839
	SS14 - 2	1.234	1.640	1.861	1.914	1.960	1.986	1.942	1.911	1.890
	SS14 - 3	1.130	1.857	1.908	2.063	2.027	1.936	2.037	2.030	1.995
	SS1 - 1	0.764	1.628	1.779	1.956	2.031	1.942	1.950	1.924	1.866
	SS1 - 2	1.110	1.564	1.859	1.956	1.974	1.941	1.946	1.933	1.880
	SS1 - 3	1.233	1.620	1.710	1.929	1.995	1.920	1.933	1.920	1.893
PH:9	PT14	0.767	1.429	1.714	1.918	1.714	-	-	-	-
	SS14	1.332	1.712	1.674	1.995	1.674	-	-	-	-
	SS1	0.903	1.555	1.651	1.995	1.651	-	-	-	-

Anexo 3. Registro de Absorbancia Medio Mineral y muestras pH = 9.

3. Conteo de esporas

		Conteo de Esporas				
		5-ago	14-ago	17-ago	21-sep	28-sep
Medio Malta	PT14- 1	8	182	443	299	75
	PT14 - 2	3	185	207	246	38
	PT14 - 3	0	201	126	286	27
	SS14 - 1	0	51	55	619	613
	SS14 - 2	0	89	78	50	309
	SS14 - 3	0	63	67	212	181
	SS1 - 1	17	66	65	255	36
	SS1 - 2	5	47	53	92	32
	SS1 - 3	13	90	49	144	26
Medio Mineral	PT14- 1	0	180	90	22	68
	PT14 - 2	0	359	118	32	67
	PT14 - 3	0	373	134	13	9
	SS14 - 1	0	227	55	3	27
	SS14 - 2	0	204	78	34	39
	SS14 - 3	0	76	67	21	46
	SS1 - 1	0	1	65	3	41
	SS1 - 2	0	13	53	4	30
	SS1 - 3	0	17	49	7	22
PH:9	PT14	0	610	250	-	18
	SS14	0	150	69	-	11
	SS1	0	17	46	-	15

Anexo 4. Conteo de Esporas.

4. Biomasa Fúngica

BIOMASA FÚNGICA				
		Peso Filtro (g)	Peso Filtro + Biomasa (g)	Peso Biomasa (g)
Medio Malta	Blanco 1	1.1333	1.1754	0.0421
	Blanco 2	1.1302	1.1642	0.034
	PT14- 1	1.1482	1.1797	0.0315
	PT14 - 2	1.1356	1.1741	0.0385
	PT14 - 3	1.1266	1.1655	0.0389
	SS14 - 1	1.1176	1.1739	0.0563
	SS14 - 2	1.1578	1.2602	0.1024
	SS14 - 3	1.1472	1.2473	0.1001
	SS1 - 1	1.1199	1.2054	0.0855
	SS1 - 2	1.1425	1.1855	0.043
	SS1 - 3	1.1471	1.217	0.0699
Medio Mineral	Blanco 1	1.1502	1.1623	0.0121
	Blanco 2	1.131	1.1431	0.0121
	PT14- 1	1.152	1.1532	0.0012
	PT14 - 2	1.1287	1.1316	0.0029
	PT14 - 3	1.1398	1.1435	0.0037
	SS14 - 1	1.1327	1.1316	-0.0011*
	SS14 - 2	1.1397	1.1441	0.0044
	SS14 - 3	1.1609	1.1674	0.0065
	SS1 - 1	1.1429	1.1481	0.0052
	SS1 - 2	1.1448	1.153	0.0082
	SS1 - 3	1.1379	1.1446	0.0067
PH:9	PT14	1.139	1.1511	0.0121
	SS14	1.1502	1.1582	0.008
	SS1	1.131	1.1556	0.0246

Anexo 5. Registro de Biomasa obtenida.

- Valor negativo después de la corrección de humedad

5. Control de parámetros

		7-ago			14-ago			19-ago			21-jul			28-sep		
		pH	Cond	TDS	pH	Cond	TDS	pH	Cond	TDS	pH	Cond	TDS	pH	Cond	TDS
Medio Malta	Blanco 1	6.84	178.9	103	6.01	58	290	5.17	270	128	5.48	224	124	4.17	265	132.2
	Blanco 2	-	-	-	5.89	69	313	5.24	276	136	3.96	293	161	3.85	324	161.3
	PT14- 1	6.6	317.9	181	4.25	270	325	4.41	300	144	3.69	396	219	4.16	296	149
	PT14 - 2	6.5	304.9	176	4.01	77	319	3.88	328	160	3.68	391	217	3.9	305	154.2
	PT14 - 3	6.36	296.9	171	4.07	73	345	3.73	417	201	3.67	384	213	3.81	311	156
	SS14 - 1	6.39	388.9	223	4.01	73	320	3.76	307	147	3.33	609	335	3.11	356	711
	SS14 - 2	6.26	362.9	209	3.61	116	402	3.53	411	197	3.4	670	369	3.31	558	280
	SS14 - 3	6.3	377.9	217	3.54	114	395	3.38	430	207	3.45	679	372	3.36	555	280
	SS1 - 1	6.61	299.9	171	4	87	346	3.97	427	205	3.85	389	214	4.85	255	126.3
SS1 - 2	6.38	265.9	151	4.01	84	339	3.87	419	200	3.77	432	237	3.82	340	170.8	

