

**UNIVERSIDAD NACIONAL
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO**

FACULTAD DE CIENCIAS DEL AMBIENTE

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**“EVALUACIÓN DE UREASA VEGETAL PARA ESTABILIZAR,
HIGIENIZAR Y RECICLAR BIOELEMENTOS DE LA ORINA –
HUARAZ - 2021”**

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERA AMBIENTAL

Tesista: Br. HANNY PAMELA MENDOZA LEÓN

Asesor: Dr. EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS

Huaraz-Ancash-Perú

2022





“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

ACTA DE SUSTENTACIÓN Y DEFENSA DE TESIS

Los miembros del Jurado Evaluador de Tesis, en pleno que suscriben, reunidos a los seis días de marzo del dos mil veintitrés, en el Auditorium de la Facultad de Ciencias del Ambiente (FCAM) de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (UNASAM), de conformidad a la normatividad vigente condujeron el acto académico público de sustentación y defensa de la tesis “**EVALUACIÓN DE UREASA VEGETAL PARA ESTABILIZAR, HIGIENIZAR Y RECICLAR BIOELEMENTOS DE LA ORINA – HUARAZ - 2021**” que presentó **HANNY PAMELA MENDOZA LEÓN** para optar el **Título Profesional de Ingeniero Ambiental**.

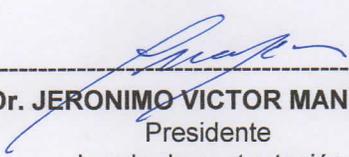
Después de haber atendido la sustentación y defensa oral, y haber escuchado las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

Aprobado con Distinción

Con el calificativo de: *Diecisiete* (17)

En consecuencia, **MENDOZA LEÓN HANNY PAMELA**, queda expedito para que el Consejo de Facultad de la Facultad de Ciencias del Ambiente de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo” apruebe el otorgamiento de su **Título Profesional de Ingeniero Ambiental** de conformidad al Art. 113 numeral 113.9 del Reglamento General de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario N° 399-2015-UNASAM), el Art. 48° y 4ta. disposición complementaria del Reglamento General de Grados y Títulos de la UNASAM (Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 761-2017-UNASAM), el Art. 160° del Reglamento de Gestión de la Programación, Ejecución y Control de las Actividades Académicas (Resolución de Consejo Universitario - Rector N° 232-2017-UNASAM).

Huaraz, 06 de marzo 2023



Dr. JERÓNIMO VÍCTOR MANRIQUE
Presidente
Jurado de sustentación



M.Sc. ROSARIO ADRIANA POLO SALAZAR
Primer miembro
Jurado de sustentación



M.SC. VLADIMIR ALFONSO LEON MENACHO
Segundo miembro
Jurado de sustentación



Dr. EDWIN JULIO PALOMINO CADENAS
Asesor de tesista



NOMBRE DEL TRABAJO

T033_70459129_T.pdf

RECUENTO DE PALABRAS

19098 Words

RECUENTO DE PÁGINAS

99 Pages

FECHA DE ENTREGA

Mar 17, 2023 7:22 PM GMT-5

RECUENTO DE CARACTERES

101410 Characters

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.8MB

FECHA DEL INFORME

Mar 17, 2023 7:23 PM GMT-5**● 10% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 10% Base de datos de Internet
- 1% Base de datos de publicaciones

● Excluir del Reporte de Similitud

- Base de datos de Crossref
- Base de datos de trabajos entregados
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- Material bibliográfico
- Material citado

DEDICATORIA

A Dios por guiar mi camino y
no abandonarme nunca.

A mi hermana Paola por ser la
persona más importante en mi vida.

A mi padre Víctor por su apoyo incondicional.

A mis abuelos Juana, Teodora,
Román y Leonardo por su ejemplo
de lucha y perseverancia.

Este logro es de ustedes.

Hanny Pamela Mendoza León

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por las oportunidades que me brinda día a día y darme las fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A la “Universidad Santiago Antúnez de Mayolo” que, por intermedio del concurso de “Investigación para la obtención de grado académico de bachiller y título profesional”, el cuál obtuve; subvencionó la presente investigación bajo la supervisión de la Dirección del Instituto de Investigación (DII-UNASAM).

A la Facultad de Ciencias del Ambiente, y a los docentes que han sido parte fundamental de mi formación universitaria.

Al Dr. Edwin Julio Palomino Cadenas, por su asesoramiento, predisposición, motivación y haber confiado en mí para el desarrollo de este proyecto.

A mi madre Judith, por darme la vida y la posibilidad de experimentar lo maravillosa que es.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Ciencias del Ambiente de la UNASAM de la ciudad de Huaraz-Perú con el objetivo de reciclar los bioelementos de la orina humana estabilizada e higienizada con ureasa vegetal. Para tal efecto se hicieron ensayos con semillas de sandía (*Citrullus lanatus*), soya (*Glycine max*), chocho (*Lupinus mutabilis*), calabaza (*Cucurbita ficifolia*), zapallo (*Cucurbita maxima*), caigua (*Cyclanthera pedata*) y chocho silvestre (*Lupinus pubescens*). Para evaluar la eficacia y eficiencia de la ureasa se monitoreó el pH por 96 horas (cada hora por 4 horas, luego cada 4 horas hasta completar las 24 horas, y finalmente cada 24 horas hasta completar las 96 horas); la capacidad de reúso de la ureasa se evaluó reemplazando la orina estabilizada con orina fresca por 10 días consecutivos midiendo el pH. La estabilización de la orina se evidenció por la formación de amonio [NH₄] y la alcalinización del medio (pH 9-10). La higienización de la orina estabilizada se midió evaluando la presencia de coliformes termotolerantes y Enterococcus. Finalmente, el reciclaje de los bioelementos se evidenció analizando la composición de la orina estabilizada. La ureasa vegetal que demostró mayor eficiencia, formando concentraciones de 8000 mg/l de NH₄, es la de soya (*Glycine max*), sandía (*Citrullus lanatus*) y chocho (*Lupinus mutabilis*), que alcanzaron un pH de 10.2, 10.1 y 9.8, a los 7, 7 y 30 días respectivamente; estas ureasas vegetales pueden reusarse al menos 10 veces manteniendo su estabilidad por al menos 30 días; en todas las orinas estabilizadas por ureasa vegetal se eliminaron enteropatógenos, hecho que se evidenció por la ausencia de coliformes y Enterococcus. Los bioelementos tales como: fósforo (P), sodio (S), calcio (Ca), potasio (K) se mantienen presentes por ser estos no volátiles. En consecuencia, la ureasa vegetal permite estabilizar e higienizar la orina humana en los tres primeros días, siendo las más eficaces y eficientes las semillas de soya, sandía y chocho, garantizando su uso seguro en la agricultura además de reciclar los bioelementos contenidos en ella.

Palabras clave: orina humana, reciclaje, estabilización, higienización, ureasa, bioelementos, agricultura.

ABSTRACT

The present work was carried out in the Environmental Sciences Laboratory of the UNASAM in the city of Huaraz-Peru with the objective of recycling the bioelements of human urine stabilized and sanitized with vegetable urease. For this purpose, tests were carried out with seeds from watermelon (*Citrullus lanatus*), soybean (*Glycine max*), lupine (*Lupinus mutabilis*), pumpkin (*Cucurbita ficifolia*), pumpkin (*Cucurbita maxima*), caigua (*Cyclanthera pedata*) and wild lupine (*Lupinus pubescens*). To evaluate the efficacy and efficiency of urease, the pH was monitored for 96 hours (every hour for 4 hours; then every 4 hours until completing 24 hours; and finally every 24 hours until completing 96 hours); the reuse capacity of urease was evaluated by replacing the stabilized urine with fresh urine for 10 consecutive days, measuring the pH. Urine stabilization was evidenced by the formation of ammonium [NH₄] and the alkalinization of the medium (pH 9-10). The hygienization of the stabilized urine was measured by evaluating the presence of thermotolerant coliforms and Enterococcus. Finally, the recycling of bioelements was evidenced by analyzing the composition of the stabilized urine. The vegetable urease that showed greater efficiency, forming concentrations of 8000 mg/l of NH₄, is that of soybean (*Glycine max*), watermelon (*Citrullus lanatus*) and chocho (*Lupinus mutabilis*), which reached a pH of 10.2, 10.1 and 9.8, at 7, 7 and 30 days respectively; these vegetable enzymes can be reused at least 10 times maintaining their stability for at least 30 days; enteropathogens were eliminated in all the urines stabilized by vegetable urease, a fact that was evidenced by the absence of Coliforms and Enterococcus. Bioelements such as: phosphorus (P), sodium (S), calcium (Ca), potassium (K) remain present because they are non-volatile. Consequently, vegetable urease makes it possible to stabilize and hygienization human urine in the first three days, the most effective and efficient being soybean, watermelon and chocho, guaranteeing its safe use in agriculture as well as recycling the bioelements contained therein.

Keywords: human urine, recycling, stabilization, sanitation, urease, bioelements, agriculture.

INDICE

CONTENIDO	Pág.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
INDICE.....	vi
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	xiii
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivo general.....	2
1.1.2. Objetivos específicos.....	2
1.2. Justificación.....	3
1.2.1. Teórica.....	3
1.2.2. Ambiental.....	3
1.2.3. Social.....	3
1.2.4. Económica.....	4
1.3. Hipótesis.....	4
1.4. Variables.....	5
1.4.1. Variable independiente.....	5
1.4.2. Variable dependiente.....	5
CAPÍTULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Bases teóricas.....	9
2.2.1. Contaminación de agua.....	9
2.2.2. Escasez de agua.....	10
2.2.3. Saneamiento ecológico (ECOSAN).....	11

2.2.4. Orina humana.....	11
2.2.5. Enzima.....	14
2.2.6. Ureasa.....	15
2.3. Definición de términos básicos.....	17
2.3.1. Contaminante.....	17
2.3.2. Eficacia.....	18
2.3.3. Eficiencia.....	18
2.3.4. Nitrógeno.....	18
2.3.5. Urea.....	18
2.3.6. Amonio.....	18
2.3.7. Fosforo.....	19
2.3.8. Potasio.....	19
2.3.9. pH.....	19
2.3.10. Coliformes termotolerantes.....	19
2.3.11. Enterococcus.....	19
2.3.12. Reciclar.....	20
2.3.13. Bioelementos.....	20
2.3.14. Medios de cultivo.....	20
CAPÍTULO III	21
3. MARCO METODOLÓGICO	21
3.1. Tipo de Investigación.....	21
3.2. Diseño de Investigación.....	21
3.3. Métodos o técnicas.....	23
3.3.1. Para determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias <i>Leguminosae</i> y <i>Cucurbitaceae</i> sobre la orina humana.....	23
3.3.2. Para determinar la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.....	28
3.3.3. Para determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa vegetal.....	31
3.3.4. Para determinar el nivel de higienización de la orina estabilizada.....	35
3.4. Población y muestra.....	40
3.4.1. Población.....	40

3.4.2. Muestra.....	40
3.4.3. Tipo de muestreo.....	40
3.5. Instrumentos validados de recolección de datos.....	41
3.6. Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información.....	42
3.6.1. Métodos y modelos de análisis de datos.....	42
3.6.2. Programas utilizados para el análisis.....	43
CAPÍTULO IV.....	44
4. RESULTADOS.....	44
4.1. Determinación de la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias <i>Leguminosae</i> y <i>Cucurbitaceae</i> sobre la orina humana.....	44
4.1.1. pH.....	44
4.2. Determinación de la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.....	45
4.2.1. pH.....	45
4.3. Determinación de la estabilidad química de la orina estabilizada con ureasa vegetal.....	46
4.3.1. Concentración de amonio en la orina estabilizada con ureasa vegetal.....	46
4.3.2. Composición de nutrientes en la orina estabilizada con ureasa vegetal.....	48
4.4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada.....	48
4.4.1. Coliformes termotolerantes (CTT) y <i>Enterococcus</i>	48
CAPÍTULO V.....	52
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	52
5.1. Determinación de la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias <i>Leguminosae</i> y <i>Cucurbitaceae</i> sobre la orina humana.....	52
5.2. Determinación de la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.....	53
5.3. Determinación de la estabilidad química de la orina tratada con ureasa vegetal.....	53
5.4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada.....	54
CAPÍTULO VI.....	56

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
6.1. Conclusiones.....	56
6.2. Recomendaciones.....	58
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	59
ANEXOS	67
ANEXO 01: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	68
ANEXO 02: PREPARACIÓN DE ROJO DE FENOL AL 0.05%	69
ANEXO 03: REPORTE DE DATOS	70
ANEXO 04: ANÁLISIS ESTADÍSTICO	74
ANEXO 06: INFORMES DE ENSAYO DE LABORATORIO	80
ANEXO 07: PANEL FOTOGRÁFICO	83



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la orina humana fresca (Ciba-Geigy, 1977). 12	
Tabla 2. Composición química de la orina humana almacenada..... 13	
Tabla 3. Técnica para la determinación de concentración de amonio [NH ₄] (Merck, 2021). 33	
Tabla 4. Características del multiparámetro OAKTON. 42	
Tabla 5. Intervalo de medida y número de determinaciones del Test de Amonio MQuant®..... 42	
Tabla 6. Resultados de las concentraciones de metales totales de la orina estabilizada. 48	
Tabla 7. Resultados del conteo de Coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 10 ml de muestra de cada tratamiento. 48	
Tabla 8. Resultados del conteo de Coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 20 ml de muestra de cada tratamiento. 49	
Tabla 9. Análisis estadístico de prueba de normalidad Anderson Darling..... 75	
Tabla 10. Análisis de varianza del modelo estadístico ANOVA. 76	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Activación de la ureasa (Lebrette et al., 2014)	16
Figura 2. Diagrama de flujo de la investigación.	22
Figura 3. Almacenamiento de semillas como fuente de ureasa.....	24
Figura 4. Pesado de las semillas como fuente de ureasa.	25
Figura 5. Grupo control del ensayo (T ₀).....	25
Figura 6. Arriba: Tubos de ensayo rotulados, Intermedio: Tratamiento Orina + Calabaza (Cucurbita ficifolia), Inferior: Tratamiento Orina + Caigua (Cyclanthera pedata)	26
Figura 7. Tratamiento orina + soya.....	27
Figura 8. Medición del pH de la orina estabilizada.	27
Figura 9. Resultados de la medición del pH.	28
Figura 10. Tratamientos que dieron positivo al ensayo de eficacia y eficiencia.....	29
Figura 11. Tratamientos de la orina sobre: sandía (Citrullus lanatus), soya (Glycine max) y chocho (Lupinus mutabilis).	30
Figura 12. Descarte y reemplazo de la orina estabilizada por orina fresca.	30
Figura 13. Determinación de alcalinidad del medio utilizando el reactivo rojo de fenol.....	31
Figura 14. Tratamientos seleccionados para realizar el proceso de dilución.....	32
Figura 15. Test de Amonio MQuant®-Merck	33
Figura 16. Proceso de visualización y comparación con la tarjeta colorimétrica.	34
Figura 17. Lectura y recolección de los datos de concentración de amonio [NH ₄] ..	34
Figura 18. Preparación del medio de cultivo Agar Chromocult – Coliformes Totales.....	36
Figura 19. Filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm)	36
Figura 20. Equipo de filtración utilizado para el ensayo.....	37
Figura 21. Medio de cultivo Crhomocult y Tratamiento orina estabilizada con soya (Glycine max)	37
Figura 22. Incubadora MEMMERT a 35 °C	38
Figura 23. Preparación del Agar Slanetz y Bartley para determinar Enterococcus.	38
Figura 24. Filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm).	39

Figura 25. Medio de cultivo Slanetz y Bartley y Tratamiento: orina estabilizada con soya (<i>Glycine max</i>)	39
Figura 26. Variación del pH con respecto al tiempo para la determinación de eficacia y eficiencia de la ureasa vegetal sobre la orina humana.	45
Figura 27. Variación del pH con respecto al tiempo para la determinación de la capacidad de reúso de la ureasa vegetal sobre la orina humana.....	46
Figura 28. Variación de la concentración de NH_4 , para determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa de todos los tratamientos del ensayo.	47
Figura 29. Variación de coliformes termotolerantes (CTT) y <i>Enterococcus</i> en 10 ml de muestra de cada tratamiento.	50
Figura 30. Variación de coliformes termotolerantes (CTT) y <i>Enterococcus</i> en 20 ml de muestra de cada tratamiento.	51
Figura 31. Medición de la concentración de amonio de la orina estabilizada con ureasa vegetal.	84
Figura 32. Medición de pH utilizando el multiparámetro.	84
Figura 33. Ensayo para la determinación de concentración de amonio [NH_4].	85
Figura 34. Ensayos desarrollados en el Laboratorio de Ciencias del Ambiente - FCAM – UNASAM	85
Figura 35. Preparación de medios de cultivos para analizar el nivel de higienización de la orina estabilizada.	86
Figura 36. Resultados del nivel de higienización de la orina estabilizada con ureasa vegetal.	86

LISTA DE ACRÓNIMOS

ACRON.	DENOMINACIÓN
AA.RR.	Aguas residuales
Ag	Plata
C	Carbono
Ca	Calcio
Ca(OH)₂	Hidróxido de calcio
Cl	Cloro
ECOSAN	Ecological Sanitation
H	Hidrógeno
K	Potasio
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
N	Nitrógeno
NH₄	Amonio
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Fósforo
PTAR	Plantas de tratamiento de aguas residuales
Zn	Zinc

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El crecimiento exponencial de la población y el agotamiento progresivo de los recursos debido a un patrón de consumo acelerado han creado un panorama de insostenibilidad mundial (Ngo et al., 2016). Esta situación alarmante nos lleva a preguntarnos acerca de la capacidad del planeta para sostener las actividades humanas, la cual no depende únicamente de los requerimientos básicos alimenticios, sino también está determinada por la cantidad de desechos generados (Torre, 2018).

A nivel mundial se estima que más del 90% de las aguas residuales se vierten al ambiente sin ningún tipo de tratamiento provocando graves daños ecológicos (Bokova & Ryder, 2017), la mayoría de los nutrientes de las aguas residuales están presentes en la orina humana: 88% de nitrógeno y al menos 50% de fósforo (Lienert & Larsen, 2007). La separación en fuente de la orina es una alternativa de gestión ecológica que permite la reducción en los costos de inversión de las plantas receptoras de tratamiento de aguas residuales, ahorro en el consumo de agua dulce de los inodoros y el reciclaje de bioelementos disponibles para las plantas (Larsen et al., 2015). Por estas



razones es fundamental encontrar alternativas de recuperación de este recurso, partiendo de la separación en origen y su posterior tratamiento.

El tratamiento que viene siendo desarrollado para estabilizar e higienizar la orina es el almacenamiento durante al menos 6 meses para su uso en la agricultura (Stenström & Dagerskog, 2011), esto significa una inversión de tiempo, energía e insumos; ante esa dificultad la presente investigación pretende demostrar la eficiencia de las especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* como fuente de ureasa para lograr, en menos de una semana, la estabilización e higienización de la orina, permitiendo el reciclaje seguro de bioelementos.

Planteamiento del problema de investigación

¿Cuál es la ureasa vegetal más eficiente para estabilizar, higienizar y reciclar los bioelementos de la orina?

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar diferentes fuentes de ureasa vegetal para estabilizar eficientemente y reciclar los bioelementos de la orina, de manera segura.

1.1.2. Objetivos específicos

- a) Determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* sobre la orina humana.
- b) Determinar la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.
- c) Determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa vegetal.
- d) Determinar el nivel de higienización de la orina estabilizada.

