



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Ambientales, Centro EULA-Chile

Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales mención Sistemas Acuáticos Continentales

**EVALUACION ESTACIONAL DE HUMEDALES CONSTRUIDOS DE FLUJO
HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL PARA LA DEPURACION DE AGUAS
SERVIDAS EN ZONAS RURALES: IMPLICANCIAS EN LA GENERACION DE
METANO**

**Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Ambientales con Mención en Sistemas
Acuáticos Continentales**

DANIELA ANDREA LOPEZ LEYTON

CONCEPCION – CHILE

2016

Profesor Guía: **Dra. Gladys Vidal Sáez**
Facultad de Ciencias Ambientales-Centro EULA-Chile,
Universidad de Concepción, Chile

Esta Tesis ha sido realizada en los laboratorios del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) de la Facultad de Ciencias Ambientales- Centro EULA-Chile, de la Universidad de Concepción.

Profesores Integrantes Comisión Evaluadora:

Dra. Gladys Vidal

Profesor guía
Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile
Universidad de Concepción, Chile



Dra. Katherine Sossa

Evaluador interno
Facultad de Ciencias Forestales
Universidad de Concepción, Chile

Dr. Miguel Martínez

Evaluador interno
Facultad de Ciencias biológicas
Universidad de Concepción, Chile

Dr. Carlos Arias

Evaluador externo
Department of Bioscience - Aquatic Biology
Aarhus University
Denmark

Esta tesis está dedicada a mi hijo Vicente, que nació y creció durante mi doctorado. Que me dio las fuerzas y un amor incondicional para seguir y finalizar esta etapa. También a mis padres, hermanos y a Lalo por toda la paciencia, apoyo y amor durante esta etapa de mi vida.

Dedicada a toda mi familia.

“La educación es el arma más poderosa que puedes usar para cambiar el mundo”

Nelson Mandela (1918 – 2013)



AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral pudo ser realizada gracias al apoyo de la Universidad de Concepción, específicamente la Facultad de Ciencias Ambientales, quien me abrigó en su programa doctoral y en sus instalaciones durante los 5 años del doctorado. Asimismo, quisiera agradecer al Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental, que mediante la diversidad de formación nos permite lograr avances considerables en la investigación científica. Quiero hacer especial mención a la Dra. Gladys Vidal, por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis doctoral. Se agradece su capacidad de orientación como guía de tesis, especialmente por el tiempo dedicado a resolver dudas y guiarme en las líneas de investigación desarrolladas en conjunto. Además, se valora enormemente su apoyo, paciencia y empuje brindado desde inicio de ésta tesis, que fueron fundamentales para mi formación en el área de la investigación.

Mis reconocimientos a todos los profesores del programa de Doctorado en Ciencias Ambientales, quienes contribuyeron en mi formación profesional. Especialmente, a la Directora del programa de doctorado, Dra. Evelyn Habit, que en los últimos años ha demostrado gran interés y preocupación por cada uno de los alumnos del programa. De igual manera, a la Sra. Jacqueline Decap y María José Ortega, por los conocimientos transmitidos desde mi llegada al grupo GIBA y durante el tiempo que estuve en el laboratorio. Se agradece su valiosa contribución en la parte experimental de la investigación así como sus sugerencias en el transcurso de la misma.

En especial quisiera agradecer a dos pilares fundamentales de esta tesis, Daniel Fuenzalida y Mario Sepúlveda, por su esfuerzo, capacidad de trabajo y una excelente disposición al operar el sistema piloto de humedales en Hualqui, que a pesar de la lluvia, frío, caña y/o calor extremo lograron mantener y sacar adelante nuestro humedal y sus tesis. Asimismo, se agradece a Gabriela Morales, por ser parte de esta tesis y además, por ser una muy buena compañera y profesional.

A mis compañeros y amigos del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA), que compartieron conmigo durante estos 5 años, gracias por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento. Han hecho fácil lo difícil. En especial a: mi amiga Soledad Chamorro, que desde el primer día en que llegue al grupo GIBA, incondicionalmente me entrego cariño y apoyo en cada una de las etapas de mi doctorado y en mi vida. Que con su sonrisa y paciencia infinita

siempre supo sacar lo mejor de mí con sus consejos y compañía. Además, por todo su apoyo desinteresado en el trabajo en terreno y buen criterio en cada uno de mis escritos.

Además, quisiera agradecer enormemente a Leonardo Vera, por su apoyo científico incondicional, por enseñarme de humedales, fútbol, política, pseudo-salsa, farándula y otros muchos temas, que impresionantemente manejaba muy bien. A su vez, un especial agradecimiento a Francisca Araya por el empuje diario, cada día que estuvo a mi lado y con la sutileza que la caracteriza, me repetía constante y cariñosamente “*trabaja López*”.

A mis compañeros de doctorado, Anita Aravena, Oscar Rozas, Daniela Vásquez, Viviana Almanza, Octavio Rojas, Vanessa Novoa y Ramón Ahumada, fuimos un excelente grupo de trabajo y gracias al apoyo mutuo, logramos salir adelante en nuestros primeros años de doctorado. En especial, quisiera resaltar el apoyo de Anita Aranedo, que más que una compañera ha sido una amiga, confidente y apoyo fundamental durante estos 5 años de esfuerzo. Estos cinco años me has enseñado de perseverancia y especialmente de empuje propio.

Quisiera agradecer a los miembros del Grupo GIBA, de los años, 2007-2016, Soledad, Pelu, María Elisa, Constanza, Loreto, Daniel, Mario, Anita, Gabriela, Francisca, María José, Silvana, Oliver, Ariel, Gloria, Sujey, Loreto, Constanza, Guillermo, Junior, Ely, Chia, Catalina, Mayra, Carla, Alejandra, Constanza, Rodrigo, Cindy, María Cecilia, Gerardo, babet, Thais, María, Rocío, Karen, Carolina, Nataly y Patricio, por todos los buenos momentos compartidos en estos años y además agradecimiento especial a todos aquellos que por su colaboración y excelente disponibilidad al acompañarme en cada salida a terreno a los humedales.

Finalmente, quiero agradecer de todo corazón a mi familia, que han sido, son y serán un pilar fundamental en mi vida. Especial mención a mis padres, Carlos López y Carmen Leyton, y, hermanos, Novelia, Carlos Jonathan, Carlos Humberto y Camila, por su paciencia, cariño, comprensión y ánimo durante todos estos años. Asimismo, quisiera agradecer a los amores de mi vida, Lalo y Vicente, quienes con su amor incondicional han permitido mi desarrollo tanto profesional como personal. Los amo con todo mi corazón!!!

GRACIAS A DIOS Y A TODOS!



2016

GRUPO DE INGENIERIA Y BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL (GIBA)

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES EULA-CHILE

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

Esta Tesis fue realizada con financiamiento otorgado por:

Proyecto AT- 21110449

Programa de Becas de Apoyo a la realización de la tesis
Doctoral

Becas para Estudios de Doctorado en Chile



Programa Apoyo Asistencia a Eventos

Programa Becas de Estipendio

Dirección de Postgrado

Universidad de Concepción



Programa Ayudas a la Investigación 2011-Medio Ambiente

Fundación MAPFRE



Proyecto 13.3327-INN.IIP

Fondo de Innovación Tecnológica de la Región
del Bío Bío

INNOVA-BIO BIO



PROYECTO CONICYT/FONDAP N°15130015

Beca Doctorado

Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y
la Minería (CRHIAM)

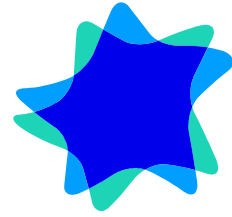
Universidad de Concepción, Chile



Agradecimientos especiales a:

Sres. Eduardo Abuaud (Gerente general), Jaime Amthauer (Gerente de operaciones), Luis Fierro (Operador PTAS Hualqui), y, Sra. Lilian Jara (Especialista en recursos hídricos - Gerencia de operaciones)

Empresa de Servicios Sanitarios del Biobío - ESSBIO, Chile



Dra. Katherine Sossa

Laboratorio de Biopelículas y Microbiología medioambiental

Centro de Biotecnología

Universidad de Concepción, Chile



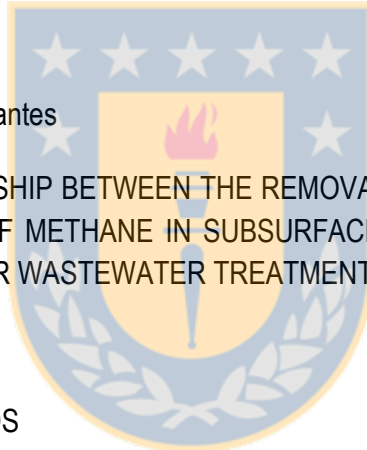
INDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	19
ABSTRACT	22
CAPITULO I : INTRODUCCION	25
1. SECTOR SANITARIO Y COBERTURAS DE SANEAMIENTO EN EL CHILE	26
2. AGUAS SERVIDAS	28
2.1 Generación de las aguas servidas	28
2.2 Caracterización de las aguas servidas	30
2.2.1 Características físicas	30
2.2.2 Características químicas	32
2.2.3 Características biológicas	32
3. IMPACTOS AMBIENTALES ASOCIADOS A LAS AGUAS SERVIDAS	33
4. SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE LAS AGUAS SERVIDAS EN ZONAS RURALES	36
5. SISTEMAS DE HUMEDALES CONSTRUIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS	39
5.1 Humedales contruidos de flujo horizontal superficial (FS)	40
5.2 Humedales contruidos de flujo horizontal subsuperficial (HFSS)	41
5.3 Humedales contruidos de flujo vertical subsuperficial (VFSS)	43
6. COMPONENTES DE LOS HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL	46
6.1 Columna de agua (flujo)	46

6.2 Medio de soporte	46
6.3 Vegetación	47
7. PROCESOS DE ELIMINACIÓN DE MATERIA ORGANICA EN HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL	50
7.1 Degradación de la materia orgánica	50
7.1.1 Carga interna	51
7.1.2 Carga externa	52
7.2 Materia Orgánica Particulada (MOP)	53
7.3 Materia Orgánica Disuelta (MOD)	54
7.4 Procesos involucrados en la degradación de materia orgánica en HFSS	57
7.4.1 Hidrólisis	57
7.4.2 Degradación Aeróbica	58
7.4.3. Degradación anaeróbica (DA)	59
7.4.3.1 <i>Fase acidogénesis (fermentación)</i>	61
7.4.3.2 <i>Fase Acetogénesis</i>	62
7.4.3.3 <i>Fase metanogénica</i>	63
8. PROCESOS DE ELIMINACIÓN DE NUTRIENTES EN HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL	64
8.1 Nitrógeno	64
8.2 Fósforo	68
9. EMISIONES DE METANO EN HUMEDALES CONSTRUIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS	69
CAPITULO II: HIPOTESIS Y OBJETIVOS	74
1. HIPOTESIS	75



2. OBJETIVOS	75
2.1 Objetivo general	75
2.2 Objetivos específicos	75
CAPITULO III: PROCESOS DE TRANSFORMACION Y REMOCION DE MATERIA ORGANICA Y SOLIDOS SUSPENDIDOS.	76
1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA	78
2. ELIMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS MEDIANTE HUMEDALES CONSTRUIDOS	82
3. CONSIDERACIONES SOBRE LA SUSTENTABILIDAD DE LOS HUMEDALES CONSTRUIDOS	89
3.1. Emisiones de metano	89
3.2. Compuestos recalcitrantes	93
CAPITULO IV: PRELATIONSHIP BETWEEN THE REMOVAL OF ORGANIC MATTER AND THE PRODUCTION OF METHANE IN SUBSURFACE FLOW CONSTRUCTED WETLANDS DESIGNED FOR WASTEWATER TREATMENT	102
1. INTRODUCTION	104
2. MATERIAL AND METHODS	106
2.1 HSSF constructed wetlands	106
2.2 Sampling Strategy	109
2.3 Methanogenic Activity	109
2.3.1 Inoculum	109
2.3.2 <i>Specifies methanogenic activity tests (Maximum) (SMA_m)</i>	109
2.4 Mass balance	110
2.5 Analytical methods	111
2.6 Statistical analyses	111



3. RESULTS AND DISCUSSION	112
3.1 Characterization of the influent	112
3.2 <i>In situ</i> parameters	112
3.3 Organic matter and solids concentrations and removal efficiencies	115
3.4 Relationship between the COD and methane emissions	120
3.5 Mass balances for the organic matter and solids	125
4. CONCLUSIONS	127
CAPITULO V:PHRAGMITES AUSTRALIS AND SCHOENOPLECTUS CALIFORNICUS	133
IN CONSTRUCTED WETLANDS: DEVELOPMENT AND NUTRIENT UPTAKE	
1. INTRODUCTION	135
2. MATERIALS AND METHODS	136
2.1 Study area	136
2.2 HSSF constructed wetlands	137
2.3 Sampling Strategy	137
2.4 Macrophyte sampling	137
2.5 Analytical methods	139
3. RESULTS	139
3.1 Characterization of the influent	139
3.2 <i>In situ</i> parameters	140
3.3 Effluents concentration and removal efficiencies	142
3.4 Macrophytes development and nitrogen uptake	142
4. DISCUSSION	148
5. CONCLUSIONS	151



CAPITULO VI: HUMEDALES CONSTRUIDOS CON PLANTAS ORNAMENTALES PARA EL TRATAMIENTO DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES CONTENIDOS EN AGUAS SERVIDAS	155
1. INTRODUCCION	158
1.1. Humedales construidos de flujo subsuperficial	161
1.2 Eliminación de materia orgánica y nutrientes en humedales construidos	165
1.3 Plantas utilizadas en humedales construidos	166
1.4 Plantas ornamentales utilizadas en humedales construidos	167
2. CONCLUSIONES	172
CAPITULO VII: DISCUSION	177
1. CARACTERIZACIÓN DE AGUAS SERVIDAS	178
2. DESEMPEÑO Y FUNCIONAMIENTO DE SISTEMAS HUMEDALES CONSTRUIDOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS	182
3. COMPORTAMIENTO DE MACRÓFITAS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE OPERACIÓN Y ESTACIONALIDAD	188
4. PRODUCCIÓN DE METANO POR SISTEMAS DE TRATAMIENTO CONVENCIONALES Y HUMEDALES CONSTRUIDOS	194
CAPITULO VIII: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES FINALES	202
1. CONCLUSIONES	203
2. RECOMENDACIONES FINALES	204
CAPITULO IX: REFERENCIAS	206
ANEXO I: Curriculum Vitae	226
AneXO II: Portada de artículos publicados	236

INDICE DE FIGURAS

	Página
CAPITULO I	
Figura 1. Esquema sobre la distribución y saneamiento de la población rural en Chile.	27
Figura 2. División porcentual de tecnologías utilizadas en el tratamiento de aguas servidas en zonas rurales para el año 2010	38
Figura 3. Clasificación de humedales construidos	40
Figura 4. Tipos de humedales construidos. (a) Humedal construido de flujo horizontal superficial (FS); (b) Humedal construido de flujo horizontal subsuperficial (HFSS); (c) Humedal construido de flujo vertical (VFSS)	45
Figura 5. Degradación de materia orgánica por procesos aeróbicos y anaeróbicos	60
Figura 6. Representación esquemática de degradación anaeróbica	62
CAPITULO III	
Figura 1. Clasificación de los contaminantes orgánicos en aguas residuales	80
Figura 2. Degradación de Materia orgánica por procesos aeróbicos y anaeróbicos	84
CAPITULO IV	
Figure 1. a) Configuring the pilot system of HSSF. HSSF-Phr1 and HSSF-Phr2: units planted with <i>Phragmites australis</i> . HSSF-Sch1 and HSSF-Sch2: units planted with <i>Schoenoplectus californicus</i> . b) i) Design and sampling points in the CW; ii) methanogenic activity system diagram consisting of the (1) mixture of the biomass and medium; (2) biogas circuit; (3) security camera; (4) Mariotte bottle (NaOH); and (5) tube with the volume of methane displaced.	107
Figure 2. Seasonal <i>in situ</i> parameters in the HSSF: a) temperature, b) pH, c) ORP, and d) DO. Zone A (■); Zone B (■) and Zone C (□). HSSF-Phr: units planted with <i>Phragmites australis</i> , HSSF-Sch: units planted with <i>Schoenoplectus californicus</i> .	114
Figure 3. Average concentration of the influent (box-plot) and removal efficiencies (bar chart) for HSSF-Phr (gray) and HSSF-Sch (white) at the monitored stations for a) BOD ₅ ,	117

b) COD, c) TSS, and d) VSS

Figure 4. Methane production curve (cumulative) by zones for a) *Phragmites australis* and b) *Schoenoplectus californicus*. Zone A (■); Zone B (●); and Zone C (▲). **122**

CAPITULO V

Figure 1. a) Configuring the pilot system with HSSF. HSSF-Phr1 and HSSF-Phr2: units planted with *Phragmites australis*. HSSF-Sch1 and HSSF-Sch2: units planted with *Schoenoplectus californicus*; b) Design and sampling areas in the CW. **138**

Figure 2. Effluent concentration (box plot) and mean removal efficiency (bar chart) for HSSF-Phr (□) and HSSF-Sch (■). (a) COD; (b) TSS; (c) TN; (d) TP **143**

Figure 3. a) Seasonal abundance for *Phragmites australis* (HSSF-Phr) and *Schoenoplectus californicus* (HSSF-Sch). b) Seasonal stem height per shoot. a) *Phragmites australis*; b) *Schoenoplectus californicus* **144**

Figure 4. Nitrogen and Phosphorus content in plant tissue (foliar and root). (a) and (b) units planted with *Phragmites australis*; (c) and (d) units planted with *Schoenoplectus californicus*. Zone A (■); Zone B (▨) y Zone C (□) **146**

CAPITULO VI

Figura 1. Características y tecnologías utilizadas en el tratamiento de aguas servidas **159**

Figura 2. Clasificación de humedales construidos para el tratamiento de aguas servidas. Donde: HS: Humedal superficial, HSS: Humedal de flujo subsuperficial horizontal, VSS: Humedal de flujo subsuperficial vertical **162**

Figura 3. Corte de humedales construidos de flujo subsuperficial vertical (VSS) y horizontal (HSS). **164**

CAPITULO VII

Figura 1. Concentraciones y relación de los constituyentes de aguas servidas durante Otoño/Invierno (O/I) y Primavera /Verano (P/V). a) Gráficos de cajas: DBO5 (□) y DQO (▨) y relación DQO/DBO5 (±); b) gráficos de cajas: SSV (□) y SST (▨) y relación SSV/SST (±). **178**

- Figura 2.** Concentraciones y relación de los constituyentes de las aguas servidas durante Otoño/Invierno (O/I) y Primavera /Verano (P/V). a) Gráficos de cajas: N-NH₄⁺ (□) y NT (▨) y relación DQO/NT (±); b) gráficos de cajas: P-PO₄⁻³ (□) y PT (▨) y relación DQO/PT (±) **180**
- Figura 3.** Promedio de la concentración de efluentes (cajas) y eficiencias eliminación (barras) para HSSF-Phr (Blanco) y HSSF-Sch (gris) en las estaciones monitoreadas para a) DQO, b) SST. Carga Orgánica Superficial (COS) para DQO (a) y SST (b). **183**
- Figura 4.** Promedio de la concentración de efluentes (cajas) y eficiencias eliminación (barras) para HSSF-Phr (Blanco) y HSSF-Sch (gris) en las estaciones monitoreadas para a) NT, b) PT. Carga Orgánica Superficial (COS) para NT (a) y PT (b). **185**
- Figura 5.** Variación estacional de HSSF-Phr (*Phragmites australis*) y HSSF-Sch (*Schoenoplectus californicus*). a) Biomasa; b) cobertura; c) Abundancia y d) Longitud de tallo. Zona A (□), Zona B (■) y Zona C (■).PS: Peso Seco **190**
- Figura 6.** Acumulación promedio de nutrientes por zona para HSSF-Phr (barra gris), HSSF-Sch (barra con líneas) y HSSF-Cyp. Zona A (■), Zona B (▨) y Zona C (□) **192**
- Figura 7.** Balances de materia orgánica y estimación de la producción de metano en humedales construidos. **201**

INDICE DE TABLAS

Página

CAPITULO I

Tabla 1. Caracterización de las aguas servidas	31
Tabla 2. Efectos causados por las aguas servidas en el medio ambiente	35
Tabla 3. Características de operación, diseño y depurativas de los humedales construidos	42
Tabla 4. Características de macrófitas emergentes utilizadas en humedales construidos	49
Tabla 5. Eficiencias de eliminación de materia orgánica y sólidos en HFSS en el tratamiento de aguas servidas	56
Tabla 6. Eficiencias de eliminación de nitrógeno y fosforo en HFSS en el tratamiento de aguas servidas	67
Tabla 7. Emisiones de metano en tratamientos de aguas servidas urbanas mediante el uso de HFSS.	72

CAPITULO III

Tabla 1. Caracterización de las aguas residuales en diferentes áreas geográficas	79
Tabla 2. Distribución de tamaños de partículas encontradas en aguas residuales	81
Tabla 3. Valores para la eliminación de MO (DBO ₅ y DQO) y SST, a través de humedales construidos de diferente configuración	88
Tabla 4. Emisión de metano mediante humedales construidos	91
Tabla 5. Eliminación de COEs, a través de humedales construidos con diferente configuración	94

CAPITULO IV

Table 1. Operational and control parameters during different seasons in the constructed	108
--	------------

wetlands

Table 2. Physicochemical characterization of the influent **113**

Table 3. Physicochemical characterization of the effluent. HSSF-Phr, planted with *Phragmites australis*. HSSF-Sch, planted with *Schoenoplectus californicus* **118**

Table 4. Methane production and specific methanogenic activity **123**

Table 5. Mass balances for the constructed wetlands **126**

CAPITULO V

Table 1. Physicochemical characterization of the influent **140**

Table 2. Seasonal *in situ* parameters in the HSSF. n= 42 for all parameters **141**

Table 3. Biomass production and foliar nitrogen and phosphorous content in HSSF-Phr and HSSF-Sch **147**

CAPITULO VI

Tabla 1. Características de tecnologías convencionales y no convencionales utilizadas en el tratamiento de aguas servidas **163**

Tabla 2. Caracterización de plantas comunes y ornamentales utilizadas en humedales construidos de flujo subsuperficial **169**

Tabla 3. Eficiencias de eliminación de humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales para tratamiento de aguas servidas **170**

CAPITULO VII

Tabla 1. Emisiones de metano en sistemas convencionales y humedales construidos. **196**

RESUMEN

La cobertura del alcantarillado y tratamiento de las aguas servidas en el sector rural en Chile es del 18% y en sistemas de tratamiento del 8%, solamente. Las políticas gubernamentales del país están recién en construcción para poder potenciar estos temas en el país. Las principales tecnologías de tratamiento para aguas servidas en sectores urbanos corresponden a sistemas convencionales tales como, lodos activados (61%), lagunas aireadas (23%), sistemas de medio fijo (4,2%) y lombrifiltros (3,9%), entre otros (7,9%). Sin embargo, al momento de implementarlas en sectores rurales, no han sido óptimas debido a las necesidades técnicas de operación, elevados costos de implementación y falta de personal técnico capacitado para mantención, entre otros.

Debido a los problemas antes mencionados, es que en los últimos años ha surgido en sectores rurales, la necesidad de buscar, evaluar e implementar tecnologías alternativas para la depuración de aguas servidas, que cuenten con características de eficiencia, autonomía y sean económicamente viables. Entre las soluciones más atractivas, se encuentran los Humedales Construidos (HC), que son sistemas pasivos de depuración que se ha comprobado que son eficaces en el tratamiento de aguas servidas. El proceso de descontaminación de las aguas servidas se realiza simultáneamente por acción física, química y biológica, donde interaccionan la vegetación, suelo y ensamblajes microbianos. A su vez, se ha demostrado que los HC son efectivos en la eliminación de materia orgánica (75–95% Demanda biológica de oxígeno–DBO₅), sólidos suspendidos ($\geq 90\%$), transformación y asimilación nutrientes ($> 50\%$), inactivar sustancias tóxicas y eliminación de patógenos ($> 70\%$). Sin embargo, al momento de proponer una solución para el tratamiento de aguas servidas en las zonas rurales, es importante evaluar, además de las eficiencias de eliminación de contaminantes, el destino final que tendrán estos mismos, por ello, se hace relevante evaluar la producción de metano como destino final de la eliminación de MO.

Debido a lo antes indicado, el objetivo de esta tesis fue evaluar, estacionalmente, la eliminación de materia orgánica y nutrientes de las aguas servidas tratada por *Phragmites australis* (Phr) y *Schoenoplectus californicus* (Sch) en un humedal de flujo horizontal subsuperficial construido a escala piloto y establecer su incidencia en la actividad

microbiológica metanogénica de la biomasa adherida al soporte granular y por ende en la producción de metano.

Se implementaron 4 sistemas a escala piloto de humedales de flujo horizontal subsuperficial (HSSF) con una área superficial de 4,5 m² altura lámina de agua 0,4 m, grava como material de soporte y plantados con Phr y Sch (18 plantas). La operación fue controlada por la carga hidráulica (19,8 a 27,8 mm/d), tiempo de retención hidráulica (3-7 d) y tasas de carga orgánica (3,3–4,2 gDBO₅/m²·d). Las eficiencias de eliminación de materia orgánica (DBO₅ y Demanda Química de oxígeno-DQO), sólidos (Sólidos Suspendedos Totales–SST y Sólidos Suspendedos Volátiles–SSV) y nutrientes (Nitrógeno Total (NT), amonio (N–NH₄⁺), Fósforo Total (PT), fosfatos (P–PO₄⁻³)), fueron evaluados en cada humedal, durante los 1180 días de operación (3,28 años). Para evaluar la evolución de biomasa foliar y microbiológica, cada HSSF se dividió en tres zonas (A, B, y C) de 1,5 m² cada una. Para evaluar el desarrollo de las macrófitas, se analizó el crecimiento (altura tallo (m)), cobertura (%), peso (g Peso Seco-PS/m²) y la asimilación de nitrógeno (gNT/m²) y fósforo (gPT/m²) de la biomasa aérea. Además, se evaluó la producción de metano, para ello, se realizaron ensayos de actividad metanogénica máxima (AME_m) de la biomasa adherida a la grava en cada zona (A, B y C) del HSSF. A su vez, se realizaron balances de masas estacionales para determinar la degradación de materia orgánica (medida como DQO) y la producción de metano (gCH₄/m²·d).