Medio Mineral	Blanco 1	6.27	671.9	384	6.10	348	864	5.54	825	399	6.41	698	380	5.38	774	397
	Blanco 2	-	-	-	5.94	337	843	5.68	826	399	6.4	732	395	5.43	776	393
	PT14- 1	6.68	713.9	400	5.52	322	805	5.46	870	421	6.34	775	421	5.49	811	405
	PT14 - 2	6.68	743.9	427	5.37	366	893	5.18	863	418	6.31	751	409	5.44	807	401
	PT14 - 3	6.8	755.9	432	5.63	367	894	5.49	872	422	6.33	763	416	5.66	819	407
	SS14 - 1	6.43	714.9	411	5.47	345	840	5.5	857	414	6.34	727	393	5.82	784	402
	SS14 - 2	6.63	770.9	444	5.52	345	846	5.61	859	414	6.34	756	408	5.92	775	397
	SS14 - 3	6.6	727.9	419	5.45	357	872	5.63	871	421	6.35	723	392	5.99	792	406
	SS1 - 1	6.75	746.9	426	5.47	362	879	5.68	856	413	6.32	741	403	5.96	780	401
	SS1 - 2	6.86	680.9	388	5.58	349	339	5.79	993	478	6.37	714	391	6	788	401
SS1 - 3	6.83	655.9	373	5.57	360	348	5.7	866	416	6.35	727	396	5.98	782	400	

PH:9	PT14	8.38	1219.9	695	6.08	361	876	5.67	854	413	-	-	-	5.93	829	420
	SS14	8.35	1214.9	688	6.03	357	867	5.73	887	429	-	-	-	6.19	820	416
	SS1	8.05	1220.9	697	5.53	336	821	5.96	900	432	-	-	-	5.85	838	421

Anexo 6. Tabla de control de parámetros.

6. Rectas de Absorción

Temperatura		25 ° C	30 ° C	35 ° C
Fecha		8-oct	19-oct	27-oct
Absorbancia				
Medio Malta	Blanco 1	1.127	1.335	1.019
	Blanco 2	1.258	1.01	1.356
	PT14- 1	1.799	1.493	1.17
	PT14 - 2	1.846	1.027	0.999
	PT14 - 3	1.851	0.896	0.996
	SS14 - 1	1.292	0.419	0.789
	SS14 - 2	1.685	0.729	1.27
	SS14 - 3	1.858	1.317	1.459
	SS1 - 1	1.753	1.338	1.204
	SS1 - 2	1.922	1.088	1.135
	SS1 - 3	1.104	1.066	1.032
Medio Mineral	Blanco 1	1.694	1.597	1.732
	Blanco 2	1.791	1.708	1.849
	PT14- 1	1.752	1.69	1.864
	PT14 - 2	1.855	1.792	1.995
	PT14 - 3	1.875	1.784	1.975
	SS14 - 1	1.738	1.677	1.832
	SS14 - 2	1.803	1.767	2.086
	SS14 - 3	1.99	1.992	1.81
	SS1 - 1	1.839	1.812	2.042
	SS1 - 2	1.872	1.884	1.998
	SS1 - 3	1.925	1.929	1.992

Anexo 7. Puntos obtenidos para las rectas de absorción.

7. Análisis estadístico- Estudios de Absorbancia (62 días)

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales – PT14

	Variable 1	Variable 2
Media	95.00497512	79.81269841
Varianza	3.447934457	71.78306878
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	3.033786837	
P(T<=t) una cola	0.046819535	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.09363907	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 8. Prueba t de Student para PT14 entre medios a 20 ± 2 °C.

**Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales - SS14**

	Variable 1	Variable 2
Media	94.85572139	73.2888889
Varianza	15.66050345	24.8306878
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	5.870386771	
P(T<=t) una cola	0.002102736	
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786	
P(T<=t) dos colas	0.004205473	
Valor crítico de t (dos colas)	2.776445105	

Anexo 9. Prueba t de Student para SS14 entre medios 20 ± 2 °C.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales - SS1

	Variable 1	Variable 2
Media	93.4461028	73.5428571
Varianza	0.45130896	142.342404
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	2.88489485	
P(T<=t) una cola	0.05104268	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.10208536	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 10. Prueba t de Student para SS1 entre medios 20 ± 2 °C.

Análisis de varianza de un factor- Medio Mineral

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	285.0149254	95.00497512	3.44793446
SS14	3	284.5671642	94.85572139	15.6605035
SS1	3	280.3383085	93.44610282	0.45130896

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	de Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4.439384064	2	2.219692032	0.34044797	0.724351943	5.14325285
Dentro de los grupos	39.11949374	6	6.519915624			
Total	43.55887781	8				

Anexo 11. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos 20 ± 2 °C.

**Análisis de varianza de un factor- medio Malta****RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	239.4380952	79.81269841	71.7830688
SS14	3	219.8666667	73.28888889	24.8306878
SS1	3	220.6285714	73.54285714	142.342404

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	de Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	81.93550013	2	40.96775006	0.51433388	0.622063478	5.14325285
Dentro de los grupos	477.9123205	6	79.65205341			
Total	559.8478206	8				

Anexo 12. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos 20 ± 2 °C.