1.2. Justificación

1.2.1. Teórica

La descarga de aguas residuales con altas cargas de nutrientes, la demanda significativa de químicos y energía para el funcionamiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales y la necesidad de mantener la seguridad alimentaria a nivel mundial, tienen un factor común; los nutrientes presentes en las excretas humanas.

Una alternativa para el tratamiento de orina es estabilizar, higienizar y reciclar donde:

- A) La estabilización garantiza la transformación de urea en amonio que es la forma asimilable por plantas (Senecal & Vinnerås, 2017)
- B) La higienización implica remover patógenos en un medio, en este caso se ha evaluado la presencia de indicadores de contaminación fecal en el producto final (Chipako & Randall, 2020).
- C) El reciclaje es un principio ecológico que permite mantener en proceso dinámico los ciclos biogeoquímicos (Húngaro et al., 2006).

1.2.2. Ambiental

La eutrofización de las aguas continentales y costeras provocadas por la contaminación de nitrógeno, fósforo y otros bioelementos se considera uno de los principales desafíos ambientales a nivel mundial (Reid et al., 2005). La descarga de aguas residuales proveniente de sistemas de drenaje convencional es el mayor causante de contaminación del agua en todo el planeta (Franken, 2007). La protección ambiental y la protección de las reservas de agua exigen la recuperación de los nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros) contenidos en las aguas servidas y los desechos sólidos (Larsen et al., 2015) ante la creciente demanda para la agricultura.

1.2.3. Social

Para alimentar a 9 mil millones de bocas para el año 2050, se debe aumentar la fertilidad del suelo, particularmente en áreas con suelos

deficientes de nitrógeno y fósforo (Cordell et al., 2009). El reciclaje de los bioelementos de la orina para ser usados por ejemplo, en la agricultura reduciría la dependencia actual de los fertilizantes derivados de combustibles fósiles (Ramírez & Worrell, 2006) y que contribuye a aproximadamente el 1% de las emisiones globales de carbono; los agricultores tendrían una alternativa si desean adoptar un enfoque más ecológico de la agricultura (Kai M. Udert et al., 2015).

1.2.4. Económica

La estabilización de la orina humana permitiría el reciclaje de nutrientes, prevendría la contaminación ambiental y permitiría la oportunidad de recuperar valor financiero vendiendo los nutrientes como fertilizante. Proporciona un sustituto local, renovable y potencialmente competitivo en costos. La orina humana y los fertilizantes químicos son comparables en contenido de nitrógeno y fósforo, a su vez puede reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos que está sujeta a crecientes fluctuaciones de presiones y de regiones geopolíticamente inestables (Zhou et al., 2017) (Egigu et al., 2014).

1.3. Hipótesis

La hidrólisis de la urea involucra a la ureasa que tiene como centro activo a 2 iones de níquel, donde uno es responsable de unir y activar la urea (sustrato); y la otra de unir y activar la molécula de agua (Dixon et al., 1975); al existir leguminosas (Ray et al., 2018) y cucurbitáceas (Vicente et al., 1975) con ureasa y al ser la orina una fuente abundante de urea, planteamos la siguiente hipótesis:

La ureasa de especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* muestran alta eficiencia para la estabilización e higienización de la orina humana, liberando los bioelementos a su forma biodisponible, permitiendo el reciclaje seguro de éstos.

1.4. Variables

1.4.1. Variable independiente

La ureasa vegetal

1.4.2. Variable dependiente

Orina estabilizada

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

A continuación, se presentan los antecedentes de investigaciones internacionales, relacionadas al tema que venimos abordando:

“*Life cycle assessment of urine diversion and conversion to fertilizer products at the city scale*” estudio ejecutado por Hilton et al. (2021) tuvo como objetivo evaluar los impactos de la desviación de la orina y la conversión de fertilizantes, en relación a 2 alternativas de procesamiento de orina: (1) concentración de orina y (2) precipitación de estruvita e intercambio iónico a escala de ciudad con los sistemas convencionales, se modelaron escenarios en 3 estados de Estados Unidos (Vermont, Michigan y Virginia), junto con análisis de energía y método de tratamiento de aguas residuales. Los resultados demostraron que ambas tecnologías de desviación de orina tuvieron un mejor desempeño ambiental que el sistema convencional y dieron lugar a reducciones de 47% en emisiones de gases

de efecto invernadero, 41% en consumo de energía, aproximadamente la mitad del uso de agua dulce y 64% en potencial de eutrofización.

Randall et al. (2016) en el estudio *“A novel approach for stabilizing fresh urine by calcium hydroxide addition”* tuvieron como objetivo estabilizar la orina fresca aumentando el pH con hidróxido de calcio (Ca(OH)_2). Para ello, se utilizaron diferentes muestras de orina fresca, con dosis de 4,3 y 5,8 g de Ca(OH)_2 disueltos en 1 L de orina fresca a 25 °C, a esta temperatura, el pH de saturación fue de 12,5. Los resultados mostraron que, una dosificación de 10 g de Ca(OH)_2 / L⁻¹ de orina fresca, a una temperatura de 25 °C garantiza valores de pH suficientemente alto. Se eligió una temperatura máxima de precaución de 40 °C porque la tasa de hidrólisis química de la urea aumenta a temperaturas más altas, pero esto debe confirmarse con estudios cinéticos. Debido a que, se consideraron los límites de pH en este estudio, la orina se puede estabilizar de manera efectiva con Ca(OH)_2 .

“Urea stabilisation and concentration for urine-diverting dry toilets: Urine dehydration in ash”, investigación realizada por Senecal & Vinnerås (2017) y donde tuvo por objetivo desarrollar una técnica para elevar la concentración de nitrógeno (N) de 0,6% a > 6%; a través, de la deshidratación de la orina para producir fertilizantes con un valor monetario. Esta técnica está destinada a un sistema de saneamiento basado en contenedores que recolecta, trata y reduce el volumen de la orina. En los ensayos, se añadió orina fresca a varios intervalos de cenizas de madera a 35°C y 65°C para alcalinizar y estabilizar la orina. Los resultados señalan que, el producto final: un polvo seco con un 7,8% de N, un 2,5% de P y un 10,9% de K en peso, es equivalente a un fertilizante comercial. Dicho sistema simplificaría enormemente la logística y los costos de almacenamiento de, transporte y aplicación de la orina como fertilizantes.

Chipako & Randall (2020) desarrollaron la investigación “*Urine treatment technologies and the importance of pH*” donde el objetivo fue evaluar las tecnologías existentes para la recuperación de nutrientes de la orina humana. Enfocándose específicamente en el pH, ya que este parámetro se consideró el más importante a la hora de decidir que tecnologías elegir, y que recursos podrían recuperarse de la orina humana. Se distinguió como procesos de tratamiento para orina fresca: la hidrólisis y estabilización. Así mismo se dedujo que la secuencia de tratamiento más prometedora para la máxima recuperación de recursos incorporaba una combinación de estabilización alcalina y reducción de volumen. También, manifiestan que, teóricamente se puede producir un fertilizante líquido con un índice de NPK de 3,3 gr; 0,8 gr y 11 gr por litro de orina tratada. Concluyen que el trabajo futuro debe centrarse en la evaluación económica y del ciclo de vida detallados de la secuencia de tratamiento de orina para la máxima recuperación de recursos.

El trabajo de investigación realizado por Zhou et al., (2017) “*Investigation on microbial inactivation and urea decomposition in human urine during thermal storage*”, tuvo por objetivo desarrollar un tratamiento térmico para la orina humana durante su almacenamiento, con el fin de optimizar la desinfección y la estabilización de la orina. Se evaluaron los siguientes indicadores: *Escherichia coli*, coliformes fecales y la concentración de amonio en muestras de orina que se almacenaron entre 60°C – 70°C. Dando como resultado que, la inactivación de indicadores como la descomposición de urea mejoraron bajo temperaturas de almacenamiento de 60°C – 70°C en comparación con el almacenamiento a temperatura ambiente. Por lo tanto, recomiendan almacenar la orina humana a 70°C durante 7 días con fines higiénicos y de estabilización. En estas condiciones de almacenamiento, el pH se mantiene por debajo de 8.0 y el contenido de amonio se mantiene en aproximadamente 800 mg/L.

“Nitrification of human urine for its stabilization and nutrient recycling” estudio ejecutado por Feng et al. (2008) llevaron a cabo el proceso de la nitrificación de la orina humana para su estabilización, investigando el cultivo de *Spirulina platensis* en la orina humana nitrificada con el objetivo de recuperar nutrientes. La metodología consistió que, con un ajuste diario de la orina humana a pH 8 y manteniendo una alta concentración de oxígeno disuelto, el 95% de $\text{NH}_4\text{-N}$ en la orina humana puede finalmente estabilizarse y oxidarse a $\text{NO}_3\text{-N}$. Además, esta orina humana nitrificada parece ser un medio de cultivo ideal para *S. platensis*. Sin ajuste de pH, sólo se podría convertir alrededor del 50,0% de $\text{NH}_4\text{-N}$.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Contaminación de agua

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el agua contaminada como aquella cuya composición haya sido modificada de modo que no reúna las condiciones para el uso en actividades esenciales como: el consumo humano, la agricultura, la industria, entre otros. Además, representa una fuente de insalubridad que provoca más de 500.000 muertes anuales a nivel global por diarrea y transmite enfermedades como el cólera, la disentería, la fiebre tifoidea y la poliomielitis. Los principales contaminantes del agua incluyen residuos sólidos, hidrocarburos, exceso de nutrientes y materia orgánica, aceites, pesticidas, metales pesados, microorganismos patógenos, ácidos, entre otros (Franken, 2007).

a) Contaminación de agua por aguas residuales (AR)

La falta de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en las ciudades, ocasiona que grandes cantidades de desechos se liberen a los cuerpos de agua superficial (ríos, lagos y mares). Así mismo, las fuentes de agua subterránea están siendo amenazadas por los compuestos de nitrógeno orgánico de las aguas residuales,

y los límites de nitrato y otros contaminantes nitrogenados ya se han excedido en muchas masas de estas aguas. A su vez, el transporte fluvial y las descargas directas transfieren altas concentraciones de nitrógeno a las aguas continentales y otros ecosistemas marinos; fomentando la eutrofización, que conlleva a la pérdida de recursos hídricos y biodiversidad acuática (Larsen et al., 2015).

En las últimas décadas el mundo ha venido mostrando preocupación y está tratando de resolver los problemas relacionados con la disposición de los efluentes líquidos provenientes del uso doméstico, comercial e industrial de las aguas de abastecimiento (Reid et al., 2005).

2.2.2. Escasez de agua

Existen extensas regiones con un déficit natural de agua y la demanda total va en aumento debido al crecimiento poblacional y la ampliación de la demanda individual. En los últimos 50 años se duplicó la población mundial, mientras que el consumo de agua se cuadruplicó (Franken, 2007). Por otro lado, la calidad de las aguas naturales va en continuo desmedro, hablamos en este caso no sólo de los cuerpos de agua superficiales, receptores directos e indirectos de la contaminación originada por el hombre, sino también del hecho de que las sustancias contaminantes ya han llegado a afectar otros compartimentos del ciclo hidrológico, las aguas subterráneas y las aguas pluviales (Larsen et al., 2015).

A nivel mundial existe una gran preocupación por mantener suministro suficiente de agua de buena calidad para toda la población, y preservar al mismo tiempo las funciones hidrológicas, biológicas y químicas de los ecosistemas, adaptando las actividades humanas a los

límites de capacidad de la naturaleza (Larsen et al., 2015). Es preciso contar, con tecnologías innovadoras, entre ellas las tecnologías locales mejoradas para aprovechar plenamente los recursos hídricos limitados y protegerlos contra la contaminación (Franken, 2007).

2.2.3. Saneamiento ecológico (ECOSAN)

Una posible solución para los problemas causados por los sistemas de saneamiento convencional consiste en las nuevas tecnologías sanitarias, que se conocen bajo el término “*Ecological Sanitation*” o ECOSAN, un concepto holístico para el manejo ecológico y económico de las aguas residuales, concepto que ya es conocido y puesto en práctica en varios países en la rama de gestión de los desechos sólidos (Franken, 2007). El objetivo principal de este enfoque es cerrar los ciclos de nutrientes y agua con el menor gasto posible de materiales y energía, contribuyendo a un desarrollo sostenible (Langergraber & Muellegger, 2005).

ECOSAN se caracteriza por sistemas de saneamiento descentralizados (gestión del hogar) o semi descentralizados (gestión comunitaria) que tienen un enfoque en la recuperación de nutrientes a través de la recolección de orina y heces. Estos sistemas pueden ser realizados sin ninguna fuente centralizada de abastecimiento de agua o sistema de alcantarillado (Junghanns & Beery, 2020). La orina y las heces se pueden reutilizar como fertilizante en el sector agrícola, esto debido a que, cerca del 100% del P consumido a través de los alimentos también se excreta (Cordell et al., 2009).

2.2.4. Orina humana

La orina es un líquido amarillento, más o menos claro, que puede variar mucho en olor. Contiene agua, sales y sustancias orgánicas (Béclard et al., 1869). Cada individuo produce 1-1.5 L de orina por día (Pradhan et al., 2009).

A) Composición de la orina humana

Uno de los principales componentes de la orina humana es la urea, los valores de referencia de excreción urinaria diaria de urea puede oscilar alrededor de 12-20 gr/L (De la Torre, 2002), esta depende de los hábitos de alimentación, la cantidad de agua potable consumida, las actividades físicas y los factores ambientales (Pradhan et al., 2009). En la Tabla 1 se muestran los valores de referencia de la composición química para la orina fresca.

Tabla 1. Composición química de la orina humana fresca (Ciba-Geigy, 1977).

Orina fresca humana		
	Unidades	Valores
pH	[-]	6.2
Nitrógeno	[mg/L]	9200
Fósforo	[mg/L]	1000
Calcio	[mg/L]	170
Magnesio	[mg/L]	100
Sodio	[mg/L]	4200
Potasio	[mg/L]	2200
Cloro	[mg/L]	3800

B) Estabilización de la orina humana

Para maximizar la recuperación de nutrientes, la orina debe estabilizarse. La estabilización significa principalmente la conversión de urea en amonio provocando un aumento de pH. El pH, la temperatura, la salinidad, la concentración de amonio y algunos otros factores pueden controlarse para afectar la estabilidad de la orina (Yang et al., 2021). En la Tabla 2 se muestran los valores de referencia de la composición química para la orina estabilizada mediante el método de almacenamiento (6

meses), las concentraciones son datos bibliográficos recopilados de diversas fuentes.

Tabla 2. Composición química de la orina humana almacenada.

	Unidades	Método de almacenamiento de la orina humana				
		De acuerdo a la "Guía para el uso seguro de excretas en la agricultura", elaborado por WHO, (2006), el periodo óptimo de almacenamiento de la orina es de 6 meses. La orina debe ser almacenada en recipientes herméticamente cerrados.				
pH	[-]	9.1	9.1	9.2-9.3	9.15	9.1
Nitrógeno	[mg/L]	9200	3631	n.i.	9000	9200
Fósforo	[mg/L]	540	313	170-240	344	n.i.
Calcio	[mg/L]	0	18	n.i.	13	0
Magnesio	[mg/L]	0	11	n.i.	1.9	0
Sodio	[mg/L]	2600	1210	n.i.	2510	2600
Potasio	[mg/L]	2000	1000	n.i.	1200	2200
Cloro	[mg/L]	3800	1768	n.i.	n.i.	3800
Referencia		Maurer et al. (2006)	Jönsson et al. (1997)	Ek et al. (2006)	Gethke et al. (2007)	K. M. Udert et al., (2006)
Leyenda: n.i. = no información						

C) Higienización de la orina

La orina humana no es un medio común de transmisión de enfermedades, y esto se aplica a varios contextos a nivel mundial (ECODES, 2006). Existirían riesgos si las heces, que probablemente contienen patógenos, contaminan la orina (Kvarnström et al., 2006). De ocurrir esto, Randall et al. (2016) refiere que un aumento del pH en la orina podría conducir a la inactivación de patógenos.

El tratamiento alcalino es una práctica bastante conocida para la inactivación de patógenos en aguas residuales (Girovich, 1996). Si bien estas referencias bibliográficas sugieren que los valores altos

de pH en la orina estabilizada inactivaran patógenos, se necesitan más investigaciones (Randall et al. 2016). La estabilización de la orina humana tiene como objetivo eliminar patógenos.

D) Aplicación de la orina humana en la agricultura.

Existen muchos vacíos en el conocimiento actual concernientes con el uso de la orina como fertilizante. La carencia de investigaciones documentadas en esta área hace que el desarrollo de lineamientos se dificulte. No obstante, estos productos han sido usados en la agricultura desde la antigüedad, y existe mucho conocimiento que no ha sido documentado (Stenström & Dagerskog 2011). El nitrógeno contenido en la orina es un excelente fertilizante que se encuentra disponible para las plantas, lo cual se ha confirmado en estudios agronómicos (Kirchmann & Pettersson 1994). El NPK en la orina se excreta en forma de iones, la misma forma en la que se encuentran presentes en los fertilizantes químicos. Los iones quedan directamente biodisponibles para las plantas (Kirchmann & Pettersson 1994).

En fechas recientes se ha incrementado el interés de utilizar la orina humana como fertilizante, debido principalmente al crecimiento poblacional y al correspondiente incremento en la demanda de alimentos y los requerimientos para ahorrar agua y energía (Pradhan et al. 2009). Al reciclar la orina para la agricultura como fertilizante, los nutrientes se convierten en recursos en lugar de convertirse en contaminantes (Jönsson et al., 1997).

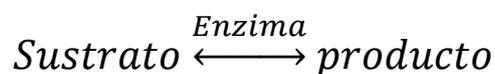
2.2.5. Enzima

La palabra “enzima” fue utilizada por primera vez por el fisiólogo alemán Wilhelm Kühne en 1878, cuando describía la capacidad de la levadura para producir a partir de azúcares, y se deriva de las palabras

griegas *en* (que significa “dentro”) y *zume* (que significa “levadura”) (Robinson, 2015).

Las enzimas también son conocidos como biocatalizadores que aceleran las reacciones bioquímicas en los organismos vivos. Pueden extraerse de las células y luego utilizarse para catalizar una amplia gama de procesos industriales importantes. Por ejemplo, tienen funciones importantes en los ensayos que tienen aplicaciones medioambientales (Robinson, 2015). Es bien sabido que las enzimas son catalizadores altamente eficientes, ya que pueden acelerar las reacciones hasta en 17 órdenes de magnitud (Agarwal, 2006).

Como catalizadores, las enzimas solo se requieren en concentraciones muy bajas y aceleran las reacciones sin que se consuman durante la reacción. Por lo general, describimos las enzimas como capaces de catalizar la conversión de moléculas de sustrato en moléculas de producto de la siguiente manera (Robinson, 2015):



2.2.5.1. Nombre de enzimas y clasificación

Las enzimas suelen tener nombres comunes (a menudo llamados "nombres triviales") que se refieren a la reacción que catalizan, con el sufijo *-asa* (por ejemplo: ureasa, deshidrogenasa, carboxilasa). A menudo, el nombre trivial también indica el sustrato sobre el que actúa la enzima (por ejemplo: urea amidohidrolasa, alcohol deshidrogenasa, piruvato descarboxilasa) (Agarwal, 2006).

