



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE
NITRIFICACIÓN DE AGUAS SERVIDAS
MEDIANTE HUMEDALES CONSTRUIDOS DE
FLUJO VERTICAL SUBSUPERFICIAL**

Presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, para
optar al título de Bioingeniero.

ANA MARÍA TRINIDAD LEIVA VENTURELLI

Tutora: Dra. Gladys Vidal

Co-Tutora: Dra. Carolina Reyes

Concepción, 2016

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Aguas servidas	3
1.2 Sistemas de tratamiento de aguas servidas.....	5
1.3 Humedales construidos	7
1.3.1 Clasificación de los Humedales construidos	8
1.3.2 Humedales construidos de Flujo Horizontal Subsuperficial.....	9
1.3.3 Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial.....	10
1.4 Tipos de Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial (HFVSS).....	12
1.4.1 Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial de carga intermitente.....	12
1.4.2 Humedales construidos de Flujo Subsuperficial Vertical con recirculación	13
1.4.3 Humedales construidos con flujo “tidal”	13
1.4.4 Humedales construidos con flujo vertical ascendente saturado (HCFVA)	14
1.4.5 Humedales construidos con flujo vertical descendente saturado (HCFVD)	14
1.5 Mecanismos de eliminación de contaminantes en Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial	15
1.5.1 Eliminación de sólidos suspendidos	15
1.5.2 Eliminación de materia orgánica	15
1.5.3 Eliminación de fósforo.....	17
1.6 Eliminación de nitrógeno	17

1.6.1	Nitrificación	18
1.6.2	Asimilación de nitrógeno por plantas	20
1.6.3	Adsorción	21
1.7	Hipótesis y Objetivos	22
1.7.1	Hipótesis	22
1.7.2	Objetivos	22
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
2.1	Obtención del influente	24
2.2	Descripción de los sistemas en estudio: HFVSS.....	24
2.3	Operación de los Humedales Construidos	26
2.4	Monitoreo del sistema en estudio.....	27
2.5	Evolución del crecimiento de las plantas	27
2.6	Métodos analíticos	27
2.6.1	Parámetros Físico-químicos.....	27
2.6.2	Ensayo de nitrificación estratificado.....	28
2.7	Metodología para el Balance de Nitrógeno.....	29
2.8	Análisis estadísticos	30
3.	RESULTADOS	31
3.1	Caracterización fisicoquímica de los influentes y efluentes	31
3.2	Eficiencia de eliminación de Materia Orgánica	34
3.3	Eficiencia de eliminación de amonio	37
3.4	Eficiencia de eliminación de Fósforo.....	39
3.5	Nitrificación	40
3.6	Evolución temporal del crecimiento de la planta <i>A.africanus</i>	46
3.7	Balance de nitrógeno.....	52
4.	DISCUSIÓN.....	57
4.1	Caracterización físico-química de los influentes	57
4.2	Eficiencia de eliminación de Materia Orgánica.....	58

4.3	Eficiencia de eliminación de amonio	60
4.4	Eficiencia de eliminación de Fósforo.....	61
4.5	Nitrificación	62
4.6	Efecto de la vegetación sobre las eficiencias de eliminación de materia orgánica, nutrientes y nitrificación.....	66
4.7	Cumplimiento de la normativa por parte de los efluentes generados	67
CONCLUSIONES		70
AGRADECIMIENTOS		71
BIBLIOGRAFÍA		72
ANEXOS		87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diseño y componentes de un humedal construido de flujo subsuperficial vertical.	11
Figura 2. Mecanismos de eliminación de nitrógeno en Humedales Construidos.....	18
Figura 3. Toma de muestra de efluente de HFHSS.	24
Figura 4. Esquema de los sistemas en estudio.	25
Figura 5. Sistema de HCFSSV a escala de laboratorio. a) Influyente del sistema almacenado en bidones opacos. b) Sistema de tubos perforado c) HCFSSV (HC-Aga y HC-Control) a escala de laboratorio. d) Sistema de llaves de salida. e) Efluente generado almacenado en bidones opacos.	26
Figura 6. a) Sistema de muestreadores en HC-Control destacándose H1:30,5 cm y H2: 60,3 cm b) Ejemplo de toma de muestra por medio de jeringa.	29
Figura 7. Eficiencia de eliminación de COT para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	34
Figura 8. Eficiencia de eliminación de DQO para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	35
Figura 9. Eficiencia de eliminación de DBO ₅ para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	36
Figura 10. Eficiencia de eliminación de N-NH ₄ ⁺ para el sistema HC-Control(□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	38
Figura 11. Eficiencia de eliminación de P-PT para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	39
Figura 12. Eficiencia de eliminación de P-PO ₄ ³⁻ para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	40
Figura 13. Concentración de N-NO ₃ ⁻ y N-NO ₂ ⁻ para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	41
Figura 14. a) Unidades de pH y b) Temperatura del sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.	42

Figura 15. a) Concentración de OD y b) POR para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapa de operación.....	43
Figura 16. Concentraciones de N-NH ₄ ⁺ , N-NO ₃ ⁻ y N-NO ₂ ⁻ para H1 (■) y H2 (■) en el sistema a) HC-Control y b) HC-Aga.	45
Figura 17. a) Concentración de OD y b) POR para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) en las alturas H1 y H2.....	46
Figura 18. Evolución temporal de la planta <i>A.africanus</i> durante el período de estudio.	47
Figura 19. Evolución del número de hojas de <i>A. africanus</i> durante el tiempo de operación del sistema HC-Aga para el tallo 1 (-●-) y el tallo (-◆-). (N° hojas totales= tallo 1 + tallo 2, -■-).	48
Figura 20. Imagen del tallo y raíz a) al comienzo de la operación. b) al término de la operación del sistema HC-Aga.	51
Figura 21. Balance de nitrógeno durante la primera etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.....	54
Figura 22. Balance de nitrógeno durante la segunda etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.....	55
Figura 23. Balance de nitrógeno durante la tercera etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de contaminantes en aguas servidas	4
Tabla 2. Estrategia operacional de ambos sistemas de humedales (H-Control y H-Aga).	26
Tabla 3. Caracterización físico-química de los influentes.	31
Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de los efluentes obtenidos para cada humedal durante las etapas de operación.	33
Tabla 7. Balance de Nitrógeno de los sistemas HC-Control y HC-Aga durante las distintas etapas de operación.....	52

ABREVIACIONES

AS	Aguas Servidas	
DBO ₅	Demanda Biológica de Oxígeno en 5 días	(mgO ₂ /L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mgO ₂ /L)
CSN	Carga Superficial de Nitrógeno	(g•N-NH ₄ ⁺ /m ² •d)
C/D	Con capacidad de dilución	
COT	Carbono Orgánico Total	(mg/L)
HC	Humedales construidos	
HC-Control	Humedal construido Control	
HC-Aga	Humedal construido plantado con <i>A. africanus</i>	
HFHSS	Humedal construido de Flujo Horizontal Subsuperficial	
HFVSS	Humedal construido de Flujo Vertical Subsuperficial	
HFS	Humedal construido de Flujo Superficial	
HFSS	Humedal construido de Flujo Subsuperficial	
HFVA	Humedal construido de Flujo Vertical Ascendente	
HFVD	Humedal construido de Flujo Vertical Descendente	
LD	Límite de Detección	
MO	Materia Orgánica	
MOP	Materia Orgánica Particulada	
MOD	Materia Orgánica Disuelta	
N	Nitrógeno	
N-NH ₄ ⁺	Amonio medido como Nitrógeno	(mg/L)
N-NO ₃ ⁻	Nitrato medido como Nitrógeno	(mg/L)
N-NO ₂ ⁻	Nitrito medido como Nitrógeno	(mg/L)
N-NT	Nitrógeno Total	(mg/L)
OD	Oxígeno Disuelto	(mgO ₂ /L)
P	Fósforo	
POR	Potencial de Óxido Reducción	mV
P-PO ₄ ³⁻	Fósforo del Fosfato	(mg/L)
P-PT	Fósforo Total	(mg/L)

PTAS	Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas	
S/D	Sin capacidad de dilución	
SS	Sólido Suspendidos	
SST	Sólidos Suspendidos Totales	(g/L)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	(g/L)
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico	(d)
ZPL	Zona de Protección Litoral	

RESUMEN

Los Humedales Construidos de Flujo Vertical Subsuperficial han sido utilizados para la eliminación de nitrógeno principalmente en zonas rurales de Europa, ya que proporcionan un medio con condiciones aeróbicas que promueve la eliminación de amonio por medio de la nitrificación. Además, se trata de una tecnología de fácil operación, de bajo consumo energético y de buena integración en el ambiente.

En este trabajo, se implementaron 2 sistemas de Humedales construidos de Flujo Subsuperficial Vertical a escala de laboratorio, uno plantado con *A.africanus* (HC-Aga) y otro control sin vegetación (HC-Control), con el objetivo de estudiar la nitrificación. Para eso, en primer lugar, se procedió a evaluar las eficiencias de eliminación tanto de materia orgánica como nutrientes a diferentes cargas de nitrógeno amoniacal. Luego, a través de un análisis a diferentes alturas, se determinó dónde y cómo ocurre el proceso de nitrificación. Finalmente, se analizó el efecto de la vegetación sobre los procesos de eliminación y de nitrificación.

Tanto HC-Control como HC-Aga, lograron eficiencias de materia orgánica, amonio y fósforo de 50, 70 y 60% promedio durante todas las etapas de operación. En cuanto a la nitrificación, un 90% del nitrógeno amoniacal fue transformando a nitrato o nitrito, lo que demuestra que este mecanismo predomina en la eliminación de nitrógeno en ambos sistemas. Este estudio, sugiere además que este proceso ocurre en los primeros 30,5 cm de ambos humedales producto de las condiciones de oxigenación y de alto contenido de nutrientes en la superficie de lecho. Finalmente, se puede constatar que *A.africanus* no influyó en los procesos de eliminación ni nitrificación, ya que no existen diferencias significativas entre HC-Control y HC-Aga.

A pesar que el efecto de la vegetación no haya sido el esperado, el sistema propuesto por este trabajo podría ser una alternativa de tratamiento para eliminar el contenido de nitrógeno presente en las aguas servidas rurales.

ABSTRACT

The use of vertical subsurface flow constructed wetland are becoming very popular for domestic wastewater treatment in Europe rural regions because the oxygen transfer from the atmosphere to the system allows an effective nitrogen removal through nitrification. Moreover, this technology is an energy-efficient method which is very easy to operate and improves the treatment system landscape.

A two vertical constructed wetland were operated to study nitrification and for this, one of them was planted with *A.africanus* (CW-Aga) and the other was unplanted (CW-Control). In the first place, the performances of the planted and unplanted wetlands with different nitrogen loading rates to organic and nutrients removal, were evaluated. Then, for understand the nitrification mechanism, this process was studied in different height of wetlands. Finally, to analyze the influence of plant on removal and nitrification process, both wetlands were compared.

With different nitrogen loading rates, average removal efficiency of organic matter, ammonia nitrogen and phosphorous for CW-Control and CW-Aga were 50%, 70% and 60%, respectively. On the other hand, nitrification was obtained and was the principal nitrogen removal mechanism because in both wetlands systems, 90% of ammonia nitrogen was converted to nitrate or nitrite nitrogen.

This study suggest that this process is achieved in the first zone of wetlands (30,5 cm) where higher oxygen transfer rates and nutrients are provided. On the other hand, there were no significant differences in all removal pollutants and nitrification process between CW-Control and CW-Aga, which probes that there is any influences of plants. Despite this problem, the vertical wetlands systems presented in this work would be a good treatment alternative to solve nitrogen problems in Chile rural areas.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento esencial para la vida y desempeña un papel fundamental en el funcionamiento apropiado de los ecosistemas; sin embargo, el crecimiento constante de la población mundial, el cambio climático, la urbanización, la intensificación de la agricultura y la actividad industrial, han provocado un aumento de la producción de aguas servidas (AS) contribuyendo a la crisis de la calidad de agua y al agotamiento de este recurso a nivel mundial (ONU, 2005).

Según datos establecidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación y Diversificación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), sólo el 20% del total de las AS producidas globalmente reciben un tratamiento adecuado, por lo que el 80% restante son descargadas directamente a los diversos cuerpos de aguas generando un impacto directo en la salud humana y en el medio ambiente (UNESCO, 2012). Esta situación revela la urgencia de establecer una gestión eficaz de las AS utilizando diversos tipos de tratamientos para reducir la contaminación de las aguas (UN-Water, 2015).

1.1 Aguas servidas

Las AS corresponden a una mezcla compleja de residuos líquidos originados a partir de las diferentes actividades humanas, los cuales son dispuestos a través de sistemas de alcantarillado mixto y/o segregados. Se entiende por sistema de alcantarillado mixto, al sistema que recibe una mezcla de AS, las cuales pueden ser de origen doméstico, industrial, agua de infiltración y agua lluvia; por otro lado un sistema de alcantarillado segregado, recibe AS de origen doméstico o industrial (Metcalf y Eddy, 2003).

Cada AS presenta propiedades, caudal y características fisicoquímicas propias, las cuales dependen de factores tales como densidad poblacional, características socioeconómicas y culturales de la población y del sistema de recolección de las AS (Ramalho, 1990). De acuerdo a su origen, las AS se pueden clasificar en AS de tipo urbana y/o rural en relación a dos criterios. El primero de ellos hace referencia a la producción considerando que menos de 3800 m³ por día generados por una población

corresponden a AS de tipo rural (USEPA, 2000). Mientras que el segundo criterio, tiene relación con la población, se consideran AS rurales aquellas que son producidas por poblaciones inferiores a 2000 habitantes equivalentes (EU 91/271, 1991). Por su parte, en Chile, según el Instituto Nacional de Estadística (INE, 2002), las AS de tipo rural se originan en asentamientos concentrados o dispersos que poseen una población de menos de 1000 habitantes.

Los principales contaminantes que conforman las AS son objetos gruesos (trozos de madera, plásticos, etc.), grasas y aceites, sólidos en suspensión (SS), materia orgánica (MO) biodegradable y refractaria, nutrientes tales como nitrógeno (N) y fósforo (P), contaminantes emergentes y/o prioritarios (fármacos, pesticidas, agentes ignífugos, etc.), metales pesados, microorganismos patógenos (virus, bacterias y patógenos) y sólidos inorgánicos disueltos. Todos estos contaminantes pueden generar riesgos a la salud de las personas y afectar los ecosistemas acuáticos y su entorno (CENTA, 2008). En la Tabla 1, se resume los diferentes rangos de concentraciones para los principales constituyentes de las AS de tipo urbano y rural.

Tabla 1. Concentración de contaminantes en aguas servidas; modificada de Henze y col., 2002 y Vera, (2012).

Parámetro (mg/L)	Tipo de asentamiento	
	Urbano	Rural
DQO	100-800	200-470
DBO₅	210-1610	600-1570
SST	120-450	100-500
N-NT	20-85	35-100
P-PT	4-23	10-35
N-NH₄⁺	12-50	6-66
P-PO₄³⁻	3-14	6-30

Nota: DQO: demanda química de oxígeno; DBO₅: demanda biológica de oxígeno; SST: sólidos suspendidos total; N-NT: nitrógeno total; P-PT: fósforo total; N-NH₄⁺: amonio y P-PO₄³⁻: fosfato.

En particular, dentro de este grupo, se destaca el N, el cual si es descargado en altas concentraciones a ríos, lagos y océanos puede causar eutrofización y un incremento significativo en la frecuencia de proliferaciones de algas nocivas, provocando efectos negativos para las cadenas tróficas presentes en estos ambientes (Galloway y col., 2003; 2004; Lin y col., 2009). Debido a las graves consecuencias que tienen las descargas de AS con un alto contenido de N en los diversos ecosistemas, es que la eliminación de este componente ha sido actualmente uno de los desafíos primordiales en las diversas plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS) a nivel mundial.

En Chile, el nivel de cobertura de tratamiento de AS en zonas urbanas es cercano al 99,93% (SISS, 2014); sin embargo la situación con respecto a la implementación de tratamientos eficaces en la eliminación de N, es muy reducida. Sólo un 8% de las PTAS existentes, poseen algún tipo de tratamiento terciario y sólo el 65% de ellas cuenta con tecnologías para eliminar N (Baraño y Tapia, 2004). En zonas rurales o de baja densidad poblacional sólo el 14 % de la población cuenta con sistemas de recolección y disposición de AS. Además, se ha determinado que casi la totalidad de los efluentes generados por estas PTAS no cumplen con la normativa establecida de descarga a cuerpos de agua, lo que hace suponer que no existe un control de las concentraciones de N vertidos (Rodríguez, 2012).

1.2 Sistemas de tratamiento de aguas servidas

El vertido de AS sin tratar puede generar serios riesgos para la salud humana y afectar la calidad del cuerpo de agua receptor; razón por la cual el tratamiento de las AS cobra gran importancia. El objetivo principal de estos sistemas es eliminar la mayor cantidad de contaminantes químicos y microbiológicos presentes en las AS, utilizando para ello procesos físicos, químicos y biológicos (Romero, 2004). Estas tecnologías se clasifican en tratamientos convencionales y en sistemas de tratamientos naturales o no convencionales.

Los sistemas de *tratamiento convencionales*, son aquellos en los cuales los procesos transcurren de forma secuencial en tanques y/o reactores a velocidades aceleradas gracias al aporte externo de energía (Metcalf y Eddy, 2003); en este tipo de

tratamiento, se pueden llevar a cabo los siguientes procesos: pre-tratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario, tratamiento terciario.

El objetivo del tratamiento primario es la eliminación de materia sedimentable y flotante mediante procesos físicos y químicos. Por su parte, el tratamiento secundario tiene como finalidad la eliminación de compuestos solubles presentes en las AS, siendo principalmente aplicada para la eliminación de MO; en esta etapa la depuración del AS ocurre a través de procesos biológicos. Finalmente, el tratamiento terciario tiene como objetivo, la eliminación de SS, MO residual, nutrientes (N y P) y microorganismos patógenos, a través de procesos físicos, químicos y biológicos (USEPA, 2004).

La principal ventaja que poseen este tipo de sistema tratamiento es que presentan una eliminación eficiente de contaminantes, del orden de un 90 a 99% para SS y 80 a 90 para DBO₅ (Lee y col., 2009); sin embargo, conllevan un elevado consumo energético y aporte de oxígeno, lo que se traduce en un alto costo de operación (Moreno y col., 2003).

En Chile, sólo un 11% de las PTAS presentan tratamiento primario, de las cuales el 90% utiliza la sedimentación. En relación al tratamiento secundario, la tecnología de lodos activados predomina con un 66%. Finalmente, el 90% de las PTAS cuenta con una etapa de desinfección final de sus efluentes dentro de las cuales un 76% del total corresponde a la utilización de la tecnología de cloración y el 24% restante, a la desinfección por medio de rayos ultravioleta (UV) (Baraño y Tapia, 2004).

Por su parte, en los sistemas de *tratamientos no convencionales*, la eliminación de los contaminantes presentes en las AS se logra a través de mecanismos y procesos naturales los cuales no requieren de energía externa ni de aditivos químicos; en estos sistemas gran parte de los procesos de descontaminación son ejecutados por sinergia de diferentes comunidades de microorganismos (García y Corzo, 2008). Los sistemas no convencionales, presentan un bajo consumo energético, son simples de operar y presentan una buena integración con el entorno; sus principales desventajas son la necesidad de una mayor superficie de terreno, menores eficiencias de eliminación de contaminantes y una larga puesta en marcha (García y col., 2004).

Dependiendo de su modo de aplicación, los sistemas de tratamiento no convencionales pueden clasificarse en los métodos de tratamiento mediante aplicación en el terreno y/o sistemas acuáticos. En los sistemas de aplicación en terreno, la depuración se lleva a cabo a través de procesos físicos, químicos y biológicos naturales en los que participan tanto la vegetación, el agua y suelo. En este tipo de tratamiento, el suelo cumple las funciones de ser el medio receptor de las AS y ser el agente activo en el cual se lleva a cabo el proceso de depuración eliminando nutrientes, MO y otros componentes. Existen diferentes tipos tales como: filtros verdes, infiltración rápida, escorrentía superficial, lecho de turba y/o arena (Moreno y col., 2003). Por otro lado, en los sistemas acuáticos, la depuración de las AS se realiza sobre la masa de agua y por acción de la población microbiana que habita en las raíces de las plantas. Los sistemas más empleados son: lagunajes, cultivos acuáticos y humedales construidos (HC) (Metcalf y Eddy, 2003).

Ante la precaria situación y la necesidad de establecer sistemas de tratamientos que sean eficientes, de bajo costo y de fácil operación para las zonas rurales, es que surgen como alternativa dentro de los tratamientos no convencionales, los HC. Esta tecnología ha sido ampliamente utilizada en Europa, principalmente para tratar los efluentes generados provenientes de zonas rurales, alcanzando eficiencias de eliminación de N del orden de un 90% (Vymazal, 2007).

1.3 Humedales construidos

Los sistemas de HC son sistemas de ingeniería diseñados y desarrollados por el hombre, que simulan los procesos de eliminación de contaminantes que ocurren en la naturaleza, controlando distintos parámetros operacionales. Estos sistemas consisten en lagunas o canales poco profundos (inferior a 1 m) plantados con vegetación propia de zonas húmedas (plantas macrófitas), en los cuales tienen lugar una serie de interacciones entre el agua, sustrato (lecho del humedal), microorganismos y las plantas, logrando depurar de manera natural las AS (USEPA, 2000; García y Corzo, 2008). En comparación a los sistemas convencionales de tratamiento, los HC son tecnologías de bajo costo, de fácil operación y mantención, presentan un bajo consumo energético y

poseen una buena integración en el paisaje. Todas estas características le otorgan a estos sistemas un gran potencial para ser implementados en comunidades rurales de baja densidad poblacional (Kivaisi, 2001; Greenway, 2005). Sin embargo, la colmatación del medio granular y una larga puesta en marcha, son unas de las principales desventajas que presentan este tipo de tratamiento (Stefanakis y col., 2014).

Durante décadas, los HC han sido utilizados principalmente para el tratamiento de AS de origen doméstico y municipal (Vymazal, 2008, 2011); sin embargo, recientemente, se han empleado para el tratamiento de AS de origen industrial (Calheiros y col., 2009) y agrícola (Gottschall y col., 2007; Neubauer y col., 2012; Plaza de los Reyes y col., 2014). Actualmente, una de las nuevos campos de aplicación de los HC se ha enfocado en el área de la bioelectroquímica, siendo utilizados como celda de combustible microbiana que permiten tratar las AS y producir electricidad a partir de la oxidación de contaminantes orgánicos (Villaseñor y col., 2013).

1.3.1 Clasificación de los Humedales construidos

Los HC se pueden clasificar de acuerdo a su hidrología en sistemas de Flujo Superficial (FS) o Flujo Subsuperficial (FSS); en función al tipo de crecimiento de las plantas (macrófitas emergentes, sumergidas y flotantes) y finalmente según la trayectoria del flujo (horizontal o vertical). Además, se pueden combinar los distintos tipos de humedales mencionados formando sistemas híbridos que utilizan las ventajas de cada sistema en el tratamiento de las AS (Vymazal, 2005).

En los *Humedales construidos de Flujo Superficial (HFS)*, el agua está expuesta directamente a la atmósfera y circula preferentemente a través de los tallos de las macrófitas, las cuales pueden ser de tipo emergente, sumergidas o flotantes (García y col, 2004). El agua ingresa al sistema y fluye horizontalmente a lo largo del lecho del humedal; la depuración del AS se lleva a cabo a través de procesos físicos (sedimentación, filtración), químicos (adsorción, volatilización) y biológicos (degradación microbiana, transformación de nutrientes y captación de nutrientes por las raíces) lo que se traduce en una efectiva eliminación de compuestos orgánicos y de SS volátiles del orden de un 70% (USEPA, 2000; Kadlec, 2009; Vymazal, 2011). Los

HCFS se han aplicado en diferentes etapas del tratamiento de AS; actualmente, se ha evaluado su eficiencia de uso como tratamiento terciario, específicamente para la eliminación de patógenos y metales pesados debido a la exposición a la radiación UV que proporcionan esta tecnología (Ghermandi y col., 2007).

En los *Humedales construidos de Flujo Subsuperficial (HFSS)*, la circulación del agua ocurre de manera subterránea (con una profundidad de la lámina de agua de alrededor de 0,6 m), a través de un medio de soporte, en contacto con las raíces y rizomas de las macrófitas (García y Corzo, 2008; Vera y col., 2011). La eliminación de los contaminantes, ocurre principalmente por acción de la biopelícula que se desarrolla en la superficie del medio y las raíces de las plantas (Kadlec y Wallace, 2009). Los HCFSS son uno de los sistemas más comúnmente utilizados en Europa (Piugagut y col., 2007), ya que presentan una serie de ventajas frente a los HCFS como son la disminución de malos olores y la presencia de vectores, protección térmica y una mayor área superficial disponible para el tratamiento y crecimiento de biopelículas sobre el medio poroso y las raíces de las macrófitas (García y col., 2004; García y Rodríguez, 2005).

A su vez, los HCFSS se pueden clasificar de acuerdo al modo de alimentación, el que puede ser de flujo horizontal (HFHSS) o vertical (HVFSS).