Los resultados muestran que los HSSF plantados con Phr y Sch presentan eficiencias de eliminación entre 70–80%, 41–73%, 70–95%, 21–23%, 5–7% para DBO₅, DQO, sólidos, NT, PT, respectivamente, durante todo el periodo de monitoreo. A su vez, se evidencia que no presentaron diferencias significativas en las eficiencias de eliminación para los parámetros monitoreados entre las estaciones frías (11 °C) y cálidas (21 °C). Sin embargo, hubo diferencias significativas a lo largo del tiempo de operación.

Al final del estudio (la biomasa (1,782 gPS/m²) y la cobertura (85%) de Sch fue mayor que los de Phr (385 gPS/m² y el 64%). Sin embargo, se evidenció que el menor desarrollo de Phr al final del periodo de monitoreo, se debió principalmente a la colonización por una especie de áfidos que afectó a la planta, provocando la senescencia de ésta. El contenido de nutrientes en los tejidos de Sch y Phr presentó tendencias marcadamente estacionales, con las más

altas concentraciones de nitrógeno (7,52 para Sch y 11,39 gN/m² para Phr) y fósforo (0,23 para Phr y 0,83 gP/m² para Sch) durante las estaciones de crecimiento (primavera y verano).

Considerando lo anterior, se evidencia que Phr y Sch son capaces de eliminar un máximo de 6% de las cargas de N y P aplicadas a la HSSF. Por otro lado, la actividad metanogénica de la biomasa del HSSF, mostró un patrón de producción de metano similar para ambas especies (HSSF-Phr Y HSSF-Sch). Sin embargo, se evidenciaron diferencias en la producción de metano entre las distintas zonas en el HSSF, con una producción en la zona A (700 mLCH₄/g SSV), zona B (1035 mLCH₄/gSSV) y zona C (368 mLCH₄/gSSV). Además, en promedio la producción de metano para HSSF-Phr y HSSF-Sch fue $1,5 \pm 4,8$ gCH₄/m²·d y $1,3 \pm 2,7$ gCH₄/m²·d, respectivamente, sin evidenciar diferencias significativas entre especies.



ABSTRACT

Sewerage coverage and treatment of wastewater in the rural sector in Chile is 18% and treatment systems 8% only. Government policies in the country are just under construction to promote these issues in the country. The main technologies for wastewater treatment in urban areas correspond to conventional systems such as activated sludge (61%), aerated lagoons (23%), fixed media systems (4.2%) and lombrifiltros (3.9%) and others (7.9%). However, when implementing them in rural areas, have not been optimal due to the technical needs of operation, high costs of implementation and maintenance lack of trained technical personnel, among others.

Due to the above problems is that in recent years has emerged in rural areas, the need to seek, evaluate and implement alternative technologies for wastewater purification, that have characteristics of efficiency, autonomy and are economically viable. Among the most attractive solutions are constructed wetlands (HC), which are passive purification systems that are proven to be effective in the treatment of wastewater. The decontamination process wastewater is carried out simultaneously by physical, chemical and biological action, where they interact vegetation, soil and microbial assemblages. In turn, it has been shown that the HC are effective in removing organic matter (75-95%-Biological Oxygen Demand-BOD₅), suspended solids ($\geq 90\%$), processing and assimilation nutrients ($> 50\%$), inactivate toxic and pathogen removal ($> 70\%$) substances. However, when you propose a solution for wastewater treatment in rural areas, it is important to assess, in addition to removal efficiencies of pollutants, the final destination will have these same therefore becomes relevant to assess production methane as the final destination of removing MO.

Due to the above mentioned, the aim of this thesis was to evaluate seasonally, the removal of organic matter and nutrients from the treated wastewater by *Phragmites australis* (Phr) and *Schoenoplectus californicus* (Sch) in a wetland subsurface horizontal flow constructed scale pilot and establish their impact on the microbiological activity of methanogenic biomass adhering to the granular support and hence in methane production.

The HSSF system consists of four wetland horizontal subsurface flow units, with even surface area of 4.5 m², laminated water height 0.4 m, gravel as carrier material and planted Phr and

Sch (18 plants) were implemented . The operation was controlled by the hydraulic load (19.8 to 27.8 mm/d), hydraulic retention time (3-7 d) and organic loading rates (3.3 to 4.2 gDBO₅/m²·d). Removal efficiencies of organic matter (BOD₅ and Chemical Oxygen Demand-COD), solids (Total Solid Suspended-SST and Volatile Solids Suspended -VSS) and nutrients (total nitrogen (TN), ammonium (N-NH₄⁺), Total Phosphorous (PT), phosphate (P-PO₄⁻³)), were evaluated in each wetland during operation 1180 days (3.28 years). To evaluate the evolution of leaf and microbial biomass, each HSSF was divided into three zones (A, B, and C) of 1.5 m² each. To evaluate the development of macrophytes, growth (height stem (m)), coverage (%), weight (g Weight Dry-DW/m²) and nitrogen assimilation (gTN/m²) and phosphorus (gPT/m²) we analyzed of aboveground biomass. Additionally, methane production was evaluated, to this end, maximum methanogenic activity assays (SMA_m) of biomass adhered to the gravel in each zone (A, B and C) were performed HSSF. In turn, mass balances seasonal were performed to determine the degradation of organic matter (measured as COD) and methane production (gCH₄/m²·d).

The results show that the HSSF planted with Phr and Sch show removal efficiencies between 70-80%, 41-73%, 70-95%, 21-23%, 5-7% for BOD₅, COD, solids, TN, TP respectively, during the monitoring period. In turn, it is evident that no significant differences in removal efficiencies for the monitored parameters between the cold seasons (11 ° C) and warm (21 ° C). However, there were significant differences over time of operation.

At the end of the study (biomass (1782 gDW/m²) and coverage (85%) of Sch was higher than the Phr (385 gDW/m² and 64%). However, it became clear that the less developed Phr at the end of the monitoring period, it was mainly due to colonization by a species of aphids that hit the plant, causing senescence of it. The nutrient content in tissues of Sch and Phr presented markedly seasonal trends, with the highest nitrogen concentrations (7.52 to Sch and 11.39 gN/m² para Phr) and phosphorus (0.23 to Phr and 0.83 gP/m² for Sch) during the growing season (spring and summer).

Considering this, it is evident that Phr and Sch are capable of removing up to 6% of N and P loads applied to HSSF. Furthermore, the methanogenic activity HSSF biomass showed a similar pattern of methane production for both species (HSSF-Phr and HSSF-Sch). However,

differences in methane production between different areas in the HSSF, with production in the area A (700 mLCH₄/gVSS), Zone B (1035 mLCH₄/gVSS) and zone C (368 mLCH₄/gVSS) were evident. In addition, on average methane production for HSSF HSSF-phr-Sch was 1.5 ± 4.8 gCH₄/m²·d and 1.3 ± 2.7 gCH₄/m²·d, respectively, did not show significant differences between species.



CAPITULO I



1. SECTOR SANITARIO Y COBERTURAS DE SANEAMIENTO EN EL CHILE

El abastecimiento de agua potable y el tratamiento de las aguas servidas constituye una necesidad básica y un proceso fundamental en todos los lugares donde existen asentamientos humanos, debido a que de esta forma se aseguran las necesidades básicas de la población y se disminuyen considerablemente los problemas sanitarios y potenciales daños al ecosistema (Rodríguez, 2011). Para ello el sector sanitario es el encargado de proveer los servicios de producción y distribución de agua potable y de recolección y disposición de aguas servidas (SISS, 2014). En Chile, desde el establecimiento del sistema que regula el abastecimiento de agua potable, alcantarillado y tratamiento de aguas residuales domésticas, ha presentado un aumento paulatino en las coberturas del sector urbano y este proceso se vio acelerado en el año 2000 con la entrada en vigencia del Decreto Supremo 90-DS-90, que norma la emisión de descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales (SISS, 2014).

En Chile, los índices de cobertura en el sector urbano son bastante elevados en agua potable en 99,9%, alcantarillado de 96,65% y tratamiento de aguas servidas (TAS) de 99,93% (SISS, 2014), al igual que en el sector rural concentrado, el cual presenta un índice de cobertura de agua potable actual del orden de un 99%, indicando que en materia de agua potable los esfuerzos han sido los necesarios para asegurar una de las necesidades más básicas de la población. Sin embargo, en materia de saneamiento los esfuerzos han sido deficientes. En la Figura 1, muestra el saneamiento en la población rural en Chile. De un universo de 2,0 millones de personas que conforman la población rural (13% del total del país), el 80% cuenta con servicio domiciliario de agua potable, y sólo un 18% cuenta con servicios de alcantarillado tradicional y un 8% en los sistemas de tratamiento (INE, 2002; DOH, 2014). Por su parte, localidades rurales semi-concentradas la realidad es más crítica, existiendo 540 comunidades (195000 habitantes), que se encuentran desprovistas de servicios básicos de agua potable y saneamiento (DGA, 2012). Si a esto se agrega la inexistencia de una entidad pública responsable a cargo del tema de las aguas servidas rurales, se tiene como consecuencias problemas en la administración y asistencia técnica a estos servicios (Frêne *et al.*, 2014).

Actualmente, no existe una ley que regule la provisión de la infraestructura y operación de los sistemas sanitarios rurales. Las áreas rurales son abastecidas en general por cooperativas y comités de agua potable rural, la mayoría de los cuales forman parte del Programa de Agua

Potable Rural (APR) del Ministerio de Obras Públicas, que no se encuentran sometidos al marco regulatorio aplicable a las concesionarias urbanas. En general, las iniciativas de este subsector permite financiar inversiones de solución colectiva (caseta sanitaria, unión domiciliaria, redes de recolección, sistema de tratamiento y disposición final) e individual (casetas sanitarias con fosa-pozo) (MDS, 2015).

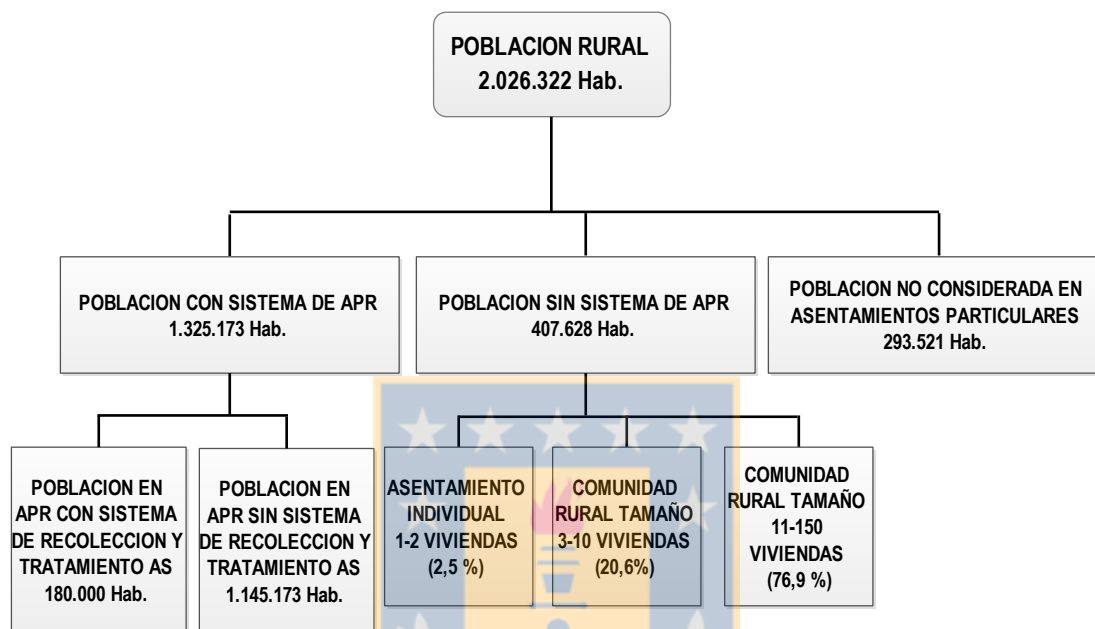


Figura 1. Esquema sobre la distribución y saneamiento de la población rural en Chile (SUBDERE, 2009).

Debido a la baja cobertura en los sistemas de tratamiento a nivel rural. Desde el año 2000 se inició un programa de saneamiento rural a nivel nacional, el cual si bien en aspectos de obras de pavimentación y redes de alcantarillado ha cumplido sin mayores contratiempos, en el caso de las plantas de tratamientos de aguas servidas no ha estado exento de dificultades. Estas dificultades se derivaron de la carencia de estudios previos respecto a las tecnologías apropiadas de tratamientos a implementar, falta de regulación respecto a las empresas proveedoras, y falta de capacidad técnica del personal involucrado en la selección, aprobación e inspección de los contratos de dotación de TAS, traduciéndose en ineficiencias en los tratamientos, e inclusive plantas que definitivamente nunca funcionaron (Dünner, 2004). Entre el año 2006-2012 se realizaron catastros de las plantas de plantas TAS en zonas rurales y se determinó la existencia de 550 plantas de tratamiento en el sector rural, que en su gran

mayoría atienden comunidades (SUBDERE, 2014). De estas 550 plantas, un 27% (148 plantas) no cumplen la norma de emisión (DS-90) y 13 % (72 plantas) se encuentran en condición crítica y deben ser reemplazadas. Estos hechos son preocupantes desde el punto de vista social y sanitario ya que estas aguas sin tratamiento, son descargadas en cursos de agua receptores, que posteriormente son usados para el riego de verduras o para el consumo de localidades aguas abajo, lo que constituye un problema sanitario de envergadura (Reynolds, 2002).

2. AGUAS SERVIDAS

Se denominan aguas servidas al agua que se ha utilizado por una comunidad y que contiene todos los materiales añadidos al agua durante su uso (Metcalf y Eddy, 2003). Estas aguas están constituidas por una mezcla de aguas domésticas o aguas servidas, industriales, de infiltración y pluviales (Mara, 2004). Dentro de esta clasificación se encuentran las aguas servidas urbanas y rurales, donde el primer grupo posee características diversas debido a los distintos orígenes de los que puede provenir, ya sea de núcleos con una mayor densidad poblacional o de sitios con presencia de actividades industriales que generen una mayor cantidad de residuos (Henze, 2002). La aguas servidas rurales en cambio, se compone de los desechos humanos (heces y orina), junto con el agua utilizada para inodoros y junto con el agua resultante de aseo personal, preparación de alimento, lavado de ropa y limpieza utensilios caseros (Mara, 2004).

2.1. Generación de las aguas servidas

La cantidad de aguas servidas generadas en los hogares y su composición varía de acuerdo al tipo de instalaciones, implicancias familiares de los habitantes (número de individuos, edad, tipos de viviendas y movilidad), niveles socioeconómicos, entre otros. Por otra parte, las características también varían con respecto a la ubicación geográfica y la movilidad estacional o anual de los habitantes (USEPA, 1992).

En el caso de las aguas servidas de tipo rural, corresponde a los residuos líquidos originados en poblaciones que producen menos de 3800 m³/día de aguas servidas (USEPA, 2000) y/o los residuos líquidos que son generados por poblaciones inferiores o iguales a 2000

Habitantes-Equivalente (Hab-Eq) (Unión Europea en la directiva EU 91/271). Un Hab-Eq es homologado a una contaminación orgánica de 60 gDBO₅/d (Henze *et al.*, 2002). Bajo los 2000 Hab-Eq, se consideran como pequeños asentamientos de tipo rural (Vera, 2012; Araya *et al.*, 2014). Por su parte, la OCDE considera como rurales los territorios por debajo de 150 habitantes/km² (OCDE, 2006; Berdegúe *et al.*, 2010). Para el caso de Chile, se considera que las aguas servidas de tipo rural se originan en asentamientos rurales, ó en asentamientos humanos concentrados ó dispersos que poseen 1000 o menos habitantes, ó entre 1001 y 2000 habitantes con menos del 50% de su población económicamente activa dedicada a actividades secundarias y/o terciarias (INE, 2002). Berdegúe *et al.* (2010) en un análisis de la clasificación de ruralidad determinó que la población rural corresponde a una población con una densidad menor a 70 Hab/km².

Los volúmenes de producción de aguas servidas varían a su vez entre la población urbana y rural dependiendo de la disposición de agua potable y su uso. En núcleos urbanos, a nivel internacional se estima que produce alrededor de 200 L/(hab·d) de aguas servidas (Henze *et al.*, 2002). Además, se estima que las poblaciones urbanas presentan un consumo 20% superior respecto a las poblaciones rurales, presentando por tanto una mayor producción de aguas servidas (Von Sperling, 2007; Vera, 2012). En este sentido, a nivel internacional, para las poblaciones rurales se ha estimado una producción de aguas servidas de alrededor de 150 L/(hab·d) (Barrera, 1999). A nivel país, el consumo de agua potable en zonas urbanas fue de 1109 millones de m³ en el año 2014, que se traduce en una dotación promedio por habitante de 138 litros por habitante al día, oscilando entre 73 y 491 L/(hab·d) (SISS, 2014). En el caso de las poblaciones rurales, de acuerdo a Villarroel (2012), la dotación promedio alcanza los 124 L/(hab·d), oscilando entre 15 y 210 L/(hab·d). En la práctica, el coeficiente de retorno (0,8-0,9), definido como la proporción de agua utilizada que es eliminada como agua servida, indica que cada persona en el sector urbano y rural estarían produciendo un volumen de aguas servidas de alrededor de 117 L/(hab·d) y 105 L/(hab·d) (SISS, 2014; Araya *et al.*, 2014). También para Chile, se estimaron producciones de aguas servidas de tipo urbano entre 150-170 L/(hab·d), y para las aguas servidas de tipo rural un valor de 130-160 L/(hab·d) (SUBDERE, 2009 y Vera, 2012).

2.2. Caracterización de las aguas servidas

Las aguas servidas se compone de 99% de agua y 1% sólidos suspendidos, coloidales y disueltos (Hanjra *et al.*, 2012). En la Tabla 1 se observan las principales características de las aguas servidas. La composición típica del agua servida sin tratamiento depende de las características socioeconómicas de las comunidades y número y tipo de unidades industriales y comerciales (Hanjra *et al.*, 2012). Los componentes de las aguas servidas son normalmente una mezcla compleja de compuestos orgánicos e inorgánicos. A su vez, los constituyentes encontrados en las aguas servidas se pueden clasificar en las categorías de contaminantes físicos, químicos o biológicos (Ramalho, 1996).

2.2.1 Características físicas

Dentro de las características físicas se encuentran: a) sólidos sedimentables, suspendidos y disueltos. Aproximadamente el 60% de los sólidos son sedimentables y un 65% de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en las AS domésticas se compone de materia particulada (>1600nm) y sólo el 14% es soluble (<2nm) (Dulekgurgen *et al.*, 2006); b) temperatura, la que puede determinar la solubilidad de diversos gases como el oxígeno y también ejercer efecto en las reacciones químicas y biológicas que pueden ocurrir (Metcalf y Eddy, 2003); c) turbiedad y el color, debido a la materia en suspensión, organismos microscópicos y partículas que afectan el traspaso de la luz a través del agua, perturbando el desarrollo de organismos fotosintéticos (Ramalho, 1996); y d) el olor causado por los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. Entre los compuestos olorosos asociados a el agua servida se encuentran: aminas, amoniaco, mercaptanos, diaminas, sulfuro de hidrogeno. El olor más característico del agua residual séptica es debido a la presencia de sulfuro de hidrógeno (detección a <0,00021 ppmV), que se produce al reducirse los sulfatos a sulfitos por la acción de los microorganismos anaerobios (Metcalf y Eddy, 2003; Guerrero, 2014).

Tabla 1. Caracterización de las aguas servidas

Parámetros	Unidad	Tipo de agua servida		
		Concentrado	Moderado	Diluido
Fisicoquímicos				
pH		7-8	7-8	7-8
Alcalinidad	Eqv/m ³	3-7	3-7	1-7
Conductividad	mS/m	120	100	70
Viscosidad	kg/m.s	0,001	0,001	0,001
Cloruros	mg Cl /L	500	360	280
Sulfuros	mg S/L	0	0,100	0,100
Sólidos suspendidos (SST)	mg SST/L	450	300	190
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	mg SSV/L	320	210	140
DBO ₅ total	mg O ₂ /L	350	250	150
DBO ₅ disuelta	mg O ₂ /L	140	100	60
DQO total	mg O ₂ /L	740	530	320
DQO suspendida	mg O ₂ /L	440	320	190
DQO soluble	mg O ₂ /L	300	210	130
Carbono Orgánico Total (COT)	mg C/L	250	180	110
-Carbohidratos	mg C/L	40	25	15
-Proteínas	mg C/L	25	18	11
-Ácidos grasos	mg C/L	65	45	25
-Grasas	mg C/L	25	18	11
Nitrógeno Total (NT)	mg N/L	80	50	30
Amonio (N-NH ₄ ⁺)	mg N/L	50	30	18
Nitrito (N-NO ₂)	mg N/L	0,1	0,1	0,1
Nitrato (N-NO ₃)	mg N/L	0,5	0,5	0,5
Nitrógeno orgánico	mg N/L	30	20	12
Nitrógeno total Kjeldahl	mg N/L	80	50	30
Fósforo total (PT)	mg P/L	14	10	6
Ortofosfato	mg P/L	10	7	4
Fosfato orgánico	mg P/L	4	3	2
Relaciones constituyentes en aguas servidas				
DQO/DBO		2,5-3,5	2,0-2,5	1,5-2,0
DBO/DQO		0,5	0,47	
DQO/NT		12-16	8-12	6-8
DQO/PT		45-60	35-45	20-35
SSV/SST		0,8-0,9	0,6-0,8	0,4-0,6
DQO/COT		3,0-3,5	2,5-3,0	2,0-2,5
Metales				
Plomo (Pb)	ug Pb/L	80	65	30
Arsénico (As)	ug As/L	5	3	2
Cadmio (Cd)	ug Cd/L	4	2	2
Cromo (Cr)	ug Cr/L	40	25	15
Plata (Ag)	ug Ag/L	10	7	4
Mercurio (Hg)	ug Hg/L	3	2	1
Microbiológicos				
Coliformes Totales	No/100 ml	10 ¹³		10 ¹¹
Coliformes Fecales (<i>Escherichia coli</i>)	No/100 ml	5x10 ⁸		10 ⁶
Estreptococos fecales	No/100 ml	10 ⁸		10 ⁶
Colifagos	No/100 ml	5x10 ⁵		5x10 ⁴
<i>Giardia</i> (Protozoo)	No/100 ml	10 ³		10 ²
<i>Áscaris lumbricoides</i> (Helminto)		10-10 ³		

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno-5 días. Fuente: Metcalf y Eddy, 2003; Henze *et al.*, 2002.

2.2.2 Características químicas

Estas se agrupan en constituyentes orgánicos e inorgánicos. Dentro de los constituyentes inorgánicos se encuentra principalmente: a) el pH, que expresa una tendencia de acidez del agua y generalmente se sitúa en un rango neutro (6,5-8,5); b) nutrientes, compuestos principalmente por nitrógeno y fósforo en sus diferentes formas, los cuales tienen un rol fundamental en la eutrofización de las aguas (Araya *et al.*, 2014). El nitrógeno orgánico puede estar presente en los aminoácidos, urea, ácido úrico y purinas y pirimidinas (Kadlec y Knight, 1996). En un agua servida sin tratamiento se ha determinado que se generan 12 gN/ (hab·d) y entre 3-7 kgN/ (hab·año). Las formas inorgánicas del nitrógeno es el amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^- , óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno elemental disuelto o nitrógeno gas (N_2); y el fósforo es representando por Fósforo Total (PT) y Fosfatos (PO_4^{3-}) y se ha determinado que se generan 2 gP/(hab·d) y 0,4-1,2 kgP/(hab·año) (Wallace y Knight, 2006; Henze *et al.*, 2002); y c) metales pesados como arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), mercurio (Hg) y plata (Ag), los que pueden ser encontrados en las aguas servidas debido a que son vertidos de las viviendas residenciales, la infiltración de las aguas subterráneas y los vertidos industriales (Metcalf y Eddy, 2003).

2.2.3 Características biológicas

Las aguas servidas contienen una gran cantidad de microorganismos potencialmente patógenos que, dependiendo de la concentración de las especies, plantean un riesgo potencial para la salud humana (Ashbolt *et al.*, 2001). En la Tabla 1 se encuentran algunos de microorganismos indicadores utilizados para la caracterización microbiológica de las aguas servidas. Estos organismos van desde virus sub-microscópicas a gusanos parásitos visibles a simple vista y representan componentes importantes de la calidad del agua. Entre ellos se encuentran las bacterias, protozoos, virus, helmintos, rotíferos, algas, entre otros (Gerardi, 2006). Sin embargo, la identificación y cuantificación de los organismos patógenos para los humanos en las aguas servidas tratadas es costosa y técnicamente difícil. En consecuencia, se ha implementado la utilización de una batería de especies clave en la caracterización y aseguramiento de la calidad microbiológica de las aguas, que son fáciles de controlar y correlacionar con las poblaciones de organismos patógenos (Ashbolt *et al.*, 2001; Kadlec y Wallace, 2009; Bitton, 2011).