2.2.6. Ureasa

En 1926, James B. Sumner, un profesor asistente en la Universidad de Cornell, mostró mediante rayos X que la ureasa es una proteína de forma cristalizada. Este trabajo fue la primera demostración

de que una proteína pura puede funcionar como una enzima. La ureasa fue la primer enzima cristalizada, y funcionalmente pertenece a las familias amidohidrolasas y fosfotriesterasas (Todd et al., 2006). El sitio activo de la ureasa está compuesto por un dímero de Ni (II), siendo la geometría de coordinación octaédrica distorsionada, así mismo son las únicas que poseen iones de Ni (II) en el sitio activo (Kojima et al., 2006)

La ureasa es capaz de llevar a cabo la hidrólisis de urea. Este compuesto está muy extendido: se encuentra en el medio ambiente natural (agua, suelo y semillas de diferentes especies vegetales).

A) Activación de la ureasa

Al igual que otras enzimas, la ureasa no es funcional inmediatamente, sino que necesita unirse con dos átomos de níquel para ser activada (De Jesús Rodríguez-Jiménez et al., 2016). En concreto, tres proteínas accesorias denominadas UreD, UreF y UreG forman un complejo capaz de colocar el níquel en el lugar correcto en la ureasa (Figura 1). Así, una vez que el Ni está en su sitio, la enzima rompe la urea y produce amonio (Lebrette et al., 2014).

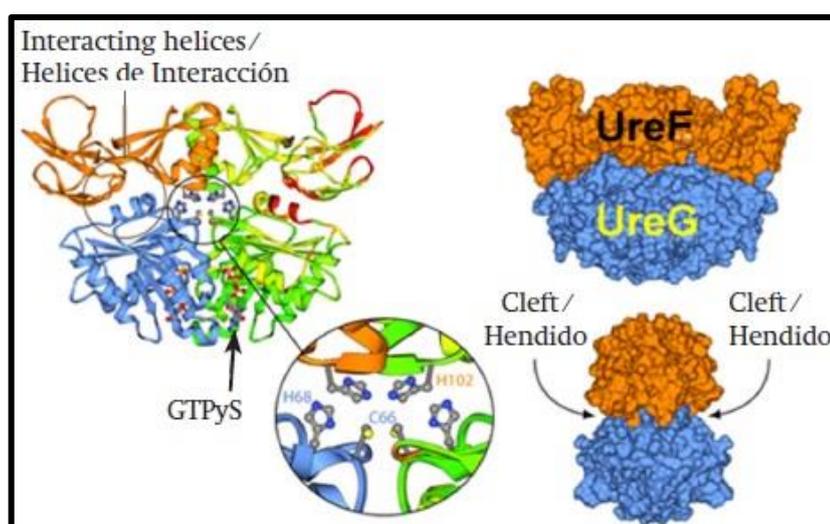


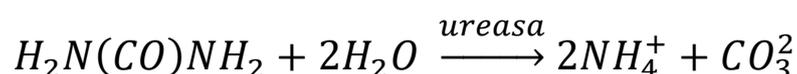
Figura 1. Activación de la ureasa (Lebrette et al., 2014)

B) Ureasa en plantas

La ureasa, parece estar circunscrita al reino vegetal; existe en gramíneas, cucurbitáceas (Damodaran & Sivaramakrishnan, 1937), leguminosas (Vicente, 1970). Se ha encontrado también actividad ureásica en ciertas algas verde-azuladas como *Porphyridium cruentum*, *Plectonema calothricoides* y *Sinechococcus lividus* (Berns et al., 1966). Así mismo, se encuentra ligada a la fracción celulósica de la pared de células de cotiledones de diferentes variedades de cucurbitáceas, entre ellas *Cucurbita ficifolia*. Esta planta está estrechamente emparentada con *Cucurbita spp* (Vicente et al., 1975).

C) Hidrólisis de urea en la orina humana

La ureasa transforma la urea en amonio, este proceso está denominado como hidrólisis de la orina, la cual se produce 10^{14} veces más rápido en presencia de dicha enzima. (Lebrette et al., 2014). Generalmente se cree que la reacción de hidrólisis de la urea es de la siguiente manera (Mobley & Hausinger, 1989):



La formación de amonio provoca el aumento de pH, existiendo una conexión directa entre el aumento de la concentración de NH_4 y la conductividad eléctrica, lo que indica que la hidrólisis de la urea se puede monitorear mediante los cambios de pH, conductividad, concentración de NH_4 a lo largo del tiempo (Yang et al., 2021).

2.3. Definición de términos básicos

2.3.1. Contaminante

Se define "contaminante" como cualquier sustancia o materia física, química, biológica o radiológica, cuya presencia puede tener

efectos nocivos en el ambiente o implique un riesgo para la salud de las personas (Unites States Environmental Protection Agency, 2022).

2.3.2. Eficacia

Es la medida en que los resultados, metas u objetivos planificados se logran como resultado de una actividad destinada a lograr el efecto deseado, en circunstancias ordinarias (Drucker, 2006).

2.3.3. Eficiencia

Se define como la capacidad de lograr metas u objetivos empleando la menor cantidad de recursos. La solución eficiente es aquella que es más efectiva al menor costo (McCORMICK, 1981).

2.3.4. Nitrógeno

Es un elemento químico, de un número atómico 7, símbolo N y que en condiciones normales forma un gas diatómico (nitrógeno diatómico o molecular) que constituye del orden el 78% del aire atmosférico (Lumitos AG, 1997).

2.3.5. Urea

Es un compuesto químico cristalino e incoloro, de fórmula $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Se encuentra abundantemente en la orina y en las heces fecales. Es el principal producto terminal del metabolismo de proteínas en el hombre y en los demás mamíferos (Lumitos AG, 1997)

2.3.6. Amonio

El amonio es un catión monovalente formado a partir de la molécula amoniaco en la que el nitrógeno, que es el átomo central, emplea su par de electrones sin compartir para formar un enlace covalente dativo con un protón (H^+) originando así el ion de amonio: NH_4^+ (Lumitos AG, 1997).

2.3.7. Fosforo

Es un elemento químico de número atómico 15 y símbolo “P” es un no metal multivalente perteneciente al grupo del nitrógeno (Grupo 15 (VA): nitrogenoideos) que se encuentra en la naturaleza combinado en fosfatos inorgánicos y en organismos vivos, pero nunca en estado nativo (Lumitos AG, 1997).

2.3.8. Potasio

Es un elemento químico de la tabla periódica cuyo símbolo es K (del latín Kalium) y cuyo número atómico es 19. Es un metal alcalino, blanco-plateado que abunda en la naturaleza, en los elementos relacionados con el agua salada y otros minerales. (Lumitos AG, 1997).

2.3.9. pH

El pH es el Potencial de Hidrógeno. Es una medida para determinar el grado de alcalinidad o acidez de una solución, a través de este se logra determinar la concentración de hidrogeniones en una disolución (Costas, 2014).

2.3.10. Coliformes termotolerantes

Denominados así porque soportan temperaturas hasta de 45°C, comprenden un número muy reducido de microorganismos, los cuales son indicadores de calidad por su origen. En su mayoría están representados por *Escherichia coli*, que se puede encontrar de forma menos frecuente las especies *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* (Larrea-Murrell et al., 2013).

2.3.11. Enterococcus

Los enterococcus son bacterias Gram-positivas con el antígeno del grupo D (tipificación serológica de Lancefield esquema) que se adjuntan a la definición general de bacterias de ácido láctico. Los

nombres faecalis y faecium surgió porque estas bacterias se aislaron por primera vez del intestino humano (Flint, 2002).

2.3.12. Reciclar

Proceso que consiste en reincorporar recursos ya usados en los procesos para la producción de nuevos materiales, ahorrando energía y reduciendo el uso de materia prima (Húngaro et al., 2006).

2.3.13. Bioelementos

Son los componentes orgánicos que forman parte de los seres vivos. El 99% de la masa de la mayoría de las células está constituida por cuatro elementos, carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N). se agrupan en tres categorías: primarios, secundarios y oligoelementos (Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 2019).

2.3.14. Medios de cultivo

Es un sustrato o solución de nutrientes que permite el crecimiento de microorganismos a nivel de laboratorio, con el objeto de aislar diferentes especies bacterianas, a fin de identificarlas y realizar estudios complementarios (Gómez, Gretel; Batista, 2006).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación según su propósito es de tipo APLICADA, porque busca reutilizar la orina humana, habiéndola estabilizado e higienizado, contribuyendo de esta manera con el reciclaje de bioelementos.

3.2. Diseño de Investigación

La presente investigación tiene un DISEÑO EXPERIMENTAL, porque se manipula variable ureasa vegetal ensayando ureasas de diferentes semillas a bien de determinar aquella con mayor eficacia y eficiencia; por otro lado, se evaluó la capacidad de reuso; la concentración de amonio en la orina estabilizada, y se evaluó la higienización comparativamente entre la muestra fresca y la muestra tratada.

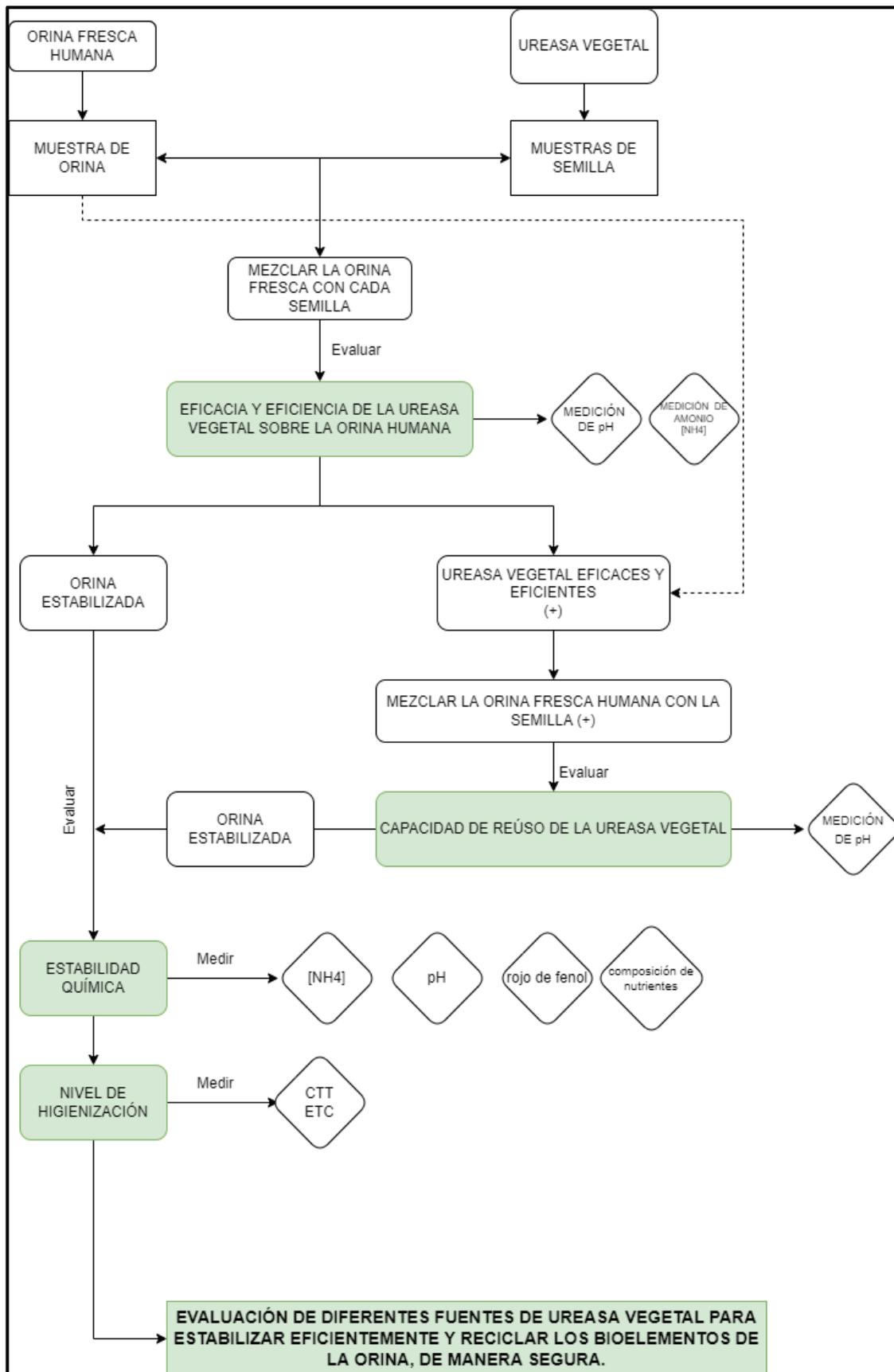


Figura 2. Diagrama de flujo de la investigación.

3.3. Métodos o técnicas

A continuación, se describen las actividades que se realizaron para el cumplimiento de los objetivos específicos de la presente tesis.

3.3.1. Para determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* sobre la orina humana.

Eficacia: proceso para estabilizar, higienizar y reciclar bioelementos de la orina humana.

Eficiencia: realizar el procedimiento utilizando la ureasa vegetal más económica y en el menor tiempo posible.

Materiales

- Orina humana fresca
- Botellas de plástico de 2 L
- Ureasa vegetal:
 - Semillas de la familia *Cucurbitaceae***: sandía (*Citrullus lanatus*), calabaza (*Cucurbita ficifolia*), caigua (*Cyclanthera pedata*) y zapallo (*Cucurbita maxima*)
 - Semillas de la familia *Leguminosae***: soya (*Glycine max*), chocho (*Lupinus mutabilis*), y chocho silvestre (*Lupinus pubescens*)
- Tiras indicadoras de pH 0 a 14 Indicador universal MQuant®

Instrumentos

- Tubos ISOLAB de 50 ml
- Mortero
- Balanza digital
- Fiola de 50 ml
- Multiparámetro OAKTON TestR PCTS 50
- Cronómetro

Reactivos

- Rojo de fenol de 0,05% (**Ver Anexo 02.**)

Procedimiento:

- Se recolectaron en campo semillas de 7 especies de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* que, se utilizaron para determinar la actividad enzimática de la ureasa sobre la urea de la orina humana.
- Se molieron las semillas de cada especie por separado, utilizando el mortero hasta obtener un producto homogéneo.



Figura 3. Almacenamiento de semillas como fuente de ureasa.

- Con ayuda de la balanza digital se pesó 0,125 gr de semilla de cada especie, por triplicado; esto basado en experimentos preliminares de dosis óptima, el presente proyecto tiene como objetivo lograr la eficiencia y se optó por utilizar 0,125 gr de semilla de cada especie, ya que entre las demás dosis: 0,250; 0,500 y 1 gr se obtienen los mismos resultados.



Figura 4. Pesado de las semillas como fuente de ureasa.

- De una familia voluntaria conformada por 4 integrantes, se recolectó la primera orina del día en botellas de plástico de 2 L, que fueron combinadas, constituyendo una muestra única. Se midió el pH para asegurarnos de que estuviera en el rango de orina fresca 6-6.5 (Ciba-Geigy, 1977). El rango de edad de los donantes varió entre 18-55 años e incluía varones y mujeres.
- Se vertió en 3 tubos ISOLAB 40 ml de orina el cual fue denominado grupo control (T_0).

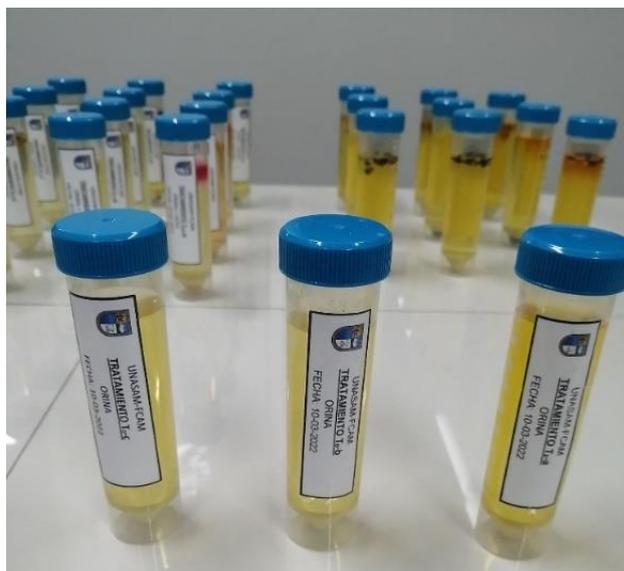


Figura 5. Grupo control del ensayo (T_0).

- Para cada especie vegetal se hicieron pruebas por triplicado en tubos ISOLAB de 50 ml con 40 ml de orina y 0,125 gr de semilla

pulverizada, al que se le denomina Tratamiento (T-Lm, si es *Lupinus mutabilis* por ejemplo).



Figura 6. Arriba: Tubos de ensayo rotulados, Intermedio: Tratamiento Orina + Calabaza (*Cucurbita ficifolia*), Inferior: Tratamiento Orina + Caigua (*Cyclanthera pedata*)

- Se añadió 4 gotas de rojo de fenol a una de las repeticiones de cada tratamiento para evitar la interferencia de la medición del pH y determinación de amonio en los otros dos tubos restantes.

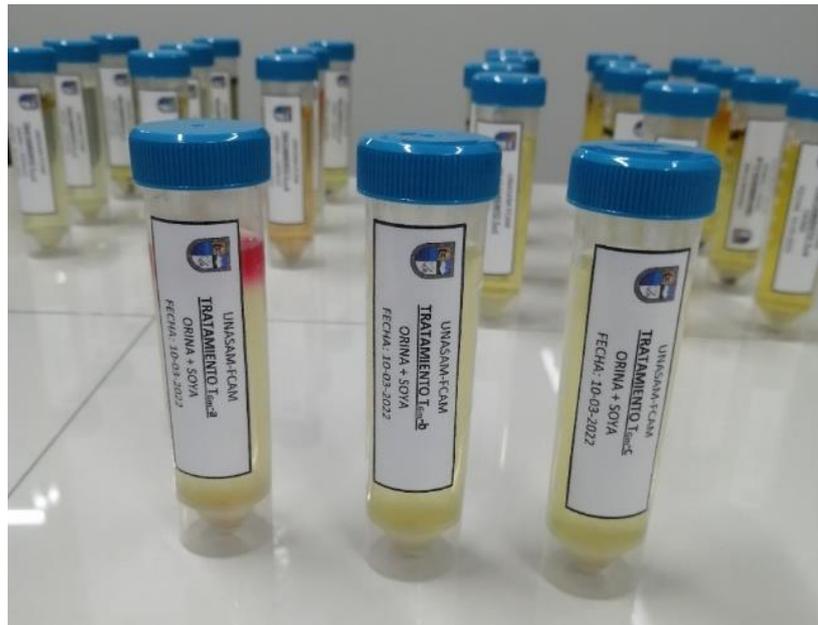


Figura 7. Tratamiento orina + soya.

- Se registró el pH, tanto del control como de cada uno de los tratamientos en el $t=0$ (tiempo inicial). Se fijó un temporizador cada hora por 4 horas, luego cada 4 horas hasta completar las 24 horas y finalmente cada 24 horas hasta completar las 96 horas.



Figura 8. Medición del pH de la orina estabilizada.



Figura 9. Resultados de la medición del pH.

- Ya teniendo los datos completos se procedió a realizar el tratamiento estadístico para determinar que especies de semillas son la más eficaces y eficientes a la actividad enzimática de la ureasa vegetal de las diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* evaluadas.