7. Análisis Estadístico- Rectas de Adsorción (3 semanas)**Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales****PT14 (25 °C – 30 °C – 35 °C)**

	Variable 1	Variable 2
Media	91.59425097	59.2201058
Varianza	22.60596777	634.522634
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	2.187427923	
P(T<=t) una cola	0.080111557	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.160223114	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 13. Prueba t de Student para PT14 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales**SS14 (25 °C – 30 °C – 35 °C)**

	Variable 1	Variable 2
Media	90.09618574	70.0402116
Varianza	27.4803429	498.123037
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	1.51521867	
P(T<=t) una cola	0.134473506	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.268947011	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 14. Prueba t de Student para SS14 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales
SS1 (25 °C – 30 °C – 35 °C)

	Variable 1	Variable 2
Media	91.5915186	71.0666667
Varianza	29.02076904	397.311413
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	1.721736163	
P(T<=t) una cola	0.1136292	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.227258399	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 15. Prueba t para SS1 entre medios (25 °C, 30 °C, 35 °C) – Rectas de Adsorción.
Análisis de varianza de un factor -Medio Mineral (Todos los hongos/ todas las temperaturas)
RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	274.7827529	91.59425097	22.60596777
SS14	3	270.2885572	90.09618574	27.4803429
SS1	3	274.7745558	91.5915186	29.02076904

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4.480227258	2	2.240113629	0.084952	0.919641	5.14325285
Dentro de los grupos	158.2141594	6	26.36902657			
Total	162.6943867	8				

Anexo 16. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos – Rectas de Adsorción.
Análisis de varianza de un factor - medio Malta (Todos los hongos/ todas las temperaturas)
RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	177.6603175	59.22010582	634.5226337
SS14	3	210.1206349	70.04021164	498.1230369
SS1	3	213.2	71.06666667	397.3114135

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	258.4693038	2	129.2346519	0.25340	0.78405769	5.14325285
Dentro de los grupos	3059.914168	6	509.9856947			
Total	3318,383472	8				

Anexo 17. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos – Rectas de Adsorción.

**Análisis de varianza de un factor -Medio Mineral a 25 °C**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	272.5273632	90.8424544	10.7827364
SS14	3	274.9651741	91.655058	42.3661131
SS14	3	280.1890547	93.3963516	4.6591256

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	10.21481867	2	5.10740933	0.26505388	0.77569806	5.14325285
Dentro de los grupos	115.6159501	6	19.269325			
Total	125.8307688	8				

Anexo 18. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 25 °C - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor - Medio Mineral a 30 °C

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	261.781095	87.2603648	7.96349925
SS14	3	270.238806	90.079602	65.1592782
SS14	3	279.641791	93.2139303	8.62107374

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	53.2170546	2	26.6085273	0.97653317	0.42938803	5.14325285
Dentro de los grupos	163.487702	6	27.2479504			
Total	216.704757	8				

Anexo 19. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 30 °C - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor - Medio Mineral a 35 °C

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	290.039801	96.6799337	12.3272526
SS14	3	284.766169	94.9220564	58.2394825
SS14	3	299.890547	99.9635158	1.84483882

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	39.2883564	2	19.6441782	0.81385518	0.48671101	5.14325285
Dentro de los grupos	144.823148	6	24.1371913			
Total	184.111504	8				

Anexo 20. Análisis ANOVA para medio Mineral entre hongos a 35 °C - Rectas de Adsorción.

**Análisis de varianza de un factor - medio Malta a 25 °C**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	262.7714286	87.5904762	1.86621315
SS14	3	231.2952381	77.0984127	190.75359
SS14	3	228.6285714	76.2095238	422.85941

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	240.3995969	2	120.199798	0.58		
Dentro de los grupos	1230.958428	6	205.159738	588	0.585564	5.14325285
Total	1471.358025	8				

Anexo 21. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 25 °C - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor - medio Malta a 30 °C

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	163.72381	54.5746032	223.252457
SS14	3	118.438095	39.4793651	471.749055
SS14	3	167.342857	55.7809524	51.7641723

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	495.06324	2	247.53162	0.99441482	0.42364713	5.14325285
Dentro de los grupos	1493.53137	6	248.921895			
Total	1988.59461	8				

Anexo 22. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 30 °C - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor - medio Malta a 35 °C

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
PT14	3	151.771429	50.5904762	22.4965986
SS14	3	168.580952	56.1936508	270.590325
SS14	3	161.580952	53.8603175	16.989418

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	47.531872	2	23.765936	0.2299363	0.80127555	5.14325285
Dentro de los grupos	620.152683	6	103.358781			
Total	667.684555	8				

Anexo 23. Análisis ANOVA para medio Malta entre hongos a 35 °C - Rectas de Adsorción.