1.3.2 Humedales construidos de Flujo Horizontal Subsuperficial

Los HFHSS consisten en un lecho rectangular plantado con vegetación emergente, donde el agua es alimentada por un extremo del sistema y fluye lentamente, siguiendo una trayectoria horizontal por debajo de la superficie a través del medio poroso para ser recolectada finalmente a la salida del sistema (Vymazal, 2005). Debido a que son continuamente alimentados, se originan al interior de los humedales diversos microambientes como son zonas aeróbicas, anóxicas y anaeróbicas; predominando este último ambiente, debido a la saturación constante del medio favoreciendo la digestión anaeróbica de los compuestos orgánicos. De la misma forma, las raíces y rizomas proporcionan oxígeno al medio de soporte generando zonas aeróbicas, lo que permite la ocurrencia de fenómenos de degradación aeróbica. Por otro lado, estas condiciones de

baja disponibilidad de oxígeno ayudan a que se lleve a cabo el proceso de desnitrificación para la eliminación de N (Vymazal, 2010).

Actualmente estos humedales son utilizados como tratamiento secundario para AS de origen municipal debido a que alcanzan eficiencias de eliminación para SS, MO, N y P del orden de un 80%, 83%, 40% y 42% respectivamente (Wallace y Knight, 2006).

1.3.3 Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial

Durante décadas, los HFHSS han sido el tipo de humedales más estudiados. No obstante, el estudio de los HFVSS ha alcanzado un gran interés, ya que son una alternativa para la obtención de efluentes totalmente nitrificados gracias a la mayor tasa de transferencia de oxígeno que proporciona al medio (Green, 1996; Cooper, 1999), permitiendo así la eliminación parcial de N.

En el caso de los HFVSS, el agua es alimentada de manera intermitente sobre la superficie del lecho, inundando por completo la superficie y luego, por gravedad percola y drena de manera vertical a través del medio poroso (Stefanakis y col., 2014). Esta característica permite que el aire llene los poros vacíos del sustrato dentro del lecho mejorando así la transferencia de oxígeno desde la atmósfera al sistema (Prochaska y col., 2007) logrando una tasa de 10 a 24 mg O₂/m²·d (Cooper, 2005). Esta forma de alimentación es importante para el tratamiento, ya que promueve condiciones aeróbicas para la oxidación de N-NH₄⁺ y la descomposición de MO. Sin embargo, estas condiciones no favorecen la desnitrificación (Vymazal, 2008, Plaza de los Reyes y col., 2011). En la Figura 1, se presenta un esquema de un HFVSS y sus principales componentes.

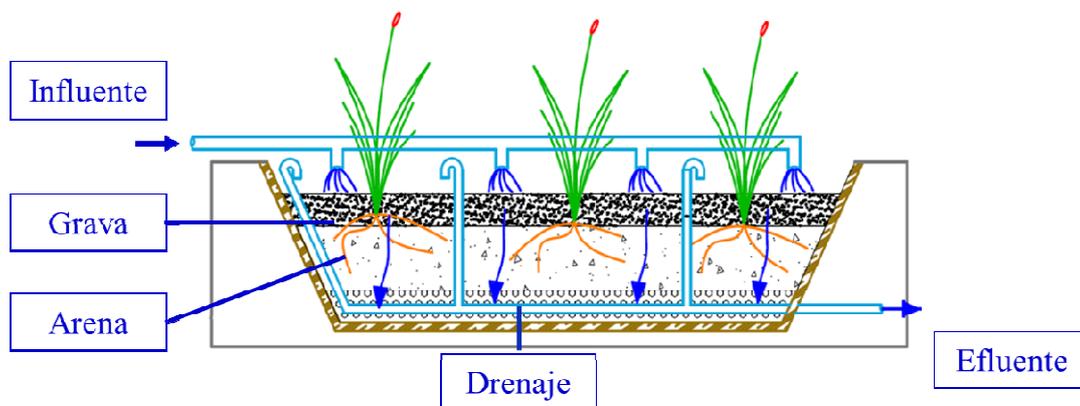


Figura 1. Diseño y componentes de un humedal construido de flujo vertical subsuperficial, modificado de Vymazal (2007).

En los HFVSS, el tratamiento de las AS se realiza gracias a las interacciones físicas, químicas y biológicas entre los distintos componentes del humedal (agua, medio de soporte, vegetación y microorganismos). La biopelícula formada tanto en el medio de soporte como en la rizósfera de las macrófitas, contiene una densa y rica flora microbiana que permite llevar a cabo procesos de eliminación mediada por microorganismos, en paralelo a la ocurrencia de procesos de filtración, sedimentación, absorción y adsorción (García y Corzo, 2008; Kadlec y Wallace, 2009; Vymazal, 2011).

La elección del medio granular es importante, ya que afecta a la tasa de transferencia de oxígeno y a la capacidad hidráulica (Cooper, 2005). Generalmente, la configuración del sistema consiste en un lecho compuesto por 3 capas (grava, arena), las cuales aumentan de tamaño con la profundidad del humedal permitiendo así la correcta circulación del AS en el sistema (Vymazal y col., 2007). En primer lugar se encuentra la capa de aplicación que está constituida por un material granular de alrededor de 6 mm; seguido por la capa de transición para finalmente llegar a la capa de drenaje que posee un material granular de mayor tamaño que la primera (Plaza de los Reyes y col., 2011).

En cuanto a las características hidráulicas, algunos autores determinan que para este tipo de humedales, los valores de carga orgánica promedio, ya sea expresado en

demanda biológica de oxígeno (DBO_5) o demanda química de oxígeno (DQO), deben variar entre los 20-30 $g \cdot DBO_5/m^2 \cdot d$ o 80 $g \cdot DQO/m^2 \cdot d$, mientras que la carga hidráulica debe bordear los 0,05 m/d (Stefanakis y col., 2014). En relación a la carga de N recomendada para los HFVSS y el tiempo de retención hidráulico (TRH), el primer parámetro se posiciona entre 2,8 a 30 $g \cdot NT/m^2 \cdot d$ mientras que el segundo alcanza valores de 1-2 d (Plaza de los Reyes y col., 2011).

Al comparar los HFVSS con los HFHSS, se constata que la primera variante requiere de una menor superficie de terreno 1-3 m^2/PE en comparación a los 5-10 m^2/PE necesitados por los sistemas horizontales (Cooper, 1999); además, presentan una mayor capacidad de tratamiento (27 -1500 mm/d) (Plaza de los Reyes y col., 2011). Sin embargo los costos de mantenimiento son más altos en un HFVSS que en un HCSFFH (Vymazal, 2008) y la eficiencia de eliminación de contaminantes se ve limitada por la obstrucción generada en el sustrato de filtración ocasionando la colmatación del sistema (Vymazal, 2011).

1.4 Tipos de Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial (HFVSS)

De acuerdo a la dirección del flujo a lo largo del eje vertical, altura de la lámina de agua y TRH, este tipo de humedales presenta las siguientes variaciones.

1.4.1 Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial de carga intermitente

Éste es probablemente el modo de operación más comúnmente utilizado en Europa para este tipo de configuración, el cual se caracteriza por presentar etapas de inundación y drenaje. Durante la primera etapa, las AS son aplicadas en largos volúmenes sobre la superficie del lecho por cortos periodos de tiempo provocando la saturación temporal del medio de soporte (Stefanakis y Tsihrantzis, 2009). Luego, ocurre el drenaje vertical del agua por gravedad a través del medio poroso generando la entrada de aire desde la atmósfera al sistema y llenando así los espacios vacíos del medio (Cooper, 1999). Con este modo de operación, la aireación es mejorada favoreciendo la actividad de las bacterias nitrificantes que promueven los mecanismos de oxidación del

N-NH_4^+ . Cuando se ha alcanzado un drenaje completo del sistema, algunos autores recomiendan aplicar un período adicional para restaurar las condiciones aeróbicas permitiendo la oxidación de la MO acumulada y así prevenir la obstrucción del medio de soporte (Stefanakis y col., 2014). No obstante, una de las principales desventajas de los HFVSS con carga intermitente, es el corto tiempo de contacto entre las AS y el medio de soporte (Stefanakis y col., 2014). Existen diferentes variaciones en este tipo de humedales y un ejemplo de ello son los HFVSS implementados en Francia, conocido como “sistema Francés” que se diferencian por el tipo de sustrato implementado y por utilizar AS crudas (sin pre-tratamiento y/o tratamiento primario) como alimentación de los humedales (Molle y col., 2005, 2006).

1.4.2 Humedales construidos de Flujo Subsuperficial Vertical con recirculación

La recirculación parcial de los efluentes también se ha utilizado en los HFVSS, ya que su aplicación consigue un mayor tiempo de contacto entre las AS y la biopelícula formada tanto en la rizosfera como en el medio de soporte lo que se traduce un aumento en la concentración de oxígeno disponible y por lo tanto de una mayor actividad aeróbica de las bacterias (Sun y col., 2003). Estudios han demostrado que la recirculación de efluentes tratados y nitrificados provenientes de HFVSS, aumenta la eliminación de nitrógeno total (N-NT) mediante la desnitrificación (Arias y col., 2005; Wu y col., 2014) por lo que este tipo de sistema ha demostrado ser una solución real para el tratamiento de AS de origen doméstico para pequeñas comunidades (García-Pérez y col., 2011).

1.4.3 Humedales construidos con flujo “tidal”

Por otra parte, los HC con flujo “tidal” proporcionan un nuevo método de transferencia de oxígeno al lecho del humedal (Wu y col., 2011). Su operación consiste en alternar períodos de inundación y drenaje del medio de soporte. Cuando ocurre el proceso de llenado, el aire es repelido desde la matriz a medida que aumenta el nivel de las AS que entran sistema, generando así un ambiente saturado. Asimismo, cuando el sistema es drenado, el AS tratada actúa como una bomba pasiva que conduce el aire

desde la atmósfera hacia el lecho del humedal, produciéndose ciclos de “llenado y vaciado” en el humedal, obteniendo así una mejora en la eliminación de DBO_5 a través de mecanismos de descomposición aeróbica, como en la eliminación de N a través del proceso de nitrificación. Esto se debe principalmente al máximo tiempo de contacto entre los contaminantes y la biopelícula y a un aumento de la tasa de transferencia de oxígeno durante la operación (Sun y col., 2005; Austin, 2006).

1.4.4 Humedales construidos con flujo vertical ascendente saturado (HCFVA)

En este tipo de sistema, el agua es introducida por la parte posterior del lecho, por donde fluye gradualmente de manera ascendente a través de las capas del medio poroso llegando a la superficie del humedal donde el efluente generado es recolectado (Ghosh y Gopal, 2010). Esta trayectoria genera un aumento de la concentración de oxígeno disponible con respecto a la altura del humedal; produciéndose zonas aeróbicas en la parte superior y anaeróbicas en la posterior, las cuales presentarán distintos tipos de microorganismos que lleven a cabo la degradación de los contaminantes (Stefanakis y col., 2014). Una de las principales ventajas de este modo de operación es la aplicación de un mayor tiempo de residencia, el cual permite un mayor contacto entre las AS y los diferentes componentes del sistema (Moreno y col., 2003).

1.4.5 Humedales construidos con flujo vertical descendente saturado (HCFVD)

Esta variante se diferencia de los HCFVA solamente en que el influente es alimentado por la parte superior de humedal con una distribución uniforme. Al igual que en el anterior, el oxígeno disponible varía con la altura del lecho, en este caso, las AS se encuentran inicialmente con un ambiente con condiciones aeróbicas y a medida que desciende, las condiciones se vuelven cada más anaeróbicas (Zhao y col., 2011).

Debido a las características aeróbicas del medio que proporcionan predominantemente los HCFVD y anaeróbicas, los HFVA, es que se han combinado de forma paralela ambos sistema, lo que se conoce como sistemas integrados. En relación a los procesos de eliminación de N, estos proporcionan, en una primera etapa, las condiciones de oxígeno ideales para llevar a cabo la nitrificación mientras que en una

segunda etapa, ocurriría la de desnitrificación (Zhao y col., 2011; Chang y col., 2012). Gracias a estas características es que se han utilizado la restauración ecológica de cuerpos de agua eutrofizados (Wu y col., 2009).

1.5 Mecanismos de eliminación de contaminantes en Humedales construidos de Flujo Vertical Subsuperficial

1.5.1 Eliminación de sólidos suspendidos

Los procesos físicos que contribuyen mayormente a la eliminación de SS son la sedimentación y filtración, los cuales tiene lugar en los primeros centímetros, cercanos a la entrada del humedal (Brix, 1993). Por su parte, los sólidos no sedimentables o coloidales son removidos por degradación microbiana o por colisiones con otras superficies sólidas como plantas, SS y bordes del lecho (Vymazal y col., 1998). Se ha reportado que estos sistemas de humedales alcanzan eficiencias de eliminación del orden de un 90% (Gikas y col., 2011). No obstante, este rendimiento se puede ver afectado por la acumulación de MO en el medio de soporte, proceso conocido como colmatación. (Cooper 1999; Lianfangy col., 2009).

1.5.2 Eliminación de materia orgánica

Por su parte, la MO juega un rol importante en los procesos biogeoquímicos llevados a cabo en los HC ya que afecta las interacciones químicas y la disponibilidad biológica de oligoelementos y compuestos orgánicos sintéticos que ocurren dentro de estos sistemas (Barber y col., 2001). Los mecanismos que permiten su eliminación son muy complejos, ya que participan un conjunto procesos bióticos y abióticos. Además, debido a las distintos microambientes (aeróbico y anaeróbico) existentes en los HFVSS, existe una gran diversidad de microorganismos que crecen e interaccionan, los cuales, contribuyen en gran medida a la eliminación de MO (Bitton, 2002). La MO presente en los HC se encuentra como Materia Orgánica Particulada (MOP), la cual es eliminada principalmente por procesos físicos como sedimentación y floculación y Materia Orgánica Disuelta (MOD) la cual es eliminada por procesos mediados por microorganismos (Imfeld y col., 2009).

Como se mencionó anteriormente, gracias a la forma que son alimentados los HFVSS, la eliminación de la MO ocurre por medio de respiración aeróbica realizada por el metabolismo de las bacterias heterótrofas que utilizan el oxígeno como último aceptor de electrones (Ecuación 1). Muchas de estas bacterias son facultativas en relación al aceptor de electrones y pueden utilizar tanto el $N-NO_2^-$ como el $N-NO_3^-$ cuando el oxígeno es depletado (García y col., 2010).



Por otro lado, en las zonas localizadas en la parte inferior de los HFVSS se desarrolla un ambiente anaeróbico donde la MO es degradada por bacterias heterótrofas anaeróbicas estrictas o facultativas. Este proceso es muy complejo, ya que se realiza en múltiples etapas donde participan distintos tipos de bacterias actuando como un consorcio bacteriano (Aguirre, 2004). En la primera etapa, se genera la hidrólisis de las macromoléculas (MO de alto peso molecular), para luego continuar con la fase fermentativa (Ecuación 2, 3 y 4), acetogénica, sulfatoreductora (Ecuación 5) y finalmente, la metanogénica (Ecuación 6). Sin embargo, es importante destacar que en los HFVSS este proceso contribuye en menor medida a la degradación de la MO (Vymazal, 1998, 2005).



Gracias a los mecanismos que permiten la eliminación de la MO, se ha reportado que los HFVSS alcanzan eficiencias de eliminación del orden de un 80-90 % (Weedon, 2003, Tao y col., 2009).

1.5.3 Eliminación de fósforo

Durante las últimas décadas uno de los desafíos que presentan los HC, ha sido obtener eficiencias de eliminación de P satisfactorias (superiores al 50%). P es principalmente eliminado mediante procesos abióticos, en los cuales el P se une al medio de soporte del humedal producto de reacciones de adsorción y precipitación con el calcio (Ca), aluminio (Al) y hierro (Fe) presentes en la arena o grava del medio de sustrato. Por lo tanto, la eliminación está limitada por la capacidad del medio de sustrato utilizado para adsorber, unir y precipitar el P (Brix y col., 2001). Por otro lado, el crecimiento de la biopelícula sobre el medio de soporte afecta la eficiencia de eliminación de P, ya que reduce el contacto y las interacciones entre el material de soporte y P presente en las AS. A su vez, con el paso del tiempo, las eficiencias de eliminación decrecen producto de la saturación del medio de soporte. Es por eso que se han estudiado distintos materiales como vermiculita y zeolita para mejorar dicha problemática (Arias y Brix, 2005).

Existen también otro tipo de mecanismos que permiten remover el P presente de las AS que incluye la asimilación por las plantas y microorganismos y la mineralización de vegetación y del P orgánico (Sakadevan y Bavor, 1998; Aguirre, 2004). En cuanto a las eficiencias de eliminación alcanzadas por HFVSS, se han reportado valores que oscilan entre un 40 y 60% de (Leuderitz y col., 2001; Arias y col., 2003; Morari y Giardini, 2009; Vohla y col., 2011).

1.6 Eliminación de nitrógeno

En particular, en los HC el N se puede encontrar tanto en su forma orgánica como inorgánica. El N orgánico puede estar presente como aminoácidos, urea, ácido úrico, pirimidinas y purinas mientras que el inorgánico se encuentran como amonio ($N-NH_4^+$), nitrito ($N-NO_2^-$), nitrato ($N-NO_3^-$), amoniaco ($N-NH_3$), N gaseoso (N_2), óxido nitroso (N_2O) y óxido nítrico (NO_2) (Saeed y Sun, 2012). En cuanto a la eficiencia de eliminación de las diversas formas de N, se han reportado rendimientos entre un 50-90% para $N-NH_4^+$ (Gikas y Tsihrintzis, 2012; Stefanakis y Tsihrintzis, 2012) y alrededor de un 50% para el N-NT (Weedon, 2003).

Asimismo, en los HC la transformación y eliminación de N es llevada a cabo por diversos mecanismos que se destacan en la Figura 2. Diversos estudios, reportan que procesos como nitrificación parcial, annamox y canon contribuyen en menor grado a la eliminación de N (Dong y Sun, 2007; Zhang y col., 2011). En este trabajo, sólo se abordarán los mecanismos principales de eliminación llevados a cabo en HFVSS como son la nitrificación, asimilación por las plantas y adsorción.

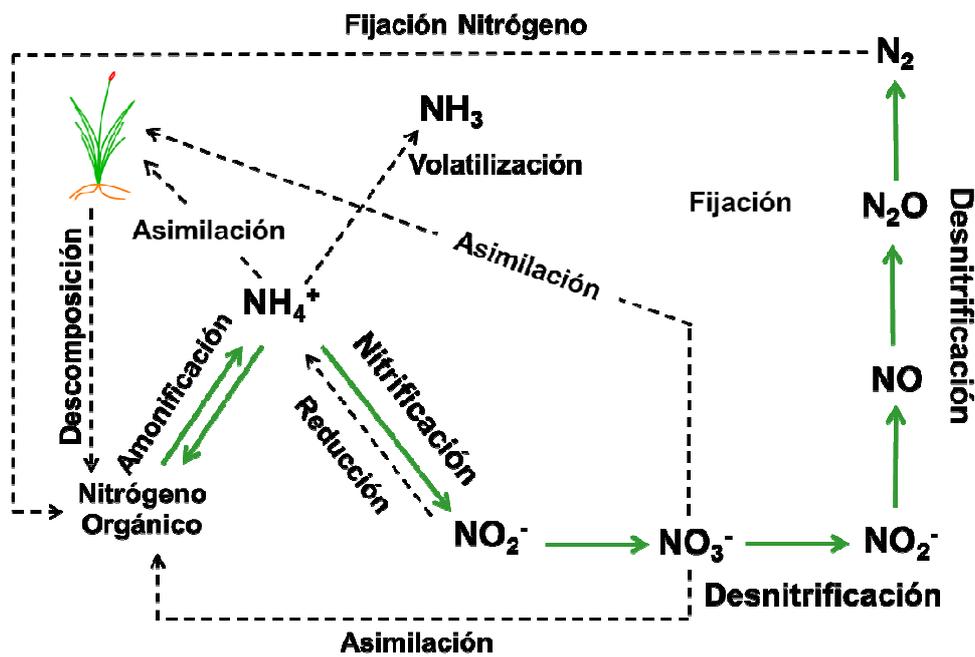


Figura 2. Mecanismos de eliminación de Nitrógeno en HC, modificado de Saeed y Sun (2012).

1.6.1 Nitrificación

La nitrificación biológica seguida por la desnitrificación es considerada una de las vías más importantes para la eliminación de N en HC y una de las más relevantes en los sistemas de tratamientos de AS (Lee y col., 2009). Específicamente, los HFVSS poseen una buena capacidad de nitrificación debido a la alta tasa de transferencia de oxígeno que poseen producto del medio insaturado que presentan (Platzer, 1999; Noorvee y col., 2007). Según lo reportado por Abou-Elela y col. (2013), en comparación con HFHSS, los sistemas de flujo vertical evaluados presentaron eficiencias de

eliminación promedio para de N-NH_4^+ de 62,7%, con un valor residual de 6,5 mg/L de N-NH_4^+ que no pudo ser removido.

El proceso de nitrificación, ocurre en dos etapas oxidativas secuenciales, donde en una primera etapa el N-NH_4^+ en presencia de oxígeno, es convertido a N-NO_2^- gracias a las bacterias estrictamente quimiolitotróficas como *Nitrosomas*, *Nitrosococcus* y *Nitrospira* (Ecuación 7). En una segunda etapa, N-NO_2^- generado, es transformado a N-NO_3^- por medio de la acción de bacterias quimiolitotróficas como *Nitrospira* y *Nitrobacter* (Ecuación 8) (Saeed y Sun., 2012). Ambas etapas son realizadas por diferentes géneros bacterianos, pero ambos utilizan el N-NH_4^+ o N-NO_3^- como fuente de energía y el oxígeno como aceptor de electrones. Por su parte, el dióxido de carbono es utilizado como fuente de carbono (Lee y col., 2009).



Recientemente, se ha determinado que bacterias heterótrofas también poseen la capacidad de producir N-NO_3^- , utilizando fuentes orgánicas e inorgánicas de N. Diferentes especies como *Actinomycetes*, *Arthrobacterglobiformis*, *Aerobacteraerogenes*, *Algae*, *Bacillus*, *Fungi*, *Mycobacteriumphlei*, *Streptomycesgriseus*, *Thiosphaera* y *Pseudomonas* podrían llevar a cabo el proceso de nitrificación (Vymazal, 2007).

Es importante destacar que este proceso de oxidación del N-NH_4^+ requiere de 4,3 mg de O_2 por miligramo de N-NH_4^+ oxidado a N-NO_3^- (García y Corzo, 2008). Además, los rendimientos de las bacterias amonio-oxidantes y nitrito-oxidantes son 0,15 mg de células/ mg N-NH_4^+ oxidado y 0,02 mg de células/ mg N-NO_2^- oxidado, respectivamente. También, se ha determinado que la alcalinidad requerida para que este proceso se lleve a cabo es de 7,07 mg de CaCO_3 por mg de N-NH_4^+ oxidado (Ahn, 2006). Por su parte, la temperatura óptima para la nitrificación se posiciona entre los 25 a 35 °C para cultivos puros y entre 30 a 40 °C para suelos; no obstante se han determinado que la mínima temperatura para el crecimiento de *Nitrosomas* y *Nitrobacter* es de 4 a 5 °C. En relación

a los rangos de pH óptimos para este proceso, estos se ubican entre los 6,6 a 8,0. Parámetros como humedad, fuente de carbono inorgánica, población microbiana, concentración de N-NH_4^+ y oxígeno disuelto (OD) también influyen a que este mecanismo se lleve a cabo (Antoniou y col., 1990; Paredes y col., 2007).

Por otro lado, el tiempo de duplicación de las bacterias nitrificantes es de 2-6 días, lo cual nos indica que presentan una tasa de respiración más lenta que las bacterias heterótrofas, responsables de la eliminación de MO, lo cual afecta directamente la disponibilidad de oxígeno en las zonas cercanas a la superficie del agua y de las raíces de las plantas del humedal inhibiendo el crecimiento de las bacterias nitrificantes (Tanner y col., 2002; Lee y col., 2009).

1.6.2 Asimilación de nitrógeno por plantas

Estudios comparativos entre humedales plantados y no plantados han arrojado diferencias positivas y significativas sobre el efecto de las macrófitas en la eliminación de contaminantes (Brisson y Chazarenc, 2009). Esto se debe a que en las plantas se localiza la zona de reacción activa de los HC que se conoce como rizósfera; en ella tienen lugar los procesos físico-químicos y biológicos que son inducidos por las interacciones entre las plantas, los microorganismos, el suelo y los contaminantes (Stottmeister y col., 2003).

Asimismo ocurre con las eficiencias de eliminación de N, ya que las macrófitas asimilan el N inorgánico y lo convierten en compuestos orgánicos que sirven para la formación de nuevas células y tejidos. Las dos formas de N que son generalmente asimiladas son el N-NH_4^+ y el N-NO_3^- , sin embargo, como el primer compuesto está más energéticamente reducido es la fuente preferencial para este proceso (Vymazal, 2007). Por otro lado, las macrófitas proporcionan superficie y oxígeno para el crecimiento de microorganismos en la rizósfera y de este modo mejoran la nitrificación (Brix, 1994; Cui y col., 2010), aportan carbono a través de los exudados radiculares y optimizan la eliminación de MO y la desnitrificación (Brix, 1997).