3. IMPACTOS AMBIENTALES ASOCIADOS A LAS AGUAS SERVIDAS

El mundo se enfrenta a problemas relacionados con la gestión de las aguas residuales. Esto se debe principalmente a la extensa industrialización y al aumento de la densidad de poblacional (Bastian, 1993; Akpor y Muchie, 2011). Específicamente, las aguas generadas por las actividades domésticas constituyen las principales fuentes de la carga contaminante a los ecosistemas acuáticos (Akpor y Muchie, 2011). Los posibles efectos nocivos de las aguas servidas en la calidad de los cuerpos de agua receptores son múltiples y dependen del volumen de la descarga, composición de los efluentes y de las características de las aguas receptoras (Akpor y Muchie, 2011).

Los parámetros evaluados para determinar efectos ambientales por descarga de aguas servidas pueden ser clasificados en tres grupos: a) físicos, b) químicos, y, c) microbiológicos. La Tabla 2 resume impactos ambientales asociados a la descarga de aguas servidas. Entre los parámetros físicos, se encuentran la temperatura y los sólidos. La temperatura en el agua servida genera oscilaciones térmicas en los sistemas acuáticos, afectando a grupos de invertebrados y peces cuando la oscilación supera los 5°C (Barceló, 2008). Los sólidos a su vez, pueden generar una serie de efectos directos e indirectos, incluidos reducción de la penetración de luz solar (reducción de la fotosíntesis), daño físico a los peces, y los efectos tóxicos de los contaminantes unidos a partículas en suspensión (Akpor y Muchie, 2011). Además, su sedimentación genera demanda de oxígeno disuelto de la columna de agua (Barceló, 2008).

Los parámetros químicos a su vez, pueden ser divididos en compuestos orgánicos e inorgánicos (Ramalho, 1996). El impacto ambiental de los compuestos orgánicos, está relacionado con las fluctuaciones de Oxígeno Disuelto (OD), como consecuencia de la oxidación bacteriana, y la variación del aporte por fotosíntesis y respiración (Holeton *et al.*, 2011). Los impactos de los bajos niveles de OD (5 mg/L) incluyen un efecto en la supervivencia de los peces mediante el aumento de la susceptibilidad a las enfermedades, retraso en el crecimiento, disminución de la capacidad de natación, alteración en la alimentación y la migración, y, en su extremo, muerte rápida (Dyer *et al.*, 2003; Habit *et al.*, 2005). Además, reducciones de OD a largo plazo pueden dar lugar a cambios en la composición de especies (Akpor y Muchie, 2011).

Por otra parte, los compuestos inorgánicos aumentan el suministro de nutrientes (nitrógeno y fósforo). Aunque el nitrógeno y el fósforo son beneficiosas para la vida acuática en pequeñas cantidades, cuando hay un exceso estos contribuyen a la eutrofización (Buck, 2000). La eutrofización de las fuentes de agua puede tener consecuencias negativas: (i) muerte de macrófitas y fitoplancton, que se depositan en el fondo de un cuerpo de agua, estimulando procesos de descomposición microbiana que requieren oxígeno, lo que provoca el agotamiento del oxígeno; (ii) anaerobiosis y por ende, muerte de la vida acuática; (iii) la proliferación de algas puede generar sombra y la vegetación acuática sumergida reducirá o eliminará la capacidad de fotosíntesis y productividad; (iv) aglomeraciones de algas y olores, interferirá con el uso recreativo y estético del agua. El efecto neto de la eutrofización en un ecosistema es generalmente un aumento de unos pocos tipos de plantas y una disminución en el número y variedad de otras especies de plantas y animales en el sistema (Akpor y Muchie, 2011).

Por otro lado, los nutrientes pueden generar efectos agudos, por ejemplo: concentraciones de amoníaco mayores a 2,4 mg/L son tóxicos para la vegetación acuática inhibiendo la fotosíntesis (Chambers *et al.*, 1997; Akpor y Muchie, 2011), aunque esto varía entre las especies y fases de la vida. A su vez, la presencia de nitrato en los cuerpos de aguas acarrea riesgos para la salud, entre ellos el “síndrome del niño azul”, un defecto respiratorio que se produce en lactantes cuando el nivel de nitratos en su dieta es elevado, generando que la hemoglobina sea incapaz de liberar el oxígeno de manera efectiva a los tejidos corporales (Rivett *et al.*, 2008).

Tabla 2. Efectos causados por las aguas servidas en el medio ambiente

Contaminantes	Parámetro de caracterización	Tipo de efluentes	Efectos ambientales
Sólidos suspendidos	Sólidos suspendidos totales	Domésticos industriales	Problemas estéticos.
			Los sólidos pueden dar a lugar al desarrollo de depósitos de fangos o lodos y de condiciones anaerobias cuando se descargan en un entorno acuático. Absorción de contaminantes. Protección de patógenos.
Sólidos Flotantes	Aceites y grasas	Domésticos industriales	Problemas estéticos. Problemas para ser usados en procesos Industriales.
Materia orgánica biodegradable	DBO ₅ (proteínas, carbohidratos y lípidos)	Domésticos industriales	Al ser descargadas sin tratamiento su estabilización biológica puede llevar al consumo de oxígeno y por ende generar mortalidad de organismos acuáticos por condiciones anóxicas-anaeróbicas.
Patógenos	Coliformes	Domésticos	Enfermedades entéricas transmitidas por el agua servida. Crecimiento excesivo de algas (eutrofización del cuerpo receptor).
Nutrientes	Nitrógeno y Fosforo	Domésticos industriales	Toxicidad para los peces (amonio). Enfermedad asociada a lactantes (metahemoglobinemia). Contaminación del agua subterránea. Toxicidad (varios).
			Espumas (detergentes).
Compuestos no biodegradables	Pesticidas, detergentes y otros	Industriales Agrícolas	Reducción de la transferencia de oxígeno (detergentes). No biodegradabilidad. Malos olores (fenoles). Toxicidad.
Metales pesados	Elementos específicos (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn)	Industriales	Inhibición al tratamiento biológico de las aguas servidas. Problemas con la disposición del lodo para agricultura. Contaminación del agua subterránea.

von Sperling, 1996; Metcalf y Eddy, 2003.

Por su parte, los metales pesados son uno de los contaminantes más persistentes en las aguas residuales. A diferencia de los contaminantes orgánicos, que no pueden ser degradados por sistemas biológicos. Su presencia en las aguas servidas se debe a los vertidos de las viviendas residenciales, la infiltración de las aguas subterráneas y los vertidos industriales (Hussein *et al*, 2005). El peligro de los metales pesados en agua radica en dos aspectos: a) los metales pesados tienen la capacidad de persistir en los ecosistemas naturales durante un período prolongado; b) tienen la capacidad para acumularse en niveles sucesivos de la cadena alimentaria biológica (Akpor y Muchie, 2011).

Los parámetros microbiológicos se relacionan con microorganismos provenientes de las heces, siendo responsables de la transmisión de enfermedades (Ramalho, 1996; Gerardi, 2006). Dada la diversidad de microorganismos responsables de enfermedades, es común emplear microorganismos indicadores, siendo los coliformes fecales los de mayor aplicación. Las principales enfermedades derivadas de la contaminación microbiológica se resumen en cólera, gastroenteritis, fiebre tifoidea, disentería, diarreas agudas y gastroenteritis Ver Tabla 2) (Ashbolt, 2001).

4. SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE LAS AGUAS SERVIDAS EN ZONAS RURALES

Los sistemas de recolección y tratamiento de aguas residuales están diseñados y manejados para proteger la salud humana y ambiental (Muga y Mihelcic, 2008). De acuerdo a las necesidades medioambientales a nivel mundial y nacional, ya es una obligación que nuestro país trate las aguas servidas que se generan en nuestros domicilios. En la actualidad en las zonas rurales en Chile son abastecidas en general por cooperativas y comités de agua potable rural, la mayoría de los cuales forman parte del Programa de Agua Potable Rural del Ministerio de Obras Públicas (DOH y DPL, 2014). El Censo de Población del 2002 indicó que 2.0263.22 (13% del total del país) de personas habitaban en entidades rurales. En cuanto a las viviendas rurales, 539.714 de ellas eran particulares ocupadas, representando el 13,6% de las viviendas del país. De estas viviendas un 80% cuenta con servicio domiciliario de agua

potable, y sólo un 18% cuenta con servicios de alcantarillado tradicional y solo un 8% en los sistemas de tratamiento (INE, 2002; DOH y DPL, 2014).

Las principales tecnologías de tratamiento para aguas servidas en sectores urbanos corresponden a sistemas convencionales tales como, lodos activados (59%), lagunas aireadas (19,8%), emisario submarino (11,7%), primario + desinfección (4,2%), lagunas de estabilización (3,2%), biodiscos (1,1%), lombrifiltros (0,7%) y biofiltros (0,4%) (SISS, 2014). Estas tecnologías, han presentado una alta funcionalidad (86,9%) en sectores urbanos. Sin embargo, al momento de implementarlas en sectores rurales, no han sido óptimas debido a las necesidades técnicas de operación, elevados costos de implementación y mantención, entre otros (APR-DOH, 2012). Debido a estos problemas, es que en los últimos años ha surgido en sectores rurales, la necesidad de buscar, evaluar e implementar tecnologías alternativas para la depuración de aguas servidas, que cuenten con características de eficiencia, autonomía y sean económicamente viables (Puigagut *et al.*, 2007).

Tal como se observa de la Figura 1, la situación de recolección y disposición de las aguas servidas no es generalizada para toda la población rural, llegando sólo a cubrir al 14% del total rural que corresponde a aproximadamente 180000 personas. Dentro del 14% de población con recolección y tratamiento de aguas servidas existe una amplia diversidad en la forma de tratamiento utilizado, tal como se detalla en la Figura 2.

En cuanto al tipo de tratamiento utilizado, entre los años 2003 y 2010 la implementación de sistemas de tratamiento en las zonas rurales presentó un gran aumento (85%) (Rodríguez, 2011). Donde la principal tecnología corresponde al tipo Lodos Activados con Aireación Extendida (LAAE), con un aumento significativo respecto a la proporción general de plantas, pasando de 28% (2003) a un 72% (2010) (Rodríguez, 2011).

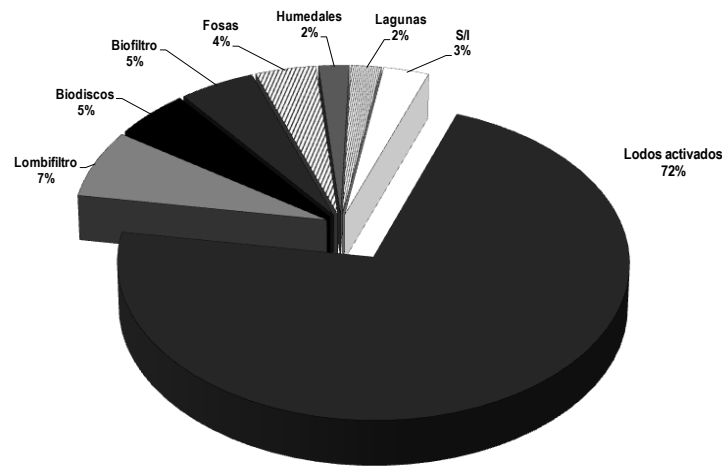


Figura 2. División porcentual de tecnologías utilizadas en el tratamiento de aguas servidas en zonas rurales para el año 2010 (Rodríguez, 2011).

Como consecuencia de esto, todas las otras alternativas han ido disminuyendo su proporción. Con un 7% para sistemas de lombifiltro, biodiscos (5%), biofiltros (5%), Fosas sépticas (4%), humedales (4%), lagunas de estabilización (2%) y sin información (S/I) (3%) (Figura 2). Dunner, (2004) determinó que para poblaciones de hasta 1000 habitantes el sistema más instalado es el de lodos activados de aireación extendida (58%). En el caso de poblaciones entre 1000 y 3000 habitantes, la situación es variada y se reparte principalmente entre los sistemas de decantación primaria (28%), aireación extendida (20%) y lagunas de estabilización (19%). Finalmente, para el caso de poblaciones entre 3000 y 6000 habitantes el sistema predominante es el de biodiscos (68%), seguido de aireación extendida (17%) y lagunas de estabilización (15%) (Dunner, 2004).

5. SISTEMAS DE HUMEDALES CONSTRUIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS

Los humedales construidos, son sistemas de tratamiento de aguas servidas que han sido diseñados y construidos para utilizar los procesos naturales relacionados con la vegetación, los suelos y sus ensamblajes microbianos asociados a los humedales permitiendo el tratamiento de aguas servidas. Están diseñados para tomar una ventaja de muchos de los mismos procesos que se dan en los humedales naturales, pero lo hacen en el entorno más controlado (Vymazal y Kröpfelová, 2008). Estos sistemas de depuración están constituidos por lagunas o canales poco profundos (de menos de 1 m), plantados con vegetales propios de las zonas húmedas y en los que los procesos de descontaminación se basan en procesos físicos, biológicos y químicos entre todos los componentes del humedal para el tratamiento de aguas servidas.

Existen varios tipos de clasificaciones en la identificación de los humedales. Considerando a Kadlec y Knight, (1996). Los humedales construidos pueden clasificarse de acuerdo al régimen hídrico, bajo esta clasificación se distinguen 2 tipos de humedales: Humedal de flujo superficial (FS) y Humedal de flujo subsuperficial (FSS), dentro del cual se pueden encontrar de flujo horizontal (HFSS) y vertical (VFSS). Además, pueden existir combinaciones entre estos para formar sistemas híbridos.

Otra clasificación basada en el tipo de material vegetal empleado y adaptado al tipo de residuo líquido a tratar, los divide en: a) sistema de macrófitas flotantes, con especies de plantas que no presentan enraizamiento en el fondo, tales como: lenteja de agua (*Lemna spp.*) y Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*); b) sistema de macrófitas sumergidas, con especies de plantas que tienen su sistema foliar sumergido en la columna de agua (*Soetes lacustris*, *Lobelia dortmanna*, *Egeria densa*, y *Elodea canadensis*); y c) sistema de macrófitas emergentes, compuesto por especies de plantas enraizadas en el fondo con sus hojas y tallos sobre la superficie del agua, siendo comúnmente empleadas *Phragmites spp.*, *Typha spp.*, *Schoenoplectus spp.* y *Carex spp.* (Sundaravadivel y Vigneswaran, 2001; Plaza de los Reyes et al., 2011). Dichas clasificaciones pueden ser combinadas según se muestra en la Figura 3.

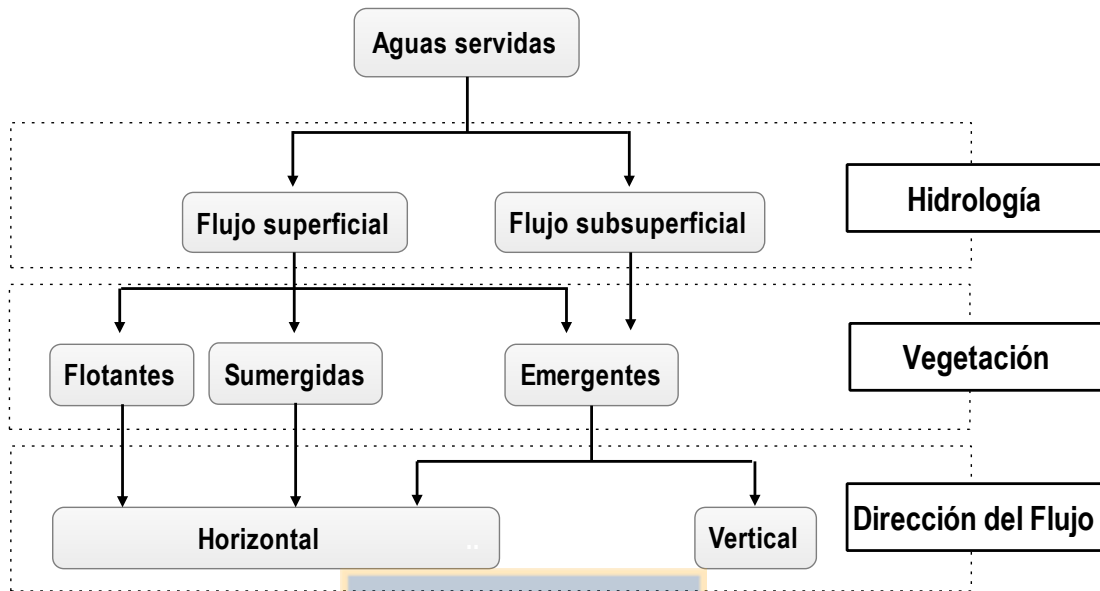


Figura 3. Clasificación de humedales construidos.

5.1 Humedales construidos de flujo horizontal superficial (FS). Un FS es un tipo de humedal en el que el agua está expuesta directamente a la atmósfera. Este tipo de sistema es capaz de imitar a los sistemas naturales, tanto en apariencia como en función, ya que el agua pasa sobre la superficie y es filtrado a través de un denso soporte de plantas acuáticas (USEPA, 2000). Como las aguas fluyen a través del humedal, los principales procesos que se generan son sedimentación, filtración, oxidación, reducción, adsorción y precipitación (Kadlec y Wallace, 2009; Halverson, 2004). La capa cerca de la superficie del agua es aeróbico, mientras que las aguas más profundas y el sustrato son generalmente anaeróbico (Halverson, 2004). Las principales características de este tipo de humedal son: a) capa de suelo de 0,2-0,3 m (zona de enraizamiento); b) profundidades de agua entre 0,2-0,6 m; c) carga hidráulicos entre 12-50 mm/día; d) carga orgánica superficial 1-11 gDBO₅/m²·d; e) Tiempo de Retención Hidráulico-TRH entre 5-15 días (Vymazal y Kröpfelová, 2008). La Figura 4a muestra un esquema de la configuración tipo de un FS y la Tabla 3 muestra las características de diseño y depurativas de este tipo de humedales. La vegetación utilizada puede corresponder a macrófitas flotantes, sumergidas y/o emergentes (Kadlec y Wallace, 2009). Se recomienda

que las zonas plantadas no tengan profundidades superiores a los 0,75 m, mientras que las zonas determinadas a presentar espejos de agua, se recomiendan con profundidades superiores a los 1,20 m (USEPA, 2000). Debido a la posibilidad de exposición humana a los patógenos, los FS se utilizan principalmente como tratamiento secundario o terciario. A su vez, se han utilizado ampliamente en el tratamiento de aguas lluvias urbanas, agrícolas e industriales, debido a su capacidad para hacer frente a los flujos de pulso y los niveles de agua cambiantes (Vymazal, 2013). Los FS son adecuados en todos los climas, incluyendo las zonas frías. Sin embargo, se consideran más sostenibles en climas con temperaturas más cálidas ($>10^{\circ}\text{C}$). Por otra parte, debido a que los FS imitan estrechamente los humedales naturales, atraen a una amplia variedad de vida silvestre, proporcionando beneficios secundarios significativos, principalmente en forma de usos humanos y hábitat de vida silvestre (Kadlec y Knight, 1996).

5.2 Humedales contruidos de flujo horizontal subsuperficial (HFSS). Un HFSS es un sistema donde el agua residual circula a través del medio granular, rizomas y raíces de las plantas. El diseño normalmente consiste en una cama rectangular (pendiente de fondo entre 0,5 y 1%), rellena de medio soporte poroso y plantado con vegetación emergente (Kadlec y Wallace, 2009). En el diseño requieren entre 5-10 m^2/PE (Población Equivalente (PE)) (Vymazal y Kröpfelová, 2008). Las aguas residuales (previamente tratadas), se alimentan en la entrada y pasan lentamente bajo la superficie a través del medio de filtración de forma horizontal, hasta la salida que es descargada en un dispositivo de control de nivel. Durante el paso de las aguas residuales a través del HFSS hacen contacto con una red de zonas aeróbicas, anóxicas y anaerobias (Vymazal, 2005). Los HFSS están compuestos por los siguientes elementos: (1) estructuras de entrada del afluente, (2) impermeabilización del fondo y laterales ya sea con láminas sintéticas o arcilla compactada, (3) medio granular, (4) vegetación emergente típica de zonas húmedas, y (5) estructuras de salida regulables para controlar el nivel del agua.

Tabla 3. Características de operación, diseño y depurativas de los humedales construidos.

Tipo de humedal	Características Diseño			Características Operación		Características Depurativas							
	Profundidad (m)	Áreas unitarias (m ² /P.E.)	Relación tamaño	Tiempo de retención hidráulico (TRH) (d)	Carga hidráulica aplicada (mm/d)	Materia orgánica		Nitrógeno		Fósforo		Patógenos	
						Cargas aplicadas (gDBO ₅ /(m ² ·d))	Eficiencia de eliminación (%)	Cargas aplicadas (gNT/(m ² ·d))	Eficiencia de eliminación (%)	Cargas aplicadas (gPT/(m ² ·d))	Eficiencia de eliminación (%)	Individuos (n°/100 mL) ^a	Eficiencia de eliminación (%)
Flujo superficial	0,06 – 1,2	5,0 – 20	2:1-4:1	5 – 15	12 – 50	1–11	54–88	0,02–4,2	20–52	0,1	3–66	1800-556000	79–99
Flujo subsuperficial horizontal	0,3 – 1,0	1,2 – 12 ^(a)	0,25:1-4:1	2 – 10	23 – 50	3–15	65–95	1–10	20–75	0,04- 0,6	15–78	5x10 ⁷ -6,5 x 10 ⁷	98-99
Flujo subsuperficial vertical	0,5 – 1,4	0,85 – 5,5	3:1-14:1	1 – 2	27 – 110	10–60	30–95	2,8–30	35–55	0,06	23-60	1,0X10 ⁶ -1,7X10 ⁶	99–99

Referencias: EPA, 2000; García *et al.*, 2004; Vymazal, 2005; Vohla *et al.*, 2005; Cooper *et al.*, 2005; Wallace y Knight, 2006; Crites *et al.*, 2006; Akrotos y Tsihrintzis, 2007; García y Corzo, 2008; Vymazal y Kröpfelová, 2008; Kadlec y Wallace, 2009; Plaza de los Reyes *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2010; Vera, 2013; Vera *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014; Pelissari *et al.*, 2014; Rai *et al.*, 2015.

^aColiformes fecales.

La Figura 4b y Tabla 3 muestra un esquema de la configuración y características tipo de un FSS. La profundidad de agua en que se operan es entre 0,3-0,9 m. Se caracterizan por funcionar permanentemente inundados (el agua se encuentra entre 0,05 y 0,1 m por debajo de la superficie) y con cargas orgánicas superficiales entre 3-15 gDBO₅/m²-d (García y Corzo, 2008). A su vez, permiten una carga hidráulica entre 10-50 mm/d y TRH entre 5-10 días. Como material granular, suele emplearse desde arena gruesa (D₁₀=2mm) hasta grava gruesa (D₁₀=128mm), siendo los tamaños más grandes empleados para una mejor distribución en las zonas de entrada y salida (Crites *et al.*, 2006). Los HFSS son comúnmente utilizados para el tratamiento secundario de viviendas unifamiliares (Wallace y Knight, 2006), para las comunidades pequeñas (Puigagut *et al.*, 2007), y para comunidades de hasta 40.000 habitantes. Sin embargo, hay muchas otras aplicaciones de aguas residuales industriales (Kadlec y Wallace, 2009). Por otra parte, debido a que el agua no está expuesta durante el proceso de tratamiento, el riesgo asociado a la exposición humana o la vida silvestre para los organismos patógenos se reduce al mínimo. A su vez, estos sistemas son capaces de operar bajo condiciones más frías que los sistemas FS, debido a la capacidad para aislar la parte superior (Kadlec y Wallace, 2009).

5.3 Humedales construidos de flujo vertical subsuperficial (VFSS). Esta tipología de humedales fue desarrollada en Europa como alternativa a los humedales horizontales para producir efluentes nitrificados. En general los sistemas verticales, el agua se aplica de manera uniforme en la parte superior en forma de riego, percolando de manera vertical a través de la misma y tiene lugar a modo de pulsos, de manera que el medio granular no está permanentemente inundado (Weedon, 2003; García y Corzo, 2008). Las aguas servidas son recolectadas mediante tuberías perforadas, puestas de forma paralela al eje longitudinal e instaladas en el fondo del humedal (Crites *et al.*, 2006). La profundidad media de los VFSS suele variar entre 0,5 y 1,4 m. Por otro lado, el medio granular utilizado, es de tipo heterogéneo ya que se disponen en capas horizontales con distinta granulometría. La profundidad del medio granular es entre 0,5 y 0,8 m. Los VFSS están constituidos por los siguientes elementos: (1) estructuras de entrada del afluente, (2) impermeabilización, (3)

medio granular, (4) vegetación y (5) estructuras de salida. Adicionalmente suelen incluir tuberías de aireación (1 tubería /4 m²). La impermeabilización y la vegetación son idénticos a los sistemas horizontales (García y Corzo, 2008). La Figura 4c y Tabla 3 muestra un esquema de la configuración y características tipo de un VFSS. Estos sistemas, operan con cargas de alrededor de 10-25 g DBO/m²·d, y TRH entre 1-2 días (García y Corzo, 2008; Vymazal, 2008; Stefanakis y Tsihrintzis, 2009). Los sistemas verticales han presentado altos rendimientos ($\geq 75\%$) en el tratamiento de aguas servidas de comunidades pequeñas (<5000 PE). Además, han presentado efectividad al implementarlos para aguas domésticas, municipales, industriales, lácteas, refinerías petróleo, como también lodos (Vymazal, 2008).