3.3.2. Para determinar la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.

Materiales:

- Orina humana fresca
- Botellas de plástico de 2 L

- Ureasa vegetal:
Semillas de la familia *Cucurbitaceae*: sandía (*Citrullus lanatus*)
Semillas de la familia *Leguminosae*: soya (*Glycine max*) y chocho (*Lupinus mutabilis*)
- Tiras indicadoras de pH 0 a 14 Indicador universal MQuant®

Instrumentos:

- Tubos ISOLAB de 50 ml
- Mortero
- Balanza digital
- Fiola de 50 ml
- Cronómetro
- Multiparámetro OAKTON TestR PCTS 50

Reactivos:

- Rojo de fenol de 0,05% (**Ver Anexo 02.**)

Procedimiento:

- Los tratamientos que dieron como resultado positivo (+) al ensayo de eficacia y eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* sobre la orina humana fueron: orina + sandía (*Citrullus lanatus*), orina + soya (*Glycine max*) y orina + chocho (*Lupinus mutabilis*).

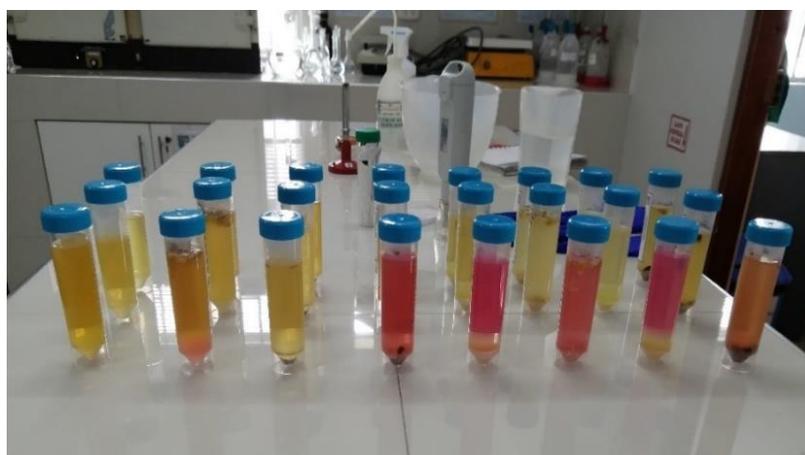


Figura 10. Tratamientos que dieron positivo al ensayo de eficacia y eficiencia.

- Se separaron los tubos de los tratamientos que dieron positivo para continuar con la evaluación de la actividad de la ureasa en el número de recambios con orina fresca.



Figura 11. Tratamientos de la orina sobre: sandía (*Citrullus lanatus*), soya (*Glycine max*) y chocho (*Lupinus mutabilis*).

- Cada 24 horas, por 10 días consecutivos, se descartó solo la orina de cada tubo para quedarnos con las semillas de cada especie por separado, luego se vertió 40 ml de orina fresca a cada tubo. Como control se tuvieron 3 tubos de 40 ml solo con orina fresca (sin semillas).

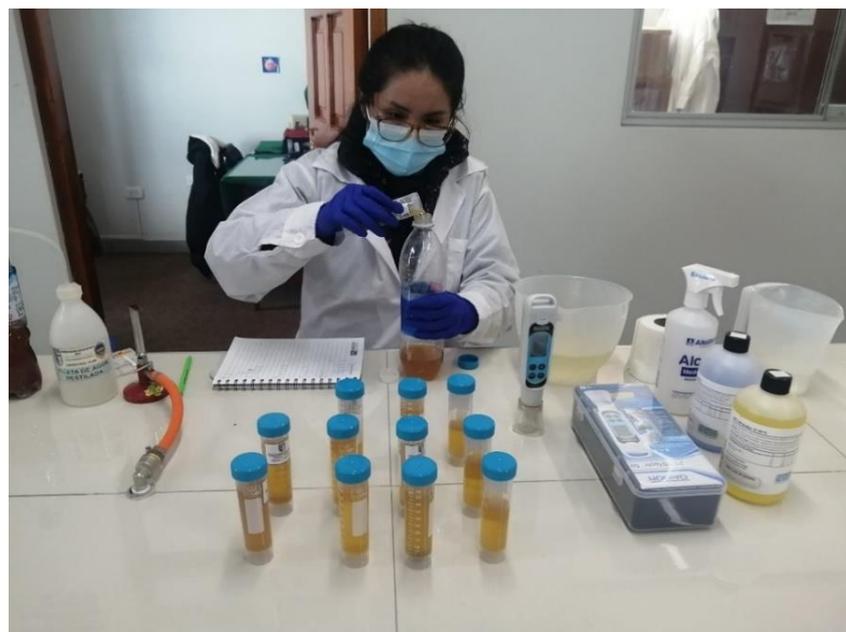


Figura 12. Descarte y reemplazo de la orina estabilizada por orina fresca.

- Se añadió rojo de fenol a uno de los tubos de cada tratamiento.



Figura 13. Determinación de alcalinidad del medio utilizando el reactivo rojo de fenol.

- Se registraron valores de pH en el $t=0$ (tiempo inicial), y cada 24 horas durante 10 días, para verificar la capacidad de reúso de las semillas de ureasa vegetal de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* evaluadas.

3.3.3. Para determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa vegetal.

Materiales:

- Orina estabilizada: orina + sandía (*Citrullus lanatus*), orina + soya (*Glycine max*) y orina + chocho (*Lupinus mutabilis*).
- Test de Amonio MQuant®-Merck 1144230002
- Tiras indicadoras del pH 0 a 14 Indicador universal MQuant®
- Fiola de 100 ml
- Vaso de precipitado 100 ml
- Cronómetro
- Agua destilada

Instrumentos:

- Micropipetas automáticas de 100 ul, 1000 ul, 10000 ul.

Procedimiento:

- La concentración de amonio se midió en los tratamientos que dieron positivo (+) a la eficacia, eficiencia y reúso de la ureasa de diferentes especies vegetales sobre la orina humana.

- Utilizando la micropipeta automática se tomó 1000 ul de cada muestra de orina estabiliza: orina + soya (*Glycine max*), orina + sandia (*Citrullus lanatus*) y orina + chocho (*Lupinus mutabilis*), para realizar una dilución de 1:1000 con agua destilada.



Figura 14. Tratamientos seleccionados para realizar el proceso de dilución.

- De la misma manera, se tomó 1000ul de orina fresca y también se realizó la dilución de 1:1000 con agua destilada (muestra control).
- Se mezclaron adecuadamente cada una de las muestras, agitando por inversión alrededor de 20 veces.
- Se utilizó el Test de Amonio para determinar semicuantitativa la concentración de amonio en cada uno de los tratamientos (control (TC₀), orina + soya (*Glycine max*), orina + sandia (*Citrullus lanatus*) y orina + chocho (*Lupinus mutabilis*))



Figura 15. Test de Amonio MQuant®-Merck

- Se desplazó el bloque comparador hacia la izquierda hasta el tope, de manera que el extremo final con los tubos de ensayo sobresalga lateralmente respecto a la base de la caja (Merck, 2021).
- Se desplazó la tarjeta colorimétrica abierta con los puntos coloreados hacia adelante, introduciéndola en la ranura del borde inferior derecho de la caja (Merck, 2021).
- La técnica utilizada para cada uno de los tratamientos se detalla a continuación:

Tabla 3. Técnica para la determinación de concentración de amonio $[NH_4]$ (Merck, 2021).

	Muestra de medición A	Muestra en blanco B	
Muestra preparada (20-30 °C)	5 ml	5ml	Introducir con la jeringa en el tubo de ensayo.
Reactivo NH_4-1	0.4 ml		Añadir con la jeringa, cerrar el tubo y mezclar
Reactivo NH_4-2	1 microcuchara azul rasa (en la tapa del frasco NH_4-2)		Añadir, cerrar el tubo y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente
Dejar en reposo 5 minutos (tiempo de reacción 1)			
Reactivo NH_4-3	4 gotas		Añadir, cerrar el tubo y mezclar.
Dejar en reposo exactamente 7 minutos (tiempo de reacción 2)			
(Merck, 2021)			

- Desplazamos la tarjeta colorimétrica hacia la izquierda hasta que, observando por encima de ambos tubos de ensayo abiertos, los colores coincidan de la mejor manera posible (Merck, 2021).



Figura 16. Proceso de visualización y comparación con la tarjeta colorimétrica.

- Se leyó la tarjeta colorimétrica en valor de la medición en mg/L de NH_4 dentro de la base de la caja en el borde inferior derecho del bloque comparador y se recolectaron los datos para su procesamiento (Merck, 2021).

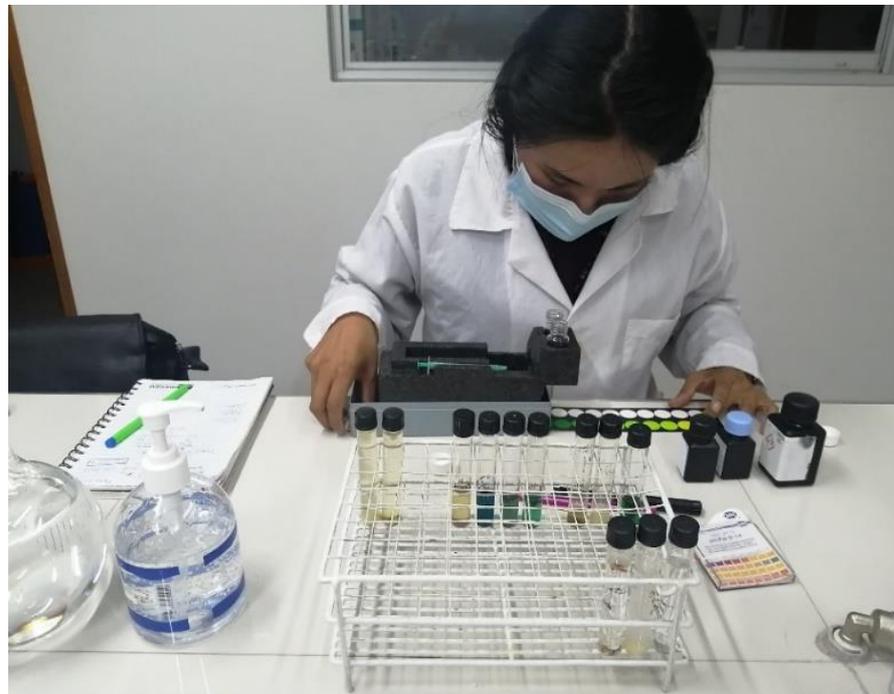


Figura 17. Lectura y recolección de los datos de concentración de amonio [NH_4]

3.3.4. Para determinar el nivel de higienización de la orina estabilizada.

Materiales:

- Orina estabilizada con ureasa vegetal:
 - Semillas de la familia *Cucurbitaceae*:** sandía (*Citrullus lanatus*)
 - Semillas de la familia *Leguminosae*:** soya (*Glycine max*) y chocho (*Lupinus mutabilis*).
- Agar para coliformes según ISO 9308-1 CHROMOCULT® - Merck
- Agar Slanetz y Bartley incluye TTC según ISO 7899 - Merck
- Agua destilada
- Matraz
- Placas Petri EULAB
- Filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm)
- Mechero de bunsen
- Rejilla
- Trípode
- Espátula
- Micropipeta de 5000 ul
- Pinzas de acero inoxidable estériles

Instrumentos:

- Balanza digital código
- Bomba de vacío marca GE MOTORS
- Equipo de filtración – 500ml
- Incubadora MEMMERT a 35 °C

Procedimiento:

La detección de coliformes totales y Enterococcus fue por el **MÉTODO DE FILTRACIÓN DE MEMBRANA**.

a) Agar Chromocult – Coliformes Totales

- Para preparar el medio de cultivo Chromocult, se pesó 7,42 gr del agar y de disolvió en 280 ml de agua destilada. Calentamos en agua hirviente y agitamos con frecuencia hasta la disolución completa. Se mantuvo en baño María a 50 °C.



Figura 18. Preparación del medio de cultivo Agar Chromocult – Coliformes Totales

- Se vertió 20 ml del medio en cada placa Petri (previamente rotuladas) bajo condiciones de asepsia, finalmente se dejó enfriar cada para lograr la solidificación del medio.
- Se instaló el equipo de filtración con la bomba de vacío, con la ayuda de una pinza de acero inoxidable estéril se colocó un filtro de membrana MCE (47mm, 0.45 μ m) al equipo de filtración.



Figura 19. Filtro de membrana MCE (47mm, 0.45 μ m)

- Luego con la ayuda del equipo de filtración y la bomba de vacío, se procedió a pasar por separado 10 ml y 20 ml de muestra de orina estabilizada con soya a través del filtro de membrana MCE (47mm, 0.45 μ m).



Figura 20. Equipo de filtración utilizado para el ensayo

- Bajo condiciones de asepsia y con la ayuda de la pinza de acero inoxidable se retiró el filtro de membrana MCE (47mm, 0.45 μ m), para ser transferido a una placa Petri que contiene el medio de cultivo “Agar Chromocult”.

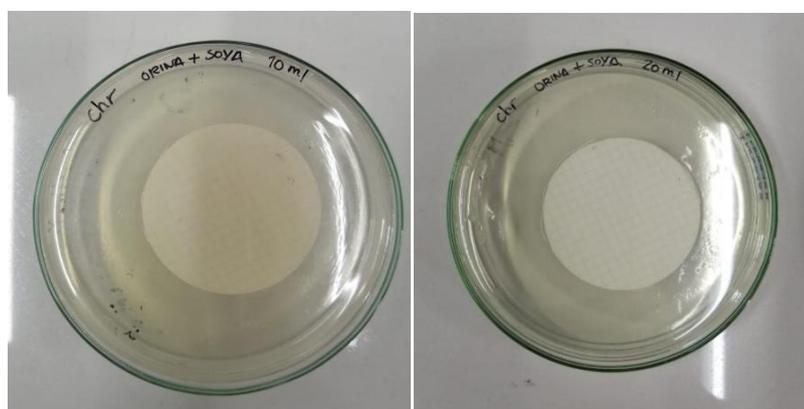


Figura 21. Medio de cultivo Chromocult y Tratamiento orina estabilizada con soya (*Glycine max*)

- El mismo procedimiento se repitió para: la orina estabilizada con chocho (10 y 20 ml), orina estabilizada con sandía (10 y 20 ml) y orina fresca (10 y 20 ml).
- Finalmente, todas las placas del ensayo se incubaron a 35 °C por 24 horas.



Figura 22. Incubadora MEMMERT a 35 °C

- Las lecturas se realizaron considerando los instructivos para cada medio de cultivo: **considerar positivo colonias azules.**

b) Agar Slanetz y Bartley – Enterococcus

- Para preparar el medio de cultivo Slanetz y Bartley, se pesó 11,62 gr del agar y se disolvió en 280 ml de agua destilada. Calentamos en agua hirviendo y agitamos con frecuencia hasta la disolución completa. Y dejamos enfriar el medio entre 45-50 °C.



Figura 23. Preparación del Agar Slanetz y Bartley para determinar Enterococcus.

- Se vertió 20 ml del medio en cada placa Petri, previamente rotuladas, bajo condiciones de asepsia, finalmente se dejó enfriar cada una para lograr la solidificación del medio.

- Se instaló el equipo de filtración con la bomba de vacío, con la ayuda de una pinza de acero inoxidable estéril se colocó un filtro de membrana al quipo de filtración.
- Luego con la ayuda del equipo de filtración y la bomba de vacío, se procedió a pasar por separado 10 ml y 20 ml de muestra de orina estabilizada con soya a través del filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm).



Figura 24. Filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm).

- Bajo condiciones de asepsia y con la ayuda de la pinza de acero inoxidable se retiró el filtro de membrana MCE (47mm, 0.45µm), para ser transferido a una placa Petri que contiene el medio de cultivo “Agar Slanetz y Bartley”.



Figura 25. Medio de cultivo Slanetz y Bartley y Tratamiento: orina estabilizada con soya (*Glycine max*)

- El mismo procedimiento se repitió para: la orina estabilizada con chocho (10 y 20 ml), orina estabilizada con sandía (10 y 20 ml) y orina fresca (10 y 20 ml).
- Finalmente, todas las placas del ensayo se incubaron a 35 °C por 24 horas.
- Las lecturas se realizaron considerando los instructivos para cada medio de cultivo: **considerar positivo colonias rosa-púrpura.**

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

- **Orina humana**
El presente trabajo toma como población la orina humana.
- **Ureasa vegetal**
Semillas de diferentes especies vegetales de la familia *Leguminosae* y *Cucurbitáceae* que evidencian presencia de ureasa (Vicente et al., 1975).

3.4.2. Muestra

Para la presente investigación las unidades de muestra fueron:

- Muestras de orina humana:
Orina matutina de una familia voluntaria (4 integrantes, 250 ml por cada integrante).
- 0.125 gr de ureasa de especies vegetales de:
Familia *Cucurbitáceae*: sandía (*Citrullus lanatus*), calabaza (*Cucurbita ficifolia*), caigua (*Cyclanthera pedata*) y zapallo (*Cucurbita maxima*)
Familia *Leguminosae*: soya (*Glycine max*), chocho (*Lupinus mutabilis*), y chocho silvestre (*Lupinus pubescens*)

3.4.3. Tipo de muestreo

El muestreo es no probabilístico, a juicio del investigador; porque para poder escoger la especie de ureasa vegetal se ha tenido que recurrir a

diversas fuentes bibliográficas, y se sabe que existe actividad ureásica en especies de la familia de *Cucurbitáceae* (Damodaran & Sivaramakrishnan, 1937) y *Leguminosae* (Vicente et al., 1975). Para el caso de la orina humana, se tuvo que acudir a una familia voluntaria.

3.5. Instrumentos validados de recolección de datos

Para la ejecución de la presente investigación, se utilizaron los siguientes instrumentos:

- **Tiras indicadoras de pH 0-14 Indicador universal MQuant®**

Las tiras indicadoras de pH MQuant® comprenden diferentes valores de pH, desde el intervalo 0 a 14. Debido a que el indicador está químicamente unido al soporte de celulosa, las tiras no destiñen ni contaminan el material de prueba, a diferencia de los papeles indicadores convencionales. Esto significa que las tiras indicadoras de pH pueden permanecer indefinidamente en el medio de prueba, lo que hace que las mediciones sean precisas. La determinación instantánea del pH con tiras reactivas es un método rápido y fácil, el valor de pH se mide semi cuantitativamente mediante la comparación visual de las zonas de reacción en la tira reactiva con los campos de la escala de color de la caja (Merck, 2021)

- **Medidor multiparámetro OAKTON TestR PCTS 50**

Los valores de pH se midieron con el multiparámetro OAKTON TestR PCTS 50, que es ideal para el uso en laboratorios; estos medidores cuentan con electrodos de pH de larga duración con una amplia gama de compatibilidad de muestras, calibración de pH de hasta 3 puntos con reconocimiento estándar automático de tampones NIST o USA. La tapa funciona como una taza de muestra, y una base estabilizadora para colocar el medidor en posición vertical (Omega Perú, 2021).

Tabla 4. Características del multiparámetro OAKTON.

Rango de pH	-1 a 15
Exactitud de pH	± 0.01 pH
Calibración	Hasta 3 puntos

- **Validación del Test de Amonio 1144230002 MQuant®**

El nitrógeno amónico ($\text{NH}_4\text{-N}$), se presenta en parte en forma de iones amonio (NH_4). En una solución fuertemente alcalina, tiene lugar con un agente clorante una transformación en monocloramina. Esta forma con timol un derivado de azul de indofenol, debido a la tinción propia de color amarillo del valor en blanco de los reactivos, la solución de medición aparece en color amarillo-verde a verde. La concentración de amonio se determina **semicuantitativamente** por comparación visual del color de la solución de medición con las zonas de color de una tarjeta colorimétrica, para ello se utilizó el Test de Amonio 1144230002 MQuant®, el contenido de la caja: un frasco de reactivo $\text{NH}_4\text{-1}$, un frasco de reactivo $\text{NH}_4\text{-2}$, un frasco de reactivo $\text{NH}_4\text{-3}$, una jeringa de plástico graduada de 1 ml, una jeringa de plástico graduada de 5 ml, dos tubos de ensayo con tapa roscada y una tarjeta colorimétrica (Merck, 2021).