**Análisis de varianza de un factor PT14 - medio Mineral****RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	272.5273632	90.8424544	10.7827364
30 °C	3	261.7810945	87.2603648	7.96349925
35 °C	3	290.039801	96.6799337	12.3272526

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	135.6358066	2	67.8179033	6.54750146	0.03102377	5.14325285
Dentro de los grupos	62.14697656	6	10.3578294			
Total	197.7827832	8				

Anexo 24. Análisis ANOVA para PT14 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor SS14 - medio Mineral**RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	274.965174	91.655058	42.3661131
30 °C	3	270.238806	90.079602	65.1592782
35 °C	3	284.766169	94.9220564	58.2394825

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	36.6047045	2	18.3023523	0.33123457	0.73037873	5.14325285
Dentro de los grupos	331.529748	6	55.2549579			
Total	368.134452	8				

Anexo 25. Análisis ANOVA para SS14 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor SS1 - medio Mineral**RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	280.189055	93.3963516	4.6591256
30 °C	3	279.641791	93.2139303	8.62107374
35 °C	3	299.890547	99.9635158	1.84483882

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	88.717826	2	44.358913	8.79843989	0.01643955	5.14325285
Dentro de los grupos	30.2500763	6	5.04167939			
Total	118.967902	8				

Anexo 26. Análisis ANOVA para SS1 en medio Mineral, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

**Análisis de varianza de un factor PT14 - medio Malta****RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	262.7714286	87.5904762	1.86621315
30 °C	3	163.7238095	54.5746032	223.252457
35 °C	3	151.7714286	50.5904762	22.4965986

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2474.921139	2	1237.46057	14.9925396	0.00463539	5.14325285
Dentro de los grupos	495.2305367	6	82.5384228			
Total	2970.151675	8				

Anexo 27. Análisis ANOVA para PT14 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor SS14 - medio Malta**RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	231.295238	77.0984127	190.75359
30 °C	3	118.438095	39.4793651	471.749055
35 °C	3	168.580952	56.1936508	270.590325

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2131.56916	2	1065.78458	3.42661861	0.1017223	5.14325285
Dentro de los grupos	1866.18594	6	311.03099			
Total	3997.7551	8				

Anexo 28. Análisis ANOVA para SS14 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

Análisis de varianza de un factor SS1 - medio Malta**RESUMEN**

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
25 °C	3	228.628571	76.2095238	422.85941
30 °C	3	167.342857	55.7809524	51.7641723
35 °C	3	161.580952	53.8603175	16.989418

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	920.502394	2	460.251197	2.80861895	0.13776697	5.14325285
Dentro de los grupos	983.226002	6	163.871			
Total	1903.7284	8				

Anexo 29. Análisis ANOVA para SS1 en medio Malta, entre temperaturas - Rectas de Adsorción.

**Análisis de varianza de un factor – Entre medios (25 °C)**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Mineral	9.00	827.68	91.96	15.73
Malta	9.00	722.70	80.30	183.92

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	612.34	1.00	612.34	6.13	0.02	4.49
Dentro de los grupos	1597.19	16.00	99.82			
Total	2209,53	17,00				

*Anexo 30. Análisis ANOVA entre medios a 25 °C.***Análisis de varianza de un factor – Entre medios (30 °C)**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Mineral	9	811.66	90.18	27.09
Malta	9	449.50	49.94	248.57

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7286.54	1.00	7286.54	52.87	0.00000	4.49
Dentro de los grupos	2205.30	16.00	137.83			
Total	9491.84	17.00				

*Anexo 31. Análisis ANOVA entre medios a 30 °C.***Análisis de varianza de un factor – Entre medios (25 °C)**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Mineral	9	874.70	97.19	23.01
Malta	9	481.93	53.55	83.46

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	8570.16	1.00	8570.16	160.98	0.00	4.49
Dentro de los grupos	851.80	16.00	53.24			
Total	9421.96	17.00				

Anexo 32. Análisis ANOVA entre medios a 35 °C.

Análisis de varianza de un factor – Entre cepas contaminantes

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	166.819048	55.6063492	58.4973545
Columna 2	3	173.628571	57.8761905	72.1179138

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.72826909	1	7.72826909	0.11833638	0.74816867	7.70864742
Dentro de los grupos	261.230537	4	65.3076342			
Total	268.958806	5				

Anexo 33. Análisis ANOVA entre cepas contaminantes.

7. Análisis en RStudio

Análisis RS

Tammya Montúfar

****Pruebas de Normalidad y homocedasticidad******Medio Mineral**

Datos a 25 °C, 30 °C, 35 °C.

```
Mineral <- data.frame(c(rep(25, 9), rep(30, 9), rep(35, 9)), c("PT14", "PT14", "PT14", "SS14", "SS14", "SS14", "SS1", "SS1", "SS1", "PT14", "PT14", "PT14", "SS14", "SS14", "SS14", "SS1", "SS1", "SS1", "PT14", "PT14", "PT14", "SS14", "SS14", "SS14", "SS1", "SS1", "SS1"), c(87.09, 92.22, 93.21, 86.40, 89.63, 98.94, 91.42, 93.06, 95.70, 84.01, 89.08, 88.69, 83.36, 87.84, 99.03, 90.08, 93.66, 95.90, 92.67, 99.18, 98.19, 91.07, 103.71, 89.98, 101.52, 99.33, 99.03))
colnames(Mineral) <- c("Temperatura", "Hongo", "ppm")
Mineral$Hongo <- as.factor(Mineral$Hongo)
Mineral$Temperatura <- as.factor(Mineral$Temperatura)

str(Mineral)

## 'data.frame': 27 obs. of 3 variables:
## $ Temperatura: Factor w/ 3 levels "25","30","35": 1 1 1 1 1 1 1 1 2 ...
## $ Hongo : Factor w/ 3 levels "PT14","SS1","SS14": 1 1 1 3 3 3 2 2 2 1 ...
## $ ppm : num 87.1 92.2 93.2 86.4 89.6 ...
```