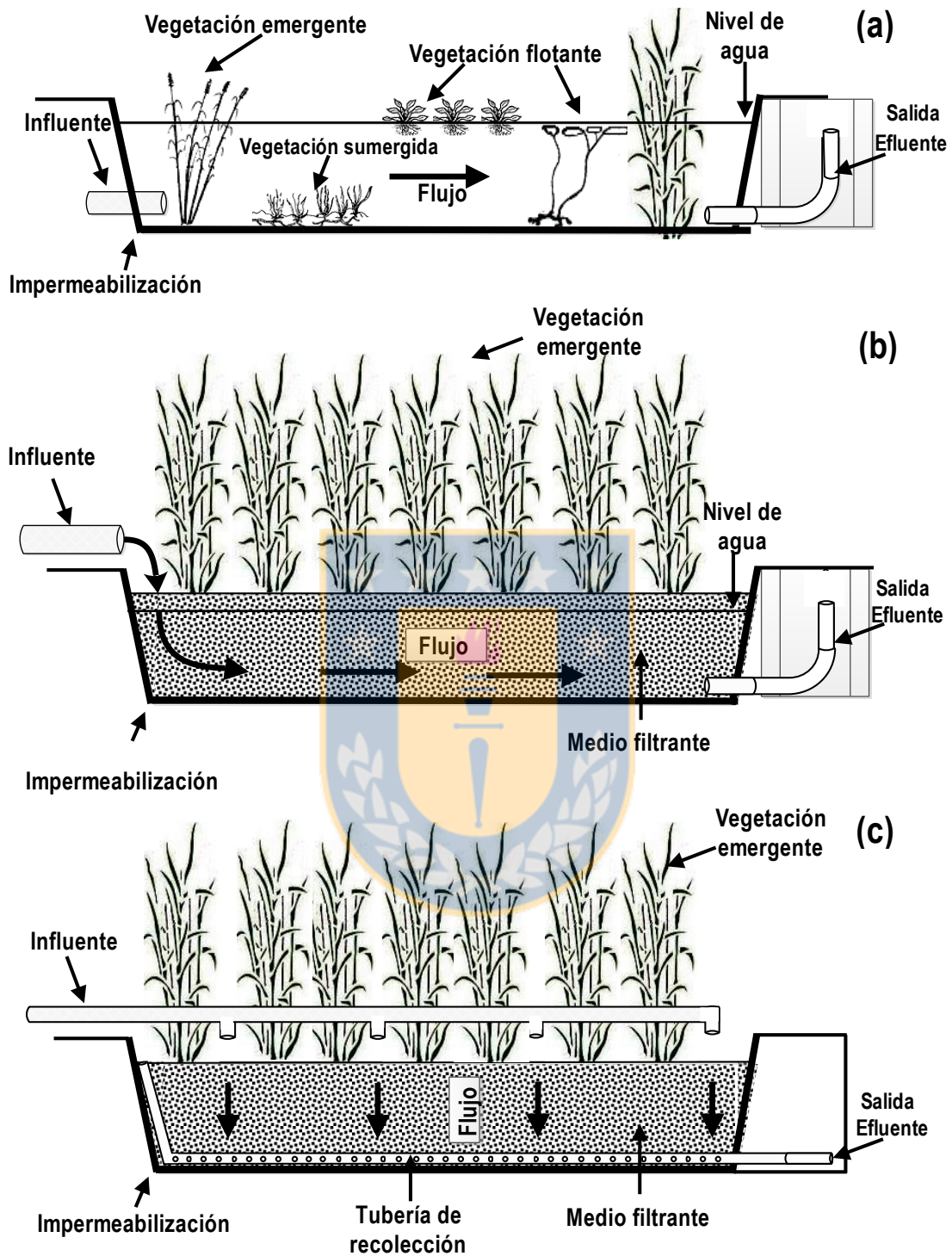


Figura 4. Tipos de humedales construidos. (a) Humedal construido de flujo horizontal superficial (FS); (b) Humedal construido de flujo horizontal subsuperficial (HFSS); (c) Humedal construido de flujo vertical (VFSS).

6. COMPONENTES DE LOS HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL

Los HFSS tienen tres componentes principales: a) un componente de agua, que incluye el flujo del influente, el agua dentro del lecho de grava, el efluente y sus componentes asociados; b) *un componente de fijación*, que incluye el medio de soporte, la rizósfera de las plantas y la biomasa microbiana; c) un componente atmosférico, que regula el movimiento de los gases dentro y fuera de la columna de agua (Wallace y Knight, 2006).

6.1 Columna de agua (flujo): Las aguas o influente ingresan al humedal en forma permanente y es tratada a medida que fluye lateralmente a través de un medio poroso. El objetivo del diseño de los HFSS, es que el flujo del influente pueda ser distribuido de manera uniforme a través de la sección transversal del humedal (Kadlec y Wallace, 2009). Las velocidades de los flujos son mucho más bajos por unidad de área de sección transversal, principalmente debido a las pérdidas por fricción con el material de soporte (Wallace y Knight, 2006). La profundidad del humedal varía entre 0,45 m a 1 m y tiene una pendiente de entre 0,5 % a 1 %. Es fundamental que el agua residual que ingresa al sistema se mantenga en un nivel inferior a la superficie (5-10 cm).

6.2 Medio de soporte. Los medios de soporte corresponden sustratos de diversos tamaños y composición, sobre los cuales crecen las plantas, los microorganismos y se realizan los principales procesos de depuración (Lin *et al.*, 2002). Los medios de soporte en los humedales construidos presentan diversas funciones; que 1) son material de enraizamiento para la vegetación, 2) ayudar a distribuir/recoger de manera uniforme el flujo en la entrada/salida, 3) proporcionar un área de superficie para el crecimiento microbiano, y 4) de filtro y trampa de partículas (US EPA, 2000; Vymazal y Kröpfelová, 2008). La mayoría de los humedales está ocupado por el medio de soporte, ocupando típicamente entre un 58% a 65% del volumen total (US EPA, 2000). Como resultado, el flujo es forzado a través de los espacios intersticiales en los medios del HFSS. Entre los principales medios que se utilizan se encuentran: arena, grava, rocas, zeolitas, entre otros (Vohla *et al.*, 2009; Vera *et al.*, 2014). La experiencia con suelo (arcilla y limo) como medio de soporte y arenas finas ha mostrado que son medios muy susceptible a la obstrucción, generando flujos superficiales o preferenciales en los HFSS. Además, estos medios de soporte presentan una elevada resistencia hidráulica

y requiere velocidades de flujo muy bajas, limitando el caudal a tratar (Arias, 2005). Por el contrario, si el lecho granular está formado por arenas y gravas gruesas, disminuye la capacidad de adsorción y el poder filtrador del medio, pero aumenta la conductividad hidráulica. El tamaño de los medios es muy variable y de acuerdo a USEPA se recomienda usar medios de soporte con tamaños entre 40-80 mm de diámetro en la zona de entrada (2 m largo) y salida (1 m largo) para proporcionar una buena distribución del agua a lo largo de la zona de entrada y buena colección de agua a lo largo de la zona de salida, además para evitar la colmatación u obstrucción por sólidos. Para la zona intermedia el tamaño del medio de soporte debe ser entre 20 y 30 mm (conductividad hidráulica de 100.000 m/d; porosidad 36-40%) y profundidad mínima de 100 mm (Vymazal y Kröpfelová, 2008).

6.3 Vegetación: las plantas utilizadas en HC corresponden a plantas vasculares herbáceas o arbóreas, que crecen en el agua o en un sustrato inundados (Cronk y Frennessy, 2001). Estas plantas, pueden categorizarse en emergentes, flotantes y sumergidas (Stottmeister *et al.*, 2003; Vymazal, 2007). No obstante, el tratamiento a partir de HFSS, principalmente utiliza especies emergentes (ej. *Schoenoplectus*, *Phragmites*, *Typha*) (Zhang *et al.*, 2010), debido a que: (1) son tolerantes a elevadas cargas orgánicas y nutrientes, (2) tienen gran desarrollo de raíces y rizomas, proporcionando sustrato para bacterias adheridas y oxigenación (0,02-12 g/m²·d) de las zonas adyacentes a las raíces y rizomas y (3), elevada producción de biomasa aérea para el aislamiento de invierno (regiones frías y templadas), y para la eliminación de nutrientes a través de la asimilación (Vymazal, 2011). Además de otras características como: adaptación a condiciones anaeróbicas y profundidades variables, facilidad de manejo, entre otros (Zhang *et al.*, 2010). La Tabla 4 muestra los principales tipos de macrófitas utilizadas en HC, condiciones de crecimiento y capacidad de asimilación de nutrientes. Las especies acuáticas emergentes son principalmente herbáceas, están enraizadas en sedimento saturado y tanto hojas, tallos y flores son aéreas a profundidades menores a 1,0 m (Cronk y Frennessy, 2001; Kadlec y Wallace, 2009). En general, las condiciones ambientales en las que se desarrollan estas macrófitas, dependen de las especies, presentándose un rango temperatura deseable entre 16–30°C (Tabla 4). A su vez, el rango de pH para algunas especies es más acotado (ej. *Juncus*: 5,0-7,5 pH) y para otras especies, tales como: *Phragmites*, *Typha* y *Cyperus* presentan mayor rango de tolerancia (2,0–10 pH). A su vez, en los sistemas de

HFSS, la vegetación emergente tiene la capacidad de extraer agua y nutrientes de las aguas servidas para formar el tejido de la planta (biomasa foliar y radicular) necesario para la fotosíntesis y el transporte de gas (Wallace y Knigth, 2006). La formación de tejido de cada especie dependerá de la tasa de crecimiento y/o propagación que está presente, observándose en promedio tasas de propagación entre 0,1-0,6 m/año (consideradas moderadas). No obstante, hay especies que han sido catalogadas como rápidas y altamente invasivas con tasas de propagación de 10 m/año (*Phragmites australis*) (Wallace y Knight, 2006). A su vez, la biomasa foliar desarrollada por estas macrófitas dependerá del ciclo vegetativo, determinándose para *Phragmites* una producción máxima de biomasa de hasta 9890 g Peso Seco-Ps/m² que se da durante la tercera o cuarta temporada de crecimiento (Vymazal y Kröpfelová, 2005). Por su parte, *Typha latifolia*, crece más en otoño (370-1760 gPs/m²), que en invierno (330-1380 gPs/m²) (Madisson *et al.*, 2009). Más aun, para *Schoenoplectus californicus* la mayor tasa de desarrollo de la biomasa foliar se presentó en invierno (1392 g Ps/m²), con respecto al verano (444 gPs/m²) (López *et al.*, 2015). Considerando la gran capacidad de desarrollo de tejido o biomasa foliar por parte de estas macrófitas, las necesidades nutricionales les permitirán incorporar o asimilar una gran cantidad de nutrientes desde el medio (aguas servidas) (0,03–1,7 gNT/m²·d y 0,0095–0,11 gPT/m²·d) (Vymazal y Kröpfelová, 2005; Kadlec *et al.*, 2005; Wallace y Knight, 2006).

Tabla 4. Características de macrófitas emergentes utilizadas en humedales construidos.

Especie	Tamaño (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (ppt)	pH	Altura agua (m)	Propagación (m/año)	Tasa ET (mm/d)	Biomasa (gPs/m ²) ^a	Contenido de tejidos	Asimilación	
										gN/m ² ·d	gP/m ² ·d
<i>Schoenoplectus (Scirpus)</i>	1,7->3	16-27	20	4-9	0,15-1,0	0,15-0,6	-	1782-2200	18% N; 2% P; 30% sólidos	0,03-1,7	0,005
<i>Phragmites</i>	1,15->5	16-27	<45	2-9	0,3-1	10	1,4-11,4	413-9890	45% C; 20%N; 2% P; 40% sólidos	0,06-0,22	0,0095-0,03
<i>Juncus</i>	0,4-1,5	16-26	<25	5-7,5	0,3	0,1	3,8-8,0	11300	15% N; 2% P; 50% sólidos	0,22	0,03
<i>Cyperus</i>	>1,9	18-33	18	4-9	0,02 -0,15	-	-	1484-7800	50% C; 9,2%N; 1,12% P	0,86	-
<i>Typha</i>	>4	10-30	15-30	4-10	0,3-0,6	0,3	0,9-5,7	252-5902	45% C, 14% N; 2% P y 30% sólidos	0,12-1,61	0,02-0,11

Referencias: EPA, 2000; Tanner, 2001; Mander *et al.*, 2003; Vymazal y Kröpfelová, 2005; Kadlec *et al.*, 2005; Wallace y Knight, 2006; Borin *et al.*, 2007; Crites *et al.*, 2006; Vymazal, 2008; Chung *et al.*, 2008; Malecki-Brown *et al.*, 2010; Kadlec y Wallace, 2009; Kantawanichkul *et al.*, 2009; Madisson *et al.*, 2009; Vymazal, 2013; Abou-Elela *et al.*, 2013; Thongtha *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2014; Weller *et al.*, 2015; López *et al.*, 2015. ^a biomasa foliar; Ps: Peso Seco.

7. PROCESOS DE ELIMINACIÓN DE MATERIA ORGANICA EN HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL

Los humedales construidos son sistemas altamente complejos que separan y transforman los contaminantes mediante mecanismos físicos, químicos y biológicos que pueden ocurrir simultánea o secuencialmente a medida que el agua residual fluye a través del sistema (Vymazal, 2011). Los mecanismos predominantes y su secuencia de reacción dependen de los parámetros externos de entrada al sistema, las interacciones internas, y las características del humedal (EPA, 2000).

Los dos principales mecanismos de eliminación en la mayoría de los sistemas de tratamiento son las separaciones líquido/sólido y transformaciones de los constituyentes. En el caso de las separaciones, típicamente incluyen la separación por gravedad, filtración, absorción, adsorción, intercambio iónico, extracción, y la lixiviación. Por su parte, las transformaciones pueden ser químicas, incluyendo la reacciones oxidación/reducción, floculación, reacciones ácido/base, precipitación, o una serie de reacciones bioquímicas que ocurren bajo condiciones aeróbicas, anóxicas o anaerobias (EPA, 2000; Kadlec y Wallace, 2009).

7.1 Degradación de la materia orgánica

La materia orgánica contenida en las AS, se compone de una mezcla compleja de biopolímeros (Megonikal *et al.*, 2004; Vymazal y Kröpfelová, 2009), que se encuentran en forma soluble y particulada. La mayoría de las fracciones particuladas de la materia orgánica, pueden ser eliminadas o retenidas por mecanismos físicos (sedimentación y filtración), mientras que las formas disueltas son degradadas en el HC (Vymazal, 2011; Du *et al.*, 2014). Algunos de los constituyentes de la MO corresponden a: proteínas, carbohidratos y lípidos, que son fácilmente degradados por microorganismos (es decir, lábil), mientras que otros compuestos, tales como la lignina y hemicelulosa, son resistentes a la descomposición (es decir, recalcitrante) (Vymazal y Kröpfelová, 2009; Wallace y Knight, 2006). En investigaciones de HC con aguas servidas, se determinó un contenido de 21,8 mg/L de carbono orgánico disuelto, de los cuales 66% era lábil (podría ser asimilado biológicamente a través de

absorción y/o biodegradación) (Pinney *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010). Por su parte, Tanner *et al.* (1998) estudió un humedal de flujo horizontal y determinó que el 80% de la MO, corresponde a fácilmente degradable. Sin embargo, Nguyen (2000) mostró que los medios porosos del humedal estaban obstruidas por la MO, en la que más del 90% son compuestos orgánicos recalcitrantes, y 63 a 96% es en las formas de ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas (Fu *et al.*, 2013).

Por otra parte, a la hora de evaluar los procesos y eficiencias de eliminación de MO, se debe considerar que los HC, reciben MO a partir de dos fuentes diferentes: la materia orgánica contenida en las aguas residuales (carga externa), y la materia orgánica de la producción primaria en el humedal en sí, que constituye la carga interna (García *et al.*, 2010). De este modo, al evaluar los procesos asociados a la MO en HC, estos reflejarán el equilibrio entre las cargas internas y externas, por un lado, y las pérdidas debido a la exportación y la descomposición por el otro (Tanner *et al.*, 1998).

7.1.1 Carga Interna

La carga interna en HC se genera por la acumulación de sedimentos, que están formados principalmente por remanentes de macrófitas (restos de hojas, raíces y rizomas), y fracciones no biodegradables de la microflora y microfauna muerta (algas, hongos, invertebrados, bacterias) (Kadlec y Wallace, 2009). A medida que aumenta la biomasa de las plantas, estas mueren, y la descomposición, llevada a cabo por la biomasa bacteriana, convierte las partículas de MO en sustancias húmicas que aumentan el depósito de Materia Orgánica Disuelta (MOD) (Pinney *et al.*, 2000; Quanrud *et al.*, 2001). Al respecto, se ha determinado que el aporte anual a los SST de las hojas y tallos en un humedal natural, puede estar entre 60 a 70 g/m² (Kadlec y Wallace, 2009). Más aun, Tanner y Sukias, (1995), determinaron que la carga de origen vegetal, fue 1,2-2,0 kg/m² mayor en los humedales plantados con respecto a los sin plantar (Tanner *et al.*, 1998). En términos de DBO₅ y DQO, la concentración base que aporta la MO interna a menudo se asume estar alrededor de 1-10 mg DBO₅/L y de 10-100 mgDQO/L (Rousseau *et al.*, 2004; Kadlec y Wallace, 2009; García *et al.*, 2010). Pinney *et al.* (2000) observaron que a mayor Tiempo de Retención Hidráulica (TRH), aumenta la

concentración de carbono orgánico disuelto (de origen vegetal). Dado que la carga interna permanece en el humedal, estos se vuelven progresivamente más difíciles de degradar, por ende, la eficiencia de eliminación de DBO_5 disminuye a medida que el agua se mueve a través del humedal (Kadlec, 2003; Wallace y Knigh, 2006). Sin embargo, se determinó en un análisis de balance de masa que sólo el 8,5% de C liberado por las plantas es lixiviado (medido como COD). La cantidad de C retenido en la biomasa de las plantas varió de 45 a 60%, y el carbono orgánico no contabilizado (35-60%) salió del sistema como carbono orgánico particulado o se convirtió en CO_2 y CH_4 a través de la actividad microbiana (Pinney *et al.*, 2000; García *et al.*, 2010).

7.1.2 Carga Externa

La MO procedente de las AS (cargas externas) puede ser clasificada en particulada y disuelta, comúnmente denominada como MOD (Materia Orgánica Disuelta) y MOP (Materia Orgánica Particulada). De este modo, al describir los procesos de eliminación de MO es necesario separar ambas fracciones, debido a las diferencias en los procesos implicados (García *et al.*, 2010). De acuerdo a Dulekgurgen *et al.* (2006) la mayor parte (alrededor del 65%) de la DQO en las AS domésticas se compone de MOP (>1600nm) y sólo el 14% es soluble (<2 nm). Concretamente, la fracción biodegradable particulada está relacionada con macromoléculas que se deben desglosar en formas más simples, antes de ser aprovechadas por los microorganismos (Mathieu y Etienne, 2000; Rodríguez *et al.*, 2012). A su vez, la fracción biodegradable disuelta está relacionada con compuestos que pueden ser directamente adsorbidos para la síntesis del nuevo material celular, como Ácidos Grasos Volátiles (AGV), carbohidratos simples, aminoácidos, alcoholes, entre otros, por tal motivo es, denominada fracción rápidamente biodegradable. Por su parte, la fracción no biodegradable o inerte está compuesta por sustancias, como ácidos húmicos o fúlvicos disueltos (Dulekgurgen *et al.*, 2006).

Por otro lado, se ha determinado que la eficiencia de eliminación de MO por los HFSS, estará condicionado por diversos factores, entre ellos, parámetros de diseño y operación, características climáticas, maduración del sistema, entre otros (Vymazal, 1998; Vasudevan *et*

al., 2011). De hecho, se ha determinado que la carga orgánica superficial es uno de los parámetros críticos que afectan a la eficacia del tratamiento y el tiempo de vida del sistema (Cooper *et al.*, 1997; USEPA, 2000). Es así como, si la carga orgánica es demasiado alto, partículas de materia orgánica y la biomasa microbiana se acumulan más rápido de lo habitual en la zona de entrada, provocando una reducción rápida y significativa en la porosidad, y los cambios posteriores en el comportamiento hidrodinámico. Con el fin de evitar estos problemas, USEPA (2000) han recomendado que la carga orgánica no debe exceder 6 gDBO/m² día (García *et al.*, 2004; Caselles-Osorio *et al.*, 2007). Para el mejor entendimiento de la degradación de la MO en HC se analizará de forma separada la MOP y MOD.

7.2 Materia Orgánica Particulada (MOP)

En HC la mayor parte de la MOP es retenida por mecanismos físicos, principalmente por floculación/sedimentación y filtración/intercepción de las partículas coloidales y supra coloidales (EPA, 2000; Wallace y Knigh, 2006). Esta transferencia de material particulado del agua al lecho de sedimentos en los humedales tiene importantes consecuencias para la calidad del agua, así como las propiedades y funciones de los ecosistemas de humedales (Kadlec y Wallace, 2009). Las partículas cuando entran en un HC quedan retenidas principalmente por tres motivos: a) las constricciones del flujo producidas por el medio granular, b) la baja velocidad del agua y c) las fuerzas de adhesión entre partículas. Además, las raíces y rizomas de las plantas contribuyen también a la retención de la MOP. Por tanto, la eliminación de la MOP ocurre fundamentalmente por una combinación de mecanismos físicos (Kadlec y Wallace, 2009). Tanner *et al.* (1998) determinó que los sólidos se acumulan en las capas superficiales y en la parte superior del medio granular como lodos, y representan una mezcla de sólidos de aguas residuales, plantas y detritus microbiano. Más aun, Kadlec (2003) determinó que en HFSS la concentración total de la MO disminuye rápidamente cerca de la entrada y una menor eliminación adicional se produce más allá de esta área. Esto es debido al hecho de que una gran proporción de la MO del influente se encuentra en forma de partículas (> 65% en términos de DQO) y por lo tanto se mantiene cerca de la entrada por sedimentación y filtración (Dulekgurgen *et al.*, 2006).

A su vez, Tanner et al. (1998) determinó que las tasas de acumulación de compuestos orgánicos aportados por las aguas residuales aplicadas fueron 0,4-1,6 kg SSV/m²·año (Caselles-Osorio *et al.*, 2007). Del mismo modo, García et al. (2005) estudiaron las variaciones en los niveles de carbono orgánico (COT) a lo largo de dos HFSS (55 m²), determinando que más del 50% de la eliminación de COT tuvo lugar en el primer cuarto de la longitud de los humedales. No obstante, las tasas de acumulación MOP parecen disminuir con el tiempo de maduración de los humedales. Es así como, Tanner et al. (1998) determinó que las tasas de acumulación de MOP fueron aproximadamente dos veces mayor durante los dos primeros años de funcionamiento que en los tres años siguientes (García *et al.*, 2010). De este modo, la MOP retenida se acumula o se desintegra y se somete a hidrólisis, generando compuestos orgánicos disueltos que pueden ser degradados por las diferentes vías en un humedal (Wallace y Knight, 2006). Los valores habituales de eliminación de MOP se encuentran en el intervalo 85-95% (Caselles-Osorio *et al.*, 2007; López *et al.*, 2015). Para obtener niveles de eficiencia superiores a 90% de eliminación MOP la USEPA (2000) recomienda que la máxima carga de MOP para un tratamiento secundario con HFSS no sea superior a 20 gMOP/m²·d, a fin de evitar la colmatación. Este valor se considera bastante elevado, ya que para que los sistemas funcionen adecuadamente la carga de MOP deber ser similar a la de DBO₅, que como mucho puede ser de 6 g/m²·día (García *et al.*, 2004; Aguirre *et al.*, 2004). En la Tabla 5 se documentan las eficiencias de eliminación de MO y sólidos por HFSS que tratan aguas servidas.

7.3 Materia Orgánica Disuelta (MOD)

La degradación de la MOD en HC es llevada a cabo por la biomasa microbiológica adherida y suspendida, mediante procesos aeróbicos y anaeróbicos (Vymazal y Kröpfelová, 2009; García *et al.*, 2010). El tipo de descomposición (aeróbico o anaeróbico) está determinada por el equilibrio entre las cargas de MO (internos y externos) y la transferencia de oxígeno en el humedal. Si el oxígeno es suficiente para satisfacer la demanda de oxígeno ejercida por las cargas de MO, condiciones aeróbicas prevalecerán (potencial redox >300 mV). Si las tasas de transferencia de oxígeno no pueden satisfacer las demandas de oxígeno, condiciones anaeróbicas prevalecerán (Wallace y Knight, 2006). Específicamente, en HFSS la carga

orgánica aplicada y la saturación continua del lecho de filtración, determinan que los principales procesos que prevalecen, son procesos anóxicos/anaeróbicos mientras que los procesos aeróbicos se limitan a pequeñas zonas adyacentes a las raíces y los rizomas (pérdida de oxígeno radial) y a una capa superficial, donde se puede producir la difusión de oxígeno de la atmósfera (Vymazal y Kröpfelová, 2009). Los valores típicos de la Oxígeno Disuelto en los sistemas HFSS son muy bajos ($<0,1$ mg / L), lo que indica condiciones reductoras fuertes (Vymazal y Kröpfelová, 2008). Así en HFSS, la vía metabólica predominante será probablemente la vía anaeróbica.

Por otra parte, se ha determinado de acuerdo a Caselles-Osorio y García (2006), que la eliminación de MOD en HFSS es entre 76-94 % medida como DQO (glucosa), con cargas de 6 g COD/m² día. Del mismo modo, Caselles-Osorio et al. (2007), determinaron que el mismo sistema de HFSS, mantiene sus niveles de eficiencia (92%) en condiciones de alta carga (23 g COD/m² día). De modo semejante, Du et al. (2014), determinó que la MOD con mayores pesos moleculares es eliminada y biodegradada preferentemente por un HFSS. Específicamente, se encontró una eficiencia entre 86-90% para las fracciones entre 10 kDa-0,45 μ m y 66-68% para las fracciones entre <1 kDa-10kDa. Más aun, determinaron que los ácidos húmicos y fúlvicos se eliminaron con tasas de eliminación DOC de 77% y 64%, respectivamente, mientras que las bases hidrofóbicas e hidrofílicas fueron las fracciones más resistentes, con tasas de eliminación DOC de 36% y 14%, respectivamente.