Tabla 5. Intervalo de medida y número de determinaciones del Test de Amonio MQuant®

Intervalo de medida (mg/L de NH_4)	Número de determinaciones (und.)
0,2 – 0,5 – 0,8 – 1,2 – 1,6 – 2 – 3 – 5 - 8	200

3.6. Plan de procesamiento y análisis estadístico de la información

3.6.1. Métodos y modelos de análisis de datos

El método estadístico para la presente investigación correspondió a un diseño completamente aleatorizado con un factor (tipo de semilla),

con 3 réplicas. En primera instancia, para determinar el cumplimiento de normalidad de los datos de pH se empleó la prueba estadística de Anderson-Darling ($p \geq 0.05$), posteriormente al cumplirse este, se utilizó la prueba paramétrica del análisis de varianza de una vía (ANVA), y a continuación, al existir diferencias significativas ($p < 0.05$) se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey la cual comparó los resultados mediante la formación de subgrupos y se determinó de esta manera el mejor tratamiento. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza del 95%.

3.6.2. Programas utilizados para el análisis

- Minitab 21.0: este software se empleó para el tratamiento de datos físicos de pH y datos químicos de concentración de amonio (NH_4).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Determinación de la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* sobre la orina humana.

4.1.1. pH

En la Figura 26, se puede apreciar la comparación de la actividad enzimática de la ureasa vegetal sobre la orina de los diferentes tratamientos, la variación del pH se ha determinado con respecto al tiempo. El pH inicial ($t=0$) de la orina humana fue de 6.28 para todos los tratamientos. El tratamiento control (TC₀) presentó menor valor de pH, siendo al inicio de 6.27, aumentando ligeramente hasta 7.56 a las 96 horas de evaluación; las semillas de soya-*Glycine Max* (TGm) y sandía- *Citrullus lanatus* (TCI) incrementaron considerablemente el valor de pH a las 3 horas de evaluación con 10.00 y 9.79 respectivamente, manteniéndose constantes hasta las 96 horas con un pH de aproximadamente 10.07 y 10.03 respectivamente.

A las 24 horas de evaluación la semilla de chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) logró un valor de pH=9.54. Posteriormente a las 48 h de evaluación las semillas de caigua- *Cyclanthera pedata* (TCp) y calabaza-*Cucurbita ficifolia* (TCf), alcanzaron valores de pH de 9.96 y 9.90, respectivamente; la semilla de zapallo- *Cucurbita maxima* (TCm) presentó mayor pH de 9.59 a las 72 horas; y finalmente la semilla de chocho silvestre- *Lupinus pubescens* (TLp) logró incrementar el valor de pH a 9.54 a las 96 horas de evaluación.

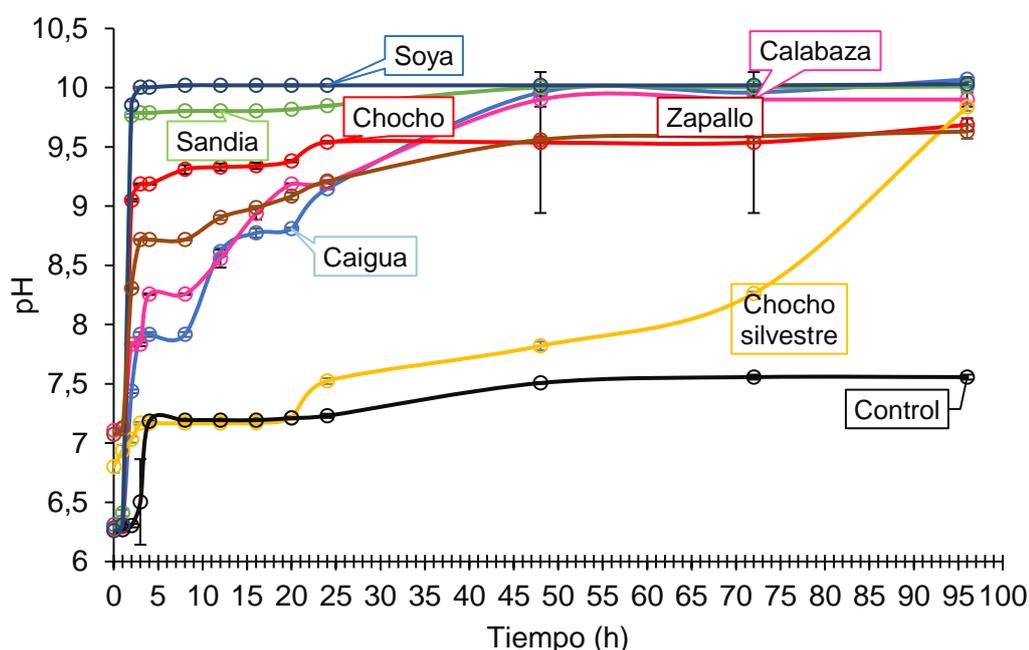


Figura 26. Variación del pH con respecto al tiempo para la determinación de eficacia y eficiencia de la ureasa vegetal sobre la orina humana.

4.2. Determinación de la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.

4.2.1. pH

Se recopilieron datos físicos de pH cada 24 horas durante 10 días, esto con el fin de determinar la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina. En la figura 27, se observa la comparación de la variación de pH con respecto al tiempo, fueron evaluados el tratamiento Control (TC₀) y los tratamientos que dieron positivo al primer ensayo de eficacia y eficiencia: chocho-*Lupinus*

mutabilis (TLm), sandía-*Citrullus lanatus* (TCI) y soya-*Glycine Max* (TGm). Para cada día las condiciones iniciales de pH de la orina fresca variaron de 6.20 a 6.23. En los 10 días de evaluación de reusó se observa que para el tratamiento Control (TC₀) no hubo ninguna variación significativa en los valores del pH inicial y final; mientras que, en el día 1 el tratamiento soya-*Glycine Max* (TGm), chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) y sandía-*Citrullus lanatus* (TCI) evidencia un cambio notable de los valores del pH inicial y pH final, aumentando de 6.20 a 10.01, 6.20 a 9.59 y 6.20 a 9.86 respectivamente, manteniéndose relativamente constante hasta la séptima repetición, a partir de la octava repetición el pH final va descendiendo ligeramente hasta la décima repetición del ensayo.

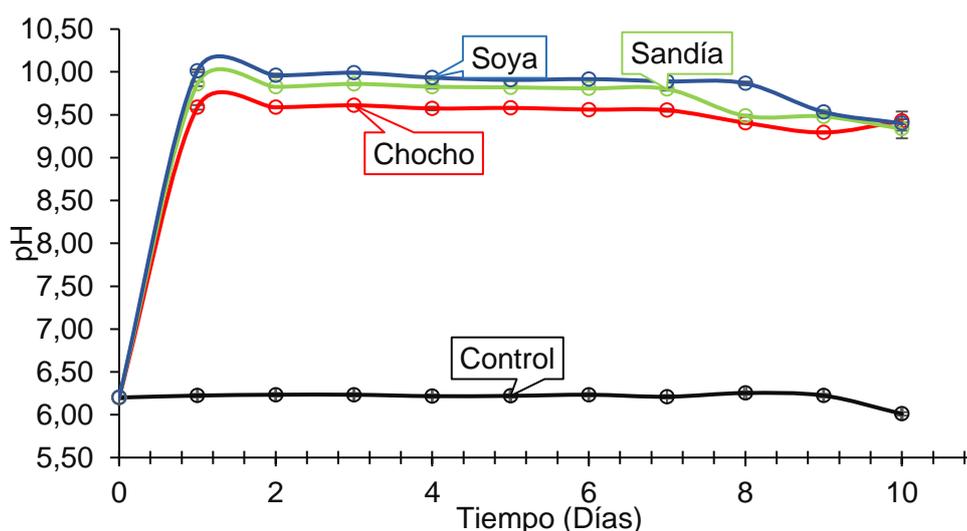


Figura 27. Variación del pH con respecto al tiempo para la determinación de la capacidad de reuso de la ureasa vegetal sobre la orina humana.

4.3. Determinación de la estabilidad química de la orina estabilizada con ureasa vegetal.

4.3.1. Concentración de amonio en la orina estabilizada con ureasa vegetal.

Se recopilaron datos químicos de la concentración de amonio [NH₄] que se midió con el Test de Amonio (MQuant®-Merck) durante 75 días. En la Figura 28, se observa la variabilidad de la concentración

de amonio $[NH_4]$ del tratamiento Control (TC_0) y de los tratamientos que dieron positivo al primer y segundo ensayo de eficacia-eficiencia y capacidad de reúso respectivamente: chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm), sandia-*Citrullus lanatus* (TCl) y soya-*Glycine Max* (TGm). Se observa que, el tratamiento soya-*Glycine Max* (TGm) destaca por mantener una concentración constante de 8000 mg/L de amonio $[NH_4]$ durante el día 3 hasta el día 45. Los resultados también, muestran que los tratamientos sandia-*Citrullus lanatus* (TCl) y chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) alcanzaron una concentración de amonio de 8000 mg/L en los días 7 y 30 respectivamente siendo también considerado el pico más alto del ensayo así mismo a partir del día 30 la tendencia de concentración de amonio $[NH_4]$ es descendente para los 2 casos. Finalmente, se evidencia que el tratamiento Control (TC_0) no presenta ninguna variabilidad para la concentración de amonio $[NH_4]$, esto durante los 75 días que duro la prueba de ensayo.

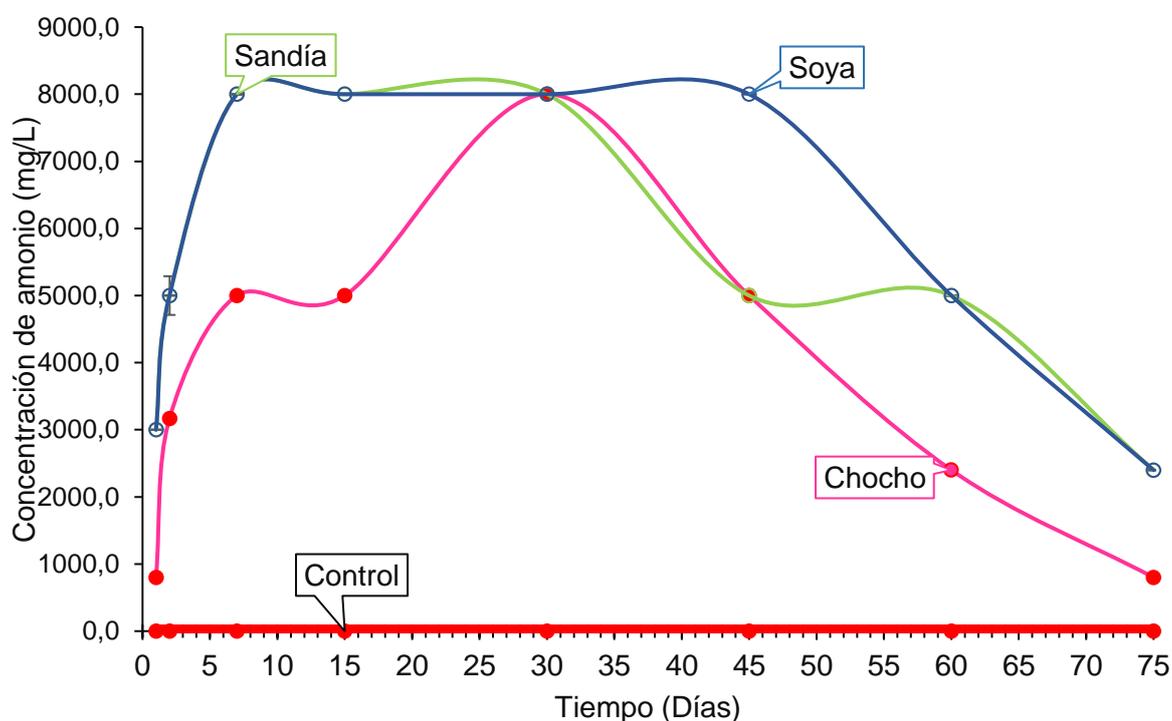


Figura 28. Variación de la concentración de NH_4 , para determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa de todos los tratamientos del ensayo.

4.3.2. Composición de nutrientes en la orina estabilizada con ureasa vegetal.

Se analizó una muestra de orina estabilizada con ureasa vegetal (soya-*Glycine Max* (TGm)), en la tabla 6 se presentan los resultados de las mediciones de metales totales: calcio (C), magnesio (Mg), manganeso (Mn), fósforo (P), potasio (K), plata (Ag), sodio (Na) y zinc (Zn). El método utilizado por el laboratorio acreditado SAG fue EPA Method 200.7. (Ver Anexo 06)

Tabla 6. Resultados de las concentraciones de metales totales de la orina estabilizada.

Composición	Unidades	Valores
Calcio	mg/L	22,932
Magnesio	mg/L	2,32
Manganeso	mg/L	0,0373
Fósforo	mg/L	370,356
Potasio	mg/L	1381,60
Plata	mg/L	0,0216
Sodio	mg/L	2370,72
Zinc	mg/L	0,1963

4.4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada.

4.4.1. Coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus

En la tabla 7 y 8, se exhiben los resultados obtenidos del ensayo para la determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada.

a) Conteo de CTT y Enterococcus de 10 ml de muestra filtrada.

Tabla 7. Resultados del conteo de Coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 10 ml de muestra de cada tratamiento.

TRATAMIENTOS	CODIGO	OE4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada	
		CTT (UFC/10ml)	ENTEROCOCCUS (UFC/10ml)
CONTROL	T0 - a	7	0

CONTROL	T0 - b	10	0
CONTROL	T0 - c	5	0
PROMEDIO		7	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - a	0	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - b	0	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - c	0	0
PROMEDIO		0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - a	0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - b	0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - c	0	0
PROMEDIO		0	0
Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - a	0	0
Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - b	0	0
Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - c	0	0
PROMEDIO		0	0

b) Conteo de CTT y Enterococcus de 20 ml de muestra filtrada

Tabla 8. Resultados del conteo de Coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 20 ml de muestra de cada tratamiento.

TRATAMIENTOS	CODIGO	OE4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada	
		CTT (UFC/20ml)	ENTEROCOCCUS (UFC/20ml)
CONTROL	T0 - a	300	0
CONTROL	T0 - b	400	0
CONTROL	T0 - c	400	0
PROMEDIO		367	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - a	0	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - b	0	0
Orina + <i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - c	0	0
PROMEDIO		0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - a	0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - b	0	0
Orina + <i>Citrullus lanatus</i>	TCI - c	0	0
PROMEDIO		0	0

Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - a	0	0
Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - b	0	0
Orina + <i>Glycine max</i>	TGm - c	0	0
PROMEDIO		0	0

En la figura 29, se observa la variación de presencia de microorganismos patógenos en 10 ml de muestra de orina estabilizada filtrada, evidenciando que el pico más alto le corresponde al Tratamiento control (TC₀) con un promedio de 7 UFC de **Coliformes termotolerantes (CTT)** mientras que el resto de tratamientos evidencian la inexistencia de estos patógenos, así mismo la presencia de **Enterococcus** es nula en todos los tratamientos.

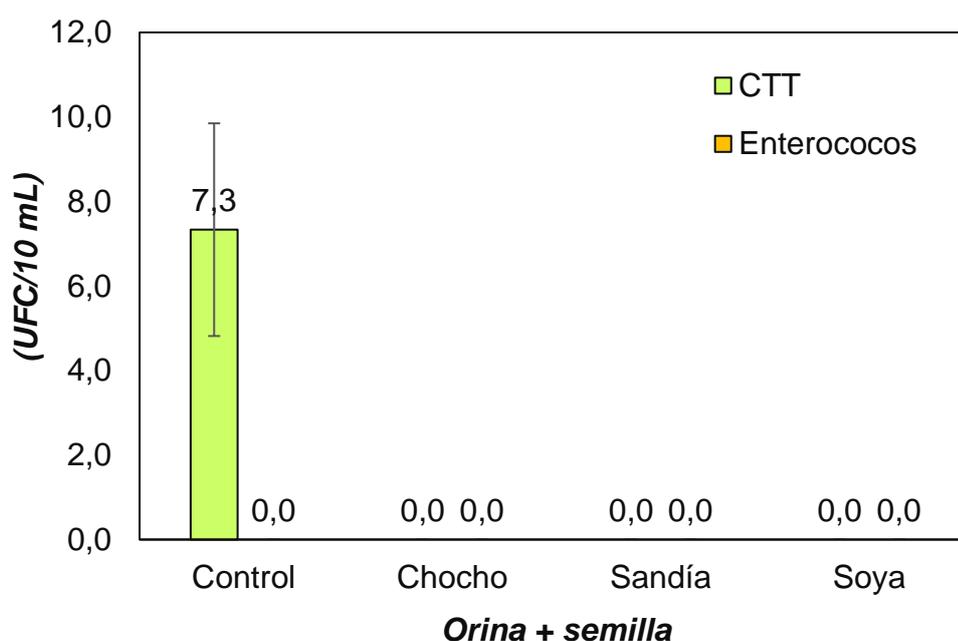


Figura 29. Variación de coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 10 ml de muestra de cada tratamiento.

Para la figura 30, se observa la variación de microorganismos patógenos en 20 ml de muestra filtrada, donde el pico más alto le corresponde al Tratamiento control (TC₀) con un promedio de 366.7 UFC de **Coliformes termotolerantes (CTT)** mientras que el resto de tratamientos evidencian la

inexistencia de estos patógenos, así mismo la presencia de *Enterococcus* es nula en todos los tratamientos.

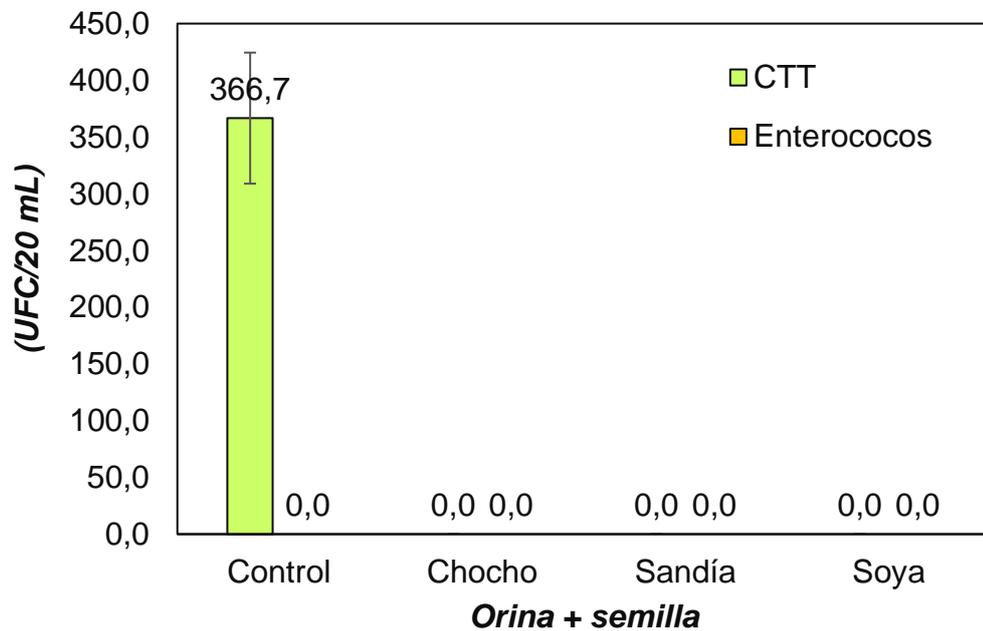


Figura 30. Variación de coliformes termotolerantes (CTT) y Enterococcus en 20 ml de muestra de cada tratamiento.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Determinación de la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* sobre la orina humana.