Prueba de Normalidad

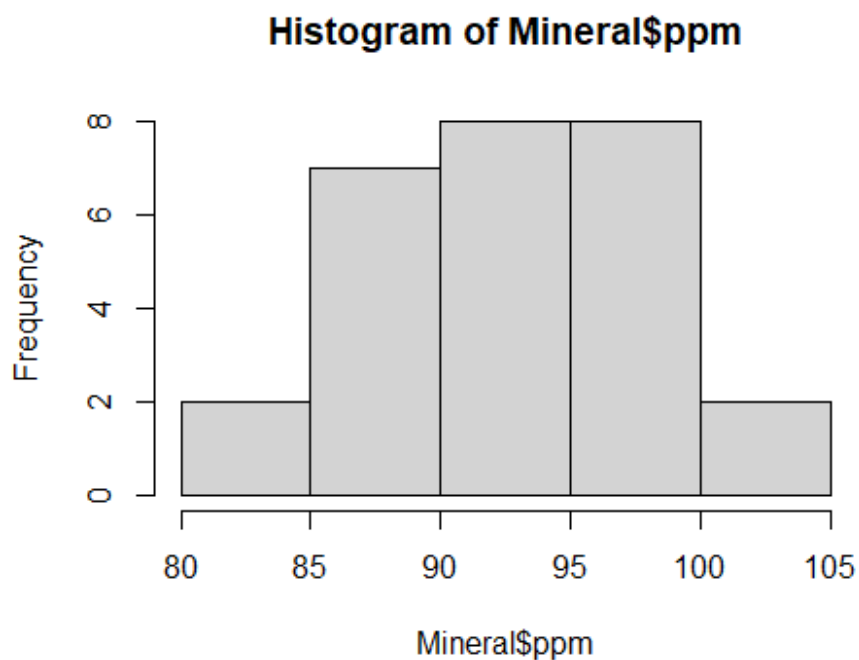
Calcula la probabilidad de distribución normal en una variable aleatoria.

```
shapiro.test(Mineral$ppm)
```

```
##  
## Shapiro-Wilk normality test  
##  
## data: Mineral$ppm  
## W = 0.96927, p-value = 0.5825
```

Comportamiento normal

```
hist(Mineral$ppm)
```



Prueba de Homocedasticidad

Prueba utilizada para evaluar la igualdad de varianzas en poblaciones.

```
library(car)
```

```
## Loading required package: carData
```

```
library(carData)
```

```
leveneTest(ppm ~ Hongo, data = Mineral, center= "median")
```



```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")
##   Df F value Pr(>F)
## group 2 0.7616 0.4779
##      24
```

```
leveneTest(ppm ~ Temperatura, data = Mineral, center= "median")
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")
##   Df F value Pr(>F)
## group 2 0.1981 0.8216
##      24
```

Medio Malta

Datos a 25 °C, 30 °C y 35 °C.

```
Malta <- data.frame(c(rep(25, 9), rep(30, 9), rep(35, 9)), c("PT14", "PT14", "PT14", "SS14",
", "SS14", "SS14", "SS1", "SS1", "SS1", "PT14", "PT14", "PT14", "SS14", "SS14", "SS14", "
SS1", "SS1", "SS1", "PT14", "PT14", "PT14", "SS14", "SS14", "SS14", "SS1", "SS1", "SS1")
), c(86.02, 88.26, 88.50, 61.88, 80.59, 88.83, 83.83, 91.88, 52.92, 71.45, 49.26, 43.02, 20.30, 3
5.07, 63.07, 64.07, 52.16, 51.11, 56.07, 47.92, 47.78, 37.92, 60.83, 69.83, 57.69, 54.40, 49.50
))
colnames(Malta) <- c("Temperatura", "Hongo", "ppm")
Malta$Hongo <- as.factor(Malta$Hongo)
Malta$Temperatura <- as.factor(Malta$Temperatura)
```

```
str(Malta)
```

```
## 'data.frame': 27 obs. of 3 variables:
## $ Temperatura: Factor w/ 3 levels "25","30","35": 1 1 1 1 1 1 1 1 2 ...
## $ Hongo : Factor w/ 3 levels "PT14","SS1","SS14": 1 1 1 3 3 3 2 2 1 ...
## $ ppm : num 86 88.3 88.5 61.9 80.6 ...
```