Tabla 5. Eficiencias de eliminación de materia orgánica y sólidos en HFSS en el tratamiento de aguas servidas.

Ubicación	Macrófita ^a	Q (m ³ /d)/ TRH(d) ^b	Calidad Influyente (mg/L)			Eficiencias (%)			Calidad Efluente (mg/L)			Referencias
			DBO ₅	DQO	SST	DBO ₅	DQO	SST	DBO ₅	DQO	SST	
Alemania	<i>Phr</i>	n.a.	162	390	n.a.	95	94	n.a.	8	25	n.a.	Luederitz <i>et al.</i> , 2001
	<i>Ji, Je</i>	n.a.	123	250	n.a.	93	91	n.a.	9	13	n.a.	
España	<i>Phr</i>	3/3	327	557	272	85-90	73-77	91-93	32-49	128-150	19-24	Solano <i>et al.</i> , 2004
		6/1,5				77-79	50-68	70-87	68-75	178-278	35-81	
España	<i>Phr</i>	0,09-0,2/4,4-10	133	206	n.a.	57	58	n.a.	56	84	n.a.	Garcia <i>et al.</i> , 2005
España	<i>Phr</i>	0,04/3,5	174	307	95	87	80	>90	35	63		Pedescoll <i>et al.</i> , 2011
Italia	<i>Phr</i>	n.a.	n.a.	68	54	n.a.	70	80	n.a.	16	8	Barbera <i>et al.</i> , 2014
Japón	<i>Phr</i>	0,5/6	200	140	150	99	94	99	3	6	2	Liu <i>et al.</i> , 2009
Estonia	<i>Phr</i>	12,5/0,042	98	n.a.	45	94	n.a.	84	6	n.a.	7	Öövel <i>et al.</i> , 2007
México	<i>Sre, Anth</i>	0,005-0,03/4 ^c	50	190	11	79	77	99	11	44	0,1	Zurita <i>et al.</i> , 2011
		0,005-0,03/5 ^d	116	248	58	78	76	82	25	59	10	
		n.a./6			n.a.	65	75	n.a.	126	144	n.a.	
Grecia	<i>Phr</i>	n.a./14	361	583	n.a.	88	87	n.a.	43	89	n.a.	Akratos y Tsihrintzis, 2007
		n.a./20			n.a.	94	93	n.a.	25	40	n.a.	
		0,1/	80	140	36	83	84	93	14	22	3	
Vietnam	<i>Phr vall</i>	0,5/	45	135	35	81	57	95	9	60	3	Trang <i>et al.</i> , 2010
		0,7/	50	169	36	76	63	86	12	63	5	
Kenia	<i>Cyp</i>	n.a.	73,6	159,5	103,1	61	43	75	28,9	91	26	Mburu <i>et al.</i> , 2013

^a*Phr: Phragmites australis*; *Ji, Juncus inflexus*; *Je: Juncus effusus*; *Sre: Strelitzia regina*; *Anth: Anthurium andreaum*; *Phr vall: Phragmites vallatoria*; *Cyp: Cyperus papyrus*; ^bQ: Caudal; TRH: Tiempo Retención Hidráulico; ^c Escala laboratorio; ^d Escala piloto.

7.4 Procesos involucrados en la degradación de materia orgánica en HFSS

La degradación de la MO en HC consiste en una serie de procesos que convierten compuestos orgánicos en metano, CO₂ y en nuevas células bacterianas (Vymazal y Köpfelová, 2009). Estos procesos son comúnmente considerados como procesos de múltiples pasos. El primer paso, corresponde a la depolimerización de la MOP (sólidos particulados y coloidales), específicamente definida como hidrólisis.

7.4.1. Hidrólisis: en la hidrólisis los compuestos orgánicos en su mayoría insolubles, tales como los carbohidratos, proteínas y lípidos se descomponen en monómeros y dímeros solubles, es decir, mono azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga (> 8 átomos de carbono). Este proceso es llevado a cabo por bacterias anaeróbicas facultativas y los géneros más frecuentes son miembros de la familia Enterobacteriaceae, además de los géneros: *Bacillus*, *Streptococcus*, *bacteroides* y *micrococcus* y *clostridium* (Geraldí, 2003; Angelidaki *et al.*, 2011; Christy *et al.*, 2014). La hidrólisis de estas bacterias corresponde a un proceso biológico mediado por la actividad exo-enzimática de dos tipos de enzimas: las excretadas por los microorganismos como parte del metabolismo extracelular, y las enzimas inmovilizadas en coloides del suelo y materiales húmicos (Shackle *et al.*, 2000; Speece, 2008). A su vez, la hidrólisis de los polímeros es realizada por diferentes grupos enzimáticos. Las enzimas encargadas de hidrolizar los azúcares, proteínas y lípidos corresponden las amilasas, proteasas y lipasas, respectivamente (Christy *et al.*, 2014). En cuanto al material lignocelulósico, los principales productos de la hidrólisis de la celulosa son celobiosa y glucosa; la hemicelulosa produce pentosas. Hexosas y ácidos urónicos, mientras que la lignina es un material altamente refractario (Moreno *et al.*, 2007).



Una fórmula química aproximada para la mezcla de residuos orgánicos es C₆H₁₀O₄ (Christy *et al.*, 2015). Ec. 1 muestra un ejemplo de reacción de hidrólisis, donde los residuos orgánicos se descomponen en un azúcar simple (glucosa). En sistemas de tratamiento la etapa hidrolítica ha sido descrita como la etapa limitante de la velocidad del proceso global, sobre todo durante el tratamiento de residuos con alto contenido en sólidos (Khanal, 2008). De hecho, la hidrólisis y

la velocidad del proceso depende de muchos factores, tales como: el tamaño de partículas, el pH, la temperatura, la concentración de biomasa hidrolítica, la difusión y adsorción de las enzimas y el tipo de materia orgánica particulada sometida al proceso (Moreno *et al.*, 2007). En HC, la hidrólisis es un proceso que se produce ya sea bajo condiciones aeróbicas, como anóxicas o anaeróbicas (García *et al.*, 2010). Se produce la hidrólisis tanto en la MOP interna como externa que se genera e ingresa en el HC. En el caso MO externa, Ruiz *et al.* (2010), determinaron para un HC que cerca de un 59% de los SSV presentes en el influente fueron eliminados por procesos de hidrólisis, mientras que el 24% fue acumulado en el medio y un 17% permaneció en el efluente. Por otra parte, McHenry y Werker (2005) mediante la evaluación de la cinética de hidrólisis de diacetato y la biomasa microbiana, determinaron que la presencia de plantas (*Phragmites australis*) en HFSS no aumenta la intensidad de la actividad hidrolítica en el sistema.

7.4.2. Degradación Aeróbica: La degradación de la MOD por vía aeróbica, logra la oxidación de la materia orgánica por microorganismos que utilizan el oxígeno para el intercambio de electrones, obteniendo en el proceso nueva biomasa, junto con productos finales como el CO₂ (90%) y H₂O (Van Haandel y Lettinga, 1994; Henze *et al.*, 2002). El tipo de microorganismo responsable del proceso aeróbico, son las bacterias heterótrofas aeróbicas que usan la materia orgánica como fuente de energía en el intercambio de electrones con el oxígeno, y además, como fuente de carbono para la producción de nuevo material celular (Von Sperling, 2007), se puede representar mediante la siguiente reacción:



En HFSS la degradación aeróbica es restringida debido a que estos sistemas se encuentran inundados de forma permanente, por lo que la concentración de oxígeno es generalmente muy baja o indetectable (<1 mg/L) (García *et al.*, 2010). Las principales vías de entrada de oxígeno descrita para HFSS corresponden a: entrada de oxígeno por el influente, aireación superficial física, y la liberación de la planta. El oxígeno está por lo general presente en muy bajas concentraciones en las aguas residuales, por lo que la entrada de oxígeno en el afluente es generalmente insignificante. Incluso si el agua residual contiene oxígeno hasta el punto de

saturación (7-11 mg/L), la concentración no tendría un efecto notable en las aguas servidas típicas, con DBO₅ entre 200 a 300 mg/L (García *et al.*, 2010). El suministro de oxígeno insuficiente reducirá en gran medida el rendimiento de oxidación biológica aerobia por bacterias heterótrofas. Si el suministro de oxígeno no se limita, la degradación aeróbica se regirá por la cantidad de materia orgánica disponible (Vymazal y Köpfelová, 2009). Henze *et al.* (2002) indican un consumo de 1,42 kgO₂/kg de materia orgánica oxidada medida como DBO₅. A su vez, en entornos con alto flujo de aguas servidas, la tasa de consumo de oxígeno por los sedimentos puede estimarse como 2 a 10 g/m² día (Metcalf y Eddy, 2003; Kadlec y Wallace, 2009). Rousseau y Santa (2007) determinaron que el transporte de oxígeno del aire al agua en un HFSS (de 0,63 m² y la profundidad del agua 0,3 m) sin plantar fue de 0,7 g O₂/m² d con TRH de 2 días. A su vez determinaron que mayores turbulencias de aire en tiempos de retención hidráulicos inferiores (TRH) aumenta las tasas de transferencia de oxígeno. Por lo tanto, puede verse que la cantidad de oxígeno transportado del aire al agua en un HFSS es insignificante en comparación con la demanda de oxígeno de las aguas servidas (García *et al.*, 2010). En la Figura 5 se presenta la degradación de materia orgánica por procesos aeróbicos.

7.4.3. Degradación anaeróbica (DA): La degradación anaeróbica en HFSS es la principal vía de degradación (90-94%) (García *et al.*, 2004; Aguirre *et al.*, 2004), debido a que los sistemas horizontales están inundadas de forma permanente, por lo que la concentración de oxígeno es generalmente muy baja o indetectable (<0,1 mg/L) (García *et al.*, 2004). La degradación anaeróbica es un proceso biológico que ocurre en ausencia de oxígeno, mediante el cual determinados microorganismos pertenecientes principalmente al Dominio Bacteria (ej. bacterias fermentativas y bacterias oxidantes de ácidos orgánicos) y Archaea (metanogénicas) (Christy *et al.*, 2015), son capaces de convertir los compuestos orgánicos presentes en las aguas servidas en metano, CO₂, nuevas células bacterianas y otros gases (ej. ácido sulfúrico o H₂S, NH₃) (Gerardi, 2003; Angelidaki *et al.*, 2011). En la Figura 5 se presenta la degradación de la materia orgánica por procesos anaeróbicos.

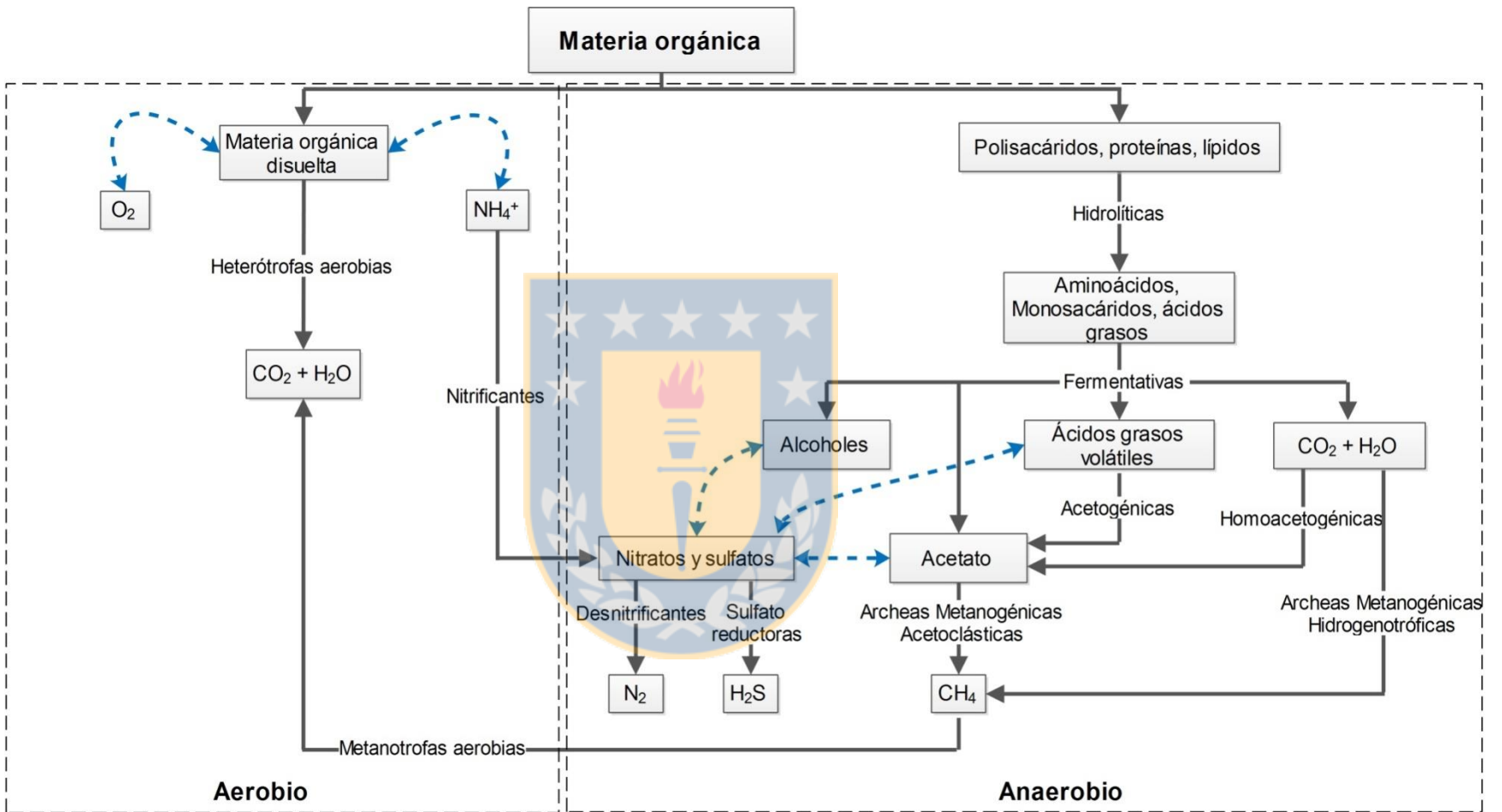
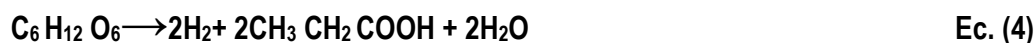


Figura 5. Degradación de materia orgánica por procesos aeróbicos y anaeróbicos. Adaptado de Kadlec y Wallace (2009).

La producción de nuevas células es baja, ya que en teoría el 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, y solo el 10% se emplea en crecimiento bacteriano, frente al 50% consumido en un sistema aeróbico (Moreno *et al.*, 2007). Por otro lado, la DA utiliza un proceso secuencial que involucra una serie de rutas metabólicas combinadas, que ocurren en cuatro etapas: hidrólisis (descrito anteriormente), acidogénesis (fermentación), acetogénesis, y metanogénesis (Angelidaki *et al.*, 2011). La Figura 6, muestra la degradación de los distintos constituyentes de las aguas servidas por vía anaeróbica.

7.4.3.1 Fase acidogénesis (fermentación): En esta etapa, moléculas orgánicas solubles (aminoácidos, monosacáridos y ácidos grasos), formados durante la etapa de hidrólisis, son transformados por varios tipos de microorganismos, mediados por la acción de endoenzimas microbianas (Geraldí, 2003; Angelidaki *et al.*, 2011), formando compuestos de menor peso molecular, tales como ácidos orgánicos (ácidos grasos volátiles-AGV) de 2 a 8 átomos de carbono (acetato, butirato, lactato), y compuestos reducidos como etanol, CO₂, e H₂, entre otros (Moreno *et al.*, 2007; Angelidaki *et al.*, 2011; Christy *et al.*, 2015). En la acidogénesis, las condiciones ambientales/operacionales (temperatura, pH, potencial redox, entre otros) a las que viven estos grupos bacterianos, condicionará la formación de determinados grupos de ácidos grasos volátiles. Es así, como a pH entre 5 a 7, prioriza la generación de ácido butírico; mientras a pH cercanos a 8, se favorece la producción de ácidos propiónico y acético condicionando finalmente la composición del biogás (Angelidaki *et al.*, 2011).



Las ecuaciones 3-5 representan tres típicas reacciones de acidogénesis. En la Ec. (2), glucosa es convertida en etanol. Ec. (3), muestra como la glucosa es transformada a propionato y Ec. (5) muestra la glucosa convertida en ácido acético. La transición de material

orgánico a ácidos orgánicos causa que el pH del sistema disminuya; esta condición es beneficiosa para las bacterias acidogénicas y acetogénicas que prefieren a ambientes ácidos, con un pH de 4,5 a 5,5 (Angelidaki *et al.*, 2011).

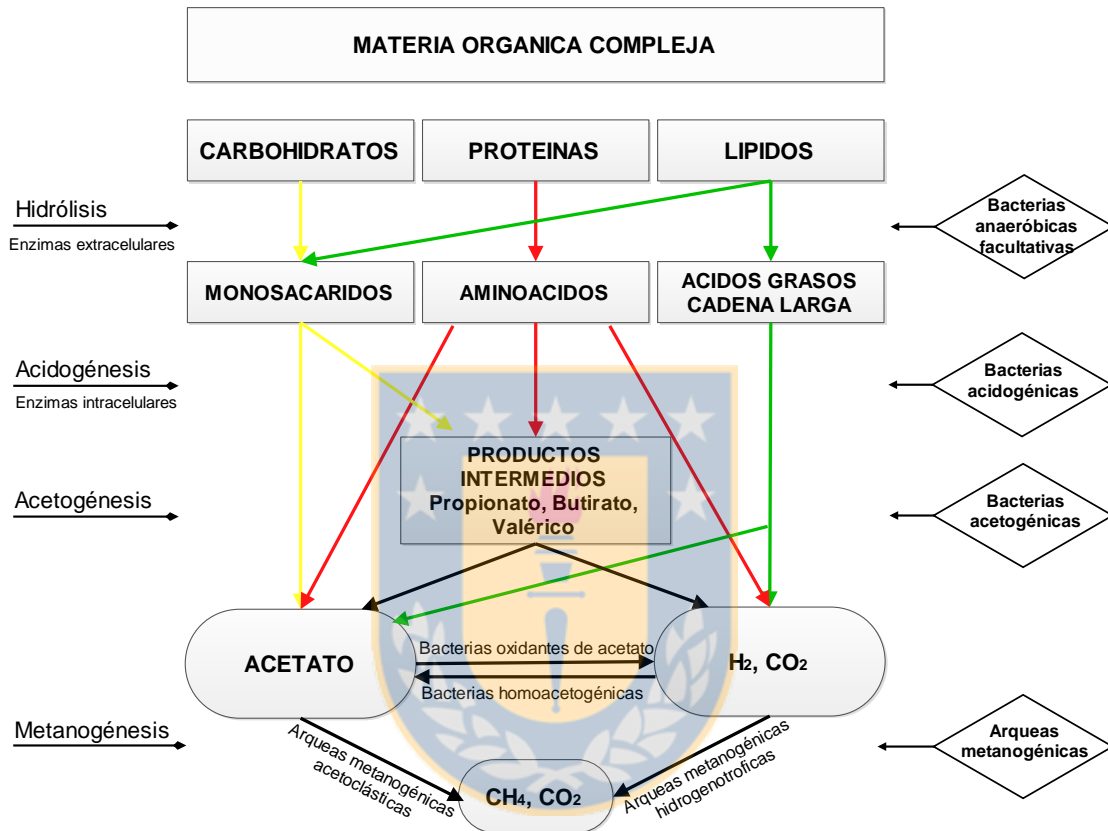
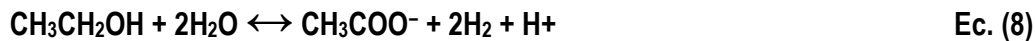
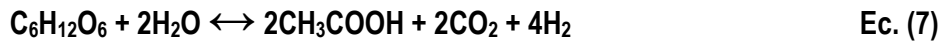


Figura 6. Representación esquemática de degradación anaeróbica (Adaptado de: Christy *et al.*, 2014 y Moreno *et al.*, 2007)

7.4.3.2. Fase Acetogénesis: Durante esta etapa, los AGV, y el etanol, formados en la etapa anterior, son transformados en acetato, H₂ y CO₂, mediante las bacterias acetogénicas sintotróficas a partir de dos rutas diferentes: deshidrogenación acetogénica (producen acetato a partir de la fermentación ácidos propiónico, butírico y alcoholes) e hidrogenación

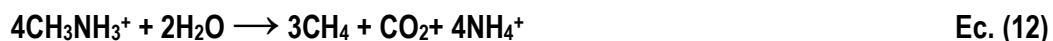
acetogénica, donde las bacterias homoacetogénicas sintetizan acetato a partir de hidrogeno, dióxido de carbono y/o sacáridos (Angelidaki *et al.*, 2011).



La Ec. (6) representa la conversión de propionato a acetato (a baja presión de hidrogeno). En la Ec. (7) la glucosa es convertida en acetato. La bacterias acetogénicas no pueden convertir directamente el etanol a metano o CO_2 ; primero debe convertir el etanol a ácido acético y consecuentemente libera el hidrogeno molecular. La Ec. (8) muestra como el etanol es convertido en acetato (Christy *et al.*, 2015). En esta fase de la DA, se lleva a cabo en amplios rangos de pH (6,5–7,0) y temperatura (15–69°C). Sin embargo, las condiciones óptimas de temperatura para la acetogénesis suelen estar en rangos entre 30 a 37°C (Montalvo y Guerrero, 2003).

7.4.3.3. Fase metanogénica: en esta etapa, se utilizan los productos generados en la etapa de acetogénesis, transformándolos a CH_4 (Liu *et al.*, 2011). Las tres vías principales para la formación de metano en ambientes anaeróbicos son conocidos (Conrad *et al.*, 2010; Angelidaki *et al.*, 2011): Metanogénesis acetoclástica donde acetato es convertido en metano y dióxido de carbono (Ec. 9), la metanogénesis hidrogenotróficas donde el dióxido de carbono se reduce a metano (Ec. 10), y la metanogénesis metilotrónica donde compuestos metilados (metanol (Ec.11), metilaminas (Ec.12), metilmercaptopropionato, sulfuro de dimetilo, etc.) se convierten en metano (Angelidaki *et al.*, 2011).





Los microorganismos encargados en esta etapa pertenecen al dominio Archaea, phylum Euryarchaeota: arqueas metanogénicas. Las arqueas son microorganismos que requieren condiciones estrictas anaeróbicas y con bajo Potencial Oxido-Reducción (POR) (<-200 mV) (Le mer *et al.*, 2001), abundante en ambientes donde aceptores de electrones externos, como O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} y SO_4^{2-} son limitados (Thauer *et al.*, 2008; Angelidaki, 2011). Las arqueas metanogénicas se establecen en dos grupos: arqueas metanógenas hidrogenoclasticas (aquellas que consumen H_2 , CO_2 y ácido fórmico) y las arqueas metanogénicas acetoclasticas (aquellas que consumen acetato, metanol y algunas metilaminas) (Moreno *et al.*, 2007).

8. PROCESOS DE ELIMINACIÓN DE NUTRIENTES EN HUMEDALES DE FLUJO HORIZONTAL SUBSUPERFICIAL

8.1 Nitrógeno: el ciclo biogeoquímico del nitrógeno en humedales es complejo, involucrando conversiones entre las diferentes formas del nitrógeno y transferencias entre los diferentes compartimientos de almacenamiento (Kadlec *et al.*, 2005). Los procesos de eliminación de nitrógeno dependen de la forma que este se encuentre: nitrógeno orgánico (40%), nitrógeno amoniacal (60%) (NH_4^+) o nitrógeno oxidado (NO_2^- y NO_3^-) (USEPA, 2000). Específicamente, la eliminación de nitrógeno en un HC incluyen rutas biológicas (es decir, la amonificación, nitrificación/desnitrificación, incorporación a tejidos vegetales, asimilación de la biomasa microbiana, y la reducción de nitrato a amonio (nitrato-amonificación), oxidación anaerobia de amonio (ANAMMOX) y físico-químicas (es decir, adsorción-desorción de amonio, sedimentación y volatilización amonio (EPA, 2000; Vymazal, 2007). Sin embargo, sólo pocos procesos eliminan efectivamente el nitrógeno total a partir de las aguas servidas, mientras que la mayoría de los procesos simplemente convierten el nitrógeno a sus diversas formas (Kadlec *et al.*, 2005). Concretamente, se ha determinado que el proceso principal de eliminación de

nitrógeno es la vía metabólica microbiana, con la eliminación de alrededor del 89-96% del nitrógeno (Lin *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2015). Más aun, se ha determinado que los HC son capaces de eliminar entre un 70–95% del Nitrógeno Total (NT) con cargas entre 0,3 – 3,6 gNT/m²·d (Hunt *et al.*, 2009). Específicamente, se determinó que los HFSS son capaces de eliminar nitrógeno-orgánico (89%), nitrógeno-amoniacal (28%) y nitrógeno de nitrato (0,42%) a cargas de 6,07, 10,9 y 0,81 gN/ m²·d, respectivamente (Mayo *et al.*, 2005).