La eficacia y eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales sobre la orina se explica a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) este modelo estadístico determinó que existe una diferencia significativa entre los ocho tratamientos del ensayo (ver Anexo 04). La prueba de Tukey para la segunda hora de evaluación indicó que la orina fresca humana al ponerse en contacto con la semilla de soya-*Glycine Max* (TGm) alcanzó un pH de 9.85, seguido de las semillas de sandía-*Citrullus lanatus* (TCI) y de chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) que consiguieron elevar el pH hasta 9.76 y 9.05 respectivamente; demostrando ser las más eficaces y eficientes en relación a las demás especies vegetales. Esto concuerda con lo encontrado por Vicente et al. (1975), que menciona que la enzima ureasa se encuentra en diferentes especies vegetales de la familia de *Leguminosae* y *Cucurbitaceae*, y lo encontrado por Ray et al. (2018) que

sostiene que, la orina fresca humana al mezclarse con semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) alcanza un pH de 9 en un tiempo de 3 horas.

5.2. Determinación de la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.

La capacidad de reúso de la ureasa para la estabilización de la orina determinada a partir del pH muestra coherencia con lo establecido por Robinson (2015), que menciona que las enzimas no se consumen durante la actividad catalítica. En la figura 27, se observa que la variación de pH para el tratamiento Control (TC₀) se mantuvo constante durante los diez días del ensayo, debido a que la orina no he tenido contacto con la ureasa vegetal.

En el caso de los tratamientos: chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) y sandia-*Citrullus lanatus* (TCI), se evidencia que entre el día 0 y el día 1 el pH se eleva de 6.20 a 9.59 y 6.20 a 9.86 respectivamente para luego mantenerse constante hasta el día 7, a partir del día 8 se observa que ligeramente el pH va descendiendo hasta el día 10 del ensayo. Para el tratamiento de soya-*Glycine Max* (TGm) el pH asciende de 6.20 hasta 10.01 manteniéndose constante hasta el día 8, luego se observa que el pH va descendiendo ligeramente hasta el día 10 del ensayo.

5.3. Determinación de la estabilidad química de la orina tratada con ureasa vegetal.

La estabilidad química de la orina, tratada con ureasa vegetal, determinada por la concentración de amonio [NH₄] concuerda con lo mencionado por Ray et al. (2018) que sostienen que, la hidrólisis de urea puede ser contrastada mediante la concentración de amonio [NH₄] por ser el producto de la reacción.

En la figura 28, para el tratamiento Control (TC₀) se observa que la concentración de amonio [NH₄] durante todo el ensayo tuvo un valor de 0 mg/L. Por otro lado, se puede destacar que el tratamiento soya-*Glycine*

Max (TGm) en el día 3 llegó a una concentración de amonio [NH₄] máxima de 8000 mg/L logrando mantenerla hasta el día 45 en los posteriores días se observa que la tendencia de la curva es descendente; para el tratamiento de sandía-*Citrullus lanatus* (TCI) en el día 7 logró una concentración de amonio [NH₄] de 8000 mg/L consiguiendo mantenerla hasta el día 30, al mismo tiempo se observa que la curva tiene una tendencia descendente, y el tratamiento chocho-*Lupinus mutabilis* (TLm) logró el pico máximo de 8000 mg/L de concentración de amonio [NH₄] en el día 30 y ésta se mantuvo solo durante un día, también se visualiza que la curva tiene una tendencia descendente, estos resultados coinciden con lo que mencionan Senecal & Vinnerås (2017) que la enzima ureasa acelera el proceso de hidrólisis de urea para formar amonio.

La estabilización química de la orina humana con ureasa vegetal también incluye un proceso de recuperación de nutrientes. En la Tabla 6. se presentan los resultados de las concentraciones de metales pesados de la orina estabilizada con semilla de soya-*Glycine Max* (TGm), en donde destacan los altos valores del: fósforo (P) 370,356 mg/L, potasio (K) 1381,60 mg/L y sodio (Na) 2370,72 mg/L.

5.4. Determinación del nivel de higienización de la orina estabilizada.

En base a los resultados se confirma la inexistencia de coliformes termotolerantes y *Enterococcus* en la orina estabilizada con ureasa vegetal, lo que es concordante con lo establecido por Randall et al. (2016), que menciona que un aumento del pH en la orina podría conducir a la inactivación de patógenos.

En la Figura 29 y 30, se observa que el tratamiento Control-TC₀ (orina fresca) existe presencia de 7 y 367 UFC de Coliformes termotolerantes en 10 y 20 ml de muestra filtrada respectivamente, así mismo se evidencia que la existencia de *Enterococcus* es nula para todos los tratamientos, en relación a estos resultado, Schönning et al. (2002) sostienen que pocos patógenos se excretan directamente con la orina y el riesgo se rige

principalmente por la contaminación fecal cruzada en una fracción de orina.



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- Se determinó que la semilla de soya (*Glycine max*) es la fuente de ureasa vegetal más eficaz y eficiente en comparación con las otras especies de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* evaluadas, seguida de la semilla de sandía (*Citrullu lanatus*) y chocho (*Lupinus mutabilis*), puesto que al ponerse en contacto con la orina humana alcanzaron elevar el pH a 9.85, 9.76 y 9.05 respectivamente en un tiempo de 2 horas.
- Se determinó que la ureasa vegetal de especies de las familias *Leguminosae* y *Cucurbitaceae* poseen una gran capacidad de reuso, puesto que los valores de pH durante las 10 repeticiones se mantuvieron constantes para todos los tratamientos que dieron positivo al ensayo de eficacia y eficiencia.
- Se determinó que la semilla de soya (*Glycine max*) de la familia *Leguminosae* una fuente de ureasa vegetal que logra la estabilidad química de la orina humana por llevar a cabo el proceso de hidrólisis de urea de manera más óptima, puesto que la concentración de amonio

[NH₄] alcanzó un valor 8000 mg/L en 2 días y ésta se mantuvo constante por 40 días. Así mismo esta especie de ureasa vegetal logró la recuperación de nutrientes biodisponibles para las plantas como son el fósforo (P) y potasio (K) con valores significativos de 370,356 mg/L y 1381,60 mg/L respectivamente.

- Se determinó que la orina estabilizada no representa un riesgo a la salud, ya que su nivel de higienización logra remover indicadores de contaminación tales como los coliformes termotolerantes y Enterococcus.

6.2. Recomendaciones

- Usar tiras indicadoras de pH y/o rojo de fenol (0.05%) como alternativas para la medición de pH, por ser métodos de fácil uso.
- Usar la orina estabilizada con ureasa vegetal en biohuertos.
- Proponer un marco normativo para el uso de orina humana tratada con ureasa vegetal para su uso en la agricultura.
- Promover la implementación de sistemas de saneamiento ecológicos, basados en la recuperación de nutrientes y ahorro de agua.
- Promover y difundir investigaciones relacionadas a la recuperación de nutrientes de la orina humana, para lograr la aprobación social.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Agarwal, P. K. (2006). Enzymes: An integrated view of structure, dynamics and function. *Microbial Cell Factories*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-5-2/FIGURES/9>
- Béclard, J.-A., Bailly-Baillièrè, C., Hidalgo, J. G., & De la Plata y Marcos, M. (1869). *Tratado elemental de Fisiologia humana que comprende las principales nociones de la Fisiologia comparada* (C. Bailly-Baillièrè (ed.); 2nd ed.). <https://books.google.com.pe/books?id=wYb0rER78yEC>
- Berns, D. S., Holohan, P., & Scott, E. (1966). Urease activity in blue-green algae. *Science (New York, N.Y.)*, 152(3725), 1077–1078. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.152.3725.1077>
- Bokova, I., & Ryder, G. (2017). Aguas Residuales el Recurso Desaprovechado. In *Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura* (Vol. 3). http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf
- Borriss, R. (2020). Bacillus. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*, 107–132. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00007-1>
- Chipako, T. L., & Randall, D. G. (2020). Urine treatment technologies and the importance of pH. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 103622. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103622>
- Ciba-Geigy. (1977). *Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Teilband Körperflüssigkeiten* (8va ed.). <https://www.abebooks.co.uk/book-search/title/wissenschaftliche-tabellen-geigy/>
- Cordell, D., Drangert, J. O., & White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19(2), 292–305. <https://doi.org/10.1016/J.GLOENVCHA.2008.10.009>

- Costas, G. (2014). *El pH*. Ciencia y Biología. <https://cienciaybiologia.com/el-ph/>
- Damodaran, M., & Sivaramakrishnan, P. M. (1937). New sources of urease for determination of urea. *The Biochemical Journal*, 31(7), 1041–1046. <https://doi.org/10.1042/BJ0311041>
- De Jesús Rodríguez-Jiménez, T., Ojeda-Barrios, D. L., Blanco-Macías, F., Valdez-Cepeda, R. D., & Parra-Quezada, R. (2016). Ureasa y níquel en la fisiología de las plantas. In *Revista Chapingo, Serie Horticultura* (Vol. 22, Issue 2, pp. 69–81). Universidad Autónoma Chapingo. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2014.11.051>
- De la Torre, A. M. (2002). *Técnicas y métodos de investigación en nutrición humana* (Glosa (ed.)). <https://books.google.com.pe/books?id=qGA402PCFNsC>
- Dixon, N. E., Gazzola, C., Blakeley, R. L., & Zerner, B. (1975). Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5). A Metalloenzyme. A Simple Biological Role for Nickel? *Journal of the American Chemical Society*, 97(14), 4131–4133. https://doi.org/10.1021/JA00847A045/ASSET/JA00847A045.FP.PNG_V03
- ECODES. (2006). Saneamiento sustentable. *Alianza Por El Agua*. http://alianzaporelagua.org/seminario/pdf/saneamiento_sustentable.pdf
- Egigu, M. C., Melak, B., Kebede, A., & Muthuswamy, M. (2014). Use of human urine as fertilizer for vegetable cultivation. *Undefined*.
- Ek, M., Bergström, R., Bjurhem, J. E., Björlenius, B., & Hellström, D. (2006). Concentration of nutrients from urine and reject water from anaerobically digested sludge. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 54(11–12), 437–444. <https://doi.org/10.2166/WST.2006.924>
- Feng, D., Wu, Z., & Xu, S. (2008). Nitrification of human urine for its stabilization and nutrient recycling. *Bioresource Technology*, 99(14), 6299–6304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.007>
- Flint, S. (2002). ENTEROCOCCUS FAECALIS AND ENTEROCOCCUS FAECIUM.

In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 904–907). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00144-9>

Franken, M. (2007). *Gestión de aguas Conceptos para el nuevo milenio (Manejo sostenible del agua por sistemas descentralizados de suministro y evacuación de aguas y cierre de ciclos naturales locales del agua)* (Universidad Mayor de San Andrés (ed.)). <https://catalog.princeton.edu/catalog/5795068>

Gethke, K., Herbst, H., & Pinnekamp, J. (2007). *Human Urine-Decomposition Processes and Nutrient Recovery*.
https://www.researchgate.net/publication/228503033_Human_Urine-Decomposition_Processes_and_Nutrient_Recovery

Girovich, M. (1996). *Biosolids Treatment and Management: Processes for Beneficial Use* (CRC Press). https://books.google.com.pe/books?id=TW5b-kb9gnEC&printsec=frontcover&dq=Biosolids+Treatment+and+Management:+Processes+for+Beneficial+Use&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Biosolids+Treatment+and+Management%3A+Processes+for+Beneficial+Use&f=false

Gómez, Gretel; Batista, C. (2006). Optimización De Medios De Cultivos Para Microorganismos, Una Valiosa Estrategia Para La Producción De Biopreparados De Interés Agrícola. *Cultivos Tropicales*, 27(3), 17–24.
<http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215825002.pdf>

Hilton, S. P., Keoleian, G. A., Daigger, G. T., Zhou, B., & Love, N. G. (2021). Life Cycle Assessment of Urine Diversion and Conversion to Fertilizer Products at the City Scale. *Environmental Science and Technology*, 55(1), 593–603.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04195>

Húngaro, M. B., Moncada, J. J. T., Yero, D. D., Reciclaje, E. L., Industria, L. A., & Futuro, D. E. L. (2006). EL RECICLAJE, LA INDUSTRIA DEL FUTURO. *Reciclaje En El Futuro*, 3, 8.

Jönsson, H., Stenström, T. A., Svensson, J., & Sundin, A. (1997). Source separated urine-nutrient and heavy metal content, water saving and faecal contamination.

Water Science and Technology, 35(9), 145–152. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00192-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00192-3)

Junghanns, J., & Beery, T. (2020). Ecological Sanitation and Sustainable Nutrient Recovery Education: Considering the Three Fixes for Environmental Problem-Solving. *Sustainability* 2020, Vol. 12, Page 3587, 12(9), 3587. <https://doi.org/10.3390/SU12093587>

Kirchmann, H., & Pettersson, S. (1994). Human urine - Chemical composition and fertilizer use efficiency. *Fertilizer Research*, 40(2), 149–154. <https://doi.org/10.1007/BF00750100>

Kojima, S., Bohner, A., & Von Wirén, N. (2006). Molecular mechanisms of urea transport in plants. In *Journal of Membrane Biology* (Vol. 212, Issue 2, pp. 83–91). J Membr Biol. <https://doi.org/10.1007/s00232-006-0868-6>

Kvarnström, E., Emilsson, K., Richert Stintzing, A., Johansson, M., Jönsson, H., Schönning, C., Hellström, D., & Qvarnström, L. (2006). Desviación de Orina: Un Paso Hacia el Saneamiento Sustentable. *EcoSanRes*. <https://www.susana.org/en/knowledge-hub/resources-and-publications/library/details/846>

Langergraber, G., & Muellegger, E. (2005). Ecological Sanitation—a way to solve global sanitation problems? *Environment International*, 31(3), 433–444. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2004.08.006>

Larrea-Murrell, C., Adina, J., María, M., & Mercedes, N. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Ciencias Biológicas*, 44(3), 24–34. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181229302004>

Larsen, T. A., Udert, K. M., & Lienert, J. (2015). Source Separation and Decentralization for Wastewater Management. In *Source Separation and Decentralization for Wastewater Management*. <https://doi.org/10.2166/9781780401072>

- Lebrette, H., Brochier-Armanet, C., Zambelli, B., De Reuse, H., Borezée-Durant, E., Ciurli, S., & Cavazza, C. (2014). Promiscuous nickel import in human pathogens: Structure, thermodynamics, and evolution of extracytoplasmic nickel-binding proteins. *Structure*, 22(10), 1421–1432. <https://doi.org/10.1016/j.str.2014.07.012>
- Lienert, J., & Larsen, T. A. (2007). Soft paths in wastewater management - The pros and cons of urine source separation. *GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society*, 16(4), 280–288. <https://doi.org/10.14512/GAIA.16.4.10>
- Lumitos AG. (1997). *Diccionario de analítica, química, laboratorio, ingeniería química, ingeniería de procesos*. <https://www.quimica.es/enciclopedia/>
- Maurer, M., Pronk, W., & Larsen, T. A. (2006). Treatment processes for source-separated urine. *Water Research*, 40(17), 3151–3166. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2006.07.012>
- McCORMICK, J. S. (1981). Effectiveness and efficiency. *The Journal of the Royal College of General Practitioners*, 31(226), 299. [/pmc/articles/PMC1971043/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1971043/)
- Merck. (2021). *Merck Millipore | Ciencias de la vida | Productos químicos industriales y de laboratorio | Tienda virtual*. <https://www.merckmillipore.com/PE/es>
- Mobley, H. L., & Hausinger, R. P. (1989). Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 53(1).
- Ngo, H. H., Guo, W., Chen, Z., Surampalli, R. Y., & Zhang, T. C. (2016). Green technologies for sustainable water management: Introduction and overview. In *Green Technologies for Sustainable Water Management* (pp. 1–34). American Society of Civil Engineers (ASCE). <https://doi.org/10.1061/9780784414422.ch01>
- Omega Perú. (2021). *Omega Perú S.A. - Medidor Multiparámetro tipo lapicero*. <https://omegaperu.com.pe/producto/medidor-multiparametro-tipo-lapicero/>
- Pradhan, S. K., Holopainen, J. K., & Heinonen-Tanski, H. (2009). Stored human

- urine supplemented with wood ash as fertilizer in tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivation and its impacts on fruit yield and quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7612–7617. <https://doi.org/10.1021/jf9018917>
- Ramírez, C. A., & Worrell, E. (2006). Feeding fossil fuels to the soil: An analysis of energy embedded and technological learning in the fertilizer industry. *Resources, Conservation and Recycling*, 46(1), 75–93. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2005.06.004>
- Randall, D. G., Krähenbühl, M., Köpping, I., Larsen, T. A., & Udert, K. M. (2016). A novel approach for stabilizing fresh urine by calcium hydroxide addition. *Water Research*, 95, 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.007>
- Ray, H., Saetta, D., & Boyer, T. H. (2018). Characterization of urea hydrolysis in fresh human urine and inhibition by chemical addition. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 4(1), 87–98. <https://doi.org/10.1039/c7ew00271h>
- Reid, W. V., Mooney, H. A., Cropper, A., Capistrano, D., Carpenter, S. R., Chopra, K., Dasgupta, P., Dietz, T., Duraiappah, A. K., Hassan, R., Kasperson, R., Leemans, R., May, R. M., McMichael, A. J., Pingali, P., Samper, C., Scholes, R., Watson, R. T., Zakri, A. H., ... Zurek, M. B. (2005). *Ecosystems and human well-being - Synthesis: A Report of the Millennium Ecosystem Assessment*. <https://doi.org/10.3/JQUERY-UI.JS>
- Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59, 1. <https://doi.org/10.1042/BSE0590001>
- Schönning, C., Leeming, R., & Stenström, T. A. (2002). Faecal contamination of source-separated human urine based on the content of faecal sterols. *Water Research*, 36(8), 1965–1972. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00427-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00427-4)
- Senecal, J., & Vinnerås, B. (2017). Urea stabilisation and concentration for urine-diverting dry toilets: Urine dehydration in ash. *Science of the Total Environment*,

586, 650–657. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.038>

Stenström, T. A., & Dagerskog, L. (2011). *Guía Práctica de Uso de la Orina en la Producción Agrícola*. <https://www.sei.org/publications/guia-practica-de-uso-de-la-orina-en-la-produccion-agricola/>

Todd, C. D., Tipton, P. A., Blevins, D. G., Piedras, P., Pineda, M., & Polacco, J. C. (2006). Update on ureide degradation in legumes. *Journal of Experimental Botany*, 57(1), 5–12. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj013>

Udert, K. M., Larsen, T. A., & Gujer, W. (2006). Fate of major compounds in source-separated urine. *Water Science and Technology*, 54(11–12), 413–420. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.921>

Udert, Kai M., Buckley, C. A., Wächter, M., McArdell, C. S., Kohn, T., Strande, L., Zöllig, H., Fumasoli, A., Oberson, A., & Etter, B. (2015). Technologies for the treatment of source-separated urine in the eThekweni Municipality. *Water SA*, 41(2), 212–221. <https://doi.org/10.4314/wsa.v41i2.06>

United States Environmental Protection Agency. (2022). *Lista de candidatos a contaminantes (CCL) y determinación reglamentaria*. <https://www.epa.gov/ccl/definition-contaminant>

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. (2019). *Ensayo sobre bioelementos*. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa2/n2/e2.html>

Vicente, C., Villalobos, N., & Hernandez, A. (1975). Ureasa de cucurbitáceas y su localización citológica. *UREASA DE CUCURBITACEAS Y SU LOCALIZACION CITOLOGICA*.