Prueba de Normalidad

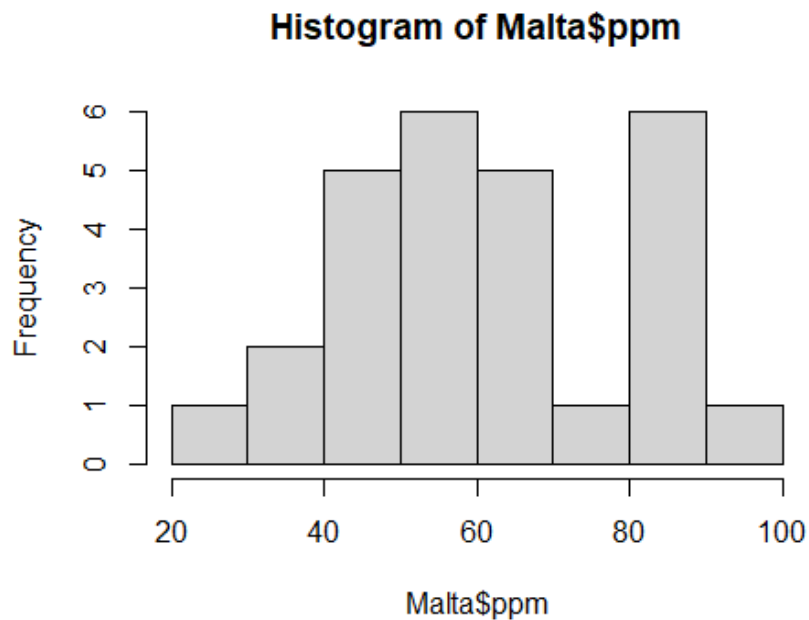
Calcula la probabilidad de distribución normal en una variable aleatoria.

```
shapiro.test(Malta$ppm)
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: Malta$ppm
## W = 0.95193, p-value = 0.2387
```

Comportamiento normal

```
hist(Malta$ppm)
```

Prueba de Homocedasticidad

Prueba utilizada para evaluar la igualdad de varianzas en poblaciones.

```
library(car)
```

```
library(carData)
```

```
leveneTest(ppm ~ Hongo, data = Malta, center= "median")
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")
```

```
##      Df F value Pr(>F)
```

```
## group 2 0.6214 0.5456
```

```
##      24
```

```
leveneTest(ppm ~ Temperatura, data = Malta, center= "median")
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")
```

```
##      Df F value Pr(>F)
```

```
## group 2 0.545 0.5869
```

```
##      24
```

Pruebas t de Student

Pruebas t - Realizadas para comparar el comportamiento del mismo Hongo a una determinada temperatura en los dos medios



PT14 a 25 °C.

```
test_25_PT14 <- t.test(Malta$ppm[1:3], Mineral$ppm[1:3], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_25_PT14)
```

Welch Two Sample t-test

data: Malta\$ppm[1:3] and Mineral\$ppm[1:3]

t = -1.5803, df = 2.6732, p-value = 0.1115

alternative hypothesis: true difference in means is less than 0

95 percent confidence interval:

-Inf 1.839035

sample estimates:

mean of x mean of y

87.59333 90.84000

No hay diferencias significativas

PT14 a 30 °C.

```
test_30_PT14 <- t.test(Malta$ppm[10:12], Mineral$ppm[10:12], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_30_PT14)
```

Welch Two Sample t-test

data: Malta\$ppm[10:12] and Mineral\$ppm[10:12]

t = -3.7228, df = 2.1424, p-value = 0.02929

alternative hypothesis: true difference in means is less than 0

95 percent confidence interval:

-Inf -8.173248

sample estimates:

mean of x mean of y 54.57667 87.26000



Hay diferencias significativas

PT14 a 35 °C.

```
test_35_PT14 <- t.test(Malta$ppm[19:21], Mineral$ppm[19:21], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_35_PT14)
```

Welch Two Sample t-test

data: Malta\$ppm[19:21] and Mineral\$ppm[19:21]

t = -13.526, df = 3.6828, p-value = 0.000142

alternative hypothesis: true difference in means is less than 0

95 percent confidence interval:

-Inf -38.64222

sample estimates:

mean of x mean of y

50.59 96.68

Hay diferencias significativas

SS14 a 25 °C.

```
test_25_SS14 <- t.test(Malta$ppm[4:6], Mineral$ppm[4:6], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_25_SS14)
```

##

Welch Two Sample t-test

##

data: Malta\$ppm[4:6] and Mineral\$ppm[4:6]

t = -1.6514, df = 2.8473, p-value = 0.101

alternative hypothesis: true difference in means is less than 0

95 percent confidence interval:

-Inf 6.649361

sample estimates:

mean of x mean of y

77.10000 91.65667

No hay diferencias significativas



SS14 a 30 °C.

```
test_30_SS14 <- t.test(Malta$ppm[13:15], Mineral$ppm[13:15], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_30_SS14)

##
## Welch Two Sample t-test
##
## data: Malta$ppm[13:15] and Mineral$ppm[13:15]
## t = -3.7816, df = 2.5418, p-value = 0.02149
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##   -Inf -16.65526
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 39.48000 90.07667
```

Hay diferencias significativas

SS14 a 35 °C.

```
test_35_SS14 <- t.test(Malta$ppm[22:24], Mineral$ppm[22:24], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_35_SS14)

##
## Welch Two Sample t-test
##
## data: Malta$ppm[22:24] and Mineral$ppm[22:24]
## t = -3.6984, df = 2.8226, p-value = 0.01901
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##   -Inf -13.44005
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 56.19333 94.92000
```

Hay diferencias significativas

SS1 a 25 °C.

```
test_25_SS1 <- t.test(Malta$ppm[7:9], Mineral$ppm[7:9], alternative = "less", var.equal = FALSE)
print(test_25_SS1)

##
## Welch Two Sample t-test
```

```
##
## data: Malta$ppm[7:9] and Mineral$ppm[7:9]
## t = -1.4392, df = 2.0441, p-value = 0.1421
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##   -Inf 17.17349
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 76.21000 93.39333
```