Entre los principales mecanismos de eliminación se encuentran: *Volatilización*, es un proceso físico-químico de transferencia de nitrógeno amoniacal que pasa desde la fase líquida (NH₄⁺) a la gaseosa (NH₃) (Kadlec y Wallace, 2009). Reddy y Patrick (1984) señalaron que para maximizar las pérdidas por volatilización se requiere un pH de 9,3 y una proporción entre amoníaco y amonio de 1:1 (Vymazal, 2007). Sin embargo, valores de pH del orden de 9,3 no son comunes en aguas servidas, por lo tanto se minimiza la volatilización como proceso. Tasas de volatilización reportadas son hasta de 2,2 gN/m²·d (Vymazal, 2007). *Adsorción/sedimentación*: son procesos físico-químicos, en donde compuestos inorgánicos como el amonio son adsorbidos por reacciones de catión intercambiable (detritus y/o arcilla) y depositados en el sedimento o nitrógeno orgánico particulado cae por sedimentación al suelo (Vymazal, 2007). Mayo *et al.* (2005), determinó una tasa de 0,12 gN/m² d de nitrógeno acumulado en los medios de grava. *Amonificación (mineralización)*, es el proceso donde N orgánico se convierte biológicamente en amoníaco. Las tasas de amonificación reportados para humedales oscilan entre 0,004 y 0,53 g N/m² d (Tanner *et al.*, 2002; Mayo *et al.*, 2005). A su vez, la temperatura óptima para la amonificación es entre 40-60°C, mientras que el pH óptimo es entre 6,5 y 8,5 (Vymazal, 2007). *Nitrificación*: la nitrificación, es la oxidación biológica del amonio a nitrato con nitrito como un intermedio en el proceso. La nitrificación es realizada inicialmente por bacterias quimiolitotróficas (estrictamente aeróbico) que oxidan el amonio a nitrito (ej. *Nitrosomonas*), luego bacterias facultativas quimiolitotróficas (*Nitrobacter winogradskyi*), oxidan el nitrito a nitrato (Vymazal, 2007; Mayo *et al.*, 2005). La nitrificación se ve influenciada por diversos factores entre ellos: temperatura (óptimo 30 a 40°C), alcalinidad, pH, sustratos, oxígeno disuelto, entre otros (Vymazal, 2007). En los HFSS puesto que la transferencia de oxígeno es baja y hay pocas zonas aeróbicas, la nitrificación no es

destacable y el rendimiento de eliminación del amonio no supera generalmente el 30% (García y Corzo, 2008). Las tasas de nitrificación en humedales están en el rango de 0,01 a 2,15 gN/m²·d con el valor medio de 0,048 gN/m²·d (Vymazal, (2007; Mayo *et al.*, 2005).

Desnitrificación: la desnitrificación elimina el nitrato formado previamente por la nitrificación y lo convierte en nitrógeno gas (Abou-elela *et al.*, 2013). Este proceso requiere de microorganismos heterótrofos (ej. *Pseudomonas*), bajo condiciones anóxicas para reducir nitrato como fuente de energía y materia orgánica (2,3 gDBO₅/gN-NO₃⁻), como sustrato para transformarlo a nitrógeno gas (Ahn, 2007; Abou-elela *et al.*, 2013). Las tasas de desnitrificación se encuentran en un rango entre 0,003 y 1,02 gN/m²·d (Vymazal, 2007). A su vez, Mayo *et al.* (2005), determinó mediante modelos matemáticos una tasa de eliminación de N vía desnitrificación de 0,436 gN/m²·d (29% eliminación). La *asimilación*, las plantas pueden eliminar nitrógeno de las aguas servidas mediante la asimilación de nitrógeno inorgánico (NH₄⁺ y/o NO₃⁻) para ser usadas para la síntesis de nitrógeno orgánico (células/tejido vegetal). El almacenamiento de nitrógeno es variable y dependiente de mucho factores (ej. especie de macrófita). Valores reportados de almacenamiento de nitrógeno por plantas están en el rango de 26-69 gN/m² (Tanner, 2001), 2-29 gN/m² (Mitsch y Gosselink, 2000), 34,8 gN/m² para *Phragmites* y 1,24 – 7,52 gN/m² *Schoenoplectus* (Brezinová y Vymazal; 2015) y 1,24-11,39 gN/m² (López *et al.*, 2015). Al morir las plantas (senescencia), el nitrógeno puede retornar al humedal, por ello se recomienda podar la vegetación antes de la senescencia. En general en aguas servidas de tipo medio las plantas eliminan entre un 10 y un 20% del nitrógeno (García y Corzo, 2008). La Tabla 6 resume las eficiencias de eliminación de nitrógeno y fosforo en HFSS en el tratamiento de aguas servidas.

Tabla 6. Eficiencias de eliminación de nitrógeno y fosforo en HFSS en el tratamiento de aguas servidas.

Lugar	Parámetros de variación	Medio de soporte	Macrófita	TRH (d)	influyente (mg/L)		Eficiencias (%)		Efluente (mg/L)		Referencias
					N	P	N	P	N	P	
India		Grava (6-25 mm)	TL, Phr y CE	0,5-1,5	17,6 ^a	7,1 ^b	70,2	67,9	5,5	2,3	Rai <i>et al.</i> , 2015
Alemania	25 cm Prof. ^c ; CH ^d : 100 L/d	Grava (8-16 mm)	Phr		83		17		69		Button <i>et al.</i> , 2015
			S/V		83		7,2		77		
	Phr			83		13,3		72			
	S/V			83		6		78			
China	Macrófita/ carga aplicada	Grava (24,8 mm) y Escoria (2,74 mm)	Phr	10	20	88,7					Zhu <i>et al.</i> , 2014
					40	89,9					
			CA	10	20	78,6					
					40	81,2					
Egipto		Grava (40-80 mm)	Canna, Phr y Cyp	11	32,8	3,2	60	63	6,5		Abou-Elela <i>et al.</i> , 2013
					17,2		57,1		8,8		
Vietnam	CH:31 mm/d	Arena de rio (0,25-0,43 mm)	Phr vall		52	7	84	99	9	< 0,2	Trang <i>et al.</i> , 2010
	CH:62 mm/d				63	10	61	98	25	2,5	
	CH:146 mm/d				70	11,5	16	72	58	3	
México	Monocultivo	Grava (roca volcánica) (12mm)	ZA SR, AA y AgA	4	28,7	8,3	53,7	44,7	13,1	4,2	Zurita <i>et al.</i> , 2009
	Policultivo				28,7	8,3	51,7	35,8	13,8	4,9	
Grecia	Grava media	Grava media (4-25 mm)	Phr	6-20	64	9,1	54,8	21,1	28,9	7,2	Akratos y Tsihrintzis, 2007
	Grava Fina	Grava fina (0,25-16 mm)			64	9,1	82,5	81,5	11,2	1,6	

TL: *Typha latifolia*; Phr: *Phragmites australis*; CE: *Colocasia esculenta*; S/V: Sin vegetación; CA: *Calamagrostis angustifolia*; Cyp: *Cyperus papyrus*; Phr vall: *Phragmites vallis*; ZA: *Zantedeschia aethiopica*; SR: *Strelitzia reginae*; AA: *Anthurium andreanum*; AgA: *Agapanthus africanus*. ^a amonio (N-NH₄⁺); ^b fosfato (P-PO₄); ^c Prof.: Profundidad; ^d Carga Hidráulica;

8.2 Fósforo: La eliminación del fósforo en HC se puede dar por procesos bióticos y abióticos. Los bióticos incluyen la asimilación por las plantas y microorganismos, y la mineralización de los restos de vegetación y del fósforo orgánico. Los procesos abióticos incluyen la fragmentación, sedimentación, lixiviación, adsorción/desorción, precipitación y dilución (Aguirre, 2004; Vymazal y Kröpfelová, 2008). La asimilación por bacterias y plantas son responsables de eliminación $P-PO_4^{3-}$, mientras que la precipitación y adsorción son responsables de la eliminación de todas las formas de fósforo (Kadlec y Wallace, 2009). Eliminación de fósforo en el HFSS está estrechamente relacionada con las propiedades físico-químicos e hidrológicas del material de soporte, porque P es absorbido o precipitado principalmente por el medio de soporte (Vohla *et al.*, 2009). Akrotos y Tsihrintzis (2007) encontraron una eficiencia de eliminación de P por grava fina (89%), seguido de grava media con *Typha* (67%) y rocas o piedras (redondeadas) (57%), grava media con *Phragmites* 28,2%; grava sin plantas 43,9%. Observando que la eficiencia de eliminación de PO_4^{3-} y TP se vio afectada principalmente por el tamaño y tipo del material de soporte, ver Tabla 6. A su vez, He *et al.* (2007) reportaron la eliminación TP (14 semanas) en un humedal grava de 6,8% a 54% (promedio 22,44%). Mann y Bavor (1993) encontraron una eficiencia de eliminación de P en un estudio de 2 años en los que la eliminación varió de -40% a 40%. Sin embargo, se ha determinado que la eficiencia de eliminación de fosforo disminuye en el tiempo de operación de los HC, principalmente por la saturación del medio de soporte y debido a que muchos de los materiales usados (ej. grava, piedras trituradas, arena, etc.) contienen bajas concentraciones de Ca, Al, Mg y Fe (cationes metálicos que permiten la precipitación del fosfato), y por lo tanto la eliminación de fosfato es, en general, baja (Vohla *et al.*, 2009). De modo semejante, el P puede ser eliminado, mediante la asimilación por las plantas. La mayor parte del fósforo procedente de las aguas servidas es absorbido/asimilado por las raíces, hojas y brotes de las plantas, pero esta cantidad es generalmente muy baja (2,3-9%) (Vohla *et al.* 2005; Kröpfelová, 2011; López *et al.*, 2015). Se han reportado para HFSS acumulación de P en el rango de 0,7-5,5 gP/m² (Vymazal y Kröpfelová, 2011). Malecki-Brown *et al.* (2010) determinó que la especie *Schoenoplectus californicus* presenta una acumulación de 2,5 gP/kg peso seco y de 0,55 gP/m². Además, se ha reportado que la asimilación de P es generalmente más alta durante el comienzo de la

temporada de crecimiento (comienzo de la primavera), antes de que se alcanza la tasa de crecimiento máxima (Vymazal, 2007). Sin embargo, estos incrementos de biomasa, no deben ser considerados como parte de la capacidad de eliminación de fósforo sostenible a largo plazo de los humedales (Kadlec y Wallace, 2009). Por último, la absorción/asimilación de P por parte de los microorganismos también se da y es muy rápida, pero la magnitud (cantidad almacenada) es muy baja (12-13%) (Vymazal y Kröpfelová, 2008). La captación por microbiota (bacterias, hongos, algas, macroinvertebrados, etc.) es rápida debido a que estos organismos crecen y se multiplican a tasas elevadas (Vymazal y Kröpfelová, 2008). En comparación con otros compartimentos, almacenamiento microbiano (0,5-1,0 gP/m²·año) es el menor (macrófitas: 1,0-2,5 gP/m² año, 25 a 30%; la adsorción del suelo: 1,5 a 3,8 gP/m²·año, 38-46%). A su vez, el almacenamiento a corto plazo (4,0 a 8,3 gP/m²·año) es mayor en comparación con el almacenamiento a largo plazo (5 años 0,92 ± 0,15 gP/m² año) (Vymazal y Kröpfelová, 2008).

9. EMISIONES DE METANO EN HUMEDALES CONSTRUIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS

El metano (CH₄) es un gas de efecto invernadero importante (GEI) con un potencial de calentamiento global de 25 en un período de 100 años. Se estima que más del 50% de las emisiones mundiales de metano están relacionados con las actividades conexas humanas, incluidos los vertederos, gas natural y derivados del petróleo, los sistemas de tratamiento de aguas residuales, la agricultura y ciertos procesos industriales (IPCC, 2007). Se han realizado estudios sobre la producción y emisión de metano a partir de muchos sistemas anaeróbicos naturales y antropogénicos, por ejemplo, humedales, arrozales, vertederos, animales y sistemas de tratamiento de aguas residuales, entre otros (Yan *et al.*, 2014).

En humedales construidos la cuantificación de las emisiones y concentraciones de metano son importantes en el proceso de depuración, ya que nos indican la eficiencia de los procesos de degradación de MO en sistemas de HFSSH (García, 2010). La MO en los HSSF es degradada principalmente por procesos microbiológicos anaeróbicos que representan el

94,7% de las reacciones bioquímicas (Vasudevan *et al.*, 2011). Los procesos anaeróbicos se deben principalmente a la carga orgánica y saturación continua del lecho, prevaleciendo condiciones anóxicas-anaeróbicas, con bajos potenciales oxido-reducción (-100 a -500 mV) y bajas concentraciones de oxígeno disuelto (< 2 mg/L) (Vasudevan *et al.*, 2011). Particularmente, los procesos de metanogénesis en HSSFH, se producen durante la mineralización de la materia orgánica y ocurre en varias etapas secuenciales (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) (Wang *et al.*, 2013), donde alrededor del 70% del metano se forma a partir del acetato y el restante 30% de dióxido de carbono y de hidrógeno (Inamori *et al.*, 2007). La conversión completa de la MO en metano requiere al menos tres grupos tróficos funcionales de bacterias (hidrolíticas-fermentativas, acetogénicas y metanogénicas), cuya actividad coordinada son necesarios para la degradación de la MO (Angelidaki, 2011; Shah *et al.*, 2015). Por otro lado, la formación de metano en sistemas anóxicos-anaerobios, dependerá de las características del sustrato (Vymazal., 2008), por ejemplo la conversión de MO a CH₄ puede estar determinada por el tamaño de partículas, encontrándose mayor formación de CH₄ para la fracción coloidal (86%), seguido por la fracción suspendida (78%), y finalmente la fracción disuelta (62%) (Elmitwalli *et al.*, 2001). En humedales construidos, estudios recientes han encontrado producciones de metano entre 0 a 6487 mgCH₄/m²·día, presentando variaciones que son el resultado neto de la producción (metanogénesis) y consumo (oxidación), donde la tasa de producción y emisión se verá afectada por una serie de factores, entre ellos, la condición de oxido-reducción, carga orgánica aplicada, especie de macrófita utilizada, temperatura, movilización del CH₄, características espaciales y estacionales, entre otros (Grünfeld y Brix., 1999; Wang *et al.*, 2013). Más aun, la profundidad del humedal influye directamente sobre las condiciones de oxido-reducción y por ende, en la microbiología que se desarrolla en el humedal. Para potenciales de -215 mV prevalecen las BSR y a -244 mV, existe aumento de las bacterias metanogénicas (Mitsch y Gosselink, 2000). De este modo, se ha encontrado en humedales profundos (50 cm), 5,7% corresponde a procesos de respiración aeróbica, 0% desnitrificación, 89,4% sulfatoreducción y 4,9% metanogénesis (Aguirre, *et al.*, 2004). En la Tabla 7 se documentan las emisiones en diferentes sistemas de HFSSH en diferentes condiciones

operativas, especies de plantas utilizadas y clima (Johansson *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2008; 2013).

En sistemas de HFSSH, las emisiones de metano suelen ser mayores en la zona del influente, detectándose, según Tanner *et al.* (1997), emisiones de metano de hasta un 24% mayores en la zona del influente que en la del efluente, e incluso 10 hasta 20 veces mayores según otros autores (Teiter y Mander, 2005). Lo anterior se debe a que en sistemas de flujo horizontal existen mayores concentraciones de materia orgánica en la zona cercana al influente debido a la retención de esta (García, 2010). Las variaciones de las emisiones de metano a corto plazo (horas) son despreciables (García *et al.*, 2007). Por otro lado, al largo plazo, en HFSSH se ha observado decaimiento de aproximadamente 80% con respecto a las emisiones máximas a lo largo de la época de crecimiento de la vegetación en la zona cercana al influente (Picek *et al.*, 2007).

Particularmente, la cantidad y tipo de vegetación utilizada en el HC, juegan un papel importante tanto en la producción, oxidación y transporte de CH₄ a la atmósfera (Grünfeld y Brix, 1999; Van Bodegom *et al.*, 2001). Se ha encontrado que el metano puede ser oxidado en la interfase de los sitios anóxicos y óxicos de las raíces de las plantas, donde los gradientes de concentración de metano y difusión de oxígeno a través de las raíces puede reducir las emisiones de metano (Inamori *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013). Grünfeld y Brix (1999), encontraron que la presencia de macrófitas (*Phragmites australis*) atenúa la tasa de producción de metano en un 27%, aumentando la proporción de CH₄ oxidado del 7% al 18%. Por otra parte, las emisiones también dependerán de la capacidad del sistema de transporte de gases y ciclos de desarrollo de las macrófitas. Es así como, Vandernat *et al.* (1998), encontraron que en el caso de macrófitas en estado de desarrollo la principal vía de emisión del CH₄ corresponde a la ebullición y difusión a través del agua. Sin embargo, cuando las macrófitas completan su desarrollo, la difusión a través de la aerénquima se convierte en el proceso dominante, responsable de más del 90% del CH₄ emitido.

Tabla 7. Emisiones de metano en tratamientos de aguas servidas urbanas mediante el uso de HFSS.

País	Clima	Factor variación	Área (ha)	Medio de soporte	Macrófita	Influyente (mg DQO/L)	Efluente (mg DQO/L)	Eficiencia eliminación (%)	Emisión de Metano (mg CH ₄ /m ² -d)
Estonia	T/ B	Verano	0,03125	Arena gruesa	<i>Phr</i> , <i>TL</i> y <i>SS</i>	125	13,4	89	454,1 ± 320,5
		Invierno							2,0 ± 0,4
		Verano	0,0365	Grava y Limo	<i>Phr</i>	63b	41	55	213,7 ± 50,8
		Invierno							14,7 ± 6,0
Noruega	B	Verano	0,00009	Arena de coral	<i>S/V</i>	22 ^c	13,4c	40	173,6 ± 57,4
		Invierno							- 2,0 ± 9,2
Polonia	T/ O	Verano	0,56	Arena y Grava	<i>Phr</i>	-	-	-	894,8 ± 293,8
		Invierno							58,7 ± 45,4
Chile	T/ M	Diferentes especies	0,00045	Grava	<i>Phr</i>	297	122	59	1455 ± 482
			0,00045	Grava	<i>Sch</i>		123	58	1305 ± 27
España	T /M	210 mgDQO/L	0,0055	Grava	<i>Phr</i>	210	66	71	28,1
		420 mgDQO/L				420	115	76	21,4
Republica Checa	T	0 m ^e	0,0748	Piedras gruesas y Grava	<i>Phr</i>	123	32	74	416 - 2980
		2-14m ^f							352
Japón	T / C	<i>S/V</i>	0,0002	Grava y Arena	<i>S/V</i>	50-100 ^b	-	73-95 ^c	267 - 654
		Diferentes especies			<i>Phr</i>		-	75-95	1062 - 1696
					<i>ZL</i>		-	77-98	1620 - 6486
					<i>TL</i>		-	55-98	432 - 2539
España	T/ M	Sedimentador ^d	0,00004	Grava	<i>Phr</i>	271	98	64	20-161
		RHFA ^d				327	148	55	14-572
Japón	T / C		0,0012	Arena	<i>Phr</i>	200 ^b	2,9	99	62-240

Referencias: Søvik *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Pícek *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; López *et al.*, 2015; Corbella y Puigagut, 2015. T: templado; M: mediterráneo; B: Boreal; O: oceánico; C: Cálido; *Phr*: *Phragmites australis*; *TL*: *Typha latifolia*; *SS*: *Scirpus silvaricus*; *S/V*: Sin vegetación; *Sch*: *Schoenoplectus californicus*; *ZL*: *Zizania latifolia*; ^a mg BOD₇/m²; ^b mg DBO₅/L; ^c Carbono Orgánico Total (COT); ^d Pretratamiento; RHFA: Reactor anaerobio de flujo ascendente; ^e a 0 m de la entrada del Humedal; ^f a entre 2 y 14 m de la entrada del humedal.

Así mismo, observaron variaciones en las emisiones de CH₄ entre el día y la noche, las cuales dependen de distintos fenómenos asociados a cada especie de macrófita, por ejemplo, para la especie *Scirpus lacustris*, el aumento en las emisiones de CH₄ dependen de procesos relacionados a la apertura de los estomas y para la especie *Phragmites australis*, las emisiones dependen principalmente de fenómenos de convección relacionados con la temperatura (Vandernat *et al.*, 1998; Le Mer y Roger, 2001). Otro factor que puede influir en la emisiones de metano en HC, corresponde al tipo de cultivo utilizado, es así como, en HC que utilizan varias especies de macrófitas (policultivos) se ha observado mayor producción de metano (2208 mgCH₄/m²-d) en comparación con monocultivos (1142 mgCH₄/m²-d) en temporada de verano (Wang *et al.*, 2013). Finalmente, la liberación de CH₄ en humedales de tipo horizontales subsuperficiales, estará mediado en primer lugar por la producción del gas al interior del humedal, en segundo lugar por la oxidación del CH₄, y finalmente por el transporte y emisión de este gas a la atmósfera (Wang *et al.*, 2013). Por lo tanto, el flujo de gases con efecto invernadero desde los humedales, estará regulado directamente por el diseño y operación de los HC.



CAPITULO II



1. HIPOTESIS

Los humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial, presentan un comportamiento diferencial en la eliminación de materia orgánica y nutrientes asociados a la estacionalidad, cargas orgánicas aplicadas, tiempo de operación y especie de macrófita utilizada. Lo que a su vez, condicionará la actividad microbiológica metanogénica y en consecuencia la producción de metano.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar, estacionalmente, la eliminación de materia orgánica y nutrientes de las aguas servidas tratada por *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* en un humedal construido de flujo horizontal subsuperficial y establecer su incidencia en la actividad microbiológica metanogénica de la biomasa adherida al soporte granular y por ende en la producción de metano.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar la incidencia de la estacionalidad en la eliminación de materia orgánica y nutrientes de las aguas servidas que son tratadas por un humedal construido de flujo horizontal subsuperficial.
- Evaluar el comportamiento diferencial de *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* bajo diferentes condiciones de operación y estacionalidad.
- Evaluar la actividad microbiológica metanogénica de la biomasa adherida al soporte granular del humedal construido de flujo horizontal subsuperficial.

CAPITULO III

PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN Y REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS



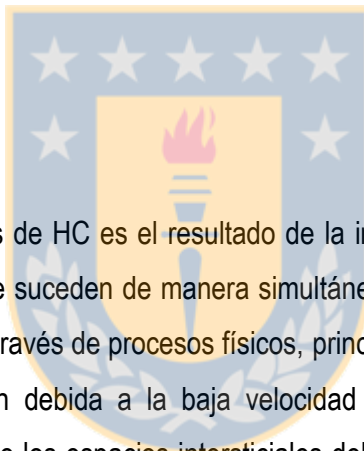
López, D., Reyes, C., Sepúlveda, M., Vidal, G. (2015). Procesos de transformación y remoción de material orgánica y sólidos suspendidos. En: Humedales Construidos en Latinoamérica, Eds. Zurita y Alarcón (In press).

PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN Y REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS

López, D., Reyes, C., Sepúlveda, M., Vidal, G. *

*Environmental Science Center EULA-Chile, University of Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile; ²Department of Statistics, Faculty of Mathematics and Physical Sciences, University of Concepción, Concepción, Chile

Corresponding author: glvidal@udec.cl



RESUMEN

La eliminación de MO a través de HC es el resultado de la interacción de numerosos procesos físicos, químicos y bióticos que suceden de manera simultánea. La materia en suspensión (SS), es eliminada principalmente a través de procesos físicos, principalmente por filtración a través del medio granular; sedimentación debida a la baja velocidad de circulación del agua y por el tamizado que sucede a nivel de los espacios intersticiales del medio granular. La eliminación de SS ocurre mayoritariamente en la zona de entrada al sistema, disminuyendo la concentración de forma exponencial a lo largo del lecho del humedal. En general, la eficiencia de eliminación de MO (expresada como DBO_5 y DQO) y SS alcanza valores superiores al 85%. En los sistemas de FSSV, como resultado de la alimentación intermitente, se generan zonas aeróbicas y anaeróbicas de manera simultánea, permitiendo así una mayor eficiencia de eliminación (>90%) en comparación con un sistema FSSH. Las emisiones de metano por parte de los HC, estarán mediados principalmente por la mineralización de la MO, oxidación del metano y finalmente por el transporte y emisión de este gas a la atmósfera. Por su parte, la eliminación de los compuestos recalcitrantes en HC, estará influenciada principalmente por parámetros de diseño del humedal y por las características de cada compuesto. Por lo tanto, el flujo de metano generado desde los

humedales y la eliminación de compuestos recalcitrantes, puede ser regulado y optimizado al momento de diseñar y operar de los HC.

1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

La caracterización fisicoquímica de los compuestos orgánicos presentes en las aguas servidas (AS) se ha convertido en un tema relevante para la investigación de tecnología de AS, debido a la gran influencia de las características de la Materia Orgánica (MO) en la eficiencia de los tratamientos y los costos asociados (Puigagut *et al.*, 2007). Los compuestos orgánicos de las AS corresponden normalmente a una combinación de carbono, hidrógeno y oxígeno; dependiendo del tipo de agua está también puede contener nitrógeno. Elementos inorgánicos tales como azufre, fósforo y hierro, pueden estar presentes a nivel de trazas (Shon *et al.*, 2006).

La MO en las AS ha sido tradicionalmente caracterizada por Demanda Química de Oxígeno (DQO), Carbono Orgánico Total (COT) y Demanda Biológica de Oxígeno a los 5 días (DBO₅). A su vez, la caracterización del AS estará condicionada por la población que la genera y el uso o disposición que tendrá esta después del tratamiento. La Tabla 1 muestra las características de AS generadas en tres lugares geográficos diferentes, siendo además, clasificadas por el tipo de asentamiento. Se presentan parámetros orgánicos, como la DBO₅, DQO e índice de biodegradabilidad (DBO₅/ DQO). Además, incluye parámetros fisicoquímicos, como Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV).