Sin embargo, la tasa de captación de N está limitada por el tipo de macrófita, la tasa de crecimiento, la concentración de nutrientes en los distintos tejidos, el ciclo de

vida de la planta y factores ambientales. Se ha reportado que la contribución que realizan las plantas a la eliminación de N varía entre un 0,5 y 40% del total de N eliminado (Saeed y Sun, 2012).

Tanto en HFHSS como en HFVSS, se ha demostrado que la presencia de macrófitas aumenta la eficiencia de eliminación de N y MO (Vymazal et al., 2009). En cuanto a las especies utilizadas, *Phragmites australis* es una de las especies más utilizadas en humedales (Vymazal, 2002; Liu y col., 2012; Rojas y col., 2013). Por otro lado, durante el último tiempo se ha comenzado a utilizar plantas endémicas como *Schoenoplectus californicus* (Neubauer y col., 2012; López y col., 2015) y también se ha estudiado la utilización de plantas ornamentales como *Zantedeschia aethiopica*, *Strelitzia reginae*, *Anturium andreaeanum* y *Agapanthus africanus*, ya que además de conservar eficiencias de eliminación de N-NH_4^+ del orden un 50%, promueven la implementación de HC en núcleos poblacionales de baja densidad debido a los beneficios económicos producidos por la comercialización de plantas ornamentales (Belmont y col., 2004; Zurita et al., 2009).

En este estudio, se escogió *A.africanus* para ser utilizada como macrófita del sistema de HFVSS, ya que ha sido ampliamente utilizada como planta ornamental tanto en jardines exteriores como interiores y también como planta de corte. Esta especie que pertenece a la familia *Agapanthaceae* presenta un largo que va desde los 20 cm a 1 m y su ancho puede variar entre los 1,5 a 8 cm. Además, posee una floración característica de color blanco, azul o lila compuesta por 10-150 flores individuales que se alcanza entre los meses de diciembre a enero. Sus temperaturas óptimas son de 18 a 21°C durante el día y 10 a 13°C durante la noche; sin embargo es una especie bastante resistente a las bajas temperaturas y a suelos de baja calidad (Vidal, 2004).

1.6.3 Adsorción

El N-NH_4^+ posee la capacidad de poder ser adsorbido tanto por sustratos orgánicos e inorgánicos, ya que su carga positiva le permite realizar intercambio catiónico con material poroso del medio. No obstante, el N-NH_4^+ adsorbido se une débilmente al sustrato y puede ser liberado fácilmente cuando las condiciones químicas

del AS varían. Al existir una concentración alta de N-NH_4^+ en las AS, éste logra ser adsorbido y puede saturar los sitios disponibles del medio de sustrato (Kadlec y Wallace, 2009). Connolly y col. (2004), observó que el 64% del N-NH_4^+ fue eliminado por adsorción en un HFVSS a escala piloto y que la remoción se realizó en dos etapas: en la primera etapa el N-NH_4^+ fue adsorbido por la grava y posteriormente tiene lugar la nitrificación. Se ha evidenciado que algunos componentes de la grava, por ejemplo el potasio, podría ser remplazado por el N-NH_4^+ y luego, el N adsorbido podría ser extraído por lixiviación con el agua. Por otro lado, se ha evaluado la utilización de diferentes medios de soporte en humedales verticales como: escoria de carbón, zeolita, arena de escoria y alcohado de madera de eucaliptus, los cuales han demostrado un aumento en la eficiencia de eliminación de N presente en diversos tipos de AS (Saeed y Sun, 2012).

1.7 Hipótesis y Objetivos

1.7.1 Hipótesis

La exposición de todos estos antecedentes permite inferir que los HFVSS son una alternativa eficaz para ser utilizados como una tecnología de tratamiento que permite la eliminación de N de las AS en zonas rurales. De este modo, es que se propone la siguiente hipótesis para este trabajo de investigación:

“La eliminación de nitrógeno, en Humedales Construidos de Flujo Vertical Subsuperficial, depende principalmente del proceso de nitrificación que se ve favorecido por la presencia vegetación en un HFVSS”.

1.7.2 Objetivos

Para poder responder esta interrogante es que se establecieron los siguientes objetivos:

Objetivo General

Evaluar el proceso de nitrificación de aguas servidas en un sistema HFVSS comparando el efecto de la vegetación.

Objetivos Específicos

1. Evaluar la eficiencia de eliminación de materia orgánica y nutrientes (nitrógeno y fósforo) en sistema de HFVSS en presencia y ausencia de vegetación.
2. Estudiar el proceso de nitrificación a diferentes alturas del lecho de los sistemas humedales en presencia y ausencia de vegetación.
3. Determinar el efecto de la vegetación tanto en la eliminación de nitrógeno y materia orgánica como en el proceso de nitrificación en HFVSS.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención del influente

El influente utilizado correspondió a un efluente de un sistema de tratamiento secundario que consiste en 4 Humedales Construidos de Flujo Subsuperficial Horizontal (HFHSS), los cuales son operados en serie y se encuentran ubicados en las dependencias de la Empresa de Servicios Sanitarios del Biobío, ESSBIO S.A en la comuna de Hualqui, Región del Biobío. El influente fue almacenado en bidones de 20 litros y transportado a las dependencias del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) pertenecientes a la Facultad de Ciencias Ambientales & Centro EULA-Chile donde se almacenaron a 4°C en la cámara de frío hasta su utilización (López y col., 2015).



Figura 3. Toma de muestra de efluente de HFHSS.

2.2 Descripción de los sistemas en estudio: HFVSS

El sistema a escala de laboratorio consistió en 2 HC alimentados de manera vertical con un área superficial de 0,025 m² y un volumen total de 20 L cada uno. Un humedal se encontraba plantado con *Agapanthus africanus* (HC-Aga) mientras que el otro, no poseía vegetación y por lo tanto, fue utilizado como control (HC- Control). En la Figura 4, se presentan un esquema de los dos sistemas en evaluación.

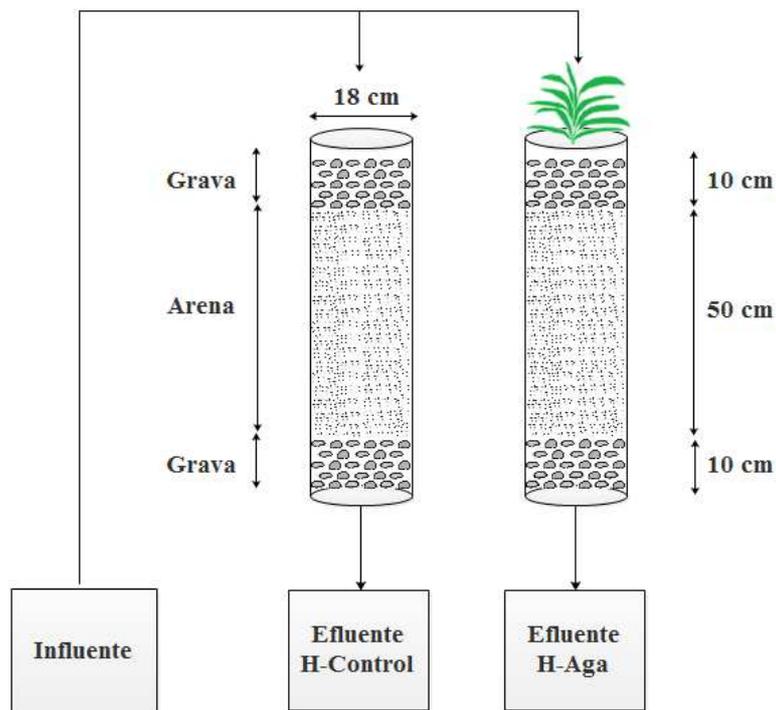


Figura 4. Esquema de los sistemas en estudio.

El medio de soporte de cada humedal estaba constituido por 3 fases, la primera y la tercera estaban compuestas de grava de diámetro \varnothing : 19 a 25 mm mientras que la segunda estaba constituida por arena \varnothing : 1 a 4 mm. En HC-Aga, la planta se enraizó en la capa de grava de la zona superior a una altura de 5 cm aproximadamente.

Como se muestra el Figura 5 b), ambos humedales presentaban en la parte superior un sistema de tubos con orificios por donde fue alimentado el influente. Luego que el agua percola a través del lecho de manera vertical, el efluente resultante fue recogido a través de un sistema de llaves que presentaban los humedales en la parte inferior. Tanto el influente como los efluentes generados se almacenaron en bidones opacos de 20 L para evitar la aparición de microalgas (adaptado de Brix y Arias, 2005, López, 2015).

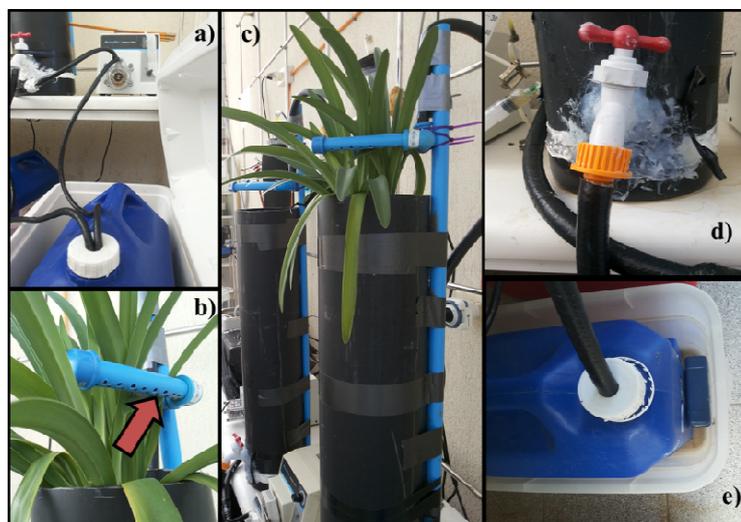


Figura 5. Sistema de HFVSS a escala de laboratorio. **a)** Influyente del sistema almacenado en bidones opacos. **b)** Sistema de tubos perforado **c)** HFVSS (HC-Aga y HC-Control) a escala de laboratorio. **d)** Sistema de llaves de salida. **e)** Efluente generado almacenado en bidones opacos.

2.3 Operación de los Humedales Construidos

La operación de ambos sistemas se dividió en 3 etapas en las cuales se evaluaron distintas cargas superficiales de nitrógeno (CSN). En la primera etapa, se aplicó una CSN de $1,4 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$, en la segunda, $2,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ mientras que en la tercera, $4,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$. En la Tabla 2, se presenta un cuadro comparativo con las diferentes condiciones aplicadas en las diferentes cargas.

Tabla 2. Estrategia operacional de ambos sistemas de humedales (H-Control y H-Aga).

Parámetros	CSN ($\text{g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$)		
	Etapas I	Etapas II	Etapas III
Duración(día)	188	55	28
Caudal (L/d)	0,55	0,85	1,58
TRH (día)	0,18	0,10	0,10
Relación C/N	2,5:1	2:1	2:1

2.4 Monitoreo del sistema en estudio

La frecuencia de monitoreo de los efluentes generados por ambos humedales, dependió de la etapa de operación. Durante la primera etapa, se procedió a tomar 1 L de muestra de manera quincenal, las cuales fueron almacenadas en botellas ámbar. Para la segunda etapa, se realizaron los muestreos semanalmente y finalmente durante la tercera etapa, muestreos 2 veces por semana.

Para todas las etapas, se midieron 2 veces por semanas parámetros como pH, temperatura (°C), potencial de óxido-reducción (POR), conductividad y oxígeno disuelto (OD), utilizando para ello, un medidor multiparámetro portátil OAKTON (PC650-480485) y un medidor de oxígeno disuelto portátil (HANNA OXI 330i/set HI 9146-04).

2.5 Evolución del crecimiento de las plantas

Quincenalmente se procedió a evaluar el crecimiento de las plantas, para ello se midió el número de hojas, el largo y el ancho de cada una de ellas. Para determinar la influencia de las plantas en el proceso de nitrificación de las AS, se realizó un análisis proximal a la zona foliar y radicular al comienzo y al término de los experimentos en el Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA), ubicado en la ciudad de Chillán (INIA, 2007).

2.6 Métodos analíticos

2.6.1 Parámetros Físico-químicos

Para la caracterización físico-química tanto del influente como de los efluentes, se midieron los siguientes parámetros: carbono orgánico total (COT), DQO, DBO₅, nitrógeno total Kjeldhal (NTK), N-NH₄⁺, N-NT, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻, fósforo total (P-PT), fosfato (P-PO₄³⁻), sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV). Dependiendo de la etapa de operación en estudio, estos análisis se realizaron semanal o quincenalmente.

Para la determinación de COT, se utilizó el método de oxidación por combustión catalítica a 680 °C y posterior detección por NDIR utilizando para ello el equipo TOC-

L-CPH Shimadzu (APHA, 1998). La determinación de DQO se realizó por el método colorimétrico de reflujo cerrado utilizando un espectrofotómetro a 660 nm (Thermo Spectronic - Genesis 10 UV) (NCh2313/24, 1997; APHA, 1998). Para establecer la concentración de MO biodegradable se midió la DBO₅, incubando las muestras en oscuridad a 20 °C durante 5 días, determinando así el oxígeno disuelto con el método Winkler azida modificada (APHA, 1998). Por su parte, la concentración N-NH₄⁺ y NTK se determinó mediante el método de destilación por medio del equipo de Nitrógeno Total Kjeldahl (Gerhardt, digestor TT625, destilador vapodest 30s) (APHA, 1998). N-NT, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ y PT se midieron utilizando Kits específicos de la línea Spectroquant-Nova 60 de Merck (APHA, 1998). Por su parte la técnica analítica utilizada para medir P-PO₄⁻³ consistió en una determinación colorimétrica bajo condiciones ácida a 890 nm. Finalmente, los SST y SSV se realizaron por método gravimétrico depositando las muestras filtradas en cápsulas de porcelana y posterior secado en estufa a 103-105 °C, para ser finalmente mufladas a 550°C (APHA, 1998). Cabe destacar que todas las muestras antes de ser analizadas fueron filtradas utilizando un filtro Whatman con un tamaño de poro de 0,45 µm y se almacenaron a 6 °C para su análisis.

2.6.2 Ensayo de nitrificación estratificado

Como se observa en el Figura 6 a), los sistemas de HC poseen a un costado 4 muestreadores a diferentes alturas. Para evaluar el proceso de nitrificación a lo largo del lecho, se procedió, en primer lugar, a inundar ambos sistemas con influente y luego de permanecer 2 horas inundado, se tomaron muestras con jeringas a 30,5 cm (H1) y 60,3 cm (H2) con respecto a la superficie del humedal (Figura 6a) y b)). Para la determinación de las concentraciones de N-NH₄⁺, NTK, N-NO₃⁻ y N-NO₂⁻ se utilizó la metodología descrita en el apartado 2.6.1.

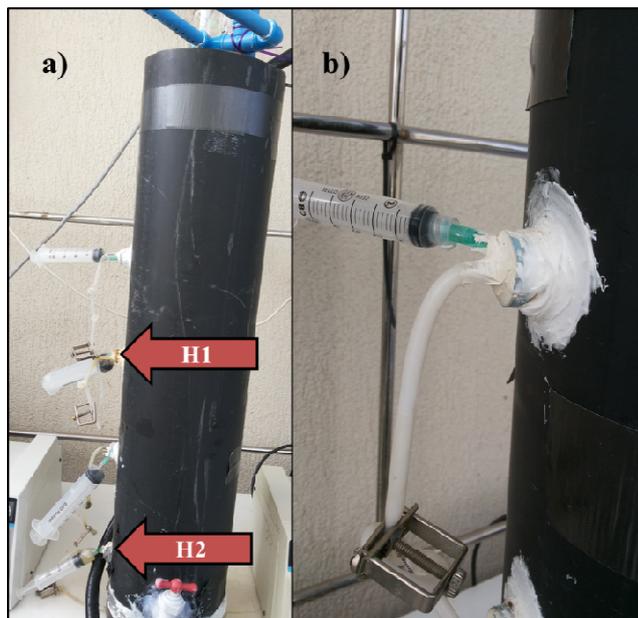


Figura 6. a) Sistema de muestreadores en HC-Control destacándose H1:30,5 cm y H2: 60,3 cm b) Ejemplo de toma de muestra por medio de jeringa.

2.7 Metodología para el Balance de Nitrógeno

A partir de los datos obtenidos en los diferentes ensayos realizados, se procedió a realizar un balance de materia. Como se mencionó anteriormente, el N puede estar presente en su forma orgánica e inorgánica en los humedales, por tanto para el cálculo del balance de materia, se consideraron las diferentes formas de N:

$$\text{Nitrógeno Total (NT)} = N_{\text{orgánico}} + N_{\text{inorgánico}} \quad (\text{Ecuación 9})$$

$$\text{NT} = \text{NTK} + N_{\text{oxidado}} \quad (\text{Ecuación 10})$$

$$\text{NTK} = N_{\text{orgánico}} + \text{N-NH}_4^+ \quad (\text{Ecuación 11})$$

$$N_{\text{oxidado}} = \text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^- \quad (\text{Ecuación 12})$$

$$N_{\text{inorgánico}} = N_{\text{oxidado}} + \text{N-NH}_4^+ \quad (\text{Ecuación 13})$$

$$N_{\text{orgánico}} = \text{NTK} - \text{N-NH}_4^+ \quad (\text{Ecuación 14})$$

Por lo tanto, NT se puede definir como:

$$\text{NT} = (\text{NTK} - \text{N-NH}_4^+) + (\text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^- + \text{N-NH}_4^+) \quad (\text{Ecuación 15})$$

Las concentraciones de NT, NTK, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ y N-NH₄⁺ fueron obtenidas a través de los análisis físico-químicos descritos en la sección 2.6.1. Así se pudo realizar el balance de cada una de las formas de N presente y determinar el tipo de mecanismo de eliminación que se llevó a cabo en el humedal (Lee, 2014).

2.8 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos realizados, fueron analizados estadísticamente con el programa Statistica v.7.0 utilizando un nivel de significancia de 0,05.

Para comparar las concentraciones y eficiencias de eliminación para los efluentes generados en cada HC (HC-Control y HC-Aga) para los diferentes parámetros evaluados, se procedió a analizar, en primer lugar, si existía una distribución normal de la data. Si el resultado de este estudio arrojaba valores positivos, se realizó Test-t pareados. En el caso contrario, se realizó Test de Wilcoxon,

Mientras que para comparar los resultados obtenidos entre las diferentes etapas de operación para cada uno de los humedales, se procedió a evaluar la normalidad de los datos para luego aplicar Test ANOVA. Si el resultado de la normalidad era negativo, se procedió a aplicar Test de Kruskal Wallis.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterización fisicoquímica de los influentes y efluentes

En la Tabla 3, se presenta la caracterización de los influentes utilizados para cada CSN operada (Etapa I: $1,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$; Etapa II: $2,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ y Etapa III: $4,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$).

Tabla 3. Caracterización físico-química de los influentes.

Parámetro	Unidad	Etapa I	Etapa II	Etapa III
		Promedio±SD	Promedio±SD	Promedio±SD
pH	-	7,08±0,18	7,14±0,22	7,11±0,30
Temperatura	°C	14,72±2,15	21,1±2,34	22,45±0,21
Conductividad	mS	1,03±0,18	1,18±0,16	1,26±0,09
POR	mV	-185,03±26,99	-142,97±54,69	-111,75±11,67
OD	mgO ₂ /L	1,42±0,84	0,87±0,49	1,15±0,07
DQO	mgO ₂ /L	147,78±33,65	148,15±14,36	145,88±23,72
DBO ₅	mgO ₂ /L	86,54±37,76	66,12±16,34	73,05±16,33
COT	mg/L	24,72±3,9	20,73±7,31	23,46±2,95
SST	g/L	<LD	<LD	<LD
SSV	g/L	<LD	<LD	<LD
N-NT	mg/L	77,33±6,35	86,67±7,02	87±9,90
NTK	mg/L	69,07±9,34	81,11±5,27	77,25±11,52
N-NH ₄ ⁺	mg/L	62,44±6,96	74,71±4,90	74,26±7,61
N-NO ₃ ⁻	mg/L	0,04±0,01	0,04±0,01	0,199 ± 0,01
N-NO ₂ ⁻	mg/L	0,09±0,05	0,08±0,02	0,20±0,07
PT	mg/L	9,45±1,21	12±2,04	13,30±0,42
P-PO ₄ ³⁻	mg/L	9,06±1,39	11,50±2,21	12,90±0,42

Durante la Etapa I, se constata una variabilidad de hasta un 60% (entre la desviación estándar y la media) en los valores de los parámetros de OD, DBO₅, N-NO₃⁻ y N-NO₂⁻. En cambio, sólo existe una variación de alrededor del 45% en la

concentración de N-NO_2^- alcanzada durante la Etapa III. Además, la concentración de SST y SSV se encuentran por debajo del límite de detección (LD) los cuales corresponden a 0,0006 y 0,0002 g/L, respectivamente.

Por su parte, el pH se mantuvo cercano a 7 durante las tres etapas de operación. La temperatura y conductividad, aumentaron sus valores observándose un incremento de $7,73^\circ\text{C}$ y 0,023 mS entre la Etapa I y III. Por el contrario, el POR disminuyó a lo largo de las etapas pasando de $-185,03 \pm 26,99$ a $-111,75 \pm 11,67$ mV. En cuanto al OD, la menor concentración se alcanza durante la Etapa II que corresponde a $0,87 \pm 0,49$ mgO_2/L mientras que durante las demás etapas bordeó el rango de 1-1,5 mgO_2/L .

La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos para cada uno de los efluentes de los sistemas en estudio (HC-Control y HC-Aga) durante las distintas etapas de operación. Se puede observar que HC-Control alcanzó una variación de alrededor del 40% en parámetros como conductividad, N-NH_4^+ , N-NO_3^- , N-NO_2^- , P-PT y P-PO_4^{3-} durante la Etapa I; tendencia que se repite para HC-Aga exceptuando la conductividad. Por su parte en la segunda etapa de operación de los humedales, se constata una variabilidad del 60% aproximadamente en las concentraciones de N-NO_3^- y N-NO_2^- para el sistema control mientras que en el sistema con planta se reconoce una variación del casi 80% para el N-NO_2^- . Por último, HC-Control sólo presenta variaciones de un 40% para N-NO_3^- , lo que se repite en HC-Aga adicionando parámetros como N-NO_2^- , P-PT y P-PO_4^{3-} . Al igual que para los influentes, todos los efluentes obtenidos, alcanzaron concentraciones de SST y SSV por debajo de LD.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de los efluentes obtenidos para cada humedal durante las etapas de operación.

Parámetro	Unidad	Etapa I		Etapa II		Etapa III	
		HC-Control	HC-Aga	HC-Control	HC-Aga	HC-Control	HC-Aga
pH	-	6,34±0,74	6,08±0,56	6,35±0,77	6,44±0,32	6,30±0,37	6,57±0,27
Temperatura	°C	14,95±2,31	14,88±2,28	23,31±2,36	23,14±2,38	24,85±1,47	24,81±1,57
Conductividad	mS	0,86±0,37	0,86±0,24	0,80±0,18	0,87±0,20	0,97±0,15	0,91±0,09
POR	mV	132,34±43,44	158,99±40,62	128,34±50,94	151,51±43,07	41,78±12,41	44,40±8,64
OD	mgO ₂ /L	4,89±1,21	5,52±1,24	4,73±0,70	5,04±0,50	4,86±0,83	5,93±0,88
DQO	mgO ₂ /L	76,94±17,89	68,35±11,95	86,67±14,81	77,79±13,21	79,69±14,29	83,64±10,61
DBO₅	mgO ₂ /L	34,97±8,20	39,93±12,41	38,95±2,13	37,20±11,20	47,87±6,7	41,26±9,93
COT	mg/L	15,63±3,53	14,99±3,92	14,61±2,13	14,16±1,07	16,35±3,27	15,60±2,12
SST	g/L	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
SSV	g/L	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
N-NT	mg/L	60,70±11,75	64,60±11,71	78,57±21,62	84,43±17,27	86,37±27,57	74,75±16,36
NTK	mg/L	13,99±4,63	10,64±3,91	20,52±7,41	16,38±4,50	23,30±6,62	19,86±2,03
N-NH₄⁺	mg/L	12,21±5,32	10,34±4,72	18,81±6,61	13,89±4,09	21,82±7,03	17,05±2,74
N-NO₃⁻	mg/L	29,31±11,79	41,65±13,76	45,94±23,71	57,40±13,74	53,44±15,22	48,45±15,45
N-NO₂⁻	mg/L	19,59±7,81	1,92±0,71	10,37±6	8,79±6,98	3,91±1,14	4,23±1,55
PT	mg/L	5,65±2,09	4,70±2,14	7,23±2,63	4,53±1,39	7,18±1,09	4,93±2,36
P-PO₄³⁻	mg/L	4,97±1,88	4,21±1,93	6,72±2,57	4,00±1,51	6,80±1,18	4,66±2,38

3.2 Eficiencia de eliminación de Materia Orgánica

Para poder determinar las eficiencias de eliminación de MO de ambos sistemas en estudio, se procedió a cuantificar estos porcentajes a través de parámetros como COT, DQO y DBO₅. En la Figura 7, se presenta las eficiencias de eliminación de COT alcanzadas por cada uno de los sistemas en estudio durante las distintas CSN utilizadas.