No hay diferencias significativas

SS1 a 30 °C.

```
test_30_SS1 <- t.test(Malta$ppm[16:18], Mineral$ppm[16:18],alternative = "less", var.equal
= FALSE)
print(test_30_SS1)
```

```
##
## Welch Two Sample t-test
##
## data: Malta$ppm[16:18] and Mineral$ppm[16:18]
## t = -8.3401, df = 2.6473, p-value = 0.002841
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##   -Inf -26.27144
## sample estimates:
## mean of x mean of y
## 55.78000 93.21333
```

Hay diferencias significativas

SS1 a 35 °C.

```
test_35_SS1 <- t.test(Malta$ppm[25:27], Mineral$ppm[25:27],alternative = "less", var.equal
= FALSE)
print(test_35_SS1)
```

```
##
## Welch Two Sample t-test
##
## data: Malta$ppm[25:27] and Mineral$ppm[25:27]
## t = -18.398, df = 2.43, p-value = 0.000571
## alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
## 95 percent confidence interval:
##   -Inf -39.59144
## sample estimates:
```



```
## mean of x mean of y
## 53.86333 99.96000
```

Hay diferencias significativas

**** Análisis ANOVA ****

Medio Mineral (Todos los hongos / Todas las temperaturas).

```
summary(aov(Mineral$ppm ~ Mineral$Temperatura))
```

```
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Mineral$Temperatura 2  238.5  119.25  5.435 0.0113 *
## Residuals      24  526.6   21.94
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Hay diferencias significativas

```
pairwise.t.test(Mineral$ppm, Mineral$Temperatura)
```

```
##
## Pairwise comparisons using t tests with pooled SD
##
## data: Mineral$ppm and Mineral$Temperatura
##
##  25  30
## 30 0.428 -
## 35 0.053 0.012
##
## P value adjustment method: holm
```

Las diferencias significativas se encuentran entre 25 °C y 35 °C y entre 30 °C y 35°C.

Medio Malta (Todos los hongos / Todas las Temperaturas).

```
summary(aov((Malta$ppm ~ Malta$Temperatura)))
```

```
##           Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Malta$Temperatura 2  4950  2475  14.39 7.82e-05 ***
## Residuals      24  4129   172
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Hay diferencias significativas

Al existir diferencias significativas se realiza una prueba de pares

```
pairwise.t.test(Malta$ppm,Malta$Temperatura)
```

```
##  
## Pairwise comparisons using t tests with pooled SD  
##  
## data: Malta$ppm and Malta$Temperatura  
##  
## 25 30  
## 30 0.00016 -  
## 35 0.00046 0.56547  
##  
## P value adjustment method: holm
```

Las diferencias significativas se encuentran entre 25 °C - 30 °C y entre 25 °C – 35 °C, no existen diferencias entre 30 °C – 35 °C

****Pruebas de Pares****

PT14 en medio Mineral (25 °C, 30 °C y 35 °C).

```
AbsPT14M <- c(87.09, 92.22, 93.21,84.01, 89.08, 88.69,92.67, 99.18, 98.19)  
Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))  
anova= ao(lm(AbsPT14M ~ Temp))  
summary(anova)
```

```
##          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)  
## Temp      2 135.66  67.83  6.552 0.031 *  
## Residuals  6  62.11  10.35  
## ---  
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
pairwise.t.test(AbsPT14M,Temp)
```

```
##  
## Pairwise comparisons using t tests with pooled SD  
##  
## data: AbsPT14M and Temp  
##  
## T25 T30  
## T30 0.222 -  
## T35 0.136 0.035  
##  
## P value adjustment method: holm
```

Las diferencias significativas se encuentran entre 30 °C y 35 °C.

SS1 en medio Mineral (25 °C, 30 °C y 35°C).

```
AbsSS1M <- c(91.42, 93.06, 95.70, 90.08, 93.66, 95.90, 101.52, 99.33, 99.03)
Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))
anova= aov(lm(AbsSS1M ~ Temp))
summary(anova)
```

```
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Temp      2  88.67  44.34  8.792 0.0165 *
## Residuals 6  30.26   5.04
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
pairwise.t.test(AbsSS1M,Temp)
```

```
##
## Pairwise comparisons using t tests with pooled SD
##
## data: AbsSS1M and Temp
##
##   T25  T30
## T30 0.925 -
## T35 0.031 0.031
##
## P value adjustment method: holm
```

Las diferencias significativas se encuentran entre 25 °C y 35 °C y entre 30 °C y 35 °C

PT14 en medio Malta (25 °C, 30 °C y 35 °C).

```
AbsPT14Ma <- c(86.02, 88.26, 88.50, 71.45, 49.26, 43.02, 56.07, 47.92, 47.78)
Temp <- as.factor(c(rep(c("T25", "T30", "T35"), each=3)))
anova= aov(lm(AbsPT14Ma ~ Temp))
summary(anova)
```

```
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Temp      2 2475.2 1237.6 14.99 0.00464 **
## Residuals 6  495.3   82.6
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
pairwise.t.test(AbsPT14Ma,Temp)
```

```
##
## Pairwise comparisons using t tests with pooled SD
##
## data: AbsPT14Ma and Temp
```




```
##  
## T25 T30  
## T30 0.0087 -  
## T35 0.0074 0.6103  
##  
## P value adjustment method: holm
```

Las diferencias significativas se encuentran entre 25 °C y 30 °C y entre 25 °C y 35°C

Anexo 34. Análisis estadístico RStudio.