WHO. (2006). Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater Guidelines for the Safe Use of. *World Health*, II, 204. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

Yang, W., Li, J., & Yang, X. (2021). Features and Applications of Urine Stabilization Methods: A Review. *Frontiers in Sustainability*, 0, 74. <https://doi.org/10.3389/FRSUS.2021.710739>

Zhou, X., Li, Y., Li, Z., Xi, Y., Uddin, S. M. N., & Zhang, Y. (2017). Investigation on microbial inactivation and urea decomposition in human urine during thermal storage. *Journal of Water Sanitation and Hygiene for Development*, 7(3), 378–386. <https://doi.org/10.2166/washdev.2017.142>



ANEXOS



ANEXO 01: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Operacionalización de variables del proyecto de investigación.						
VARIABLE	OBJETIVOS	INDICADOR	UNIDADES	MÉTODO	INSTRUMENTO	
VARIABLE INDEPENDIENTE: UREASA VEGETAL	<ul style="list-style-type: none"> Determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de especies vegetales sobre la orina. 	<ul style="list-style-type: none"> Especie vegetal 	especie	Cualitativo	Taxonómico	
		<ul style="list-style-type: none"> pH 	logarítmicas	APHA 4500	pHmetro	
		<ul style="list-style-type: none"> Determinar la capacidad de reuso de la ureasa para la estabilización de la orina. 	<ul style="list-style-type: none"> pH 	logarítmicas	APHA 4500	pHmetro
VARIABLE DEPENDIENTE: ORINA ESTABILIZADA	<ul style="list-style-type: none"> Determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa. 	<ul style="list-style-type: none"> Concentración de Nitrógeno Amoniacal 	de mg/L	Colorimétrico, azul de indofenol.	Test Amonio - Merck (114423, Supelco)	
		<ul style="list-style-type: none"> Composición de micronutrientes. 	de mg/L	Espectrofotometría de absorción atómica	Espectrofotómetro de absorción atómica	
		<ul style="list-style-type: none"> pH 	logarítmicas	APHA 4500	pHmetro	
	<ul style="list-style-type: none"> Determinar el nivel de higienización de la orina estabilizada. 	<ul style="list-style-type: none"> Coliformes Termotolerantes 	UFC	APHA 9222	Incubadora	
		<ul style="list-style-type: none"> Enterococcus 	UFC	APHA 9230	Incubadora	



ANEXO 02: PREPARACIÓN DE ROJO DE FENOL AL 0.05%

El rojo de fenol es un compuesto orgánico usado en laboratorio como indicador de pH en agua. Su color exhibe una transición gradual de colores: de amarillo desde pH 6.8, a fucsia pH 8.2. su forma ácida es amarillo y su forma alcalina es fucsia (Borriss, 2020).

Procedimiento:

Disolver 0.05 g del indicador en 100 ml de NaOH 0.1N y aforar a 200 ml con agua destilada.

Condiciones de manejo:

- Mantener en un lugar seco.
- Evitar la exposición del rojo de fenol a la luz.

ANEXO 03: REPORTE DE DATOS



REPORTE DE DATOS OE1: Determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales sobre la orina humana

SEMILLAS (nombre común)	TRATAMIENTOS (nombre científico de cada semilla)	CÓDIGO	OE1. Determinar la eficacia y la eficiencia de la ureasa de diferentes especies vegetales sobre la orina humana.												
			t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=8	t=12	t=16	t=20	t=24	t=48	t=72	t=96
			pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH
	CONTROL	T0 - a	6,28	6,28	6,32	6,92	7,18	7,18	7,18	7,18	7,21	7,21	7,51	7,55	7,55
	CONTROL	T0 - b	6,26	6,26	6,3	6,3	7,18	7,19	7,19	7,19	7,2	7,24	7,5	7,58	7,58
	CONTROL	T0 - c	6,26	6,26	6,29	6,29	7,19	7,21	7,21	7,21	7,22	7,24	7,51	7,54	7,54
	PROMEDIO		6,27	6,27	6,30	6,50	7,18	7,19	7,19	7,19	7,21	7,23	7,51	7,56	7,56
CHOCHO	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - a	6,28	6,29	9,06	9,19	9,19	9,3	9,33	9,35	9,37	9,53	9,89	9,89	9,63
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - b	6,28	6,29	9,04	9,18	9,18	9,35	9,36	9,36	9,39	9,55	9,87	9,87	9,74
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - c	6,29	6,3	9,05	9,19	9,19	9,28	9,3	9,31	9,38	9,54	8,85	8,85	9,69
	PROMEDIO		6,28	6,29	9,05	9,19	9,19	9,31	9,33	9,34	9,38	9,54	9,54	9,54	9,69
SANDIA	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - a	6,27	6,38	9,75	9,78	9,78	9,8	9,8	9,8	9,81	9,84	10	10	10,01
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - b	6,26	6,43	9,78	9,79	9,79	9,81	9,81	9,81	9,82	9,85	10	10	10
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - c	6,27	6,42	9,76	9,79	9,79	9,8	9,8	9,8	9,82	9,85	10,01	10,01	10,02
	PROMEDIO		6,27	6,41	9,76	9,79	9,79	9,80	9,80	9,80	9,82	9,85	10,00	10,00	10,01
SOYA	<i>Glycine max</i>	TGm - a	6,26	6,3	9,88	10,01	10,01	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,05
	<i>Glycine max</i>	TGm - b	6,26	6,32	9,82	10	10	10,03	10,03	10,03	10,03	10,03	10,03	10,03	10,03
	<i>Glycine max</i>	TGm - c	6,26	6,3	9,86	10	10	10,01	10,01	10,01	10,01	10,01	10,01	10,01	10,01
	PROMEDIO		6,26	6,31	9,85	10,00	10,00	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,02	10,03
ZAPALLO	<i>Cucurbita maxima</i>	TCm - a	7,08	7,13	8,31	8,72	8,72	8,72	8,92	8,99	9,09	9,22	9,56	9,61	9,7
	<i>Cucurbita maxima</i>	TCm - b	7,07	7,13	8,3	8,72	8,72	8,72	8,88	9	9,05	9,21	9,58	9,58	9,59
	<i>Cucurbita maxima</i>	TCm - c	7,07	7,12	8,31	8,71	8,71	8,71	8,91	8,97	9,11	9,2	9,54	9,58	9,6
	PROMEDIO		7,07	7,13	8,31	8,72	8,72	8,72	8,90	8,99	9,08	9,21	9,56	9,59	9,63
CALABAZA	<i>Cucurbita ficifolia</i>	TOf - a	7,1	7,12	7,85	7,85	8,26	8,26	8,59	8,96	9,19	9,2	9,84	9,83	9,84
	<i>Cucurbita ficifolia</i>	TOf - b	7,11	7,12	7,83	7,83	8,25	8,25	8,47	8,88	9,18	9,21	9,9	9,91	9,9
	<i>Cucurbita ficifolia</i>	TOf - c	7,11	7,12	7,82	7,82	8,26	8,26	8,61	8,97	9,19	9,19	9,96	9,96	9,96
	PROMEDIO		7,11	7,12	7,83	7,83	8,26	8,26	8,56	8,94	9,19	9,20	9,90	9,90	9,90
CHOCHO SILVESTRE	Chocho silvestre	TCs - a	6,85	6,92	7,01	7,16	7,16	7,16	7,16	7,16	7,21	7,5	7,78	8,25	9,86
	Chocho silvestre	TCs - b	6,8	6,9	7,06	7,18	7,18	7,18	7,18	7,18	7,21	7,52	7,83	8,26	9,85
	Chocho silvestre	TCs - c	6,75	6,99	7,02	7,16	7,16	7,16	7,16	7,17	7,23	7,55	7,85	8,28	9,8
	PROMEDIO		6,80	6,94	7,03	7,17	7,17	7,17	7,17	7,17	7,22	7,52	7,82	8,26	9,84
CAIGUA	<i>Cyclanthera pedata</i>	TCp - a	6,35	6,35	7,45	7,91	7,91	7,91	8,59	8,79	8,81	9,14	9,93	9,93	10,09
	<i>Cyclanthera pedata</i>	TCp - b	6,29	6,29	7,42	7,9	7,9	7,9	8,61	8,8	8,82	9,15	9,96	9,96	10,07
	<i>Cyclanthera pedata</i>	TCp - c	6,29	6,29	7,44	7,94	7,94	7,94	8,65	8,73	8,8	9,15	9,99	9,99	10,05
	PROMEDIO		6,31	6,31	7,44	7,92	7,92	7,92	8,62	8,77	8,81	9,15	9,96	9,96	10,07



REPORTE DE DATOS OE2: Determinar la capacidad de reúso de la ureasa vegetal para la estabilización de la orina humana.

SEMILLAS (nombre común)	TRATAMIENTOS (nombre científico de cada semilla)	CÓDIGO	OE2. Determinar la capacidad de reúso de la ureasa para la estabilización de la orina humana.																			
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
			pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final
	CONTROL	T0 - a	5,71	5,7	5,88	5,85	6,12	6,12	5,69	5,68	6,39	6,39	6,67	6,69	6,15	6,15	5,51	5,52	6,09	6,09	6,02	6,02
	CONTROL	T0 - b	5,72	5,72	5,95	5,94	6,1	6,1	5,73	5,74	6,32	6,29	6,65	6,66	6,12	6,12	5,56	5,55	6,01	6,01	6	6
	CONTROL	T0 - c	5,71	5,71	5,91	5,91	6,08	6,08	5,7	5,69	6,35	6,35	6,69	6,67	6,08	6,09	5,49	5,48	6,03	6,03	6,01	6,01
	PROMEDIO		5,71	5,71	5,91	5,90	6,10	6,10	5,71	5,70	6,35	6,34	6,67	6,67	6,12	6,12	5,52	5,52	6,04	6,04	6,01	6,01
CHOCHO	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - a	5,73	9,59	5,90	9,58	6,10	9,60	5,70	9,57	6,30	9,59	6,64	9,57	6,14	9,55	5,50	9,41	6,04	9,31	6,00	9,43
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - b	5,71	9,57	5,91	9,59	6,11	9,61	5,70	9,57	6,31	9,59	6,65	9,56	6,15	9,55	5,51	9,40	6,04	9,28	6,01	9,41
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - c	5,71	9,60	5,91	9,59	6,11	9,62	5,71	9,58	6,31	9,56	6,64	9,55	6,15	9,56	5,52	9,41	6,03	9,29	6,03	9,44
	PROMEDIO		5,72	9,59	5,91	9,59	6,11	9,61	5,70	9,57	6,31	9,58	6,64	9,56	6,15	9,55	5,51	9,41	6,04	9,29	6,01	9,43
SANDÍA	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - a	5,71	9,85	5,90	9,83	6,10	9,85	5,73	9,81	6,30	9,83	6,65	9,80	6,15	9,82	5,51	9,50	6,03	9,49	6,02	9,21
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - b	5,71	9,84	5,90	9,82	6,12	9,87	5,69	9,82	6,32	9,81	6,64	9,81	6,15	9,79	5,51	9,48	6,01	9,47	6,00	9,42
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - c	5,71	9,89	5,90	9,83	6,10	9,86	5,72	9,85	6,33	9,82	6,64	9,81	6,14	9,79	5,50	9,48	6,04	9,48	6,01	9,38
	PROMEDIO		5,71	9,86	5,90	9,83	6,11	9,86	5,71	9,83	6,32	9,82	6,64	9,81	6,15	9,80	5,51	9,49	6,03	9,48	6,01	9,34
SOYA	<i>Glycine max</i>	TGm - a	5,73	10,01	5,89	9,96	6,09	9,98	5,70	9,94	6,32	9,90	6,66	9,92	6,14	9,89	5,52	9,85	6,04	9,51	6,00	9,39
	<i>Glycine max</i>	TGm - b	5,71	10,00	5,90	9,98	6,09	9,99	5,71	9,94	6,32	9,91	6,66	9,92	6,13	9,88	5,52	9,86	6,04	9,55	6,00	9,40
	<i>Glycine max</i>	TGm - c	5,73	10,03	5,91	9,94	6,10	10,00	5,71	9,92	6,32	9,91	6,65	9,91	6,14	9,90	5,51	9,89	6,03	9,54	6,00	9,41
	PROMEDIO		5,72	10,01	5,90	9,96	6,09	9,99	5,71	9,93	6,32	9,91	6,66	9,92	6,14	9,89	5,52	9,87	6,04	9,53	6,00	9,40

REPORTE DE DATOS OE3: Determinar la estabilidad química de la orina tratada con ureasa.

SEMILLAS (nombre común)	TRATAMIENTOS (nombre científico de cada semilla)	CODIGO	OE3. Determinación de la estabilidad química de la orina tratada con ureasa.															
			Día 1		Día 2		Día 7		Día 15		Día 30		Día 45		Día 60		Día 75	
			pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L	pH	[NH4] mg/L
	CONTROL	T0 - a	6,28	0	6,28	0	6,28	0	6,28	0	6,28	0	6,28	0	6,28	0	6,28	0
	CONTROL	T0 - b	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0
	CONTROL	T0 - c	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0	6,26	0
	PROMEDIO			6,27	0	6,27	0	6,27	0	6,27	0	6,27	0	6,27	0	6,27	0	6,27
CHOCHO	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - a	6,29	800	9,63	3000	9,87	5000	9,87	5000	9,87	8000	9,87	5000	9,74	2400	9,74	800
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - b	6,29	800	9,74	3500	9,82	5000	9,82	5000	9,82	8000	9,82	5000	9,8	2400	9,8	800
	<i>Lupinus mutabilis</i>	TLm - c	6,3	800	9,69	3000	9,8	5000	9,8	5000	9,8	8000	9,78	5000	9,71	2400	9,71	800
	PROMEDIO			6,29	800	9,69	3167	9,8	5000	9,8	5000	9,8	8000	9,8	5000	9,8	2400	9,8
SANDÍA	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - a	10,01	3000	10,01	5000	10,01	8000	10,01	8000	10,04	8000	10,04	5000	10,04	5000	9,89	2400
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - b	10	3000	10	5000	10	8000	10	8000	10,01	8000	10,03	5000	10,03	5000	9,94	2400
	<i>Citrullus lanatus</i>	TCI - c	10,02	3000	10,02	5000	10,02	8000	10	8000	10,02	8000	10,02	5000	10,02	5000	9,96	2400
	PROMEDIO			10,01	3000	10,01	5000	10,01	8000	10	8000	10,02	8000	10,03	5000	10,03	5000	9,93
SOYA	<i>Glycine max</i>	TGm - a	10,05	3000	10,05	5000	10,01	8000	10	8000	10,01	8000	10,01	8000	10,01	5000	10	2400
	<i>Glycine max</i>	TGm - b	10,03	3000	10,03	5000	10	8000	10	8000	10,01	8000	10	8000	10,03	5000	10	2400
	<i>Glycine max</i>	TGm - c	10,01	3000	10,02	5000	10,02	8000	10,02	8000	10,02	8000	10,02	8000	10,02	5000	10	2400
	PROMEDIO			10,03	3000	10,03	5000	10,01	8000	10,01	8000	10,01	8000	10,01	8000	10,02	5000	10

ANEXO 04: ANÁLISIS ESTADÍSTICO



A) PRUEBA DE NORMALIDAD ANDERSON DARLING

- $H_0: p \geq 0.05$ Existe distribución normal de residuales
- $H_1: p < 0.05$ No existe distribución normal de residuales

Tabla 9. Análisis estadístico de prueba de normalidad Anderson Darling.

Tiempo (h)	Anderson-Darling	p
0	1,758	0,005
1	0,645	0,081
2	0,200	0,867
3	4,933	0,005
4	1,023	0,009
8	0,610	0,100
12	0,651	0,078
16	0,508	0,180
20	0,594	0,110
24	0,494	0,195
48	4,325	0,005
72	4,379	0,005
96	0,270	0,647

La prueba de Anderson-Darling determinó que los residuales de los datos de pH para los todos tiempos de evaluación presentaron una distribución normal ($p \geq 0.05$), excepto para los tiempos de 0, 3, 4, 48 y 72 días.

B) MODELO ESTADÍSTICO ANOVA

- $H_0: p \geq 0.05$ No existe diferencia
- **$H_1: p < 0.05$ Existe diferencia**

El análisis de varianza con referencia a cada periodo de evaluación (de 0 a 96 h), determinó que las semillas (ademas del control) presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) sobre el pH.

Tabla 10. Análisis de varianza del modelo estadístico ANOVA.

Tiempo (h)	Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	p
0	Semilla	7	3,058	0,437	881,190	0,000
	Error	16	0,008	0,000		
	Total	23	3,066			
1	Semilla	7	3,217	0,460	823,170	0,000
	Error	16	0,009	0,001		
	Total	23	3,226			
2	Semilla	7	34,784	4,969	14723,430	0,000
	Error	16	0,005	0,000		
	Total	23	34,790			
3	Semilla	7	32,655	4,665	284,520	0,000
	Error	16	0,262	0,016		
	Total	23	32,917			
4	Semilla	7	25,017	3,574	37292,370	0,000
	Error	16	0,002	0,000		
	Total	23	25,019			
8	Semilla	7	25,735	3,676	12787,670	0,000
	Error	16	0,005	0,000		
	Total	23	25,740			
12	Semilla	7	24,140	3,449	3245,700	0,000
	Error	16	0,017	0,001		
	Total	23	24,157			
16	Semilla	7	24,226	3,461	5256,970	0,000
	Error	16	0,011	0,001		
	Total	23	24,236			
20	Semilla	7	24,331	3,476	18134,780	0,000
	Error	16	0,003	0,000		
	Total	23	24,334			
24	Semilla	7	22,374	3,196	18264,160	0,000
	Error	16	0,003	0,000		
	Total	23	22,376			
48	Semilla	7	22,013	3,145	69,860	0,000
	Error	16	0,720	0,045		
	Total	23	22,733			
72	Semilla	7	18,119	2,588	57,510	0,000
	Error	16	0,720	0,045		
	Total	23	18,839			
96	Semilla	7	14,708	2,101	1323,570	0,000
	Error	16	0,025	0,002		
	Total	23	14,734			

C) PRUEBA DE TUKEY

Semillas que comparten la misma letra según la prueba de Tukey, son estadísticamente iguales

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
1	Zapallo	7,13 ± 0,01	A
	Calabaza	7,12 ± 0,00	A
	Chocho silvestre	6,94 ± 0,05	B
	Sandia	6,41 ± 0,03	C
	Caigua	6,31 ± 0,03	D
	Soya	6,31 ± 0,01	D
	Chocho	6,29 ± 0,01	D
	Control	6,27 ± 0,01	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la primera hora de evaluación indicó que las semillas de calabaza y zapallo presentaron el mayor valor de pH de 7.12 y 7.13, respectivamente (estadísticamente iguales al presentar la misma letra).