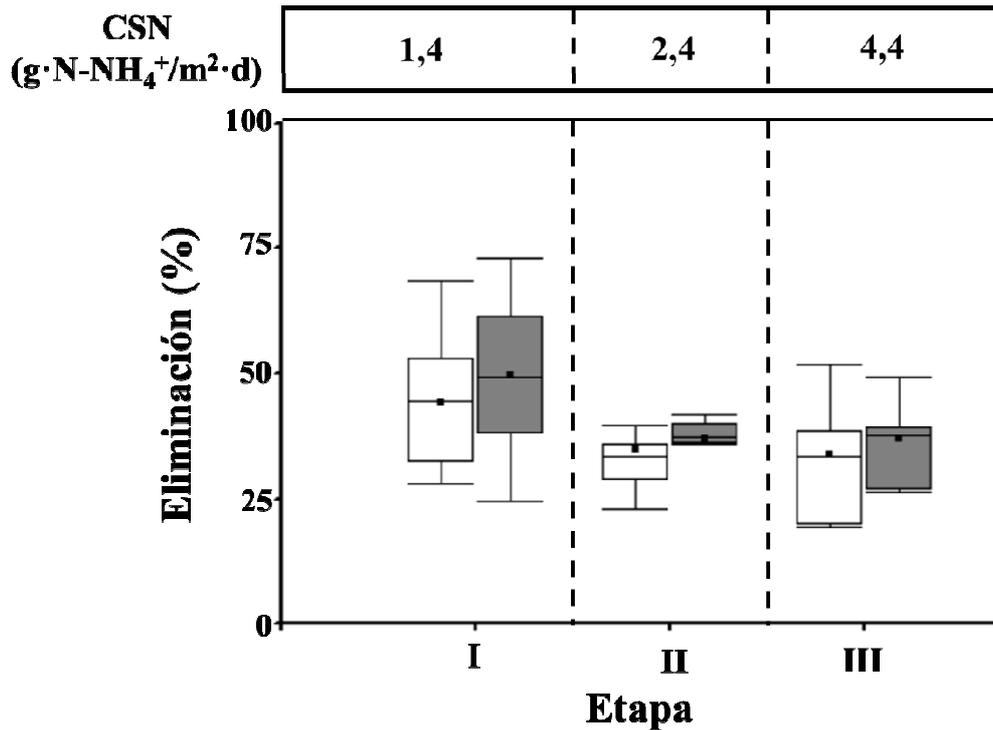


Figura 7. Eficiencia de eliminación de COT para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

Como lo muestra la Figura 7, durante la Etapa I, II y III, las eficiencias obtenidas por los sistemas HC-Control y HC-Aga se situaron entre $33,84 \pm 13,22$ y $49,49 \pm 15,23\%$ y la variación de estos resultados entre ambos sistemas fueron de un 8,1%, 5,4% y 8,1% para cada etapa respectivamente. Al comparar estadísticamente estos valores obtenidos, los análisis arrojaron que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$).

Sin embargo, durante la Etapa I, HC-Aga alcanzó eliminaciones promedio de COT de un $49,49 \pm 15,23\%$ mientras que en la etapa III, disminuyó a un $36,86 \pm 8,6\%$,

siendo esta diferencia significativa ($p < 0,05$). Finalmente, las eficiencias logradas por HC-Control en las diversas etapas, no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$).

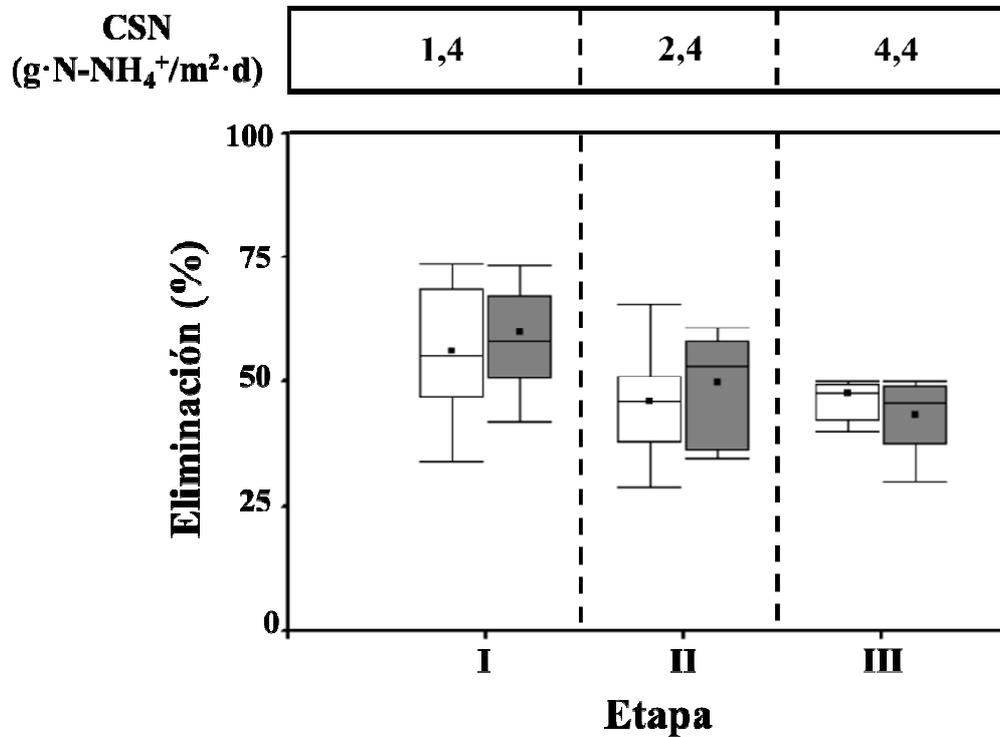


Figura 8. Eficiencia de eliminación de DQO para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

En relación a las eficiencias de eliminación de DQO, en la Figura 8, se observa que durante la Etapa I, los rendimientos promedios de ambos sistemas alcanzaron entre un $56,27 \pm 13,71$ y $59,97 \pm 15\%$ de eficiencia mostrando una variación de 6,7%. Esta misma situación se repite para las Etapas II y III, en las cuales las eficiencias promedios variaron entre un 43% y 50% para los sistemas de humedales estudiados. En cuanto a la comparación de los porcentajes de eliminación alcanzado por HC-Control y HC-Aga, durante la Etapa I y II, el humedal con planta posee eficiencias 1,06 y 1,07 veces mayor que el control siendo esta diferencia no significativa ($p > 0,05$).

Por otro lado, si existe una diferencia ($p < 0,05$) entre los porcentajes obtenidos durante la Etapa I y III para HC-Aga, siendo 1,39 veces mayor el rendimiento promedio alcanzado durante el primer período de operación.

En el caso de las eficiencias de eliminación de la MO biodegradable (expresada como DBO_5) representada en la Figura 9, se observa la misma situación que para los parámetros COT y DQO constatando que aunque existe una variación de 4,6%, 5,9% y 11,2% entre HC-Control y HC-Aga para las Etapas I, II y III respectivamente; esta diferencias no son significativas ($p>0,05$).

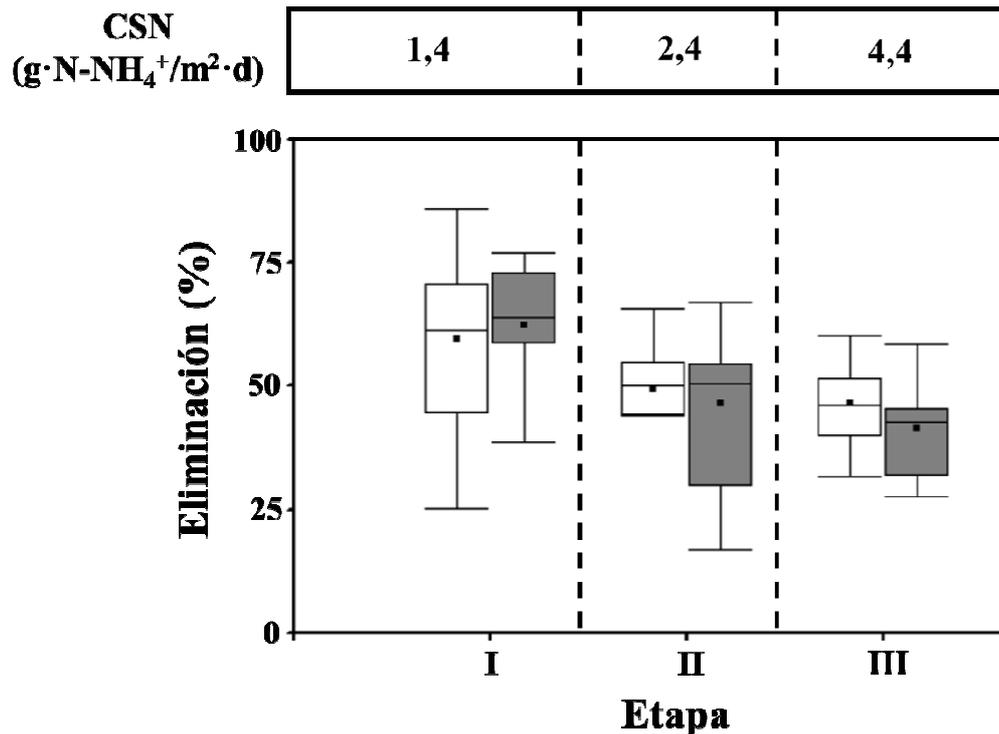


Figura 9. Eficiencia de eliminación de DBO_5 para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

No obstante, HC-Control obtuvo una eficiencia de eliminación promedio de $59,47 \pm 17,38\%$ durante la Etapa I mientras que para el tercer período de un $46,49 \pm 8,8\%$; esta disminución de casi un 23% entre los datos, según los análisis estadísticos, es significativa ($p<0,05$). Lo mismo sucede con los rendimientos alcanzados por HC-Aga en estas etapas de operación, en las cuales se obtuvieron eficiencias promedio de un $62,33 \pm 12,76\%$ para el primer período y de un $41,26 \pm 9,93\%$ para el segundo.

Tanto para COT como DQO y DBO_5 , no se obtuvieron diferencias significativas ($p>0,05$) entre HC-Control y HC-Aga mientras se aplicaban distintas cargas, lo que

indicaría que no existe un efecto de la vegetación en la eliminación de la MO. No obstante, HC-*Aga* presentó diferencias significativas al comparar las CSN utilizadas en los 3 parámetros analizados, permitiendo inferir que las eficiencias de eliminación se vieron afectadas por las etapas de operación del humedal.

3.3 Eficiencia de eliminación de amonio

Las eficiencias de eliminación promedio de N-NH_4^+ alcanzadas para HC-Control y HC-*Aga* fueron de $80,35 \pm 9,32\%$ y $84,46 \pm 6,27\%$ respectivamente durante la Etapa I presentando una diferencia de un 4,8% como lo muestra la Figura 10. En el caso del segundo período de operación, los rendimientos para cada humedal fueron de $76,73 \pm 7,72\%$ y $81,71 \pm 5,94\%$ variando en 6,1% mientras que para la última etapa, se obtuvieron porcentajes de $71,78 \pm 9,6\%$ y $77,72 \pm 4,76\%$ respectivamente con una variación 7,7%. Aunque existan diferencias entre las eficiencias logradas por HC-Control y HC-*Aga*, éstas no son significativas de acuerdo a los análisis estadísticos realizados ($p > 0,05$).

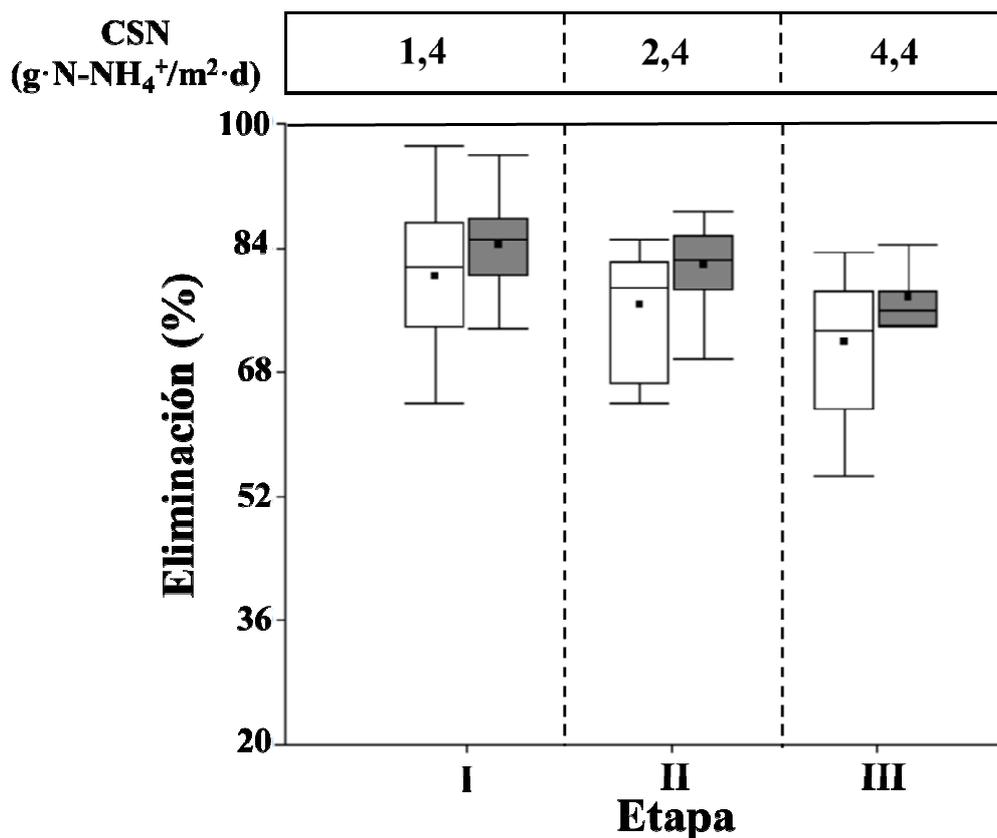


Figura 10. Eficiencia de eliminación de $N-NH_4^+$ para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

Además, tanto para HC-Control como para HC-Aga no se encontró una diferencia significativa entre las eficiencias logradas por las diferentes CSN ($p > 0,05$), por lo que ni la vegetación ni las cargas están influenciando en el proceso de eliminación de $N-NH_4^+$.

3.4 Eficiencia de eliminación de Fósforo

La Figura 11 muestra las eficiencias de eliminación de P-PT alcanzadas para cada sistema en estudio en cada una de las cargas efectuadas. Las eficiencias logradas por los sistemas HC-Control y HC-Aga durante las Etapas I y II, fueron de $48,9 \pm 16,66\%$ y $59,28 \pm 15,95\%$, y $41,57 \pm 25,71\%$ y $60 \pm 19,84\%$; sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas en estos resultados ($p > 0,05$). Por otro lado, durante la última etapa de operación (Etapa III), se apreció una diferencia de un 20% entre los promedios obtenidos por ambos sistemas y según análisis estadísticos ésta es significativa ($p < 0,05$). Esto indica que HC-Aga obtuvo eficiencias superiores a HC-Control con un $63,96 \pm 17,92\%$ y un $50,04 \pm 7,6\%$ de eficiencias respectivamente.

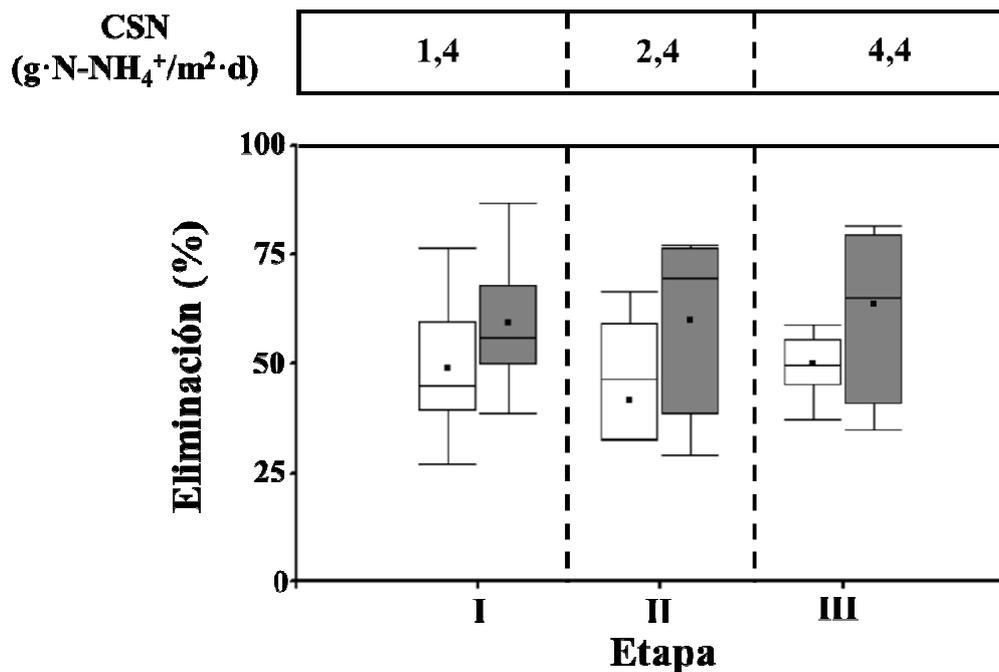


Figura 11. Eficiencia de eliminación de P-PT para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

Esta misma situación se repite para la eficiencia de eliminación de $P-PO_4^{3-}$, en la cual se obtuvieron eficiencias promedio de $53,27 \pm 15,20\%$ y $62,40 \pm 13,67\%$ para HC-

Control y HC-Aga durante la Etapa I y $42,59 \pm 27,49\%$ y $62,12 \pm 22,10\%$ durante la etapa II ($p > 0,05$). Asimismo, también existen diferencias ($p < 0,05$) durante la última etapa donde HC-Control alcanzó un $49,65 \pm 7,5\%$ de eficiencia de eliminación de $P-PO_4^{3-}$, la cual es menor al $65,93 \pm 17,32\%$ de eficiencia lograda por HC-Aga.

No obstante, es importante destacar que tanto para el P-PT como el $P-PO_4^{3-}$, las pruebas estadísticas arrojaron resultados negativos al comparar las eficiencias obtenidas entre cada una de las etapas en ambos sistemas ($p > 0,05$).

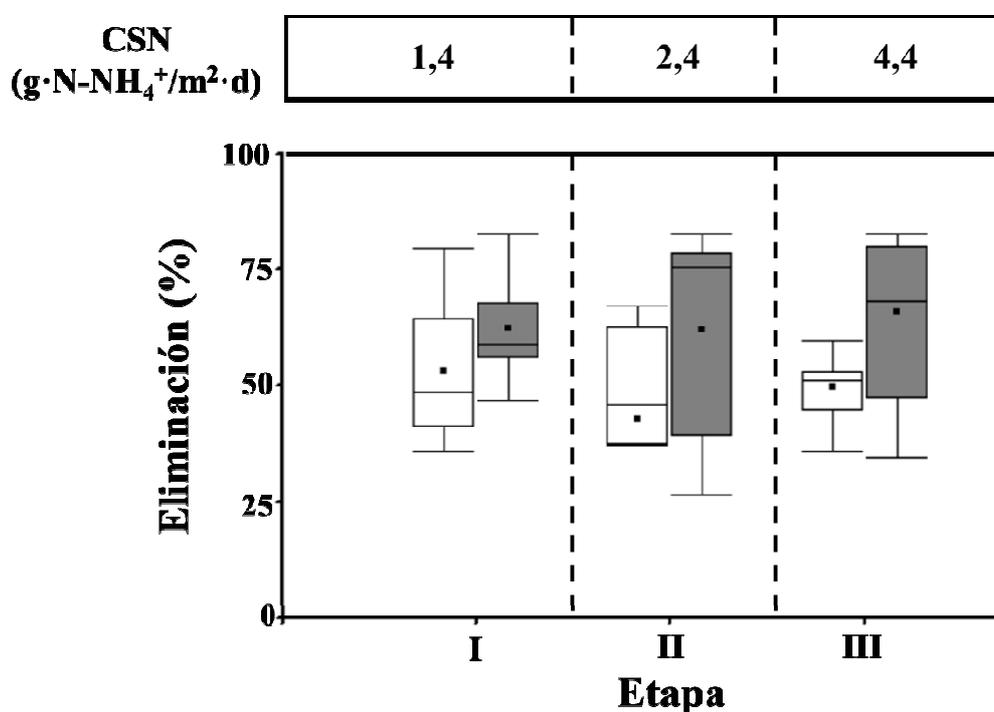


Figura 12. Eficiencia de eliminación de $P-PO_4^{3-}$ para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

3.5 Nitrificación

El proceso de nitrificación es uno de los mecanismos primordiales de eliminación de N en HFVSS. La Figura 13 presenta las concentraciones de aparición del producto ($N-NO_3^-$) e intermediario ($N-NO_2^-$) de la reacción de nitrificación para ambos sistemas de humedales durante las distintas etapas de operación empleadas. Para la primera etapa de operación ($1,4 \text{ g} \cdot \text{N-NH}_4^+/\text{m}^2 \cdot \text{d}$), se puede observar que HC-Control y HC-Aga

alcanzaron concentraciones promedio de N-NO_3^- de $29,31 \pm 11,79$ mg/L y $41,65 \pm 13,76$ mg/L, mientras que para N-NO_2^- los valores obtenidos fueron $19,59 \pm 7,81$ mg/L y $1,92 \pm 0,71$ mg/L, respectivamente. De acuerdo a los análisis estadísticos realizados para la primera CSN evaluada ($1,4 \text{ g}\cdot\text{N-NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$), solamente existe una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los humedales para las concentraciones N-NO_2^- obtenidas.

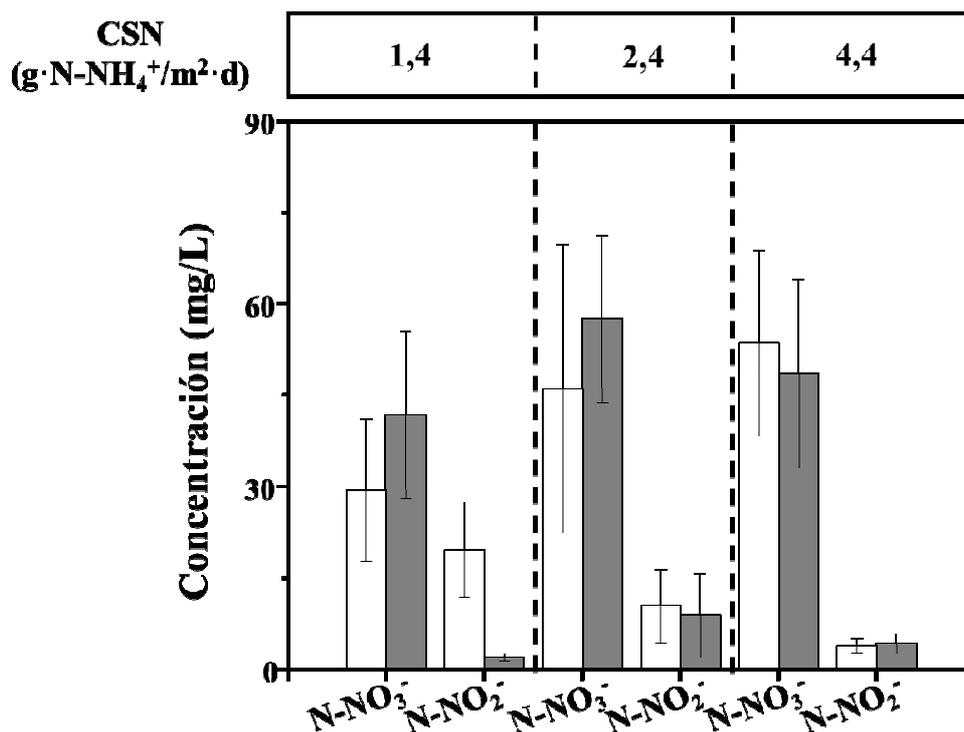


Figura 13. Concentración de N-NO_3^- y N-NO_2^- para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

Por otro lado, durante la Etapa II, se constata que la concentración de N-NO_3^- en HC-Control fue de $45,94 \pm 23,71$ mg/L mientras que para el N-NO_2^- , $10,37 \pm 6$ mg/L. Por su parte, HC-Aga obtuvo una concentración de $57,4 \pm 13,74$ mg/L para N-NO_3^- y $8,79 \pm 6,89$ mg/L para N-NO_2^- . Finalmente, en la Etapa III, HC-Control y HC-Aga alcanzaron concentraciones de N-NO_3^- de $53,44 \pm 15,22$ mg/L y $48,45 \pm 15,45$ mg/L. Por su parte, el N-NO_2^- consiguió valores de $3,91 \pm 1,14$ mg/L en el humedal control y $4,23 \pm 1,55$ mg/L en el sistema plantado. Aunque se presentaron diferencias en las

concentraciones de N-NO_3^- y N-NO_2^- entre ambos humedales durante las Etapas II y III, éstas no son significativas ($p>0,05$).

Al comparar los valores obtenidos entre las etapas de operación en cada humedal, se observó un aumento significativo en la concentración N-NO_3^- de entre la Etapa I y III en HC-Control ($p<0,05$). Por otro lado, al evaluar las concentraciones de N-NO_2^- obtenidas, se constató que existen diferencias significativas entre todas las CSN utilizadas, observándose una disminución en su concentración. En el caso de HC-Aga, solamente se presentaron diferencias significativas en las concentraciones de N-NO_2^- obtenidas entre la Etapa I con la Etapa II y III, pero no entre la II y la III.