8. Informes de Resultados de Identificación de Especies fúngicas



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Facultad de Ciencias Químicas

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Identificación de especies fúngicas

PEDIDO: Identificación de muestras de hongos

SOLICITANTE: BT. Carmen Menacho Mgt.

MUESTRAS: PT14, PT17, SS1 y SS14 (Se recibe un total de 12 cajas de Petri con cultivos de hongos).

FECHA DE RECEPCIÓN: 28/07/2020

FECHA DE ENTREGA: 21/07/2020

RESULTADOS

MUESTRA PT14

Especie identificada: *Fusarium oxysporum*

MUESTRA PT17

Especie identificada: *Mucor circinelloides*

MUESTRA SS1

Especie identificada: *Basidiobolus ranarum*

MUESTRA SS14

Especie identificada: *Penicillium echinulatum*

Atentamente,

Dra. Carmen Lucía López Cisneros
INVESTIGADORA

Anexo 35. Resultados de Identificación de cepas fúngicas utilizadas para las pruebas de remoción.



UNIVERSIDAD DE CUENCA
Facultad de Ciencias Químicas

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Identificación de especies fúngicas

PEDIDO: Aislamiento e identificación de hongos de muestras de biodegradación

SOLICITANTE: Dra. Verónica Pinos

MUESTRAS: 4

- 2 muestras de Blanco malta 1: un frasco con líquido y un filtro con biomasa
- 2 muestras de Blanco malta 2: un frasco con líquido y un filtro con biomasa

FECHA DE RECEPCIÓN: 04/11/2020

FECHA DE ENTREGA: 25/11/2020

RESULTADOS

MUESTRA BLANCO MALTA 1

Especie identificada: *Rhodotorula mucilaginosa*

MUESTRA BLANCO MALTA 2

Especie identificada: *Aspergillus fumigatus*

Atentamente,

Dra. Carmen Lucía López Cisneros
INVESTIGADORA

Zaragoza, 3 de febrero de 2021

María del Carmen Menacho Miralles

Teléfono de contacto: +34 660 124 138

Correo electrónico: cmenacho@unizar.es

Universidad de Cuenca

A quien corresponda:

Yo, María del Carmen Menacho Miralles, de nacionalidad española y con pasaporte PAJ625487, Biotecnóloga, investigadora de la Universidad de Zaragoza (España) y estudiante del Programa de Doctorado de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente de la misma, por la presente, deseo corroborar que

las cepas fúngicas empleadas por las estudiantes Erika Jhoan Sánchez Andrade, con C.I. 0350199584, y Tammya Jhomira Montúfar Guevara, con C.I. 1600643124, para el desarrollo del Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico fueron aisladas y obtenidas a partir de muestras de lodos residuales tomadas de la planta de tratamiento de Ucubamba como parte de la estancia de investigación que yo misma realicé en la Universidad de Cuenca bajo la supervisión y dirección de la Ing. Verónica Patricia Pinos Vélez PhD. durante el periodo de Noviembre del 2019 a Julio del 2020

dichas cepas fueron identificadas, a nivel de género y especie, gracias a la colaboración y conocimientos de la Dra. Carmen Lucía López Cisneros, investigadora del Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Cuenca, para lo cual adjunto el informe realizado por la misma.

Permaneciendo a disposición para este y otros menesteres

Le saluda cordialmente,




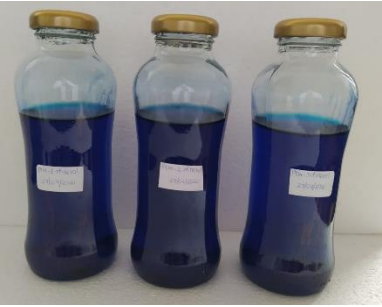




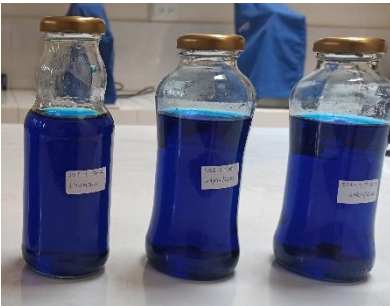



María del Carmen Menacho Miralles

**MENACHO
MIRALLES
MARIA DEL
CARMEN -
17771606N**











Firmado digitalmente por
MENACHO MIRALLES MARIA DEL
CARMEN - 17771606N
Número de reconocimiento (DN):
c=ES,
serialNumber=dCNES-17771606N,
givenName=MARIA DEL CARMEN,
sn=MENACHO MIRALLES,
cn=MENACHO MIRALLES MARIA
DEL CARMEN - 17771606N
Fecha: 2021.02.03 19:45:22 -0200

Anexo 37. Carta de Certificación de obtención especies fúngicas.

9. Registro Fotográfico

		17 Agosto	26 Agosto	16 Septiembre	23 Septiembre
MEDIO MINERAL	PT14				
	SS14				
	SS1				

Anexo 38. Evolución de Muestras en medio Mineral.

		17 de Agosto	26 de Agosto	16 septiembre	23 Septiembre
MEDIO MINERAL	PT14				
	SS14				
	SS1				

Anexo 39. Evolución de Muestras en medio Malta.