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
2	Soya	9,85 ± 0,03	A
	Sandia	9,76 ± 0,02	B
	Chocho	9,05 ± 0,01	C
	Zapallo	8,31 ± 0,01	D
	Calabaza	7,83 ± 0,02	E
	Caigua	7,44 ± 0,02	F
	Chocho silvestre	7,03 ± 0,03	G
	Control	6,30 ± 0,02	H

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la segunda hora de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 9.85.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
3	Soya	10,00 ± 0,01	A
	Sandia	9,79 ± 0,01	A
	Chocho	9,19 ± 0,01	B
	Zapallo	8,72 ± 0,01	C
	Caigua	7,92 ± 0,02	D
	Calabaza	7,83 ± 0,02	D
	Chocho silvestre	7,17 ± 0,01	E
	Control	6,50 ± 0,36	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la tercera hora de evaluación indicó que las semillas de soya y sandia presentaron el mayor valor de pH de 10.00 y 9.79, respectivamente (estadísticamente iguales al presentar la misma letra).

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
4	Soya	10,00 ± 0,01	A
	Sandia	9,79 ± 0,01	B
	Chocho	9,19 ± 0,01	C
	Zapallo	8,72 ± 0,01	D
	Calabaza	8,26 ± 0,01	E
	Caigua	7,92 ± 0,02	F
	Control	7,18 ± 0,01	G
	Chocho silvestre	7,17 ± 0,01	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la cuarta hora de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.00.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
8	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	9,80 ± 0,01	B
	Chocho	9,31 ± 0,04	C
	Zapallo	8,72 ± 0,01	D
	Calabaza	8,26 ± 0,01	E
	Caigua	7,92 ± 0,02	F
	Control	7,19 ± 0,02	G
	Chocho silvestre	7,17 ± 0,01	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la octava hora de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.02.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
12	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	9,80 ± 0,01	B
	Chocho	9,33 ± 0,03	C
	Zapallo	8,90 ± 0,02	D
	Caigua	8,62 ± 0,03	E
	Calabaza	8,56 ± 0,08	E
	Control	7,19 ± 0,02	F
	Chocho silvestre	7,17 ± 0,01	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la doceava hora de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.02.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
16	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	9,80 ± 0,01	B
	Chocho	9,34 ± 0,03	C
	Zapallo	8,99 ± 0,02	D
	Calabaza	8,94 ± 0,05	D
	Caigua	8,77 ± 0,04	E
	Control	7,19 ± 0,02	F
	Chocho silvestre	7,17 ± 0,01	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 16 de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.02.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
20	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	9,82 ± 0,01	B
	Chocho	9,38 ± 0,01	C
	Calabaza	9,19 ± 0,01	D
	Zapallo	9,08 ± 0,03	E
	Caigua	8,81 ± 0,01	F
	Chocho silvestre	7,22 ± 0,01	G
	Control	7,21 ± 0,01	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 20 de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.02.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
24	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	9,85 ± 0,01	B
	Chocho	9,54 ± 0,01	C
	Zapallo	9,21 ± 0,01	D
	Calabaza	9,20 ± 0,01	D
	Caigua	9,15 ± 0,01	E
	Chocho silvestre	7,52 ± 0,03	F
	Control	7,23 ± 0,02	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 24 de evaluación indicó que la semilla de soya presentó el mayor valor de pH de 10.02.

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
48	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	10,00 ± 0,01	A
	Caigua	9,96 ± 0,03	A
	Calabaza	9,90 ± 0,06	A
	Zapallo	9,56 ± 0,02	A
	Chocho	9,54 ± 0,60	A
	Chocho silvestre	7,82 ± 0,04	B
	Control	7,51 ± 0,01	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 48 de evaluación indicó que las semillas de soya, sandia, caigua, calabaza, zapallo y chocho presentaron el mayor valor de pH de 10.02, 10.00, 9.96, 9.90, 9.56 y 9.54, respectivamente (estadísticamente iguales al presentar la misma letra).

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
72	Soya	10,02 ± 0,01	A
	Sandia	10,00 ± 0,01	A
	Caigua	9,96 ± 0,03	A
	Calabaza	9,90 ± 0,07	A
	Zapallo	9,59 ± 0,02	A
	Chocho	9,54 ± 0,60	A
	Chocho silvestre	8,26 ± 0,02	B
	Control	7,56 ± 0,02	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 72 de evaluación indicó que las semillas de soya, sandia, caigua, calabaza, zapallo y chocho presentaron el mayor valor de pH de 10.02, 10.00, 9.96, 9.90, 9.59 y 9.54, respectivamente (estadísticamente iguales al presentar la misma letra).

Tiempo (h)	Semilla	pH	Agrupación
96	Caigua	10,07 ± 0,02	A
	Soya	10,03 ± 0,02	A
	Sandia	10,01 ± 0,01	A
	Calabaza	9,90 ± 0,06	B C
	Chocho silvestre	9,84 ± 0,03	C
	Chocho	9,69 ± 0,06	D
	Zapallo	9,63 ± 0,06	D
	Control	7,56 ± 0,02	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

La prueba de Tukey para la hora 96 de evaluación indicó que las semillas de caigua, soya y sandia presentaron el mayor valor de pH de 10.07, 10.03 y 10.01, respectivamente (estadísticamente iguales al presentar la misma letra).

ANEXO 06: INFORMES DE ENSAYO DE LABORATORIO





LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE - 047



INFORME DE ENSAYO N° 166750-2022 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO
DOMICILIO LEGAL : AV. CENTENARIO NRO. 200 LOCAL CENTRAL DE LA UNASAM - INDEPENDENCIA- ANCASH - HUARAZ
SOLICITADO POR : HANNY PAMELA MENDOZA LEÓN
REFERENCIA : TESIS - PREGRADO
PROCEDENCIA : HUARAZ
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2022-10-19
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2022-10-19 AL 2022-10-25
FECHA(S) DE MUESTREO : 2022-10-18
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
METALES TOTALES: Aluminio, Arsenico, Arsénico, Bario, Boro, Berilio, Cadmio, Calcio, Cério, Cromo, Cobalto, Cobre, Hierro, Plomo, Litio, Magnesio, Manganeso, Mercurio, Molibdeno, Níquel, Fósforo, Potasio, Selenio, Silicio(SiO ₂), Plata, Sodio, Estroncio, Talio, Estaño, Titanio, Vanadio, Zinc	EPA Method 200.7, Rev.4.4. EMMC Version / 1994. Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry.	ver lista	mg/L

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Agua Residual Doméstica
Matriz analizada	Agua Residual
Fecha de muestreo	2022-10-18
Hora de inicio de muestreo (h)	14:00
Condiciones de la muestra	Refrigerada/ Preservada
Código del Cliente	DE-SY-001
Código del Laboratorio	22101500

ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)			
Ensayo	L.D.M.	Unidades	Resultados
Metales totales			
Plata (Ag)	0.0006	mg/L	0.0216
Aluminio (Al)	0.014	mg/L	0.365
Arsénico (As)	0.0017	mg/L	0.0600
Boro (B)	0.0020	mg/L	1.2822
Bario (Ba)	0.0023	mg/L	0.0220
Berilio (Be)	0.00021	mg/L	<0.00021
Calcio (Ca)	0.024	mg/L	22.932
Cadmio (Cd)	0.003	mg/L	<0.0003
Cerio (Ce)	0.003	mg/L	0.007
Cobalto (Co)	0.0005	mg/L	0.0038
Cromo (Cr)	0.0005	mg/L	0.0009
Cobre (Cu)	0.0007	mg/L	0.0271
Hierro (Fe)	0.0024	mg/L	0.3709
Mercurio (Hg)	0.0010	mg/L	<0.0010
Potasio (K)	0.04	mg/L	>350
Litio (Li)	0.003	mg/L	0.094
Magnesio (Mg)	0.04	mg/L	2.32
Manganeso (Mn)	0.0008	mg/L	0.0373
Molibdeno (Mo)	0.0014	mg/L	0.0437
Sodio (Na)	0.04	mg/L	>350
Níquel (Ni)	0.0005	mg/L	0.0038
Fósforo (P)	0.003	mg/L	>60
Plomo (Pb)	0.0008	mg/L	0.0175
Antimonio (Sb)	0.0022	mg/L	0.0029
Selenio (Se)	0.004	mg/L	0.011
Silice (SiO ₂)	0.017	mg/L	75.8326
Estaño (Sn)	0.0010	mg/L	0.0053
Estroncio (Sr)	0.0007	mg/L	0.0589
Titanio (Ti)	0.0003	mg/L	0.0212
Talio (Tl)	0.004	mg/L	<0.004
Vanadio (V)	0.0005	mg/L	0.0011
Zinc (Zn)	0.0023	mg/L	0.1963

L.D.M.: límite de detección del método.

Martín
 Ing. Marilú Tello Paucar
 Director Técnico
 C.T.P. N° 219624
 Servicios Analíticos Generales S.A.C.

EXPERTS
 WORKING
 FOR YOU

Lima, 27 de Octubre del 2022.

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento e incluso que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento solo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de perecibilidad del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego serán eliminadas. • Para conocer la AUTENTICIDAD del presente informe comuníquese al correo laboratorio@sagperu.com. • Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables podrán ser procesados de acuerdo a ley.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorio Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y Pasaje Clorinda Matto de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima
 • Central Telefónica (511) 425-8866 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1





**INFORME DE ENSAYO N° 167083-2022
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL : UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO
DOMICILIO LEGAL : AV. CENTENARJO NRO. 200 LOCAL CENTRAL DE LA UNASAM - INDEPENDENCIA-ANCASH - HUARAZ
SOLICITADO POR : HANNY PAMELA MENDOZA LEÓN
REFERENCIA : TESIS - PREGRADO
PROCEDENCIA : HUARAZ
FECHA(S) DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2022-11-03
FECHA(S) DE ANÁLISIS : 2022-11-03 AL 2022-11-07
FECHA(S) DE MUESTREO : 2022-10-18
MUESTREADO POR : EL CLIENTE
CONDICIÓN DE LA MUESTRA : LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS SE APLICAN A LA MUESTRA(S) TAL COMO SE RECIBIÓ.

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C	Unidades
METALES TOTALES: Fósforo, Potasio, Sodio	EPA Method 200.7, Rev.4.4, EMMC Version / 1994. Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry.	ver lista	mg/L

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Agua Residual Doméstica		
Matriz analizada	Agua Residual		
Fecha de muestreo	2022-10-18		
Hora de inicio de muestreo (h)	14:00		
Condiciones de la muestra	Refrigerada/Preservada		
Código del Cliente	OE-SY-001		
Código del Laboratorio	22110195		
ENSAYO ACREDITADO ANTE INACAL-DA (SEDE LIMA 1)			
Ensayo	L.D.M.	Unidades	Resultados
Metales totales			1703
Potasio (K)	0.04	mg/L	1381.60
Sodio (Na)	0.04	mg/L	2370.72
Fósforo (P)	0.003	mg/L	370.356

L.D.M.: límite de detección del método.

Lima, 09 de Noviembre del 2022.

Mauricio
 Ing. Mauricio Tello Paucar
 Director Técnico
 C.I.P. N° 219624
 Servicios Analíticos Generales S.A.C.

EXPERTS
 WORKING
 FOR YOU

Cod. FI 002 / Versión 10 / F.E.: 05/2022

OBSERVACIONES: • Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización escrita de Servicios Analíticos Generales S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento sólo son válidos para las muestras referidas en el presente informe. • Las muestras serán conservadas de acuerdo al periodo de preservación del parámetro analizado con un máximo de 30 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego serán eliminadas. • Para comprobar la AUTENTICIDAD del presente informe comuníquese al correo laboratorio@sagperu.com. • Cualquier modificación no autorizada, fraude o falsificación del contenido o de la apariencia de este documento es ilegal y los culpables pueden ser procesados de acuerdo a ley.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorios: Av. Naciones Unidas N° 1565 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima y Pasaje Clorinda Marín de Turner N° 2079 Urb. Chacra Ríos Norte - Lima
 • Central Telefónica (511) 425-6885 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico sagperu@sagperu.com

Página 1 de 1



ANEXO 07: PANEL FOTOGRÁFICO



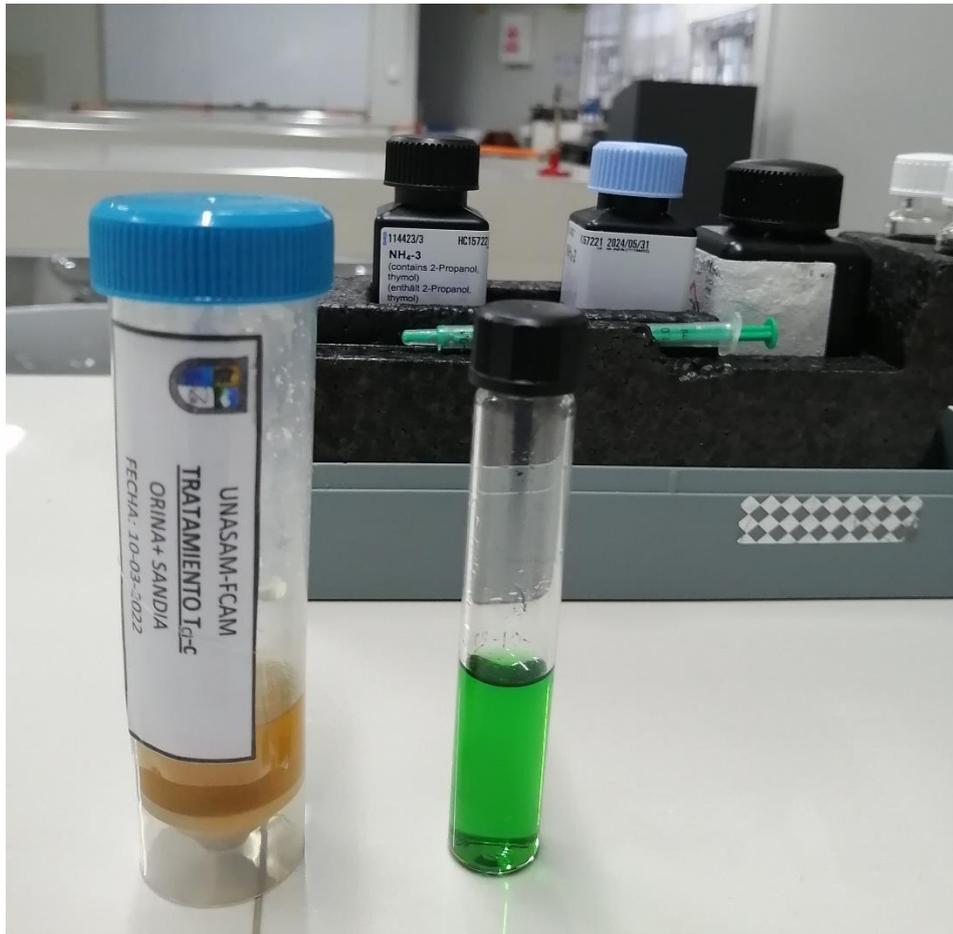


Figura 31. Medición de la concentración de amonio de la orina estabilizada con ureasa vegetal.



Figura 32. Medición de pH utilizando el multiparámetro.

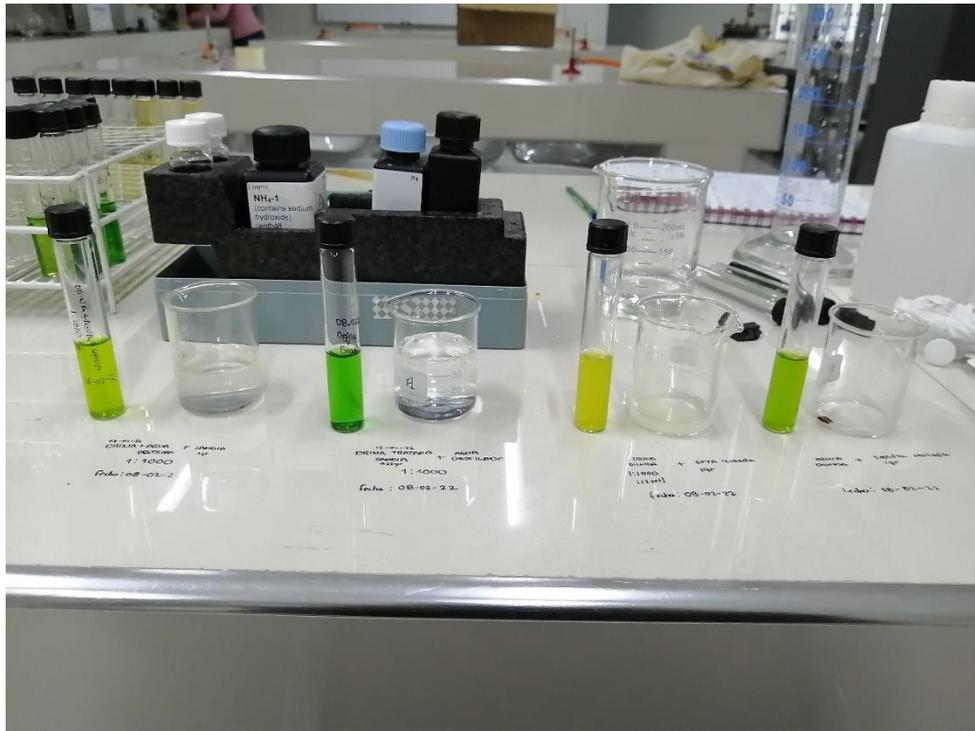


Figura 33. Ensayo para la determinación de concentración de amonio $[NH_4]$.



Figura 34. Ensayos desarrollados en el Laboratorio de Ciencias del Ambiente - FCAM – UNASAM



Figura 35. Preparación de medios de cultivos para analizar el nivel de higienización de la orina estabilizada.

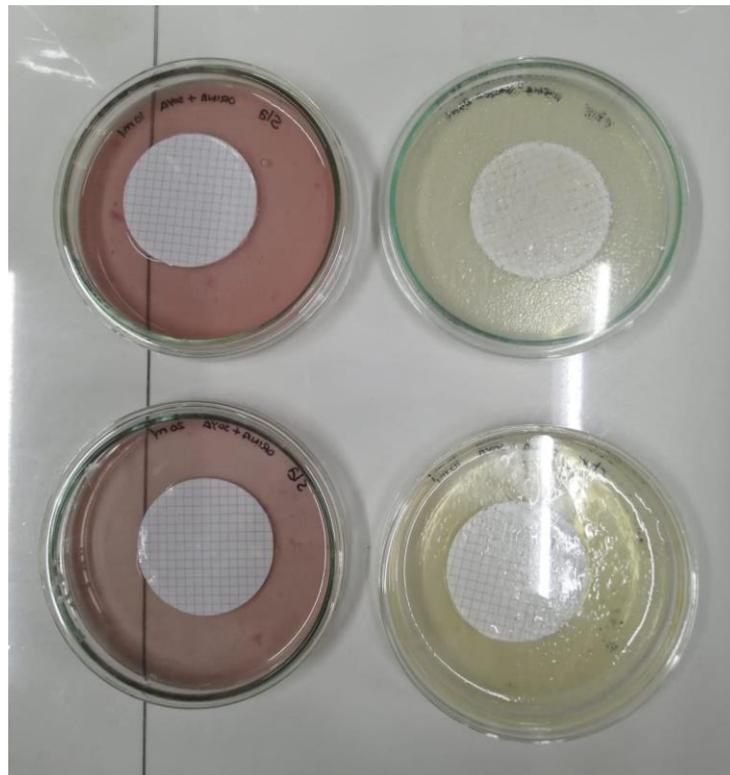


Figura 36. Resultados del nivel de higienización de la orina estabilizada con ureasa vegetal.