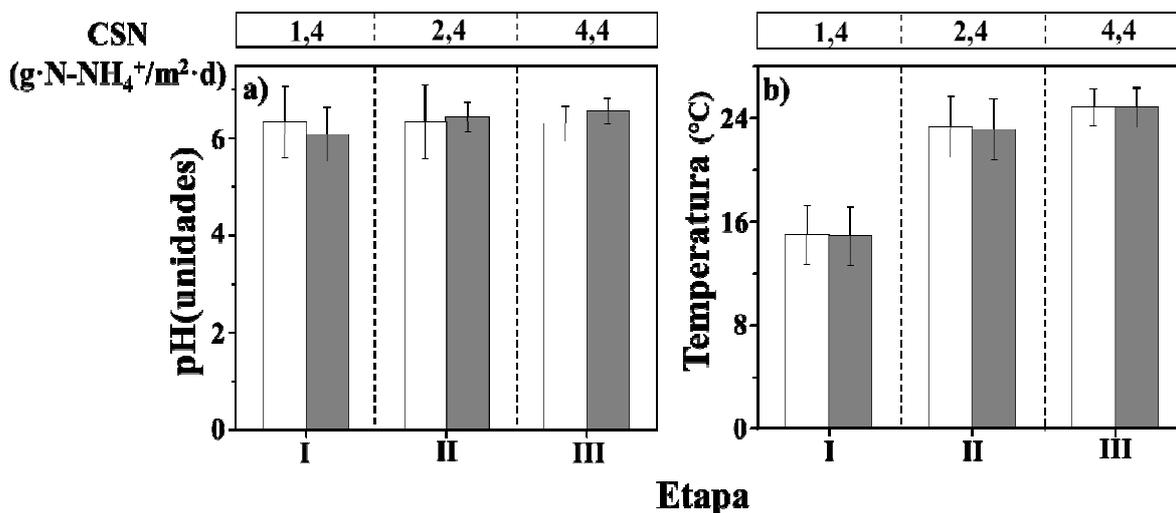


Figura 14. a) Unidades de pH y b) Temperatura del sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapas de operación.

Además de determinar las concentraciones de N-NO_3^- y N-NO_2^- para evaluar el proceso de nitrificación, se procedió a medir parámetros como pH, Temperatura, OD y POR que son factores importantes para que se lleve a cabo este mecanismo de eliminación. Como lo muestra la Figura 14.a), durante la Etapa I, los efluentes generados por HC-Control y HC-Aga obtuvieron valores de pH de $6,34\pm 0,74$ y $6,08\pm 0,56$ respectivamente. Para el caso de la segunda etapa, las cifras alcanzadas fueron de

6,35±0,77 para el control mientras que para el sistema con planta de 6,44±0,32. Finalmente, durante la tercera etapa, los valores de pH variaron de un 6,30±0,37 a 6,57±0,27. De acuerdo a los análisis estadísticos respectivos, no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos de ambos humedales ($p>0,05$). Este resultado se repite cuando se comparan las diferentes etapas de operación en el caso de HC-Control, pero no para HC-Aga que sí presenta entre los datos alcanzados durante la Etapa I y III.

En cuanto a la temperatura, se puede observar que no existen diferencias significativas entre los valores alcanzados por HC-Control y HC-Aga en cada una de las etapas ($p>0,05$). Sin embargo, se observa un cambio de alrededor de 8°C entre la Etapa I y la Etapa II para ambos sistemas y de 10 °C entre la primera y la última etapa. Esto se debe principalmente a las estaciones del año, ya que la operación de la primera etapa se llevó a cabo durante el otoño e invierno mientras que la Etapa II y III durante primavera y verano cuando las temperaturas bordean los 20 y 25°C respectivamente.

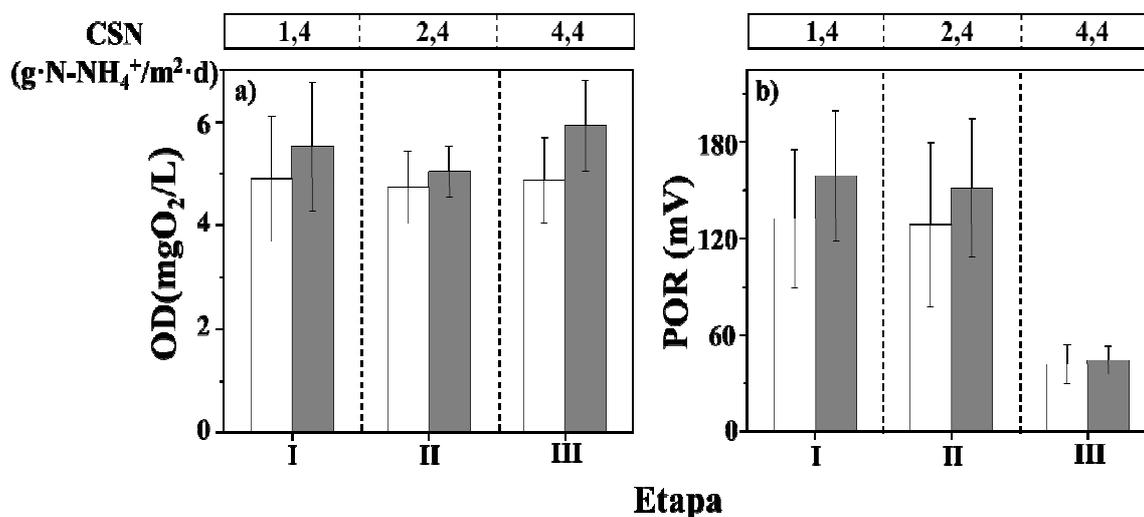


Figura 15. a) Concentración de OD y b) POR para el sistema HC-Control (□) y HC-Aga (■) durante las distintas etapa de operación.

En el caso del OD, se obtuvieron concentraciones de alrededor de 4,7 mg/L en cada una de las etapas para HC-Control mientras que para HC-Aga, este parámetro varió entre 5,04±0,50 y 5,93±0,88 mg/L. En ambos humedales, los análisis estadísticos

arrojaron resultados negativos al comparar los valores obtenidos entre las diferentes CSN. No obstante, si se presentaron diferencias entre HC-Control y HC-Aga durante la Etapa I y III ($p < 0,05$) siendo mayores las alcanzadas por el humedal con vegetación.

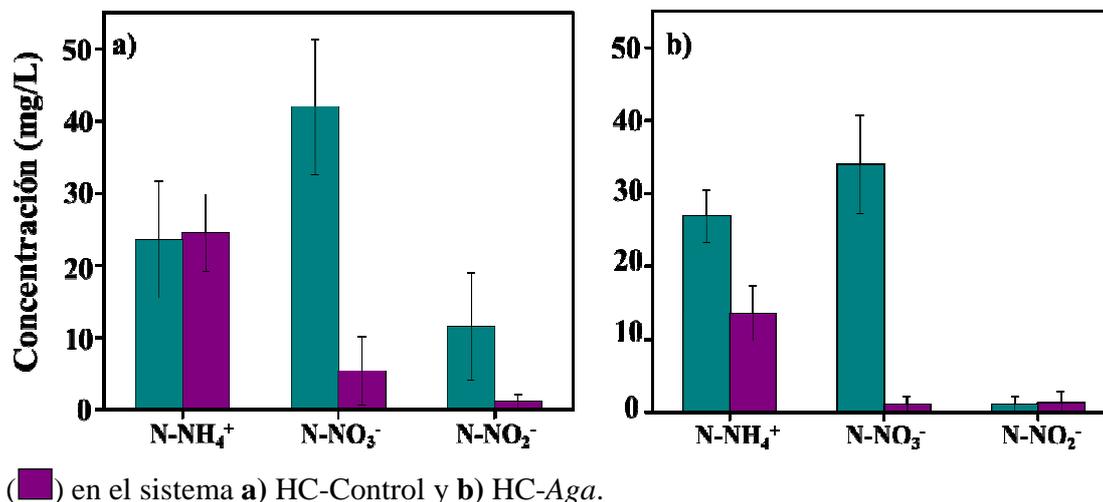
Por último, el POR tuvo una variación de un 16,8% entre los valores obtenidos para HC-Control y HC-Aga durante la Etapa I siendo ésta significativa ($p < 0,05$). En el caso de la etapa II y III se observaron una diferencia de 15,2% y de 5,9%, respectivamente; sin embargo éstas no son significativas ($p > 0,05$). Además, al comparar los valores de POR obtenidos entre las tres cargas aplicadas a cada sistema, se constata una diferencia de alrededor de un 70% entre la etapa III con la Etapa I tanto para HC-Control como para HC-Aga, siendo éstas significativas ($p < 0,05$).

Por otro lado, se procedió evaluar el proceso de nitrificación a diferentes alturas de los humedales y para eso se midieron las concentraciones de los reactantes, del producto y del intermediario de la reacción a dos alturas diferentes H1 (30,5 cm) y H2 (60,3 cm) en ambos sistemas en estudio. A través de la Figura 16a) y b), se observa que en HC-Control, la concentración de $N-NH_4^+$ alcanzada en H1 fue de $24,43 \pm 5,36$ mg/L mientras que en H2, de $23,56 \pm 8,138$ mg/L, siendo H1 0,96 veces mayor. En el caso de $N-NO_3^-$, para H1 y H2 las concentraciones que se obtuvieron fueron de $41,92 \pm 9,38$ mg/L y $5,32 \pm 4,8$ mg/L respectivamente observándose que lo obtenido por H1 es 7,88 veces mayor que H2. Finalmente, se consiguieron concentraciones de $N-NO_2^-$ para H1 de $11,48 \pm 7,48$ mg/L y para H2 de $1,04 \pm 1,22$ mg/L siendo 11,25 veces mayores las obtenidas en H1. Los análisis estadísticos efectuados a las concentraciones obtenidas arrojaron la existencia de una diferencia significativa entre las alturas ($p < 0,05$) para el $N-NO_3^-$ y $N-NO_2^-$, no así para el $N-NH_4^+$ ($p > 0,05$).

En el caso de las concentraciones de estos compuestos en el HC-Aga a diferentes alturas, se obtuvo una concentración de $26,86 \pm 3,58$ mg/L de $N-NH_4^+$ en H1 y $13,55 \pm 3,82$ mg/L en H2, observándose una disminución de alrededor de un 50% de la concentración. Asimismo, las concentraciones de $N-NO_3^-$ para H1 y H2 fueron $33,92 \pm 6,76$ mg/L y $2,60 \pm 1,04$ mg/L, respectivamente, evidenciando una disminución en la concentración cercana al 93,9%. Por último, las concentraciones de $N-NO_2^-$ para H1 y H2 fueron de $1,04 \pm 1$ mg/L y $1,60 \pm 1,25$ mg/L respectivamente, no presentando

diferencias significativa ($p>0,05$). En el caso de HC-Aga, todas estas disminuciones son estadísticamente significativa ($p<0,05$).

Figura 16. Concentraciones de N-NH_4^+ , N-NO_3^- y N-NO_2^- para H1 (■) y H2 (■) en el sistema a) HC-Control y b) HC-Aga.

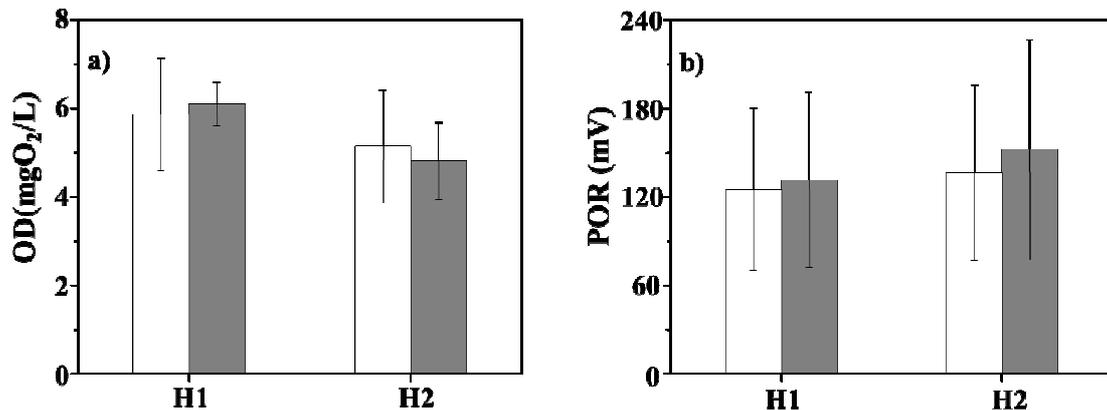


Paralelamente, se determinó la existencia de diferencias significativas de las concentraciones conseguidas en ambas alturas entre HC-Control y HC-Aga. Estos análisis arrojaron que solamente existen para las concentraciones de N-NH_4^+ alcanzadas en H2 ($p<0,05$). Una vez más, se observa que la presencia de la planta podría no estar influyendo en los procesos de eliminación y de nitrificación.

Igualmente, se determinaron las concentraciones de OD y POR para cada humedal a las distintas alturas medidas, como se muestra en la Figura 17a) y b). Para el caso del primer parámetro, se obtuvieron concentraciones de $5,87\pm 1,27$ mgO_2/L y $6,1\pm 0,50$ mgO_2/L para HC-Control y HC-Aga en H1, presentándose una diferencia del 4,7%. Por su parte, los POR fueron de $124,92\pm 55,12$ mV y $131,49\pm 59,54$ mV para los respectivos sistemas en estudio a la altura anteriormente mencionada, observándose una variación 5% de HC-Aga con respecto al control. En la altura H2, las concentraciones de OD alcanzadas por HC-Control fueron de $5,14\pm 1,29$ mgO_2/L mientras que HC-Aga logró un $4,81\pm 0,88$ mgO_2/L , ($p>0,05$). En el caso del POR, las concentraciones alcanzadas fueron de $136,24\pm 82,62$ mgO_2/L y $151,98\pm 74,73$ mgO_2/L para cada sistema respectivamente. Para ambos parámetros evaluados, ninguno de ellos presentó

diferencias significativas al comparar las concentraciones obtenidos entre humedales ($p>0,05$).

Figura 17. a) Concentración de OD y b) POR para el sistema HC-Control (□) y



HC-Aga (■) en las alturas H1 y H2.

Asimismo, los análisis estadísticos de los valores de OD y POR alcanzados en las 2 alturas, arrojaron resultados negativos en HC-Control ($p>0,05$). Esto mismo se repite en HC-Aga para el POR mientras que para el OD, las concentraciones alcanzadas en ambas alturas se diferencian significativamente ($p<0,05$) disminuyendo en un 21,1%.

3.6 Evolución temporal del crecimiento de la planta *A.africanus*

Durante el desarrollo de este trabajo, se utilizó la planta ornamental *A.africanus* para evaluar su influencia en los procesos de eliminación de MO y nutrientes, y en la nitrificación. Para eso, se realizó un estudio de la evolución temporal de su crecimiento y determinar si la presencia de contaminantes en las AS podría afectar en su evolución.

En la Figura 18, se puede observar la evolución temporal del crecimiento de la planta ornamental durante los distintos meses del año. Con tal solo observar las imágenes de manera cualitativa, se constata que durante el período de mayo a noviembre, existió un crecimiento de *A.africanus*.

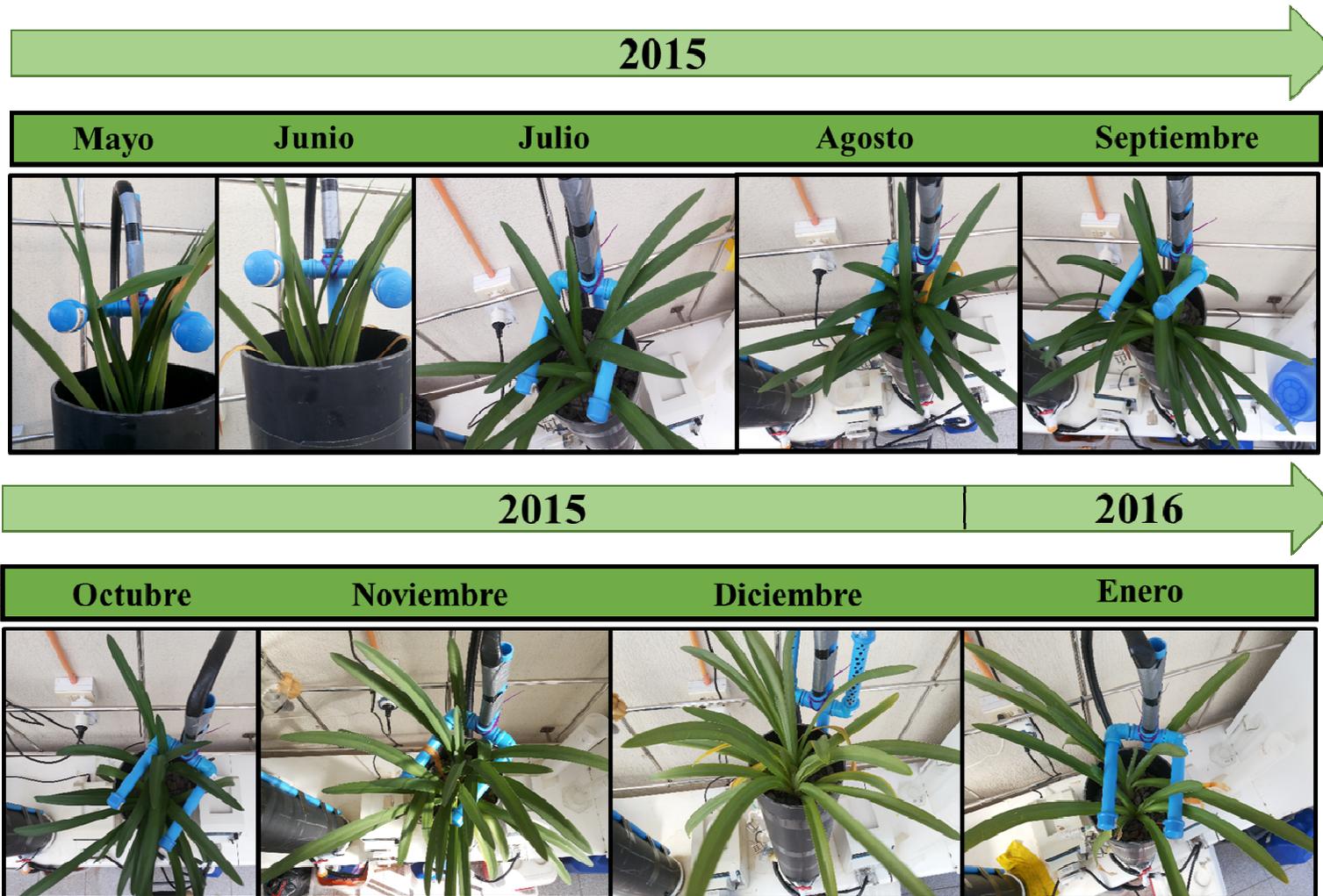


Figura 18. Evolución temporal de la planta *A.africanus* durante el período de estudio.

Esta observación se ve respaldada por la Figura 19, que muestra la variación en el número de hoja durante el periodo de operación del humedal, observándose que durante los 200 días de operación, que corresponden al periodo mencionado anteriormente, el número de hojas totales fue aumentando hasta llegar a 33. Sin embargo durante los meses de diciembre y enero, el número de hojas totales disminuyó a 22 lo que coincide con las etapas de operación II y III en las cuales se aumentó la CSN recibida por la planta y con el aumento de las temperaturas producto de la estación del año. Adicionalmente, el crecimiento de ambos tallos (1 y 2) en relación al número de hojas, fue similar comenzando con 10 y finalizando con 11 sin presentar diferencias significativa ($p>0,05$). Es importante destacar que durante el estudio la planta *A.africanus* no presentó floración, característica de estas flores ornamentales.

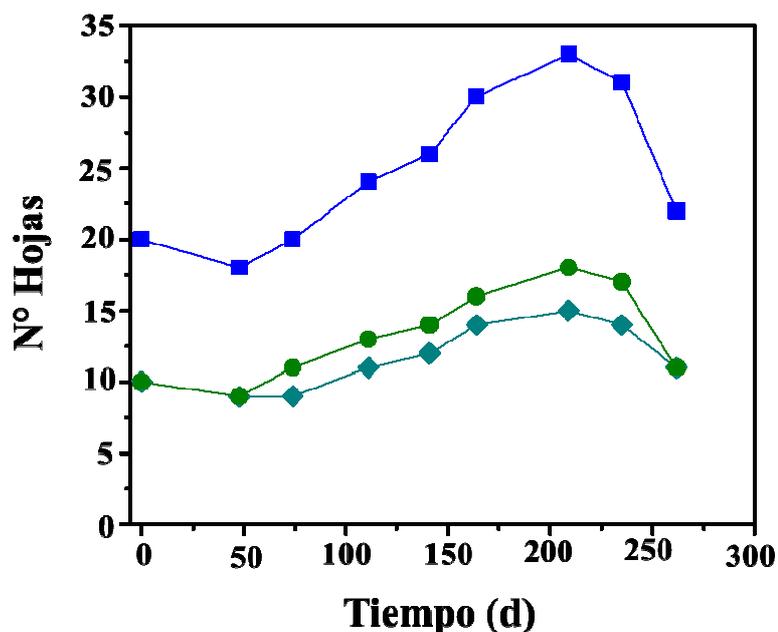


Figura 19. Evolución del número de hojas de *A. africanus* durante el tiempo de operación del sistema HC-Aga para el tallo 1 (-●-) y el tallo (-◆-). (N° hojas totales= tallo 1 + tallo 2, -■-).

Por su parte, la Tabla 5 resume el largo y el ancho promedio de cada uno de los tallos durante el período de operación. Al analizar el largo promedio, se observa un crecimiento en altura para el tallo 1 mientras que para el 2, la altura varía; sin embargo

estas diferencias no son estadísticamente significativas ($p>0,05$). Contrariamente, se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) para los anchos promedio de cada tallo, variando en 9% uno con respecto al otro.

Tabla 5. Mediciones físicas (número de hojas, largo y ancho promedio) de *A.africanus* durante el tiempo de operación del sistema de humedal.

Parámetro	Tiempo (d)									
	Tallo 1	0	48	74	111	141	164	209	235	262
N° de hojas	10	9	9	11	12	14	15	14	14	11
Largo Promedio (cm)	21,6	25,2	27,7	28,2	28,2	29,9	32,8	32,0	32,0	33,2
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	10,2	9,2	7,7	6,8	7,7	9,2	9,3	10,8	10,8	11,3
Ancho Promedio (cm)	2,2	2,1	2,3	2,4	2,3	2,3	2,3	2,2	2,2	1,8
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,2	0,4	0,3	0,4	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,3
Tallo 2	0	48	74	111	141	164	209	235	262	
N° de hojas	10	9	11	13	14	16	18	17	17	11
Largo Promedio (cm)	26,1	30,1	27,9	29,3	29,8	31,8	32,7	33,1	33,1	29,6
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	7,9	6,7	8,7	7,2	7,4	8,4	8,7	10,6	10,6	14,6
Ancho Promedio (cm)	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,0	2,0	1,8
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,7

Por otro lado, se procedió a realizar un análisis foliar y radicular para determinar el contenido de N y P que posee *A.africanus* al comienzo y término del experimento y evaluar la existencia de alguna diferencia luego de haber estado en contacto con AS como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados del Análisis foliar y radicular al comienzo y al término de la operación de la planta *A.africanus*.

	Nitrógeno (g)		Fósforo (g)	
	Comienzo	Término	Comienzo	Término
Foliar	0,181	0,110	0,019	0,007
Radicular	0,261	0,223	0,048	0,018

Al analizar estos resultados, se observa que la planta si fue afectada por la presencia de los contaminantes en las AS, debido a que tanto para el P y el N no existe una acumulación tanto en el análisis foliar y radicular. Por el contrario, se observa una pérdida de un 40% y 15% en el contenido de N en la zona foliar y radicular respectivamente. Asimismo, en el caso del P, se evidenció una disminución de un 63% en ambas zonas de la planta. Estos datos refuerzan los resultados estadísticos los cuales arrojaron que tanto para la eliminación de N como P, la presencia de vegetación no tenía efecto alguno.

Por último, todo lo mencionado anteriormente se ve reforzado con la Figura 20a) y b) que presenta una imagen del tallo como de la raíz al comienzo y al término del trabajo. Aunque se observe un crecimiento del tallo a lo largo del tiempo (27 a 43 cm), con respecto a la raíz, se observa una disminución del ancho pasando de 14,41 cm a 10,7 cm y en la frondosidad de ésta. No obstante, se puede constatar que hubo un aumento de la altura de la raíz, midiendo en un comienzo 17 cm y llegando a alcanzar los 29 cm al término del periodo de experimentación.



a) Mayo (2015)



b) Enero (2016)



Figura 20. Imagen del tallo y raíz **a)** al comienzo de la operación. **b)** al término de la operación del sistema HC-Aga.

3.7 Balance de nitrógeno

Finalmente, se procedió a efectuar el balance de N en los sistemas HC-Control y HC-Aga como lo muestra la Tabla 7.