Tabla 1. Caracterización de las aguas residuales en diferentes áreas geográficas.

Parámetro (mg/L)	Tipo de asentamiento y localización geográfica					
	Urbano			Rural		
	USA	Europa	Latinoamérica	USA	Europa	Latinoamérica
DBO₅	110 - 350	100 - 350	284 - 804	200 - 290	280 - 300	195 - 470
DQO	250 - 800	210 - 740	505 - 1616	680 - 730	600 - 700	273-1569
DBO₅/ DQO	0,4	0,5	0,5 - 0,6	0,3 - 0,4	0,4 - 0,5	0,2 - 0,3
SST	120 - 400	120 - 450	122 - 733	nd	nd	57 - 500
SSV	95 - 315	80 - 320	118 - 340	nd	nd	60 - 450

NOTA: DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno a los 5 días; DQO: Demanda Química de Oxígeno; SST: Sólidos Suspendidos Totales; SSV: sólidos suspendidos volátiles; nd: no disponible. Lana *et al.*, 2013; Rojas *et al.*, 2013; Dulekgurgen *et al.*, 2006; Vera, 2012

A su vez, las AS están constituidas principalmente por proteínas (40-60%), carbohidratos (25-50%), aceites y grasas (8-12%); siendo las proteínas y los carbohidratos los grupos más abundantes en las AS. De acuerdo a Huang *et al.* (2010) las fibras, proteínas y carbohidratos representan el 20,64%, 12,38% y 10,65% del COT en el AS doméstica, respectivamente. Por su parte, la suma de los ácidos grasos volátiles (AGVs), proteínas solubles y carbohidratos solubles corresponden a un 30-40% de la DQO total de las AS (Huang *et al.*, 2010).

Por otra parte, los datos experimentales sobre el tamaño de partícula asociada con diferentes AS es significativa para la evaluación no sólo de procesos físicos y químicos, sino también sistemas de tratamiento biológico (Dulekgurgen *et al.*, 2006); es por ello que la MO, ha sido clasificada en virtud de su tamaño como: Materia Orgánica Particulada (MOP) y Materia Orgánica soluble (MOS), las cuales a su vez pueden ser sub-clasificadas como sedimentable, suspendida y

disuelta. Desde la perspectiva bioquímica, la MO puede clasificarse en biodegradable y recalitrante (Wentzel *et al.*, 1999). La unión de estas clasificaciones da origen a seis fracciones principales de MO que se detallan en la Figura 1.

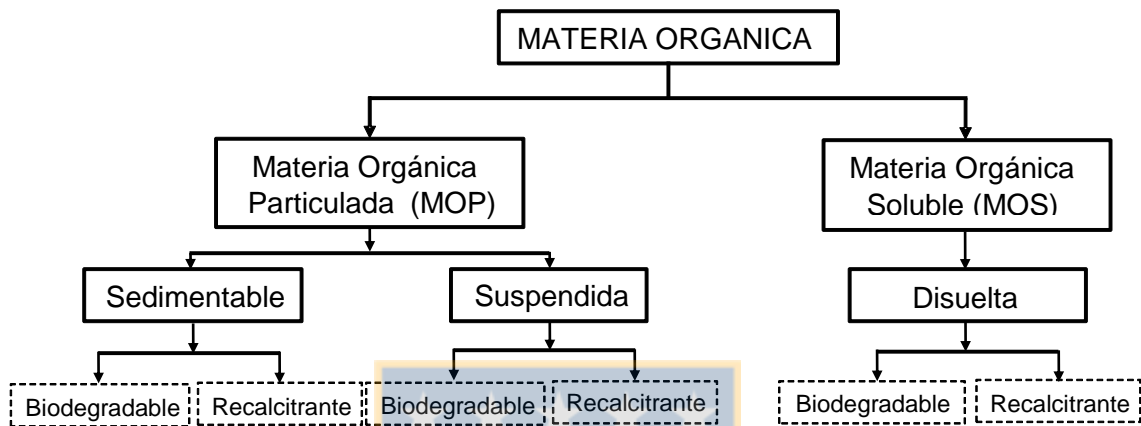


Figura 1. Clasificación de los contaminantes orgánicos en aguas residuales. Adaptado Henze *et al.*, 2002.

De acuerdo a Dulekgurgen *et al.* (2006) la mayor parte (alrededor del 65%) de la DQO en las AS domésticas se compone de MOP (>1600nm) y sólo el 14% es soluble (<2nm). Concretamente, la fracción biodegradable particulada está relacionada con macromoléculas que se deben desglosar en formas más simples, antes de ser aprovechadas por los microorganismos (Mathieu & Etienne, 2000; Rodríguez *et al.*, 2012). A su vez, la fracción biodegradable disuelta está relacionada con compuestos que pueden ser directamente adsorbidos para la síntesis del nuevo material celular, como AGVs, carbohidratos simples, aminoácidos, alcoholes, entre otros, por tal motivo es denominada fracción rápidamente biodegradable (Grady *et al.*, 1999). Por su parte, la fracción no biodegradable o inerte está compuesta por sustancias, como ácidos húmicos o fúlvicos disueltos (Dulekgurgen *et al.*, 2006).

Algunos investigadores han estudiado la distribución del tamaño de partículas de las sustancias contenidas en las AS municipales (Huang *et al.*, 2010), logrando así determinar que los componentes solubles se definen como partículas cuyo diámetro es inferior a 1,0 nm, mientras que partículas de diámetro superior se denominan material particulado, subdividido en

sedimentables (>100 μm), supra coloidal (1-100 μm), coloidal (1 nm - 1 μm) (Dulekgurgen *et al.*, 2006).

La Tabla 2 muestra que la distribución del tamaño de partículas del COT, proteínas y azúcares en el AS, correspondiente a la fracción supra coloidal. Mientras que el 62% del COT se atribuye a las proteínas y azúcares de las partículas menores de 0,1 μm , y sólo el 15% de la COT se atribuyó a las proteínas y azúcares de las partículas menores de 0,001 μm (Huang *et al.*, 2010).

Tabla 2. Distribución de tamaños de partículas encontradas en aguas residuales.

	Clasificación				Fracciones de DQO (%)
	Soluble	Coloidal	Supracoloidal	Sedimentable	
Rango tamaño (μm)	<1,0 nm	1,0 nm-1,0	1,0-100	>100	-
DQO (% del total)	25	15	26	34	-
COT (% del total)	31	14	24	31	-
Constituyentes orgánicos (% de los sólidos totales)					
Grasas	12	51	24	19	7 – 45
Proteínas	4	25	45	25	8 – 38
Carbohidratos	58	7	11	24	6 – 18

NOTA: DQO: Demanda Química de Oxígeno; COT: Carbono Orgánico Total. Adaptado: Shon *et al.*, 2006

2. ELIMINACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS MEDIANTE HUMEDALES CONSTRUIDOS

Durante la última década, los Humedales Construidos (HC) se han consolidado como una tecnología viable para el tratamiento de AS en pequeñas comunidades, debido a las múltiples ventajas que estos presentan; la principal aplicación de esta tecnología es en el tratamiento de AS de origen doméstico, las cuales se caracterizan por presentar un elevado contenido de MO (Comino *et al.*, 2013; Mburu *et al.*, 2013).

La eliminación de contaminantes a través de HC involucra una serie de procesos físicos, químicos y biológicos; los principales mecanismos implicados en la eliminación de contaminantes son degradación bacteriana, filtración, sedimentación, incorporación por las plantas, volatilización y precipitación química (Cooper *et al.*, 1996). Por otro lado, la eficiencia de eliminación de contaminantes a través de HC depende de factores como: carga de contaminante, régimen hidrológico, tipo de vegetación y temperatura (Zhang *et al.*, 2014).

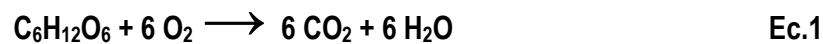
A continuación se describirán los principales mecanismos implicados en la eliminación de MO y Sólidos Suspendidos (SS) a través de HC.

La MO es la principal fuente de carbono para las comunidades microbianas heterótrofas que habitan en los HC, por lo tanto, los procesos biológicos son el principal mecanismo de eliminación de MO. Megonigal *et al.* (2004) establecieron que la MO está compuesta de una mezcla compleja de biopolímeros tales como proteínas, carbohidratos y lípidos, los cuales son fácilmente degradados por los microorganismos (compuestos lábiles). Lignina y carbohidratos, también considerados componentes de la MO; son resistentes a la descomposición, denominándose así compuestos recalcitrantes.

La MO presente en los HC se encuentra en forma particulada o disuelta. La MO particulada es retenida por filtración en los HC y por medio de procesos abióticos se convierte en partículas más pequeñas susceptibles de ser hidrolizadas por enzimas excretadas por bacterias heterótrofas aeróbicas y fermentativas facultativas.

La MO disuelta o biopolímeros, pueden ser degradados a través de diferentes etapas o mecanismos; en la figura 2 se presenta un esquema de los principales mecanismos de eliminación de MO a través de HC.

- (1) Degradación Aeróbica (DA): la degradación de la MO es llevada a cabo por las bacterias heterotróficas aeróbicas, las cuales oxidan la MO utilizando oxígeno como aceptor de electrones (Ec.1). A este proceso también se le denomina respiración.



Los microorganismos involucrados son dependientes del contenido de MO y oxígeno presente en las aguas, por lo tanto al disminuir la concentración de oxígeno en el medio, disminuye o se reduce la ocurrencia de la oxidación bioquímica aeróbica de la MO.

- (2) Degradación Anaeróbica (DAN): este proceso es llevado a cabo por bacterias heterótrofas de tipo anaeróbico estricto o facultativo, en ausencia de oxígeno disuelto, utilizando sulfato (SO_4^{2-}) y nitrato (NO_3^-) como fuentes alternativas de aceptores de electrones. En la Figura 2 se describen las diferentes etapas involucradas en el proceso de degradación anaeróbica de la MO.

En la primera etapa, proceso de fermentación, los microorganismos facultativos transforman la MO (moléculas complejas) en ácidos orgánicos y alcoholes (monómeros simples). Los productos finales de esta primera etapa son AGVs (ácido acético, ácido láctico), alcoholes (etanol), dióxido de carbono (CO_2) e hidrógeno (Ec. 2; 3; 4) (Megonigal *et al.*, 2004).

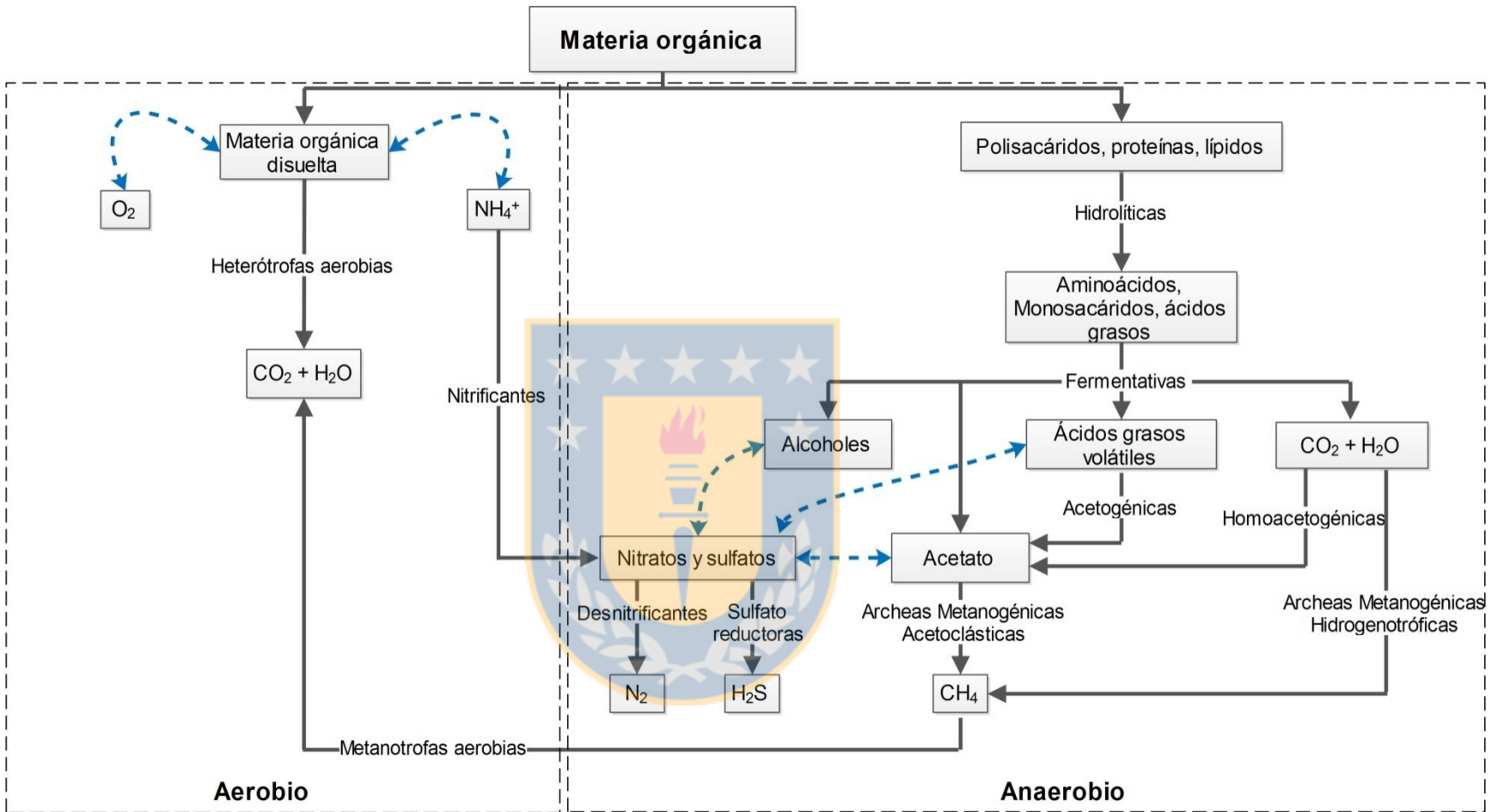
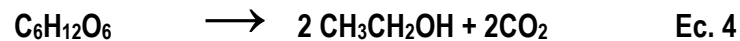
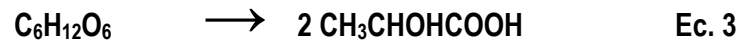
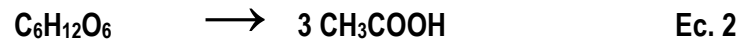


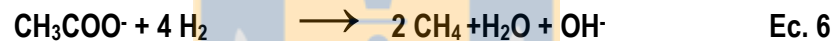
Figura 2. Degradación de Materia orgánica por procesos aeróbicos y anaeróbicos. Adaptado de Kadlec & Wallace (2009)

Fermentación Primaria, ocurre en zonas anoxicas y anaeróbicas:



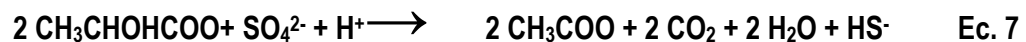
Finalmente la bacterias sulfato reductoras y bacterias formadoras de metano (CH_4), ambas estrictamente anaeróbicas, utilizan los productos finales de la fermentación secundaria para sus actividades metabólicas dando lugar a la formación de CO_2 y CH_4 (Ec.5, 6), proceso denominado metanogénesis.

Metanogénesis, ocurre en zonas anaeróbicas:

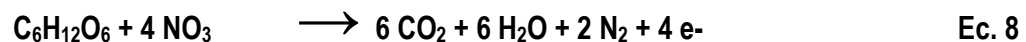


En los mecanismos de eliminación de MO por vía anaeróbica, el NO_3^{2-} y SO_4^{2-} sirven como aceptores de electrones, este proceso es realizado por bacterias nitrificantes y sulfato reductoras (Ec. 7,8,9).

Sulfato reducción, ocurre en zonas anaeróbicas



Denitrificación, ocurre en zonas anóxicas o anaeróbicas



La eliminación de Sólidos Suspendidos (SS) en los sistemas de HC ocurre principalmente a través de procesos físicos. Kadlec & Wallace (2009), establecieron que la eliminación de SS puede ocurrir por filtración a través de la grava, raíces, y rizomas de las plantas; sedimentación de la materia particulada y floculación por agregación de pequeñas partículas que acaban sedimentando. La baja velocidad con la que circulan las aguas en los humedales favorece la eficiencia del sistema en la eliminación de SS.

En los sistemas Humedales Construidos de Flujo Subsuperficial Vertical (HC-FSSV) la eliminación de SS ocurre en los primeros centímetros del medio granular, en cambio en los Humedales Construidos de Flujo Subsuperficial Horizontal (HC-FSSH) la eliminación tiene lugar en la entrada del humedal disminuyendo a lo largo del lecho. Los sólidos retenidos en el lecho filtrante pueden ser mineralizados por los microorganismos presentes en los HC (Tanner *et al.*, 1998).

En general, la eliminación de contaminantes en HC, es dependiente del diseño de cada sistema de tratamiento, a continuación se describen los principales procesos descritos para cada tipo de humedal:

En los HC de flujo de agua libre, la eliminación de contaminantes ocurre a través de interacciones entre la vegetación y la biomasa asociado a la fase acuosa (Vymazal, 2005). Dentro del lecho del humedal, se presentan diferentes microambientes que permiten la eliminación de los contaminantes; en zonas cercanas a la superficie de la lámina de agua se presentan condiciones aeróbicas como resultado de la transferencia de oxígeno desde la atmosfera; en cambio en zonas profundas del humedal, zonas cercanas al substrato (grava) se presentan mayoritariamente zonas anaeróbicas, sin embargo la presencia de vegetación permite el desarrollo de zonas aeróbicas, principalmente en zonas cercanas a las raíces y rizomas.

En los HC de flujo de agua libre son eficaces para la eliminación de MO a través de procesos de degradación microbiana. La eliminación de SS ocurre principalmente a través de procesos de filtración y sedimentación. Kadlec & Wallace (2009) señalan que la eficiencia de eliminación de MO (expresada como DBO5 y DQO) y SS es superior al 70%, para este tipo de HC.

En sistemas con flujo subsuperficial, el agua circula a través del medio poroso permeable (arena, grava, roca triturada), evitando el contacto con la atmosfera. En los HC-FSSH, el agua fluye horizontalmente a través del medio granular y entra en contacto con una serie de zonas aeróbicas, anóxicas y anaeróbicas (Vymazal, 2011). La zona aeróbica ocurre en las cercanías de las raíces de las plantas y rizomas.

En los sistemas HC-FSSV, el agua es alimentada a través de la superficie del humedal por medio de un sistema de distribución y percola a través del medio poroso de modo vertical.

En general, los HC-FSSV presentan una mayor eficiencia de eliminación de DBO que los HC-FSSH (superior al 80% para FSSV y superior al 70% para FSSH), esto se debe principalmente a la diferencia que existe en el modo de alimentación; los sistemas FSSV presentan un flujo de alimentación intermitente, lo que permite una alta transferencia de oxígeno al lecho filtrante en comparación con los sistemas FSSH, lo que permite la fácil degradación de la MO (Kadlec & Wallace, 2009). La eliminación de SS para ambos sistemas de humedales presenta una eficiencia de eliminación superior al 85%.

Durante la última década, diversos investigadores han estudiado la combinación de sistemas de tratamiento, utilizando los beneficios que pueda aportar cada sistema. Los sistemas de tratamiento híbridos consisten en la combinación de varios tipos de HC que operan en serie permitiendo la existencia de procesos aeróbicos y anaeróbicos. Principalmente los sistemas FSSV se utilizan para eliminar MO, SS y parcialmente el nitrógeno a través de la nitrificación; por otro lado los sistemas de FSSH se utilizan para la eliminación de SS y la eliminación de MO en combinación con la denitrificación. Diversos autores reportan que la eficiencia de eliminación de MO (DBO₅ y DQO) y SS, es superior al 80% al trabajar con sistemas de tratamiento híbridos.

En la Tabla 3, se presentan diferentes valores para la eliminación de MO (DBO₅ y DQO) y SS, reportados en literatura para diferentes tipos de humedales.

Tabla 3. Valores para la eliminación de MO (DBO₅ y DQO) y SST, a través de humedales construidos de diferente configuración.

País	Tipo de Agua	Concentración Efluente (mg/L)			Eficiencia de Eliminación (%)			Especie Vegetal	Ref.
		SST	DBO ₅	DQO	SST	DBO ₅	DQO		
HC-Flujo Libre									
Kenia	Municipal	11	nd	nd	76	nd	nd	<i>Cyperus papyrus</i>	1
Sri Lanka	Municipal	46	19	nd	72	68	nd	<i>Typha angustifolia</i>	2
El Salvador	Municipal	nd	20	73	81	nd	65	<i>Typha angustifolia</i>	3
China	Rio	30	7,7	32	70	15	17	<i>Phragmites australis</i>	4
HC-FSSH									
México	Municipal	10	25	59	82	78	76	<i>Strelitzia reginae</i> <i>Anthurium andreanum</i> <i>Canna indica</i>	5
China	Municipal	7,9–8	7,7-24	40-91	72-87	70-86	62-77	<i>Thalide albata</i> <i>Cyperus papyrus</i>	6, 7
Kenia	Municipal	26	29	91	75	61	43	<i>Cyperus papyrus</i>	8
HC-FSSV									
México	Municipal	22	21	50	62	82	80	<i>Strelitzia reginae</i> <i>Anthurium andreanum</i>	5
Tailandia	Agrícola*	4,5	16	92	98	96	91	<i>Scirpus grossus linn</i>	9
China	Rio	11	7	38	93	91	74	<i>Phragmites australis</i> <i>Zizania aquatica</i>	10
Sistemas Híbridos									

México	Municipal	20-57	33	100-223	79-86	52	66-98	<i>Phragmites communis</i>	11,13
Nepal	Hospital	2,83	3,29	20,2	97	97	94	<i>Phragmites karka</i>	12
Tailandia	Agrícola*	3,1	10	57	99	98	95	<i>Scirpus grossus linn</i>	9

Donde: (*) Efluente procedente reactor anaerobio de flujo ascendente. SST: Sólidos Suspendidos Totales; DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno al día 5; DQO: Demanda Química de Oxígeno; nd: no disponible. (1)Bojcevska & Tonderski (2007); (2) Jinadasa *et al.* (2006); (3) Katsenovich *et al.* (2009); (4) Li *et al.* (2009); (5) Zurita *et al.* (2011); (6) Shi *et al.* (2004); (7) Song *et al.* (2009); (8) Mburu *et al.* (2013); (9) Kantawanichkul *et al.* (2003); (10) Chen *et al.* (2008); (11) Belmont *et al.* (2004); (12) Shrestha *et al.* (2001); (13) Rivas *et al.* (2011).

3. CONSIDERACIONES SOBRE LA SUSTENTABILIDAD DE LOS HUMEDALES CONSTRUIDOS

3.1. Emisiones de metano

Los HC son sistemas de tratamiento ampliamente utilizados para depurar AS, alcanzando eficiencias de eliminación superiores al 90% tanto para MO como para nutrientes; sin embargo, durante el proceso de DAN de la MO hay generación de gases con efecto invernadero, tales como el CH₄ (Grünfeld & Brix 1999; Mander *et al.*, 2014).

El CH₄ es generado en los HC como producto final de la mineralización de la MO (Figura 2) en condiciones anaeróbicas (-250 a-350 mV). La emisión desde los HC a la atmósfera, es el resultado neto de la producción (metanogénesis) y consumo (oxidación) del CH₄ (Grünfeld & Brix., 1999). Existen diversos factores que determinan la producción y emisión de CH₄ en HC, entre las más relevantes se encuentran: profundidad del HC (limita las condiciones óxido-reducción del sistema); estacionalidad; especie vegetal utilizada y carga orgánica aplicada (Mander *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013).

La Tabla 4 resume los flujos de CH₄ medidos en HC en diversas investigaciones y en distintas condiciones experimentales. Entre los factores que influyen en la generación y emisión de metano, se ha determinado que el nivel de la lámina de agua del HC afecta directamente la metanogénesis y la emisión de CH₄. Grünfeld & Brix. (1999) determinaron una disminución entre 40-60% de las emisiones de CH₄ entre un HC-FSSH con nivel freático bajo (22 cm bajo la superficie), con respecto a los sistemas inundados. Otro factor a considerar es la temperatura (estacionalidad); en este contexto, Søvik *et al.* (2006) determinaron que durante verano las emisiones fueron significativamente mayores a las encontradas en invierno, observándose una reducción en la emisión de CH₄ entre 68-92% para HC de flujo libre y entre 93-99 % para HC-FSSH. Por otro lado, la cantidad y tipo de vegetación utilizada en el HC, juegan un papel importante tanto en la producción, oxidación y transporte de CH₄ a la atmósfera (Inamori *et al.*, 2007; Wang *et al.* 2013). Grünfeld & Brix (1999), encontraron que la presencia de *Phragmites australis* atenúa la tasa de producción de CH₄ en un 27%, aumentando la proporción de CH₄ oxidado del 7% al 18%. Más aun, el tipo de cultivo utilizado en el HC influye directamente en las emisiones. Es así como, en humedales con policultivos se ha observado una mayor emisión de CH₄ (2208 mgCH₄/m²·día) en comparación con monocultivos (1142 mgCH₄/ m²·día) en temporada de verano (Wang *et al.*, 2013).

Finalmente, la liberación de CH₄ en HC, estará mediado en primer lugar por la producción de gas al interior del humedal, en segundo lugar por la oxidación del CH₄, y finalmente por el transporte y emisión de este gas a la atmósfera (Wang *et al.*, 2013). Por lo tanto, el flujo de metano desde los humedales, puede ser regulado al momento de diseñar y operar de los HC.