Tabla 5. Balance de Nitrógeno de los sistemas HC-Control y HC-Aga durante las distintas etapas de operación.

Humedal	Etapas I		Etapas II		Etapas III	
	HC- Control (mg)	HC-Aga (mg)	HC- Control (mg)	HC-Aga (mg)	HC- Control (mg)	HC-Aga (mg)
N-NT_E	38,1	38,1	69,4	69,4	122,7	122,7
N-NH₄⁺_E	34,3	34,3	63	63	117,3	117,3
N-NO₃⁻_E	0,02	0,02	0,03	0,03	0,3	0,3
N-NO₂⁻_E	0,05	0,05	0,07	0,07	0,3	0,3
N-NT_S	31,4	27	61,5	66,1	121	108,8
N-NH₄⁺_S	6,1	5,2	15	11,1	32,7	25,6
N-NO₃⁻_S	14,7	20,8	36,8	45,92	80,1	72,6
N-NO₂⁻_S	9,8	1	8,3	6,4	4,5	6,3
Eliminación NT (%)	17,6	29,1	11,4	4,7	1,4	11,3

Nota: E=Entrada y S=Salida

A través de este análisis, se constata que durante la Etapa I, HC-Control y HC-Aga lograron eficiencias de un 17,6% y 29,1% lo que se traduce en que un 82,4% y 70,9% del N fue transformado, como lo muestra la Figura 21. En ambos casos, se constata que el mecanismo que predomina en este proceso es la nitrificación, donde se observa que un 52% y 71,5% del N-NH₄⁺ es convertido a N-NO₃⁻ mientras que 35% y 3,4%, a N-NO₂⁻ respectivamente. Los porcentajes restantes (12,3% y 25,1%) se eliminarían a través de otros mecanismos como son la adsorción del medio de soporte y asimilación de la biomasa.

En el caso de la segunda etapa de operación que se muestra en la Figura 22, los porcentajes de eliminación de N disminuyeron alrededor de un 35% y 84% en HC-Control y HC-Aga, transformándose alrededor del 70 y 80% del N. Para la transformaciones del N-NH_4^+ , el 75,7 y 17,1% se convirtió en N-NO_3^- y N-NO_2^- respectivamente en HC-Control. En HC-Aga, por su parte, el 87,6 y 12,2% del N-NH_4^+ fueron utilizados para la formación de cada uno de los compuestos nombrados anteriormente.

Por último, a partir de la Figura 23 muestra las eliminaciones de N conseguidas HC-Control y HC-Aga, fueron de un 1,3% y 11,3% respectivamente. En el caso del N-NH_4^+ , el 94,7% fue convertido a N-NO_3^- y el 5,3% a N-NO_2^- en el control, mientras que en el humedal plantado con *A.africanus*, el 79,3% de este compuesto se transformó a N-NO_3^- y el 6,9% a N-NO_2^- .

A partir de los balances de materia realizados, se puede constatar que en ambos humedales durante las etapas I, II y III, entre el 71,5-86,8%, 92,8-99,8% y 86,2-100% del N-NH_4^+ fue utilizado para las reacciones de nitrificación, respectivamente. Esto demuestra que éste es el mecanismo que predomina en la eliminación de N en los sistemas en estudio.

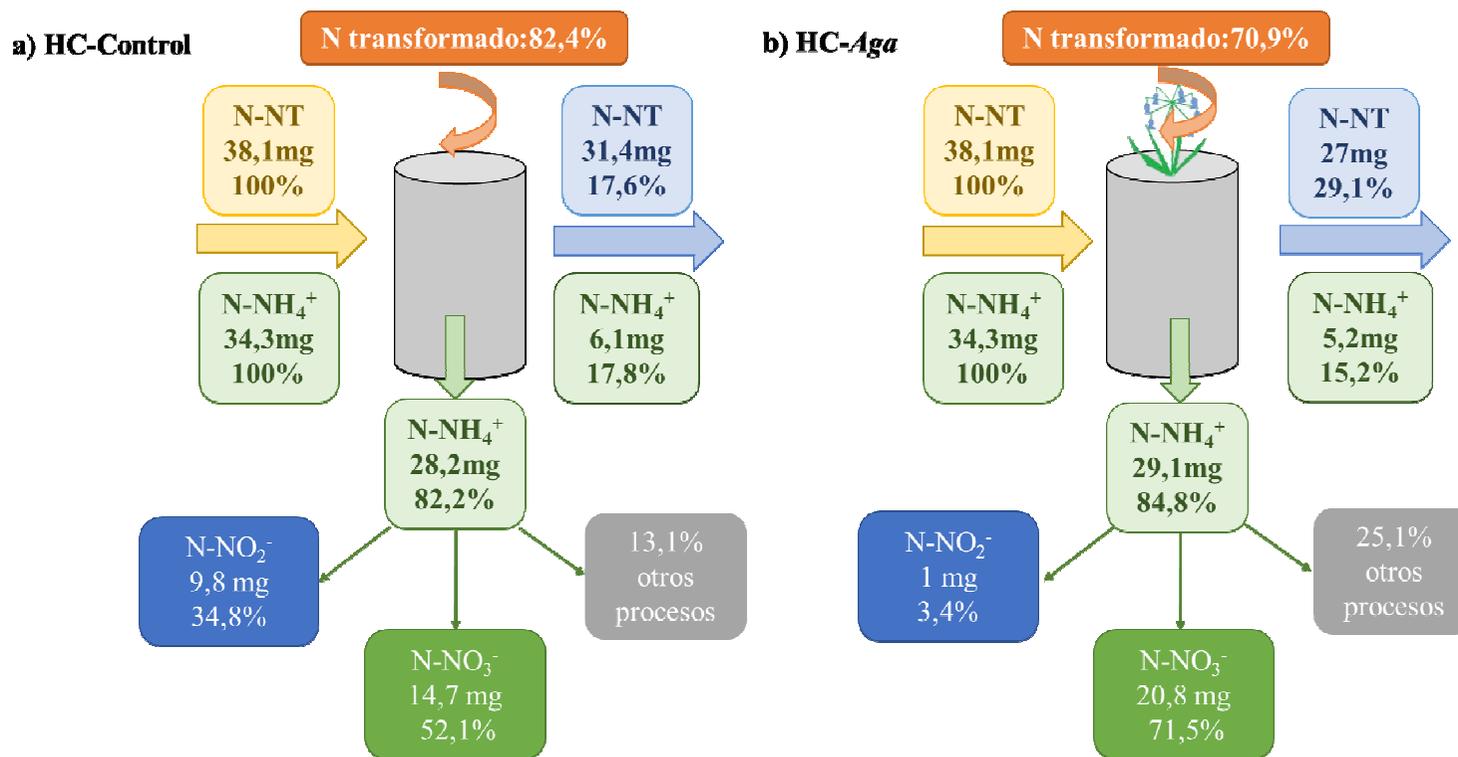


Figura 21. Balance de nitrógeno durante la primera etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.

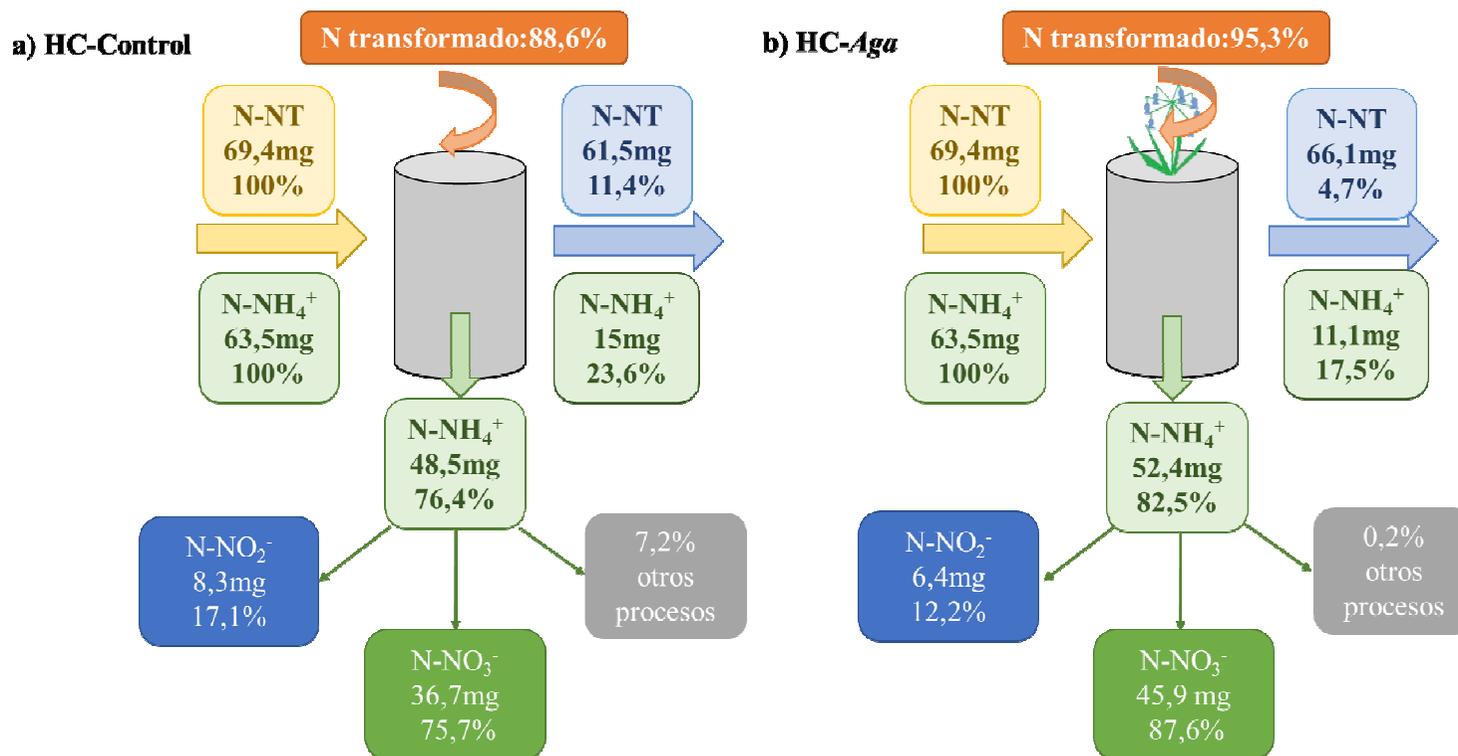


Figura 22. Balance de nitrógeno durante la segunda etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.

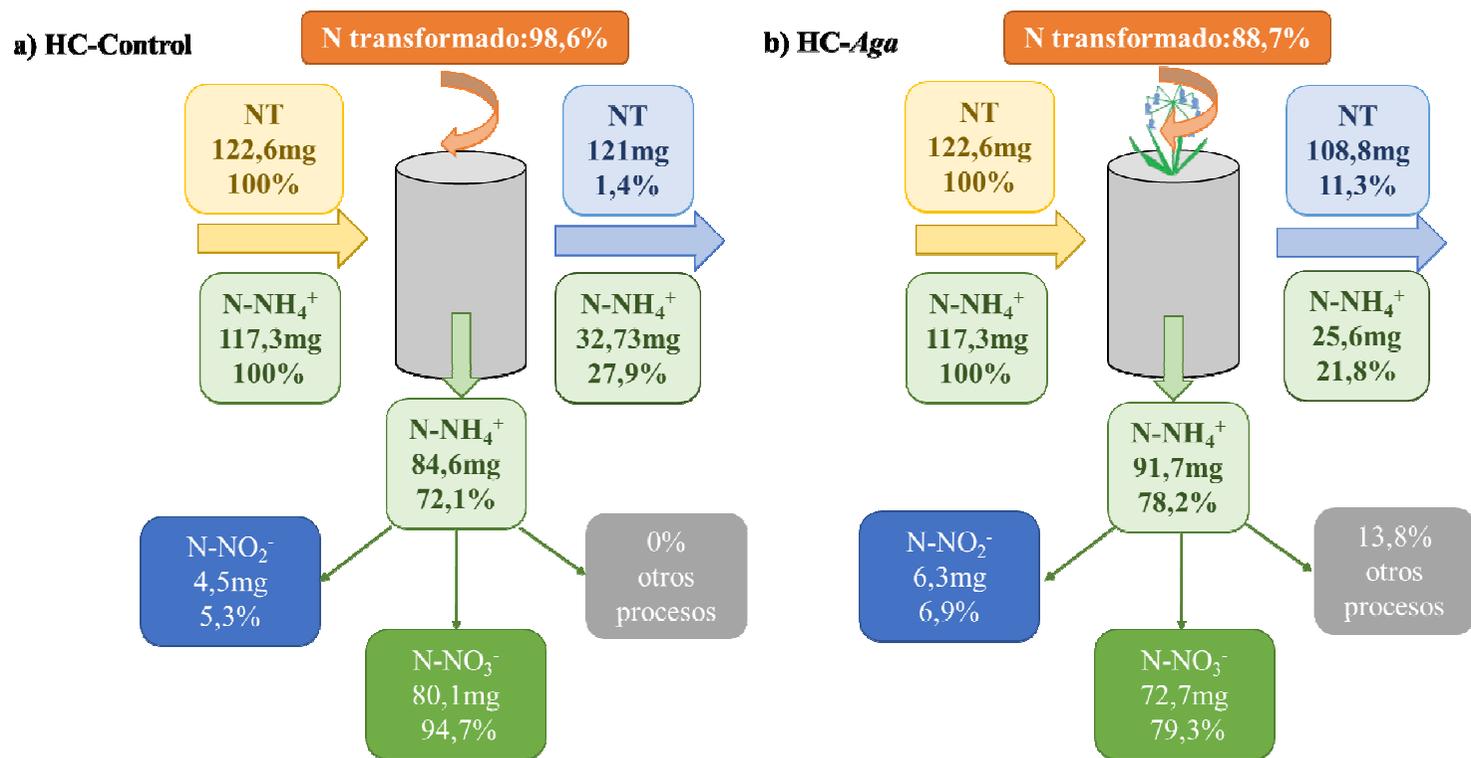


Figura 23. Balance de nitrógeno durante la tercera etapa de operación en a) HC-Control y b) HC-Aga.

4. DISCUSIÓN

4.1 Caracterización físico-química de los influentes

Como se mencionó en la sección Materiales y Métodos, los influentes utilizados corresponden a los efluentes generados por una planta piloto de HFHSS, por lo que las AS han recibido un tratamiento primario y secundario. Debido a esta razón es que se observan valores negativos de POR que fluctúan entre los -110 a -190 mV y concentraciones de OD menores a 2 mgO₂/L, ya que los sistemas de humedales horizontales promueven condiciones anaeróbicas del medio (Vymazal y Kröpfelová, 2008). En cuanto a los valores obtenidos de pH que se encuentran cercanos a 7, estos concuerdan con los obtenidos en bibliografía (García y col., 2004).

Al comparar las concentraciones de COT, DQO y DBO₅ obtenidas en todos los influentes con datos de literatura, se puede constatar que los valores para el primer y el tercer parámetro corresponden a AS muy diluidas (COT:<70 mg/L y DBO₅:<100 mg/L respectivamente) mientras que para el segundo parámetro, concuerda con AS diluidas (DQO<130 mg/L) (Henze y col., 2002). Estos valores obtenidos concuerdan con los reportados por López y col. (2015) para un sistema de HFHSS. En cuanto a las concentraciones de N para cada etapa, expresadas como N-NT, NTK, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ y N-NO₂⁻, éstas corresponden a AS concentradas según Henze y col. (2002). La razón que podría explicar dicha discordancia entre los resultados obtenidos de MO y N, es que las eficiencias de eliminación promedio de N-NH₄⁺ alcanzadas por los HCFHSS son cercanas al 21% en contraste al 80% de eficiencia de eliminación para DBO₅, por lo que este tipo de sistema favorece la eliminación de MO y no de N (Vymazal, 2009). Esta situación también se puede ver aumentada por tratarse de AS de tipo rural, ya que se ha observado mayores cantidades de N producto de las actividades agrícolas (Tsuzuki y col., 2010).

Por último, las concentraciones de P-PT y P-PO₄⁻³ en cada una de las etapas, se posicionan dentro de la categoría de AS concentrada y moderada (Henze y col., 2002). La eficiencia de sólo un 41% de eliminación de estos compuestos por los HFHSS, podrían respaldar dichos resultados (Vymazal, 2009).

4.2 Eficiencia de eliminación de Materia Orgánica

Al comparar las eficiencias de eliminación de MO para cada una de las etapas implementadas con otros humedales verticales que poseen similares características de operación, se constata que en el caso de las eficiencias de eliminación de COT, éstas, en algunos casos, concuerdan. En un estudio realizado por Zhao y col. (2010), se aplicaron diferentes relaciones de carbono/nitrógeno (C/N) y CSN de 1,2; 2,6 y 4,9 g·N-NH₄⁺/m²·d, similares a las utilizadas en este trabajo (Etapa I: 1,4; Etapa II: 2,4 y Etapa III: 4,4 g·N-NH₄⁺/m²·d). Para este sistema en estudio que consistió en 2 HFVSS, uno plantado con *L. salicaria* y otro sin vegetación, se obtuvieron eficiencias de eliminación de 29 y 30% para la primera carga mientras que para HC-Control y HC-Aga se alcanzaron rendimientos entre 43,96-49,49%.

En el caso de la segunda etapa, ambos estudios alcanzaron valores similares de alrededor de 34 y 37% (HC-Control: 34,96% y HC-Aga: 36,98%). Finalmente, durante la última carga utilizada, el sistema estudiado por Zhao y col. (2010) consiguió rendimientos de 22 y 25% que difieren a los valores obtenidos por HC-Control y HC-Aga (33,84 y 36,86%, respectivamente).

Para el parámetro de DQO, existen resultados en bibliografía que difieren a los presentados en este trabajo. Por ejemplo, se han observado eficiencias de eliminación de DQO de 93,2% (Abou-Elela y col., 2013) y de 77,2-83,2% (Zurita y col., 2009) para CSN cercanas a 1 g·N-NH₄⁺/m²·d que se contrastan a las alcanzadas para HC-Control y HC-Aga durante la etapa I (56,27 y 59,97%, respectivamente). Sin embargo, existen otros trabajos que han logrado rendimientos similares como es el caso de Cheng y col. (2011) donde el sistema conformado por un humedal vertical plantado con *A. calamus* y otro que no presenta vegetación, alcanzaron rendimientos de 56,52 y 46,11% para carga de alrededor de 1,5 g·N-NH₄⁺/m²·d. Igualmente, se han reportado eficiencias del 60% en otros estudios lo que refuerza aún más los valores expuestos en este trabajo (Zhao y col., 2010; Yan y col., 2013).

Durante la etapa II, los resultados de eficiencias de HC-Control y HC-Aga se ubican entre de 46,19-49,73% y concuerdan al 44-47% logrado por un sistema de

HFVSS operado bajo una carga de $2,38 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ y que se encontraba plantado con *P. australis* (Korkusuz y col., 2005). No obstante, existen otros sistemas de humedales verticales que han conseguido resultados de 56 y 70% de eliminación de DQO (Cheng y col., 2011; Zhao y col., 2010; Yan y col., 2013).

Por último, al utilizar condiciones de operación similares a la carga de $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$ más alta ($4,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$), algunos sistemas de humedales verticales han reportado eficiencias mayores al 90% (Jia y col., 2010). Lo mismo sucede con rendimientos logrados por Chang y col. (2012) donde un sistema de HFVSS, plantado con *T. orientalis* y *A. donax var. versicolor* y otro con *Canna* y *Pontederia*, ha alcanzado valores de 59,9 y 62,8% utilizando una carga de $4,85 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$. Lo que demuestra que los rendimientos logrados por HC-Control y HC-Aga difieren a estas eficiencias señaladas en bibliografía.

Para terminar, algunos HFVSS han reportado eficiencias de eliminación de MO biodegradable entre un 80 a 90% al operar bajo CSN cercanas a $1 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ (Zurita y col., 2009; Abou-Elela y col., 2013). Lo mismo sucede en sistemas verticales donde se aplican cargas de 2 y 3 $\text{g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ y se obtienen resultados del orden de un 70, 80% y 60% respectivamente (Yan y col., 2013). Estos valores contrastan con los conseguidos en este estudio, en el cual se alcanzan rendimientos de alrededor 60%, 50% y 45% para la etapa I, II, III, tanto para HC-Control como HC-Aga.

Exceptuando los resultados obtenidos de COT por ambos sistemas, las eficiencias de eliminación de DQO y DBO_5 difieren a las alcanzadas por literatura. Una de las razones que podría explicar dicha discordancia es la relación C/N de los influentes bajo la cual fueron operados HC-Control y HC-Aga. Como se mencionó anteriormente, durante las tres etapas de operación, la relación se mantuvo alrededor de 2,5:1 y algunos estudios recomiendan relaciones de 5:1, ya que al aplicar mayores relaciones, existe una mayor cantidad de MO disponible para ser degradada por parte de las bacterias heterótrofas (Zhao y col., 2010). Por otro lado, al aplicar cargas mayores, implica también un competencia entre las bacterias heterótrofas y nitrificantes (Liu y col., 2013). Aunque la información sobre cómo afecta esta relación a las eficiencias de eliminación sea limitada, se cree que algunos microorganismos heterótrofos en función de su tasa de

crecimiento, deben cambiar su estequiometría C/N/P por lo que altas tasas de crecimiento se asocian no sólo altas relaciones de C/N y P/C sino que con bajas N/P (Elser y col., 2003, Makino y col., 2003). Por lo que es recomendable, en estudios futuros, considerar distintas relaciones de estos parámetros para alcanzar mayores eficiencias tanto de MO como de N.

Por otro lado, al evaluar la influencia de las cargas en el proceso de eliminación de MO en ambos sistemas, estos resultados coinciden con bibliografía demostrando que en HC-Control, las cargas utilizadas no influyeron en los rendimientos logrados, exceptuando la DBO₅ (Zhao y col., 2010; Cheng y col., 2011). En el humedal plantado con *A.africanus*, por su parte, las eficiencias disminuyeron al comparar la etapa I y III coincidiendo con datos reportados por Yan y col. (2013). El crecimiento y la evolución de la planta se vieron afectados durante la etapa III producto de las altas concentraciones de N y las altas temperatura registradas. Con la descomposición de la planta, ocurre la liberación de carbono y nutrientes a través de los exudados radiculares al humedal y por lo tanto aumenta la concentración de estos compuestos en el medio (Vymazal, 2007). Ésta podría ser, entonces, una de las razones que explicaría dicha disminución en las eficiencias de COT, DQO y DBO₅ entre cargas.

4.3 Eficiencia de eliminación de amonio

Por su parte, las eficiencias de eliminación de N-NH₄⁺ obtenidas tanto para HC-Control como HC-Aga concuerdan con los valores alcanzados en literatura. En el caso de la primera carga utilizada, estos sistemas obtuvieron rendimientos cercanos al 80%. Estos resultados difieren a los alcanzados por un sistema de humedales verticales con policultivo de *Canna*, *P. australis* y *C. Papyrus* que obtuvieron eficiencias de 66% (Abou-Elela y col., 2013). Asimismo, otro HC que utilizan plantas ornamentales como *Z. aethiopica*, *S. reginae*, *A. andreanum* y *A. africanus* y que operaba a cargas similares, consiguió eficiencias de un 72,2% (Zurita y col., 2009).

Por otro lado, durante la segunda carga, se obtuvieron eficiencias entre un 76,73 y 81,71% lo que se diferencia del 48,84% de N-NH₄⁺ alcanzado por un sistema plantado con *I. pseudoacorus* (Liu y col., 2013) y al 40% de un sistema vertical sin vegetación

(Tunçşper, 2009). Por otro lado, los resultados cercanos al 80% de Korkusuz y col. (2005) operando a CSN de $2,30 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$, se asemejan a los valores alcanzados por HC-Control y HC-Aga. Durante la tercera etapa de operación, se utilizó una carga de aproximadamente $4,4 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$; similar a la que operaron el sistema de HFVSS plantados con *P. australis* (Jia y col., 2010). En este estudio, los valores de eficiencias fueron cercanos al 90% mientras que en los humedales estudiados en este trabajo sólo consiguieron en promedio un 75%.

En general, los rendimientos logrados por ambos sistemas en cada una de las etapas de operación, se destacan según literatura (Vymazal, 2007) y estas eficiencia se mantuvieron al aumentar las cargas de N, no presentado diferencias significativas entre ellas. En este caso, la relación C/N generó un efecto positivo, ya que al no existir variación de ésta, favoreció el crecimiento de las bacterias amonio-oxidantes (responsable de la oxidación del $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$), producto la disponibilidad limitada de MO para ser degradada por las bacterias heterótrofas, que son sus principales competidoras. Esto se comprueba en el trabajo realizado por Liu y col. (2013), en el cual un sistema de humedales verticales sin aireación, disminuyó su eficiencia de eliminación de $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$ de 59,19% a 45,75% al aumentar la relación C/N de 2,5 a 10.

No obstante sería interesante, en futuros estudios, implementar distintas cargas orgánicas y de N para poder determinar qué relación permite obtener altas eficiencias tanto de MO como de $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$. Por ejemplo Vymazal y Kröpfelová (2011) trabajaron con sistemas híbridos de tres etapas conformados por HFVSS, HFHSS y HFVSS, aplicaron cargas de $34 \text{ g}\cdot\text{DQO}/\text{m}^2\cdot\text{d}$ y $3 \text{ g}\cdot\text{N}\cdot\text{NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ sobre el primer humedal vertical. Este sistema alcanzó eficiencias de eliminación cercanas al 70% tanto de MO como para $\text{N}\cdot\text{NH}_4^+$.

4.4 Eficiencia de eliminación de fósforo

Es importante destacar que la eliminación de P no se vio afectada por la aplicación de diferentes CSN en ambos sistemas en estudio ($p>0,05$), por lo que se puede suponer que en el mecanismo que contribuyó principalmente fue la adsorción por

parte del medio de soporte. Este resultado concuerda con lo observado por Yan y col. (2013).

En general, tanto HC-Control como HC-Aga obtuvieron un rendimiento cercano al 54%, lo que concuerda con las eficiencias reportadas por Brix y Arias (2005). En este estudio, se utilizó un medio de soporte similar al implementado en HC-Control y HC-Aga que estaba compuesto por una capa superior e inferior de grava mientras que la intermedia de arena y obtuvo rendimientos del orden del 60%. Esta concordancia se debe principalmente a las reacciones de adsorción y precipitación entre el P y los elementos como calcio (Ca), aluminio (Al) y hierro (Fe) presentes en la arena y grava (Brix y col., 2001). Aunque los rendimientos obtenidos sean relativamente altos, se ha constatado que con el paso del tiempo, la capacidad de adsorción del medio de soporte disminuye, por lo que es razonable obtener estos resultados con un tiempo de operación de alrededor de 300 días. Es por eso que se han estudiado nuevos medios de soporte como: arcilla expandida usada como agregado liviano (LECA, su sigla en inglés), laterita granulada, esquisto bituminoso y mármol triturado que buscan obtener eficiencias que perduren en el tiempo (Brix y col., 2001). Asimismo, los resultados se repiten para el caso de los porcentajes de eliminación de P-PO_4^{3-} .

4.5 Nitrificación

La oxidación del N-NH_4^+ o más bien conocida como nitrificación es el mecanismo de eliminación que predomina en los HFVSS. Este proceso está compuesto por dos etapas en las cuales el N-NH_4^+ en presencia de oxígeno es en primer lugar convertido a N-NO_2^- y luego a N-NO_3^- (Saeed y Sun, 2012). En este trabajo se puede constatar que este mecanismo se está llevando a cabo, ya que alrededor del 90% del N-NH_4^+ , durante todas las etapas, es utilizado en las reacciones de nitrificación tanto en HC-Control como en HC-Aga, como lo muestra el balance de N expuesto en las Figuras 21, 22 y 23. El porcentaje restante de N-NH_4^+ (10%) podría haber sido adsorbido por el medio de soporte de los humedales, ya que se ha reportado que altas concentraciones de este compuesto, como es el caso de los influentes utilizados, permiten un mayor intercambio de cationes entre el medio y el N-NH_4^+ (Lee y col., 2009). No obstante, para

saber el porcentaje que contribuye este mecanismo a la eliminación de este compuesto, es necesario realizar ensayos de adsorción. Por su parte, la asimilación de N-NH_4^+ de la planta se descarta debido a que no existe una acumulación de N como lo muestra en el análisis foliar en la Tabla 6.

Específicamente, en HC-Control se observa una mejora de la nitrificación en relación a las cargas implementadas, lo que se evidencia en un aumento de la concentración de N-NO_3^- a medida que aumenta las CSN pasando de 29,31 a 53,44 mg/L y en una disminución de las concentraciones de N-NO_2^- pasando de valores de 19,59 a 3,91 mg/L. Sin duda alguna, este fenómeno podría relacionarse al alza de las temperatura entre las etapas I, II y III que se muestran en la Figura 14b). Se ha demostrado que la tasa de nitrificación aumenta cuando las temperaturas bordean los 25-30°C como es el caso de la etapa II y III (Wild, 1993). Un ejemplo de ello es lo reportado en Prochaska y col. (2007) donde se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a las concentraciones de N-NO_3^- producto de las variaciones de temperatura durante las estaciones del año. En este caso se alcanzaron concentraciones de 37,52 y 44,25 mg/L durante el invierno y verano, respectivamente. Asimismo sucede con el aumento de las cargas de N-NH_4^+ en este estudio mencionado, ya que se genera más sustrato disponible para ser oxidado por las bacterias nitrificantes, por lo que la tasa de oxidación de N-NH_4^+ aumenta y contribuiría también a este aumento de la concentración de N-NO_3^- en el tiempo.

Contrariamente, en HC-Aga se constata una variabilidad de este proceso, ya que entre la etapa I y II, los valores de N-NO_3^- se acrecentaron en un 27% y disminuyeron en 16% entre la etapa II y III. Lo mismo sucede con el N-NO_2^- , el cual presenta fluctuaciones en los valores aumentando de 1,92 a 8,79 mg/L entre la etapa I y II y disminuyendo a 4,23 mg/L en la etapa III. Esta variación de concentraciones de HC-Aga tanto para N-NO_3^- como para N-NO_2^- podría deberse al comportamiento de *A. africanus*, que como se puede apreciar en las Figuras 18, 19 y 20, su crecimiento se vio afectado por las altas temperaturas y el exceso de nutrientes, perjudicando así el proceso de nitrificación en este sistema.

Es importante destacar también que los valores logrados de N-NO_3^- y N-NO_2^- durante todas las etapas y en ambos sistemas, concuerdan con los resultados presentes en bibliografía lo que corrobora aún más que el proceso de nitrificación está ocurriendo. (Green y col., 1997; Keffala y Ghrabi, 2005; Langergraber y col., 2009; Skalrz y col., 2009; Bialowiec y col., 2011; Ayaz y col., 2012; Fan y col., 2013a; Fan y col., 2013b); exceptuando la concentración alcanzada durante la etapa I en HC-Control. Esta acumulación de N-NO_2^- podría explicarse a la baja afinidad de las bacterias nitrito-oxidante por el oxígeno producto de la falta de madurez del sistema de humedales y las bajas temperaturas ($14,6^\circ\text{C}$) (Alleman, 1985; Paredes y col., 2007).

La disponibilidad de oxígeno, por su parte, es considerado uno de los factores limitantes para la degradación orgánica y por supuesto para la nitrificación. Se ha reportado que concentraciones sobre 1,50 mg/L son esenciales para que ocurra este mecanismo de eliminación (Vymazal, 2007; Ye y Li, 2009). En el caso de HC-Control y HC-Aga, las concentraciones promedio de OD fueron de 4,7 mg/L y 5,5 mg/L durante todas las etapas, las cuales demuestran que el requerimiento de oxígeno está cubierto para las reacciones y por lo tanto, se generan las condiciones necesarias de oxígeno para la nitrificación. Además, estos resultados coinciden con concentraciones de HFVSS con aireación de 5,84 mg/L promedio (Fan y col., 2013a) lo que sugiere que las características porosas del medio de soporte promueve una alta difusión del oxígeno atmosférico (Saeed y Sun, 2011). Por último, las concentraciones de OD no fueron afectadas por las CSN implementadas lo que concuerdan con Zhao y col. (2010).

Producto de la nitrificación, se apreció una disminución de los valores de pH de los efluentes generados en relación a los influentes lo que concuerda con datos arrojados por otros HFVSS presentes en bibliografía (Zhao y col., 2010; Cheng y col., 2010; Saeed y Sun, 2011 y Vymazal y Kröpfelová, 2011). En cuanto al POR, éste se mantuvo en rangos de 120-180 mV durante la etapa I y II para ambos humedales; valores que favorecen la actividad aeróbica de los microorganismos nitrificantes (Faulwetter y col, 2009). Como ya se ha mencionado anteriormente, los HFVSS son sistemas aeróbicos y al ser alimentados de manera intermitente, como es el caso de HC-Control y HC-Aga, producen mayores POR permitiendo altas eficiencias de eliminación de N-NH_4^+

(Caselles-Osorio y García, 2007). Durante la etapa III, el POR de ambos sistemas disminuyó a valores del orden de los 40 mV; sin embargo la nitrificación no se vio afectada y estos coinciden con los valores reportados por Zhao y col. (2010).

En general, durante todas las etapas para ambos sistemas, el proceso de nitrificación es el principal mecanismo que permite la eliminación de N. Esto se debe principalmente a que existen las condiciones adecuadas de pH, temperatura y sobre todo de OD. Además, la relación C/N utilizada en este trabajo, contribuyen a que las bacterias heterótrofas no inhiban el crecimiento de las nitrificantes. Se ha reportado que la concentración de N-NO_3^- aumenta cuando decrecen los valores de DQO (Saeed y Sun, 2011) y que relaciones de alrededor de 2,5:1 aumentan las concentraciones de N-NO_3^- y por lo tanto permite la nitrificación (Fan y col., 2013a).

Por otro lado, al estudiar la oxidación del N-NH_4^+ a distintas alturas de ambos sistemas de humedales, se constató una disminución tanto de la concentración de N-NH_4^+ , N-NO_3^- y N-NO_2^- entre H1 y H2, exceptuando para HC-Control donde no se observó una diferencia significativa entre las alturas para el caso del N-NH_4^+ . Las mayores concentraciones de estos compuestos se alcanzaron en los primeros centímetros de ambos humedales con un promedio entre los dos sistemas de 25,6 mg/L de N-NH_4^+ , 37,92 mg/L de N-NO_3^- y 6,26 mg/L de N-NO_2^- . Esta baja en las concentraciones a las diferentes alturas indica que el proceso de nitrificación se lleva a cabo principalmente en los primeros 30,5 cm de los HFVSS. Estos resultados concuerdan con los reportados en bibliografía, en los cuales se han utilizado modelos matemáticos que predicen la dinámica y la eliminación de N a lo largo del lecho del humedal (Ouyang y col., 2011). En este caso, se observó que tanto la tasa de N-NH_4^+ como de N-NO_3^- disminuían cuando se incrementaban la profundidad de la columna; la mayor tasa de transformación de N-NH_4^+ y N-NO_3^- se alcanzó en las 2 primeras zonas que corresponden a los 40 primeros centímetros de este sistema. Además, se constató que la tasa de N-NO_3^- aumentaba con el paso del tiempo mientras que la de N-NH_4^+ disminuía mostrando que el proceso de nitrificación se estaba llevando a cabo. Este experimento sería interesante de realizar en un futuro para determinar las velocidades de las reacciones. Asimismo, el estudio de la microbiología en HFVSS ha determinado que la densidad y actividad

microbiana se concentra principalmente en los primeros 5-10 cm de lecho del humedal. Esta distribución se podría deber a la alta concentración tanto de nutrientes como de oxígeno en las zonas superiores de estos sistemas (Ragusa y col., 2004; Tietz y col., 2007a). En el caso de HC-Aga, la concentración de oxígeno disuelto disminuyó a lo largo del lecho lo que evidencia lo mencionado anteriormente. Sin embargo, a través de todo el lecho tanto para HC-Control como para HC-Aga las concentraciones de OD y POR son favorables para que ocurra la nitrificación.

Estos resultados son interesantes, ya que indican que las bacterias nitrificantes podrían ubicarse en las zonas superiores de los sistemas de humedales. Estudios moleculares, han identificado tanto a bacterias amonio-oxidantes y como nitrito-oxidantes en HFVSS (Faulwetter y col., 2009); no obstante no presentan diferencias a lo largo del lecho (Tietz y col., 2007b). Algunas de las especies que se destacan son *Nitrosomonas eutropea* y *Nitrospira* (Tietz y col., 2007b, Sleytr y col., 2009). Sin embargo, su abundancia y la estructura de la comunidad bacteriana dependen de varios factores como son el medio de soporte utilizado, la estacionalidad, la carga orgánica y las condiciones de oxígeno (Adrados y col., 2014). Es por eso que es necesario realizar más estudios genéticos y moleculares que permitan estudiar el funcionamiento de la comunidad bacteriana existente en los humedales para así entender los procesos de degradación que ocurren en ellos y optimizarlos.

4.6 Efecto de la vegetación sobre las eficiencias de eliminación de materia orgánica, nutrientes y nitrificación.

En este estudio, durante la Etapa I que corresponde a los meses de mayo a noviembre, se observó un crecimiento de *A. africanus* tanto en el número como en el largo de las hojas de cada tallo. Sin embargo, durante la Etapa II y III, que coincide con la etapa de primavera-verano, su crecimiento se vio afectado principalmente por las altas temperaturas causando un stress hídrico en la planta y por lo tanto, no hubo floración, concordando con el comportamiento que obtuvo *A. africanus* en Calheiros y col. (2015), pero no con Zurita y col. (2009). Esta información se refuerza con el cambio que tuvo la raíz de la planta al comienzo y al término del experimento, observándose un

sistema radicular frondoso el cual disminuyó notoriamente con el paso del tiempo como lo muestra la Figura 20.

En cuanto a la contribución de la planta en la eliminación de contaminantes, al comparar las eficiencias tanto de COT, DQO, DBO₅ y N-NH₄⁺ en cada etapa, en ningún caso se detectaron diferencias significativas entre HC-Control y HC-Aga lo que coincide con los resultados presentados por Cheng y col. (2010) y Zhao y col. (2010). En el caso del P-PT y P-PO₄³⁻ existen sólo diferencias significativas en la Etapa III donde son superiores a las eficiencias logradas por HC-Aga. Para la nitrificación, sólo se presentaron diferencias en las concentraciones de N-NO₂⁻ durante la Etapa I.

Aunque existan estudios que reportan que la presencia de la planta contribuye a los mecanismos de eliminación de MO y N (Liu y col., 2012), toda la información reportada en este trabajo, evidencia que no existe un efecto de la vegetación sobre las eficiencias de eliminación, ni en la nitrificación. Principalmente, esto se podría deber a la evolución y crecimiento de la planta a lo largo del trabajo. Esto se comprueba con el análisis foliar y radicular realizado, donde existió una disminución de un 40% y 15% en el contenido de N. Este resultado concuerda con datos bibliográficos que reportan que la concentración de nutrientes tiende a disminuir cuando la planta madura y comienza la senescencia, como fue el caso de esta planta (Vymazal, 2007).

Aunque el sistema radicular de *A. africanus* aportó oxígeno a HC-Aga, éste se vio notoriamente afectado durante el estudio, lo que podría influir en la formación de una rizósfera que estimula la densidad y la actividad bacteriana para los procesos de degradación de MO y de N (Tanner, 2001). Por lo tanto, se puede inferir que la comunidad bacteriana existente en ambos sistemas es similar como lo reporta Tietz y col. (2007) y que se desarrollaría principalmente en el medio de soporte llevando a cabo los procesos mencionado anteriormente.

4.7 Cumplimiento de la normativa por parte de los efluentes generados

De acuerdo a la normativa vigente en el D.S N° 90 que establece las normas de emisión de contaminantes asociado a la descargas de residuos líquidos a cuerpos de aguas marinas y continentales superficiales presentado en el anexo (Tabla N°3), se

establece que los efluentes generados por HC-Control y HC-Aga pueden ser descargados a cuerpos de aguas fluviales con capacidad de dilución (C/D), marinos dentro de la zona de protección litoral (ZPL) y por supuesto, fuera de la ZPL (que no se muestra en tabla).

Ninguno de los efluentes puede ser vertido a cuerpos de aguas lacustres debido a las altas concentración de N-NO_3^- y N-NO_2^- producto de la nitrificación. No obstante el efluente generado por HC-Control durante la Etapa I cumple con los parámetros para descargar en cuerpos de aguas fluviales sin capacidad de dilución (S/D).

Para dar término a este trabajo, es importante destacar que durante todas las etapas de operación utilizadas, la nitrificación fue el mecanismo primordial que contribuyó a la eliminación de N en ambos sistemas (HC-Control y HC-Aga); sin embargo no se vio favorecido por la presencia de la planta *A.africanus*, la cual vio afectado su crecimiento producto del stress hídrico y la presencia de contaminantes en AS. Todo lo expuesto anteriormente lleva a rechazar la hipótesis planteada para este estudio. De acuerdo a los objetivos propuestos, se puede apreciar que las eficiencias de eliminación tanto de MO como de nutrientes se posicionan dentro de los rangos encontrados en bibliografía, destacándose principalmente los rendimientos alcanzados para el N-NH_4^+ . En cuanto a la nitrificación, este proceso está ocurriendo en los primeros centímetros del lecho donde existe mayor aireación del medio. Finalmente, la planta *A.africanus* no obtuvo los resultados esperados, ya que no contribuyó en los procesos de eliminación y nitrificación.

Sin duda alguna este trabajo sienta las bases para estudios futuros sobre HFVSS en Chile, por lo que sería interesante escalar este proyecto a un nivel piloto, utilizando otro tipo de planta ornamental como *Z. aethiopica* que ha demostrado un buen desarrollo y crecimiento en HFVSS (Zurita y col., 2009). Además, para mejorar las características físico-químicas de los efluentes generados, se podría implementar sistemas híbridos compuesto por ejemplo por 2 HFVSS y uno HFHSS que promuevan tanto la nitrificación y desnitrificación, variando las relaciones C/N que es determinante para la ocurrencia de estos procesos. Todo esto para poder obtener mayores rendimientos de eliminación de MO y obtener efluentes sin concentraciones elevadas de N-NO_3^- y N-NO_2^- . Por otro lado, cómo se distribuyen los microorganismos a lo largo del lecho y

cómo se relaciona su posición con las eficiencias de eliminación en los humedales a partir de análisis genómicos, son algunas de las interrogantes que podrían responder trabajos futuros para así optimizar los rendimientos de los HC y hacer real su implementación en Chile como tecnología de tratamiento para las zonas rurales.

CONCLUSIONES

- El sistema de HFVSS conformado por HC-Control (sistema sin vegetación) y HC-Aga (sistema con vegetación) lograron eficiencias de eliminación de MO (expresada como DBO_5), N-NH_4^+ y P dentro de los rangos de 41,26-62,33%, 71,78-84,46% y 41,57-65,92% respectivamente durante todo el tiempo de operación. Estos resultados evidencian que estos sistemas son una alternativa para el tratamiento de AS de zonas de baja densidad poblacional. Además, las diferentes CSN implementadas no influyeron en estas eficiencias antes mencionadas.

- Se pudo concluir del análisis estratificado de ambos sistemas, que la nitrificación ocurre en los primeros 30,5 cm debido a la existencia de una mayor aireación en los sistemas. Esto permite inferir que las bacterias nitrificantes se sitúan predominantemente en esa zona. Por su parte, diferentes CSN, aumentaron el proceso de nitrificación en HC-Control; sin embargo en HC-Aga, este proceso presentó variaciones producto del comportamiento de *A.africanus*.

- El crecimiento de *A.africanus* se vio afectado por la presencia de contaminantes en las AS y por las temperaturas alcanzadas durante la Etapa II y III. Además, la presencia de vegetación no contribuyó en la mayoría de las eficiencias de eliminación de los compuestos analizados, repitiéndose este mismo resultado para la nitrificación. Por lo tanto, la planta *A.africanus* no presenta las características que potencien la nitrificación en el sistema.

- Debido a todo lo antes indicado, se rechaza la hipótesis de este trabajo, pues la nitrificación, aunque sea el principal mecanismo de eliminación en ambos humedales, no se ve favorecida por la presencia de vegetación.

AGRADECIMIENTOS

En este apartado quisiera agradecer, en primer lugar, a la Dra. Gladys Vidal por permitirme realizar este trabajo de investigación junto a ella y por toda la ayuda brindada en el transcurso de este año. También quisiera mencionar a la Dra. Carolina Reyes quien fue un apoyo fundamental para la realización de esta tesis, brindándome siempre su ayuda para resolver cualquier pregunta y problema. Además, me gustaría destacar a todos los integrantes del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) por siempre estar dispuestos a ayudar cuando los necesité y por los gratos momentos compartidos durante el transcurso de esta etapa.

Es importante también señalar al Fondo de Innovación Tecnológica de la Región del Bío-bío (CORFO-INNOVA BIOBIO) por el financiamiento al proyecto INNOVA BIOBIO 13.3327-IN-IIP *“Recuperación de agua mediante jardines depuradores a partir de aguas servidas rurales: Aplicaciones innovadoras con impacto en la comunidad rural”* en el cual se enmarca esta tesis. También, agradecer por los recursos brindados al Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y Minería (CRHIAM), CONICYT/FONDAP/15130015.

Por último, no puedo dejar de mencionar a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción por la ayuda brindada para la realización de esta tesis y sobre todo por la formación entregada durante estos 5 años de carrera.

BIBLIOGRAFÍA

Abou-Elela, S. I., Golinielli, G., Abou-Taleb, E. M. y Hellal, M. S. (2013) Municipal wastewater treatment in horizontal and vertical flows constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 61:460-468.

Adrados, B., Sánchez, O. Arias, C. A., Becares, E, Garrido, L., Mas, J., Brix, H., Morató, J. (2014) Microbial communities from different types of natural wastewater treatment systems: vertical and horizontal flow constructed wetlands and biofilters. *Water Res.*55:304-312.

Aguirre, P. (2004) Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial en Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos: una alternativa de bajo coste para tratamiento de aguas residuales (García, J., Morató, J. y Bayona, J.M, ed) pp 17-29, Ediciones CPET, Barcelona.

Ahn, Y. H. (2006) Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. *Process Biochem.* 41:1709-1721.

Alarcón, E. (2008) Evolución y Proyecciones en el Tratamiento de Agua Potable y Aguas Servidas en la Zona Centro-Sur de Chile, 15 pp.

Alleman, J. E. (1985) Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Sci. Technol.*17:409-419.

American Public Health Association (APHA) (1998) Standard methods for examination of water and wastewater 20 th Ed. (Clescerl, L; Greenberg, A; Eaton,A, ed) Washington, D.C, 1325 pp.

Andreottola, G., Foladori, P. y Ragazzi, M. (2001) On-line control of a SBR system for nitrogen removal from industrial wastewater. *Water Sci. Technol.* 43: 93-100.

Antoniou, P., Hamilton, J., Koopman, B., Jain, R., Holloway, B., Lyberatos, G. y Svoronos, S. A. (1990) Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Res.* 24:97-101.

Araya, F. (2012) Alternativas de Tratamiento de Aguas Servidas para núcleos humanos de baja densidad poblacional mediante Sistemas Híbridos de Humedales

Artificiales. Tesis para obtener el grado de Bioingeniero, Universidad de Concepción, Chile. 79 pp.

Arias, C. A., Brix, H. y Johansen, N. H. (2003) Phosphorus removal from municipal wastewater in an experimental two-stage vertical flow constructed wetland system equipped with a calcite filter. *Water Sci. Technol.* 48:51-58.

Arias, C. A. y Brix, H. (2005) Phosphorus removal in constructed wetlands: can suitable alternative media be identified?. *Water Sci. Technol.* 51:267-274.

Arias, C. A., Brix, H. y Marti, E. (2005) Recycling of treated effluents enhances removal of total nitrogen in vertical flow constructed wetlands. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 40:1431-1443.

Austin, D. (2006) Influence of cation exchange capacity (CEC) in a tidal flow, flood and drain wastewater treatment wetland. *Ecol. Eng.* 28:35-43.

Ayaz, S. C., Aktaş, Ö., Fındık, N., Akça, L. y Kınacı, C. (2012) Effect of recirculation on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system. *Ecol. Eng.* 40: 1-5.

Baraňao, P.A. y Tapia, L.A. (2004) Tratamiento de las Aguas Servidas: Situación en Chile. *Ciencia y Trabajo.* 13:111-117.

Barber, L. B., Leenheer, J. A., Noyes, T. I. y Stiles, E. A. (2001) Nature and transformation of dissolved organic matter in treatment wetlands. *Environ. Sci. Technol.* 35:4805-4816.

Belmont, M. A., Cantellano, E., Thompson, S., Williamson, M., Sánchez, A. y Metcalfe, C. D. (2004) Treatment of domestic wastewater in a pilot-scale natural treatment system in central Mexico. *Ecol. Eng.* 23: 299-311.

Białowiec, A., Janczukowicz, W. y Randerson, P. F. (2011) Nitrogen removal from wastewater in vertical flow constructed wetlands containing LWA/gravel layers and reed vegetation. *Ecol. Eng.* 37:897-902.

Bitton, G. (2002) *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (Bitton, G, ed), Jonh Wiley & Sons, New York, 3609 pp.

Brisson, J. y Chazarenc, F. (2009) Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: should we pay more attention to macrophyte species selection? *Sci. Total Environ.* 407:3923-3930.

Brix, H. (1993) Wastewater treatment in constructed wetlands: system design, removal processes, and treatment performance en *Constructed wetlands for water quality improvement* (Moshiri, G.A, ed) pp. 9-22, CRC Press, New York.

Brix, H. (1994). Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 29: 71-78.

Brix, H. (1997) Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Sci. Technol.* 35:11-17.

Brix, H. y Arias, C. A. (2005) The use of vertical flow constructed wetlands for site treatment of domestic wastewater: New Danish guidelines. *Ecol. Eng.* 25:491-500.

Brix, H., Arias, C. A. y Del Bubba, M. (2001) Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 44: 47-54.

Calheiros, C. S., Bessa, V. S., Mesquita, R. B., Brix, H., Rangel, A. O. y Castro, P. M. (2015) Constructed wetland with a polyculture of ornamental plants for wastewater treatment at a rural tourism facility. *Ecol. Eng.* 79:1-7.

Calheiros, C. S., Rangel, A. O., y Castro, P. M. (2009) Treatment of industrial wastewater with two-stage constructed wetlands planted with *Typha latifolia* and *Phragmites australis*. *Bioresour. Technol.* 100: 3205-3213.

Caselles-Osorio, A. y García, J. (2007) Impact of different feeding strategies and plant presence on the performance of shallow horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 378:253-262.

Centro de las Nuevas Tecnologías del Agua (CENTA) (2008) *Manual de Depuración de Aguas Residuales Urbanas*, Ideasmares, 264 pp.

Chang, J. J., Wu, S. Q., Dai, Y. R., Liang, W., y Wu, Z. B. (2012) Treatment performance of integrated vertical-flow constructed wetland plots for domestic wastewater. *Ecol. Eng.* 44:152-159.

Cheng, B., Hu, C. W. y Zhao, Y. J. (2011) Effects of plants development and pollutant loading on performance of vertical subsurface flow constructed wetlands. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 8:177-186.

Connolly, R., Zhao, Y., Sun, G. y Allen, S. (2004) Removal of ammoniacal-nitrogen from an artificial landfill leachate in downflow reed beds. *Process Biochem.* 39:1971-1976.

Cooper, P. (1999) A review of the Design and Performance of Vertical-Flow and Hybrid Reed Bed Treatment Systems. *Wat. Sci. Tech.* 40:1-9.

Cooper, P. (2005) The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates. *Wat. Sci. Tech.* 51: 81-90.

Council Directive of 21 May 1991 concerning urban wastewater treatment (91/271/EEC) (1991) Official Journal of the European Communities, L135/40, Journal of the European Communities (CEC).

Cui, L., Ouyang, Y., Lou, Q., Yang, F., Chen, Y., Zhu, W. y Luo, S. (2010) Removal of nutrients from wastewater with *Canna indica* L. under different vertical-flow constructed wetland conditions. *Ecol.Eng.* 36:1083-1088.

Plaza de Los Reyes, C. P., Pozo, G., y Vidal, G. (2014) Nitrogen behavior in a free water surface constructed wetland used as posttreatment for anaerobically treated swine wastewater effluent. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.*, 49:218-227.

Elser, J. J., Acharya, K., Kyle, M., Cotner, J., Makino, W., Markow, T., Watts, T., Hobbie, S., Fagan, W., Schade, J., Hood, J y Sterner, R.W. (2003) Growth rate–stoichiometry couplings in diverse biota. *Ecol. Lett.*6:936-943.

Fan, J., Liang, S., Zhang, B. y Zhang, J. (2013a) Enhanced organics and nitrogen removal in batch-operated vertical flow constructed wetlands by combination of intermittent aeration and step feeding strategy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20:2448-2455.

Fan, J., Wang, W., Zhang, B., Guo, Y., Ngo, H. H., Guo, W., Zhang, J. y Wu, H. (2013b) Nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: impact of influent COD/N ratios. *Bioresource Technol.*143:461-466.

Faulwetter, J. L., Gagnon, V., Sundberg, C., Chazarenc, F., Burr, M. D., Brisson, J., Camper, A.K., y Stein, O. R. (2009) Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: a review. *Ecol. Eng.* 35:987-1004.

Galloway, J. N., Aber, J. D., Erisman, J. W., Seitzinger, S. P., Howarth, R. W., Cowling, E. B. y Cosby, B. J. (2003). The nitrogen cascade. *Bioscience.* 53:341-356.

Galloway, J. N., Dentener, F. J., Capone, D. G., Boyer, E. W., Howarth, R. W., Seitzinger, S. P. y Vöosmarty, C. J. (2004). Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry.* 70:153-226.

García, J. y Corzo, A. (2008) *Depuración con Humedales Construidos: guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial*, 108 pp.

García, J., Aguirre, P., Mujeriego, R., Huang, Y., Ortiz, L., y Bayona, J. M. (2004) Initial contaminant removal performance factors in horizontal flow reed beds used for treating urban wastewater. *Water Res.* 38:1669-1678.

García, J., Morató, J. y Bayona, J.M. (2004) *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*, Centro de Publicaciones de Campus Nord, Barcelo, 100 pp.

García, J., Rousseau, D. P., Morato, J., Lesage, E. L. S., Matamoros, V. y Bayona, J. M. (2010) Contaminant removal processes in subsurface-flow constructed wetlands: a review. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* 40: 561-661.

García, T. y Rodríguez, M. (2005) Diseño construcción y evaluación preliminar de un humedal de flujo subsuperficial, *Revista de ingenierías Universidad de los Andes, Santafé de Bogotá*, 11 pp.

García-Perez, A., Harrison, M., Grant, B. (2009) Recirculating vertical flow constructed wetland: Green alternative to treating both human and animal sewage. *J. Environ. Health.*72:12-17.

Ghermandi, A., Bixio, D. y Thoeye, C. (2007) The role of free water surface constructed wetlands as polishing step in municipal wastewater reclamation and reuse. *Sci. Total Environ.* 380: 247-258.

Ghosh, D. y Gopal, B. (2010) Effect of hydraulic retention time on the treatment of secondary effluent in a subsurface flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 36:1044-1051.

Gikas, G. D. y Tsihrintzis, V. A. (2012) A small-size vertical flow constructed wetland for on-site treatment of household wastewater. *Ecol. Eng.* 44:337-343.

Gikas, G. D., Tsihrintzis, V. A. y Akratos, C. S. (2011) Performance and modeling of a vertical flow constructed wetland–maturation pond system. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ.* 46:692-708.

Gottschall, N., Boutin, C., Crolla, A., Kinsley, C., y Champagne, P. (2007) The role of plants in the removal of nutrients at a constructed wetland treating agricultural (dairy) wastewater, Ontario, Canada. *Ecol. Eng.* 29:154-163.

Green, M. B. (1997) Experience with establishment and operation of reed bed treatment for small communities in the UK. *Wetlands Ecol. Manag.* 4:147-158.

Green, M., Friedler, E., Ruskol, Y. y Safrai, I. (1997) Investigation of alternative method for nitrification in constructed wetlands. *Wat. Sci. Tech.* 35:63-70.

Greenway, M. (2005) The role of constructed wetlands in secondary effluent treatment and water reuse in subtropical and arid Australia. *Ecol. Eng.* 25:501-509.

Henze, M., Harremoës, P., La Cour Jansen, J. y Arvin, E. (2002) *Wastewater treatment: biological and chemical processes*, Heidelberg Springer, 430 pp.

Imfeld, G., Braeckevelt, M., Kusch, P. y Richnow, H. H. (2009) Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere.* 74:349-362.

Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) (2007) *Métodos de Análisis de Tejidos Vegetales*. Segunda Edición. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA N°40, Santiago, Chile, 140 pp.

Instituto Nacional de Estadística (INE) (2002) *Glosario de términos de demografía y estadísticas* 77isolv. Recuperado en <http://palma.ine.cl/demografía/menú/glosario.pdf> [2011, octubre].

Jia, W., Zhang, J., Wu, J., Xie, H. y Zhang, B. (2010) Effect of intermittent operation on contaminant removal and plant growth in vertical flow constructed wetlands: a microcosm experiment. *Desalination*, 262:202-208.

Kadlec, R. H. (2009) Comparison of free water and horizontal subsurface treatment wetlands. *Ecol. Eng.*35:159-174.

Kadlec, R. H., y Wallace, S. (2009) *Treatment wetlands*, CRC press, New York, 1048 pp.

Keffala, C. y Ghrabi, A. (2005) Nitrogen and bacterial removal in constructed wetlands treating domestic waste 78isol. *Desalination*. 185:383-389.

Kivaisi, A.K. (2001) The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. *Ecol. Eng.* 16:545-560.

Korkusuz, E. A., Beklioğlu, M. y Demirer, G. N. (2005) Comparison of the treatment performances of blast furnace slag-based and gravel-based vertical flow wetlands operated identically for domestic wastewater treatment in Turkey. *Ecol. Eng.* 24:185-198.

Langergraber, G., Leroch, K., Pressl, A., Sleytr, K., Rohrhofer, R. y Haberl, R. (2009) High-rate nitrogen removal in a two-stage subsurface vertical flow constructed wetland. *Desalination*.246:55-68.

Lee, C. G., Fletcher, T. D. y Sun, G. (2009) Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Eng. Life Sci.*9:11-22.

Lee, S., Maniquiz-Redillas, M. C., Choi, J. y Kim, L. H. (2014) Nitrogen mass balance in a constructed wetland treating piggery wastewater effluent. *J. Environ. Sci.* 26:1260-1266.

Lianfang, Z., Wei, Z. y Wei, T. (2009) Clogging processes caused by biofilm growth and organic particle accumulation in lab-scale vertical flow constructed wetlands. *J. Environ. Sci.* 21: 750-757.

Lin, L., Yuan, S., Chen, J., Xu, Z. y Lu, X. (2009) Removal of ammonia nitrogen in wastewater by microwave radiation. *J. Hazard. Mater.*161: 1063-1068.

Liu, L., Zhao, X., Zhao, N., Shen, Z., Wang, M., Guo, Y., y Xu, Y. (2013) Effect of aeration modes and influent COD/N ratios on the nitrogen removal performance of vertical flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 57:10-16.

Liu, X., Huang, S., Tang, T., Liu, X. y Scholz, M. (2012) Growth characteristics and nutrient removal capability of plants in subsurface vertical flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 44:189-198.

López, D., Fuenzalida, D., Vera, I., Rojas, K. y Vidal, G. (2015) Relationship between the removal of organic matter and the production of methane in subsurface flow constructed wetlands designed for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 83: 296-304.

López, L. (2015) Eliminación de nitrógeno mediante Humedales Construido de Flujo Subsuperficial Vertical. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Químico, Universidad de Concepción, Chile. 85 pp.

Makino, W., Cotner, J.B., Sterner, R.W., Elser, J.J. (2003) Are bacteria more like plants or animals? Growth rate and resource dependence of bacterial C:N:P stoichiometry. *Funct. Ecol.* 17:121–130

Metcalf y Eddy. (2003) *Waster Engineering: Treatment and Reuse*, McGraw-Hill, 1820 pp.

Molle, P., Linard, A., Boutin, C., Merlin, G. y Iwema, A. (2005) How to treat raw sewage with constructed wetlands: an overview of the French systems. *Wat. Sci. Tech.* 51:11-21.

Molle, P., Liénard, A., Grasmick, A. y Iwema, A. (2006) Effect of reeds and feeding operations on hydraulic residence time of vertical flow constructed wetlands under hydraulic overloads. *Water Res.* 40:606-612.

Morari, F. y Giardini, L. (2009) Municipal wastewater treatment with vertical flow constructed wetlands for irrigation reuse. *Ecol. Eng.* 35: 643-653.

Moreno, L., Fernández, M. A., Rubio, J.C., Calaforra, J.M., López, J.A., Beas, J., Alcaín, G., Murillo y J.M., Gómez, J.A. (2003) *La Depuración de Aguas Residuales Urbanas de Pequeñas Poblaciones mediante Infiltración Directa en el Terreno*, (Moreno, L, ed), Instituto Geológico y Minero, España, 168 pp.

Mosquera, A. (2009) *Tecnologías Avanzadas para el Tratamiento de Aguas Residuales* (Mosquera, A., ed), Novedar Consolider, 335pp.

Neubauer, M. E., Plaza de los Reyes, C., Pozo, G., Villamar, C. A., y Vidal, G. (2012) Growth and nutrient uptake by *Schoenoplectus californicus* (CA Méyer) Sójak in a constructed wetland fed with swine slurry. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12:421-430.

Noorvee, A., Põldvere, E. y Mander, Ü. (2007) The effect of pre-aeration on the purification processes in the long-term performance of a horizontal subsurface flow constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 380:229-236.

Olof, T. (1991) *Nitrogen in Terrestrial Ecosystems, Questions of Productivity, Vegetation Changes, and Ecosystem Stability* (Billing, W.D., Golley, F; Lange, O.L., Olson, J.S. y Remmert, H, ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 122 pp.

Organización de las Naciones Unidas (2005) *El agua, fuente de vida 2005-2015* (ONU-Agua), ONU-Agua, 20 pp.

Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (2012) *OECD Environmental Outlook to 2050* (OECD Publishing), OECD Edition, 353 pp.

Ouyang, Y., Luo, S. M. y Cui, L. H (2011) Estimation of nitrogen dynamics in a vertical-flow constructed wetland. *Ecol, Eng.* 37:453-459.

Paredes, D., Kuschik, P., Mbwette, T. S. A., Stange, F., Müller, R. A. y Köser, H. (2007) New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment—a review. *Eng. Life Sci.* 7:13-25.

Platzer, C. (1999) Design recommendations for subsurface flow constructed wetlands for nitrification and denitrification. *Water Sci. Technol.* 40:257-263.

Prochaska, C. A., Zouboulis, A. I. y Eskridge, K. M. (2007) Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands, as affected by season, substrate, hydraulic load and frequency of application of simulated urban sewage. *Ecol. Eng.* 31:57-66.

Puigagut, J., Villaseñor, J., Salas, J. J., Bécares, E. y García, J. (2007) Subsurface-flow constructed wetlands in Spain for the sanitation of small communities: a comparative study. *Ecol. Eng.* 30: 312-319.

Ragusa, S. R., McNevin, D., Qasem, S. y Mitchell, C. (2004) Indicators of biofilm development and activity in constructed wetlands microcosms. *Water Res.* 38:2865-2873.

Ramalho, R. S. (1990) *Tratamiento de Aguas Residuales*, Editorial Reverté S.A, Barcelona, 716 pp.

Rodríguez, P. (2012) Saneamiento en el sector rural: En busca de opciones sostenibles. *Revista AIDIS.* 42:11-16.

Rojas, K., Vera, I. y Vidal, G. (2013) Influence of season and species *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* on the removal of organic matter and nutrients contained in sewage wastewater during the start up operation of the horizontal subsurface flow constructed wetland. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia.* 69:285-299.

Romero, J. (2004) *Tratamiento de Aguas Residuales: teoría y principios de diseño*, Escuela Colombiana de Ingeniería, 1232 pp.

Saeed, T. y Sun, G. (2011) Enhanced denitrification and organics removal in hybrid wetland columns: comparative experiments. *Bioresource Technol.* 102:967-974.

Saeed, T. y Sun, G. (2012) A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *J. Environ. Manage.* 112:429-448.

Sakadevan, K. y Bavor, H. J. (1998) Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetland systems. *Water Res.* 32: 393-399.

Sklarz, M. Y., Gross, A., Yakirevich, A. y Soares, M. I. M. (2009) A recirculating vertical flow constructed wetland for the treatment of domestic wastewater. *Desalination.* 246:617-624.

Sleytr, K., Tietz, A., Langergraber, G., Haberl, R. y Sessitsch, A. (2009) Diversity of abundant bacteria in subsurface vertical flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 35:1021-1025.

Stefanakis, A. I. y Tsihrintzis, V. A. (2012) Effects of loading, resting period, temperature, porous media, vegetation and aeration on performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands. *Chem. Eng. J.* 181:416-430.

Stefanakis, A., Akratos, C. S. y Tsihrintzis, V. A. (2014) Vertical flow constructed wetlands: eco-engineering systems for wastewater and sludge treatment, Elsevier, Amsterdam, 378 pp.

Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O. y Moormann, H (2003) Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotech. Adv.* 22:93-117.

Sun, G., Gray, K. R., Biddlestone, A. J., Allen, S. J. y Cooper, D. J. (2003) Effect of effluent recirculation on the performance of a reed bed system treating agricultural wastewater. *Process Biochem.* 39: 351-357.

Sun, G., Zhao, Y., y Allen, S. (2005) Enhanced removal of organic matter and ammoniacal-nitrogen in a column experiment of tidal flow constructed wetland system. *J. Biotechnol.* 115:189-197.

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS) (2006) Regulación del sector Sanitario en Chile, 32 pp.

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS) (2013) Informe anual de coberturas urbanas de servicios sanitario, 22 pp.

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS) (2014) Informe de Gestión del Sector Sanitario 2014, 192 pp.

Tanner, C. C., Kadlec, R. H., Gibbs, M. M., Sukias, J. P. y Nguyen, M. L. (2002) Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands—influence of wastewater characteristics. *Ecol. Eng.* 18:499-520.

Tao, M., He, F., Xu, D., Li, M. y Wu, Z. (2010) How artificial aeration improved sewage treatment of an integrated vertical-flow constructed wetland. *Polish J. of Environ. Stud.* 19:183-191.

Tietz, A., Hornek, R., Langergraber, G., Kreuzinger, N. y Haberl, R. (2007a) Diversity of ammonia oxidising bacteria in a vertical flow constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 56:241-247.

Tietz, A., Kirschner, A., Langergraber, G., Sleytr, K. y Haberl, R. (2007b) Characterisation of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380:163-172.

Tsuzuki, Y., Koottatep, T., Jiawkok, S., y Saengpeng, S. (2010) Municipal wastewater characteristics in Thailand and effects of soft intervention measures in households on pollutant discharge reduction. *Water Sci. Technol.* 62:231-244.

Tunçsiper, B. (2009) Nitrogen removal in a combined vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetland system. *Desalination.*247:466-475.

United Nations Educational Scientific and Cultural Organization (UNESCO) (2003) *Agua para Todos, Agua para la Vida, Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo*, Ediciones UNESCO, 36 pp.

United Nations-Water (UN-Water) (2015) *Wastewater Management, A UN-Water Analytical Brief*, Ediciones UN-Water, 56 pp.

United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1997) *Wastewater Treatment Manuals: Primary, Secondary and Tertiary Treatment*, USEPA Edition, 131 pp.

United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2000) *Manual Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters*, USEPA Edition, 166 pp.

United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2004) *Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems*, USEPA Edition, 30 pp.

Vera, I. (2012) *Análisis de Funcionamiento y Patrones Asociativos de Sistema de Tratamiento Convencionales y Naturales de Aguas Servidas para la Eliminación de Materia Orgánica y Nutrientes*. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Ambientales mención Sistemas Acuáticos Continentales, Universidad de Concepción, Chile. 236 pp.

Vidal, M.G. (2004) *Estudios en Agapanto (*Agapanthus africanus* (L.) Hoffmgg.): Efecto del tamaño del propágulo en el desarrollo vegetativo y floral de la planta; conservación floral postcosecha de sus flores*. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Agronomía, Universidad Austral de Chile, Chile.77 pp.

Villasenor, J., Capilla, P., Rodrigo, M. A., Canizares, P. y Fernández, F. J. (2013). *Operation of a horizontal subsurface flow constructed wetland–microbial fuel*

cell treating wastewater under different organic loading rates. *Water Res.* 47: 6731-6738.

Vohla, C., Kõiv, M., Bavor, H. J., Chazarenc, F. y Mander, Ü. (2011) Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands: A review. *Ecol. Eng.* 37:70-89.

Vymazal, J. (2002) The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years' experience. *Ecol. Eng.* 18:633-646.

Vymazal, J. (2005) Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25:478-490.

Vymazal, J. (2007) Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380: 48-65.

Vymazal, J. (2008) Constructed Wetland for Wastewater Treatment: a Review en *Wetlands and Natural Resource Management* (Verhoeven, J.T.A., Beltman, B., Bobbink, R., Whigham, D.F, ed) pp 965-980, Ecological Studies.

Vymazal, J. (2009) The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. *Ecol. Eng.* 35:1-17.

Vymazal, J. (2011) Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Five Decades of Experience. *Environ. Sci. Technol.* 45:61-69.

Vymazal, J. y Kröpfelová, L. (2008) Is concentration of dissolved oxygen a good indicator of processes in filtration beds of horizontal flow constructed wetlands?, en *Wastewater Treatment, Plant Dynamics and Management* pp.311-317, Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Vymazal, J. y Kröpfelová, L. (2011) A three-stage experimental constructed wetland for treatment of domestic sewage: first 2 years of operation. *Ecol. Eng.* 37:90-98.

Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. F., Haberl, R., Perfler, R. y Laber, J. (1998). Removal mechanisms and types of constructed wetlands en *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe* (Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., Green, M. y Haberl, R., ed) pp.17-66, Backhuys Publishers, Netherlands.

Vymazal, J., Kröpfelová, L., Švehla, J., Chrastný, V. y Štíhová, J. (2009) Trace elements in *Phragmites australis* growing in constructed wetlands for treatment of municipal wastewater. *Ecol. Eng.* 35:303-309.

Wallace, S. D. y Knight, R. L. (2006) *Small-scale Constructed Wetland Treatment Systems: Feasibility, Design Criteria and O&M Requirements*, IWA Publishing, 304 pp.

Weedon, C. M. (2003) Compact vertical flow constructed wetland systems- First two years' performance. *Water Sci. Technol.* 48: 15-23.

Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J. y Dong, R. (2014) Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: a nitrogen and organic matter targeted review. *Water Res.* 57: 40-55.

Wu, Z. B., Xie, X. L., Xu, D., Dong, J. K., He, F., Cheng, S. P. y Fu, G. P. (2009) Application of integrated vertical flow constructed wetland for improvement of water quality of dragon-shaped water system in Beijing Olympic Forest Park. *Chin. Water Wastewater.* 25: 28-35.

Wu, Z.B., Zhang, D., Austin, D., Dong, R., y Pang, C. (2011) Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecol. Eng.* 37: 1789-1795.

Yan, C., Zhang, H., Li, B., Wang, D., Zhao, Y. y Zheng, Z. (2012) Effects of influent C/N ratios on CO₂ and CH₄ emissions from vertical subsurface flow constructed wetlands treating synthetic municipal wastewater. *J.Hazard. Mater.* 203:188-194.

Ye, F. y Li, Y. (2009) Enhancement of nitrogen removal in towery hybrid constructed wetland to treat domestic wastewater for small rural communities. *Ecol. Eng.* 35:1043-1050.

Zhao, Y. J., Hui, Z., Chao, X., Nie, E., Li, H. J., He, J., y Zheng, Z. (2011) Efficiency of two-stage combinations of subsurface vertical down-flow and up-flow constructed wetland systems for treating variation in influent C/N ratios of domestic wastewater. *Ecol. Eng.* 37:1546-1554.

Zhao, Y. J., Liu, B., Zhang, W. G., Ouyang, Y., y An, S. Q. (2010) Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands in responding to variation in influent C/N ratios of simulated urban sewage. *Bioresource Technol.*101:1693-1700.

Zurita, F., De Anda, J. y Belmont, M. A. (2009) Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 35:861-869.

ANEXOS

1. Tabla estadística de comparación de eficiencias de eliminaciones y concentraciones de los efluentes.

Comparación	Etapa	COT	DQO	DBO₅	N-NH₄⁺	P-PT	P-PO₄³⁻
HC-Control vs HC-Aga	I	0,233	0,502	0,628	0,134	0,184	0,186
	II	0,599	0,546	0,689	0,154	0,162	0,179
	II	0,596	0,220	0,283	0,139	0,039	0,028
Comparación	Humedal	COT	DQO	DBO₅	N-NH₄⁺	P-PT	P-PO₄³⁻
Etapa I, II y II	HC-Control	0,077	0,112	0,048	0,093	0,777	0,659
	HC- <i>Aga</i>	0,019*	0,015*	0,003*	0,073	0,844	0,888
Comparación	Etapa	pH	T°	OD	POR	N-NO₃⁻	N-NO₂⁻
HC-Control vs HC-Aga	I	0,163	0,914	0,046	0,021	0,053	0,000
	II	0,750	0,885	0,320	0,342	0,427	0,657
	II	0,116	0,961	0,026	0,631	0,316	0,652
Comparación	Humedal	pH	T°	OD	POR	N-NO₃⁻	N-NO₂⁻
Etapa I, II y II	HC-Control	0,985	0,000 ^{''}	0,941	0,000 [°]	0,010*	0,000 ¹
	HC- <i>Aga</i>	0,029	0,000 ^{''}	0,260	0,000*	0,095	0,001 ^{''}

Nota:*: Diferencia entre la Etapa I y III;''': Diferencias entre la Etapa I con la II y III; °: Entre la etapa III con la I y II; ¹: entre todas las Etapas

2. Tabla estadística de comparación entre las concentraciones obtenidas en el análisis estratificado.

Comparación	Altura	N-NH₄⁺	N-NO₃⁻	N-NO₂⁻	OD	POR
HC-Control y HC-Aga	H1	0,212	0,082	0,294	0,359	0,431
	H2	0,024	0,184	0,181	0,324	0,380
Comparación	Humedal	N-NH₄⁺	N-NO₃⁻	N-NO₂⁻	OD	POR
H1 vs H2	HC-Control	0,424	0,000	0,018	0,198	0,403
	HC- <i>Aga</i>	0,000	0,004	0,232	0,010	0,322

3. Tabla de límites máximos permitidos para la descarga a distintos cuerpos de aguas según D.S N°90.

Cuerpo de Agua	pH	Temperatura (°C)	DBO₅ (mgO₂/L)	NTK (mg/L)	NT (mg/L)	PT (mg/L)
Fluviales S/D	6,0-8,5	35	35	50	-	10
Fluviales C/D	6,0-8,5	40	300	75	-	15
Lacustre	6,0-8,5	30	35	-	10	2
Marinos en ZPL	6,0-9,0	30	60	50	-	5
Marinos fuera ZPL	5,5-9,0	-	-	-	-	-

Nota: S/D: Sin capacidad de dilución; C/D: Con capacidad de dilución y ZPL: zona de protección litoral.