Tabla 4. Emisión de metano mediante humedales construidos.

País	Especie Vegetal	Factor Variación	Emisión de Metano (mg CH ₄ /m ² ·d)	Referencias
HC-Flujo Libre				
Suecia	<i>Phalaris arundinacea</i>		50-1054	1
	<i>Glyceria máxima</i>	Especie vegetal	0-677	
	<i>Lemna minor</i>		407-970	
Finlandia	<i>Phragmites australis</i>	Verano	468±240	2
	<i>Typha latifolia</i>	Invierno	69±24	
	<i>Carex sphagnum</i>	Verano	214±11	
		Invierno	68±65	
Noruega	<i>Iris pseudacorus</i>	Verano	96±37	
	<i>Schoenoplectus lacustris</i>	Invierno	441±254	
HC-FSSV				
Dinamarca	<i>Phragmites australis</i>	Bajo	353±16	3**
		Intermedio	738±209	
		Alto	882±193	
	<i>Sin vegetación</i>	Alto	1363±353	
Japón	<i>Zizania latifolia</i>	38mg DBO ₅ /L	0-384	4*
		60mg DBO ₅ /L	0-648	
		163mg DBO ₅ /L	72-1608	
	<i>Phragmites australis</i>	38mg DBO ₅ /L	0-72	
		60mg DBO ₅ /L	0-240	
		163mg DBO ₅ /L	60-1080	

China	<i>Zizania latifolia</i>	Monocultivo	0 - 1142	5
	PA, ZL y TL	Policultivo	0 - 2208	
HC-FSSH				
Estonia	<i>Phragmites australis</i>	Verano	160-702	6
	<i>Typha latifolia</i>	Invierno	0,78-9,62	
	<i>Scirpus sylvaticus</i>			
Noruega	Sin vegetación	Verano	174±57	7
		Invierno	-2±9,2	
Polonia	<i>Phragmites australis</i>	Verano	895±294	
		Invierno	59±45	
España	<i>Phragmites australis</i>	210mg DQO/L	28	8
		450mg DQO/L	21	
Republica Checa	<i>Phragmites australis</i>	0 m de entrada	416-2980	9
		2-14m de entrada	352	

Donde: PA: *Phragmites australis*; ZL: *Zizania latifolia*; TL: *Typha latifolia*. **Referencias:** (1)Johansson *et al.*, (2004); (2) Sovick *et al.*, (2007); (3) Grünfeld & Brix, 1999; (4) Inamori *et al.*, 2007; (5) Wang *et al.*, 2013;(6) Teiter & Mander, 2005; (7) Sovick *et al.*, (2006); (8)Garcia *et al.*, 2007; (9) Picek *et al.*, 2007.

3.2. Compuestos recalcitrantes

Dentro de los diferentes tipos de MO es posible encontrar en las AS compuestos orgánicos recalcitrantes. Este término hace referencia a todos aquellos compuestos resistentes a la degradación, debido principalmente a la complejidad estructural de la molécula, propiedades fisicoquímicas, metabolismo y características ecotoxicológicas.

Diversos autores han evaluado los procesos de eliminación de estos compuestos a través de HC, entre los más importantes tenemos volatilización, oxidación fotoquímica, sedimentación, sorción, degradación biológica e incorporación por las plantas.

La eficiencia de eliminación de compuestos recalcitrantes a través de HC depende de ciertos parámetros tales como diseño del humedal (tipo de flujo, presencia y/o ausencia de vegetación, modo de alimentación entre otros) y de las características propias de cada compuesto (estructura, propiedades fisicoquímicas y modo de acción). La Tabla 5 muestra la eficiencia de eliminación de algunos fármacos, considerados compuestos recalcitrantes, a través de HC con diferente configuración. A partir de ella se concluye que las características del compuesto (propiedades fisicoquímicas y mecanismo de acción) limitan la eliminación del contaminante. Al evaluar la eliminación de antibióticos a través de HC, se obtiene que estos son parcialmente eliminados (máxima eficiencia 42%) (Hijosa-Valsero *et al.*, 2011), esto es debido principalmente a la naturaleza bacteriostática del compuesto, que va afectar directamente a los microorganismos involucrados. Diversos estudios (Matamoros *et al.*, 2008; Reyes-Contreras *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011) han evaluado la capacidad de los HC para eliminar carbamacepina y ácido clofibrico, los valores reportados para la eficiencia de eliminación oscila entre 16-40%, los bajos valores reportados se deben principalmente a la complejidad estructural de la molécula, en ambos casos se tratan de moléculas cíclicas, lo cual dificulta la actividad de los microorganismos.

Tabla 5. Eliminación de COEs, a través de humedales construidos con diferente configuración.

Esala	Vegetación	Eficiencia Eliminación (%)	Referencia
	<i>Salvinia molesta</i>	Naproxeno: 40-53	Matamoros <i>et al.</i> (2012)
	<i>Lemma minor</i>	Ibuprofeno: 44-77	
	<i>Cartatophyllum dimersum</i>	Ácido Clofibrico: 16-23	
	<i>Elodea canadensis</i>		
Microcosmos		Ácido Clofibrico: 48-75	Dordio <i>et al.</i> (2010)
	<i>Typha angustifolia</i>	Carbamacepina: 27-97	
		Diclofenaco: 55	Zhang <i>et al.</i> (2011)
	<i>Phragmites australis</i>	Ácido Clofibrico: NE Carbamacepina: 5	Matamoros <i>et al.</i> (2008)
Mesocosmo	<i>Typha angustifolia</i>	Amoxicilina: 27-42 Ampicilina: NE-32 Claritromicina: 11-32	Hijosa-Valsero <i>et al.</i> (2011)
	<i>Phragmites australis</i>	Eritromicina: NE Lincomicina: NE	
		Carbamacepina: 65	
	<i>Typha angustifolia</i>	Dilantin: 6-65 Diazepam: NE-10	
Piloto		Ibuprofeno: 20-50	Reyes-Contreras <i>et al.</i> (2011)
		Naproxeno: 40-65	
	<i>Juncus effusus</i>	Ketoprofeno: 30-70	
		Carbamacepina: 8-28	
		Triclosan: 32-70	

	Hidroxibutilanisol: 45-50	
	Hidroxibutiltolueno: 12-30	
	Tonalida: 35-60	
	Galaxolida: 28-50	
	Diclofenaco: 53-73	Matamoros <i>et al.</i>
<i>Phragmites australis</i>	Tonalida: 75-82	(2007)
	Carbamacepina: 20-26	
	Ibuprofeno: 29-42	
<i>Lemna minor</i>	Diclofenaco: 68-78	
<i>Typha latifolia</i>	Carbamacepina: NE	Hijosa-Valsero <i>et al.</i> (2010)
<i>Salix atrocinera</i>	Methyl dihydrojasmonate: 77-90	
Industrial	Carbamacepina: NE	
	Gemfibrozil: NE	
<i>Hydrocotyle spp</i>	Sotalol: 33	Conkle <i>etal.</i>
<i>Phragmites australis</i>	Sulfapiridina: 76	(2008)
	Sulfametoxazol 92	

Donde: NE: No Eliminado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Proyecto INNOVA BIO BIO Proyecto No. 13.3327 - IN.IIP, CONICYT/FONDAP/15130015 y Red Doctoral REDOC.CTA MINEDUC bajo el número No. UCO1202 de la Universidad de Concepción.

REFERENCIAS

- Belmont, M.A., Cantellano, E., Thompson, S., Williamson, M., Sánchez, A., Metcalfe, C.D., 2004. Treatment of domestic wastewater in a pilot-scale natural treatment system in central Mexico. *Ecol. Eng.* 23, 299–311.
- Bojcevska, H., Tonderski, K., 2007. Impact of loads, season, and plant species on the performance of a tropical constructed wetland polishing effluent from sugar factory stabilization ponds. *Ecol. Eng.* 29, 66–76.
- Chen, Z.M., Chen, B., Zhou, J.B., Li, Z., Zhou, Y., Xi, X.R., Lin, C., Chen, G.Q., 2008. A vertical subsurface-flow constructed wetland in Beijing. *Commun. Nonlinear Sci. Numer. Simul.* 13, 1986–1997.
- Comino, E., Riggio, V.A., Rosso, M., 2013. Constructed wetland treatment of agricultural effluent from an anaerobic digester. *Ecol. Eng.* 54, 165–172.
- Conkle, J.L., White, J.R., Metcalfe, C.D., 2008. Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in Southeast Louisiana. *Chemosphere* 73, 1741–8.
- Cooper, P.F., Job, G.D., Green, M.B., Shutes, R.B.E., 1996. Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment., First. ed. WRc Publications, Medmenham, Marlow, UK.
- Dordio, A., Carvalho, A.J.P., Teixeira, D.M., Dias, C.B., Pinto, A.P., 2010. Removal of pharmaceuticals in microcosm constructed wetlands using *Typha* spp. and LECA. *Bioresour. Technol.* 101, 886–92.
- Dulekgurgen, E., doğruel, S., karahan, Ö., Orhon, D., 2006. Size distribution of wastewater COD fractions as an index for biodegradability. *Water Res.* 40, 273-282.
- García, J., Capel, V., Castro, A., Ruiz, I., Soto, M., 2007. Anaerobic biodegradation tests and gas emissions from subsurface flow constructed wetlands. *Bioresour. Technol.* 98, 3044-3052.
- Grady, C., Daigger, G., Lim, H., 1999. Biological wastewater treatment. ed. marcel dekker (New York). p. 48-161.

- Grünfeld, S., & Brix, H. (1999). Methanogenesis and methane emissions: effects of water table, substrate type and presence of *Phragmites australis*. *Aquat. Bot.* 64, 63-75.
- Henze, M., Harremoës, P., Jansen J., Arvin, E., 2002. Wastewater treatment; Biological and chemical processes. In *Environ. Eng.* Springer-Verlag, Heidelberg, p.430.
- Hijosa-Valsero, M., Fink, G., Schlüsener, M.P., Sidrach-Cardona, R., Martín-Villacorta, J., Ternes, T., Bécares, E., 2011. Removal of antibiotics from urban wastewater by constructed wetland optimization. *Chemosphere* 83, 713–9.
- Hijosa-Valsero, M., Matamoros, V., Martín-Villacorta, J., Bécares, E., Bayona, J.M., 2010. Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities. *Water Res.* 44, 1429–39.
- Huang, M., Li, Y., Gu, G., 2010. Chemical composition of organic matters in domestic wastewater. *Desalination*, 262, 36-42.
- Inamori, R., Gui, P., Dass, P., Mtsumura, M., Xu, K., Kondo, T., Ebie, Y., Inamori, Y. 2007. Investigating CH₄ and N₂O emissions from eco-engineering wastewater treatment processes using constructed wetland microcosms. *Process Biochem.* 42. 363-373.
- Jinadasa, K.B.S.N., Tanaka, N., Mowjood, M.I.M., Werellagama, D.R.I.B., 2006. Free water surface constructed wetlands for domestic wastewater treatment: A tropical case study. *Chem. Ecol.* 22, 181–191.
- Johansson, A., Gustavsson, A., Öquist, M., Svensson, B., 2004. Methane emissions from a constructed wetland treating wastewater-seasonal and spatial distribution and dependence on edaphic factors. *Water Res.* 38, 3960-3970
- Kadlec, R.H., Wallace, S., 2009. *Treatment wetlands*, Second Edi. ed. Boca Raton, United States.
- Kantawanichkul, S., Somprasert, S., Aekasin, U., Shutes, R.B.E., 2003. Treatment of agricultural wastewater in two experimental combined constructed wetland systems in a tropical climate. *Water Sci. Technol.* 48, 199–205.
- Katsenovich, Y.P., Hummel-Batista, A., Ravinet, A.J., Miller, J.F., 2009. Performance evaluation of constructed wetlands in a tropical region. *Ecol. Eng.* 35, 1529–1537.

Kröpfelová, L., Vymazal, J., Svehla, J., Stíchová, J., 2009. Removal of trace elements in three horizontal sub-surface flow constructed wetlands in the Czech Republic. *Environ. Pollut.* 157, 1186–94.

Lana, L., Moraes, D., Von sperling, M., Morató, M., Vasconcellos, G., Paraense, M., Moreira, T., 2013. Performance of a single stage vertical flow constructed wetland system treating raw domestic sewage in Brazil. *Water Sci. Technol.* 68, 1599-1606.

Li, X., Manman, C., Anderson, B.C., 2009. Design and performance of a water quality treatment wetland in a public park in Shanghai, China. *Ecol. Eng.* 35, 18–24.

Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S. F., Mitsch, W. J., 2014. Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: a review. *Ecol. Eng.* 66, 19-35.

Matamoros, V., Arias, C., Brix, H., Bayona, J.M., 2007. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from urban wastewater in a pilot vertical flow constructed wetland and a sand filter. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8171–8177.

Matamoros, V., Caselles-Osorio, A., García, J., Bayona, J.M., 2008. Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment. *Sci. Total Environ.* 394, 171–6.

Matamoros, V., Nguyen, L., Arias, C., Salvadó, V., Brix, H., 2012. Evaluation of aquatic plants for removing polar microcontaminants: a microcosm experiment. *Chemosphere* 88, 1257–64.

Mathieu, S., Etienne, P., 2000. Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various SO₂/XO ratios. *Water Res.* 34, 1233-1246.

Mburu, N., Tebitendwa, S.M., D.P.L, R., Van Bruggen, J.J.A., Lens, P.N.L., 2013. Performance Evaluation of Horizontal Subsurface Flow–Constructed Wetlands for the Treatment of Domestic Wastewater in the Tropics. *J. Environ. Eng.* 139, 358–367.

Megonigal, J.P., Hines, M.E., Visscher, P.T., 2004. Anaerobic Metabolism: Linkages to Trace Gases and Aerobic Processes, in: Schlesinger, W.H. (Ed.), *Biogeochemistry*. Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 317–424.

Park, N., Vanderford, B.J., Snyder, S. a., Sarp, S., Kim, S.D., Cho, J., 2009. Effective controls of micropollutants included in wastewater effluent using constructed wetlands under anoxic condition. *Ecol. Eng.* 35, 418–423.

Picek, T., Cízková, H., Dusek, J., 2007. Greenhouse gas emissions from a constructed wetland-plants as important sources of carbon. *Ecol. Eng.* 31, 98-106.

Puigagut, J., Caselles-osorio, A., Vaello, N., García, J. 2008. Fractionation, biodegradability and particle-size distribution of organic matter in horizontal subsurface-flow constructed wetlands. in wastewater treatment, plant dynamics and management in constructed and natural wetlands.. *springer Netherlands* 289-297.

Reyes-Contreras, C., Matamoros, V., Ruiz, I., Soto, M., Bayona, J.M., 2011. Evaluation of PPCPs removal in a combined anaerobic digester-constructed wetland pilot plant treating urban wastewater. *Chemosphere* 84, 1200–1207.

Rivas, A., Barceló-Quintal, I., Moeller, G.E., 2011. Pollutant removal in a multi-stage municipal wastewater treatment system comprised of constructed wetlands and a maturation pond, in a temperate climate. *Water Sci. Technol.* 64, 980–987.

Rodríguez, J., Mañunga, T., Cárdenas, C., 2012. Effect of organic matter fractions on the performance of a pulp and paper mill wastewater treatment system. *Rev. u.d.c.a act. & Div. Cient.* 15, 447 – 455

Rojas K., Vera I., 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 start up operation of the horizontal subsurface flow constructed wetland. *Rev Fac. Ing-Univ. Ant.*, 69, 289-299.

Shi, L., Wang, B., Cao, X., Wang, J., Lei, Z., Wang, Z., Liu, Z., Li, B., 2004. Performance of a subsurface-flow constructed wetland in Southern China. *J. Environ. Sci.* 16, 476–481.

Shon, H., Vigneswaran, S., Snyder, S., 2006. Effluent organic matter (efom) in wastewater: constituents, effects, and treatment. *critical reviews in environmental science and technology.* 36, 327-374.

- Shrestha, R.R., Haberl, R., Laber, Manandhar, J.R., Mader, J., 2001. Application of constructed wetlands for wastewater treatment in Nepal. *Water Sci. Technol.* 44, 381–386.
- Song, H.-L., Li, X.-N., Lu, X.-W., Inamori, Y., 2009. Investigation of microcystin removal from eutrophic surface water by aquatic vegetable bed. *Ecol. Eng.* 35, 1589–1598.
- Søvik, A., Kløve, B., 2007. Emission of N₂O and CH₄ from a constructed wetland in southeastern Norway. *Sci. Total Environ.* 380, 28-37
- Søvik, A., Augustin, J., Heikkinen, K., Huttunen, T., Necki, M., Karjalainen, S., Kløve, B., Liikanen, A., Mander, Ü., Puustinen, M., Teiter, S., Wachniew, P., 2006. Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *J. Environ. Qual.* 35, 2360–2373
- Tanner, C.C., Sukias, J.P., Upsdell, M.P., 1998. Organic matter accumulation during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Water Res.* 32, 3046–3054. 5
- Teiter, S., Mander, Ü., 2005. Emissions of N₂O, N₂, CH₄ and CO₂ from constructed wetlands for wastewater treatment and from riparian buffer zones. *Ecol. Eng.* 25, 528-541.
- Vera, I. 2012. Análisis de funcionamiento y patrones asociados de sistemas de tratamiento convencionales y naturales de aguas servidas para la eliminación de materia orgánica y nutrientes. Tesis doctoral. Universidad de Concepción. 236 p.
- Vymazal, J., 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25, 478–490.
- Vymazal, J., 2011. Long-term performance of constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: Ten case studies from the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 37, 54–63.
- Wang, Y., Yang, H., Ye, C., Xie, B., Huang, C., Zhang, J., Xu, M., 2013. Effects of plant species on soil microbial processes and CH₄ emission from constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 174, 273-278.
- Wentzel, M., Mbewe, A., lakay, M., Ekama, G., 1999. Batch test for characterisation of the carbonaceous materials in municipal wastewaters. *Water s. a.* 25, 327-336.

Zhang, D.Q., Jinadasa, K.B.S.N., Gersberg, R.M., Liu, Y., Ng, W.J., Tan, S.K., 2014. Application of constructed wetlands for wastewater treatment in developing countries--a review of recent developments (2000-2013). *J. Environ. Manage.* 141, 116–31.

Zhang, D.Q., Tan, S.K., Gersberg, R.M., Sadreddini, S., Zhu, J., Tuan, N.A., 2011. Removal of pharmaceutical compounds in tropical constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 460–464.

Zurita, F., Belmont, M.A., De Anda, J., White, J.R., 2011. Seeking a way to promote the use of constructed wetlands for domestic wastewater treatment in developing countries. *Water Sci. Technol.* 63, 654.



CAPITULO IV

RELATIONSHIP BETWEEN THE REMOVAL OF ORGANIC MATTER AND THE PRODUCTION OF METHANE IN SUBSURFACE FLOW CONSTRUCTED WETLANDS DESIGNED FOR WASTEWATER TREATMENT



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

RELATIONSHIP BETWEEN THE REMOVAL OF ORGANIC MATTER AND THE PRODUCTION OF METHANE IN SUBSURFACE FLOW CONSTRUCTED WETLANDS DESIGNED FOR WASTEWATER TREATMENT

López, D., Fuenzalida, D., Vera, I., Rojas, K., Vidal, G *

*Engineering and Environmental Biotechnology Group, Environmental Science Faculty & Center EULA-Chile. Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile.

Corresponding author: glvidal@udec.cl

Received: 29 April 2015/Accepted: 29 June 2015

Published online: 13 July 2015

© 2015 by Elsevier



Abstract

The aim of this study was to evaluate the relationship between the organic matter removal and methane production in wetlands with a horizontal subsurface flow (HSSF) treating wastewater using *Phragmites australis* (Phr) and *Schoenoplectus californicus* (Sch). Four HSSF systems with a superficial area of 4.5 m² a water table depth of 0.4 m that were planted with Phr and Sch were evaluated. For the evaluation, each HSSF was divided into three transversal zones (A, B, and C). The operation was controlled for the hydraulic loading (19.8-27.8 mm d⁻¹), hydraulic retention time (3-7 d) and organic loading rates (3.3-4.2 g biological oxygen demand-BOD₅m⁻² d⁻¹). The removal efficiencies for the organic matter (BOD₅ and chemical oxygen demand (COD)) and solids were evaluated in each HSSF during the 420 days of operation. To evaluate the methane produced in

the HSSFs, maximum methanogenic activity assays from the biomass of three zones (A, B and C) along the HSSF were performed. The results show that the HSSF planted with Phr and Sch presented removal efficiencies of 70-80% BOD₅, more than 60% for the COD and 70-95% of solids during the monitoring period. However, the methane biomass activity shows similar average methane production for HSSF-Phr and HSSF-Sch, although a mild difference was noted between Zone A (700 mL CH₄ g volatile suspended solid-VSS⁻¹), Zone B (1035 mL CH₄ g VSS⁻¹) and Zone C (368 mL CH₄ g VSS⁻¹). Moreover, mass balance determined that HSSF-Phr and HSSF-Sch are able to degrade 13.74 g COD d⁻¹. Finally, the average methane production for HSSF-Phr and HSSF-Sch was 1455 ± 482 mg CH₄ m⁻² d⁻¹ and 1305 ± 27 mg CH₄ m⁻² d⁻¹, respectively.

Keywords: Methanogenic Activity; Wastewater; Constructed wetland; *Phragmites australis*; *Schoenoplectus californicus*.

1. INTRODUCTION

Constructed wetlands (CW) are proven, effective wastewater treatment systems (Vymazal and Kröpfelová, 2008; García *et al.*, 2010, Vera *et al.*, 2011). In particular, the use of HSSF in wastewater treatment has shown solids elimination efficiencies above 90% (Caselles-Osorio *et al.*, 2007) and organic matter (OM) measured as a COD and BOD₅ reductions in the range of 67-84% and 78-94%, respectively (Vymazal and Kröpfelová, 2011). In this way, the concentrations of COD and BOD₅ in the effluent treated by HSSF have values lower than 60 mg L⁻¹ and 20 mg L⁻¹, respectively (Vera *et al.*, 2011, Rojas *et al.*, 2013, Vymazal, and Kröpfelová, 2008). The main OM removal processes in HSSF correspond to anaerobic microbiological processes (greater than 94.7%) because of the continuous saturation of the bed and applied organic load (3-15 g BOD₅ m⁻² d⁻¹) (Marecos do Monte and Albuquerque, 2010; Vasudevan *et al.*, 2011). Consequently, anoxic-anaerobic conditions prevail in HSSF with a redox potential in the range of -100 mV to -500 mV and with dissolved oxygen concentrations below 2 mg L⁻¹ (Vasudevan *et al.*, 2011; Vymazal, and Kröpfelová, 2008). Additionally, these processes can be influenced by the design parameters of the HSSF, including the water depth (depth of the water table), length/width ratio and type of

granular medium (gravel) (Aguirre, *et al.*, 2005; García *et al.*, 2005). In the HSSF designed with a hydraulic piston flow, the OM contained in the wastewater decreases by 50%, principally in the section of the entrance of HSSF (Tanner *et al.*, 1998; García *et al.*, 2007; Caselles-Osorio *et al.*, 2007). This occurs because the particulate fraction precipitates and the soluble fraction is removed, although they are influenced by the wastewater path in the HSSF (Kadlec and Wallace, 2009; Ávila *et al.*, 2013).

However, the depth of the water table (greater than 30 cm) in the HSSF generates conditions that allow the development of anaerobic microbiological activity (greater than 90%) (García *et al.*, 2004; Aguirre *et al.*, 2005). Specifically, HSSFs have been shown to produce methane emissions between 0 to 16760 mg CH₄ m⁻² d⁻¹ (Johansson *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2008). HSSF is also known to emit methane into the atmosphere, corresponding to the net result of methane production (methanogenesis) and consumption (oxidation). This emission rate is affected by a number of factors, such as the redox status, spatial characteristics, seasonality, organic load applied, pretreatment system, depth of the HSSF, and macrophyte species used (Grünfeld and Brix., 1999; Wang *et al.*, 2013; Nadarajah *et al.*, 2007; Enright *et al.*, 2009; Samsó and García, 2013).

Particularly, the amount and type of vegetation plays an important role in methane production, oxidation and transport to the atmosphere (Grünfeld and Brix., 1999; Van Bodegom *et al.*, 2001; Inamori *et al.*, 2007). Grünfeld and Brix (1999) found that the presence of *Phragmites australis* attenuates the rate of methane emission by 64% when comparing wetlands with plants (882.2 mg CH₄ m⁻² d⁻¹) to wetlands without plants (1363.4 mg CH₄ m⁻² d⁻¹). Moreover, a lower water surface height (22 cm of deep) in a wetland with plants increased the methane oxidation by 28% at the interface of the anoxic and oxic sites of the roots of plants.

Even with multiple studies reporting *in situ* emissions of methane (0 to 16760 mg CH₄ m⁻² d⁻¹), CO₂ (1464–3360 mg CO₂-C m⁻² d⁻¹), N₂O (-5.5 to 32.7 mg N₂O m⁻² d⁻¹) and N₂ (4.08 to 3120 mgN₂-N m⁻² d⁻¹) (Grünfeld and Brix., 1999; Van Bodegom *et al.*, 2001; Teiter and Mander, 2005; Wang *et al.*, 2008, 2013), minimal information is available regarding the methane produced by the anaerobic biomass associated with the gravel of the HSSF and its relation with the removal of OM.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the relationship between the removal of OM and the production of methane in wetlands with a horizontal subsurface flow (HSSF) treating wastewater using *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus*.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 HSSF constructed wetlands

The wetland system is located in Hualqui (36°59'26.93" south latitude and 72°56'47.23" west longitude), Biobío Region, Chile. The influent into the HSSF corresponds to the wastewater from a treatment plant that serves a rural community of 20000 inhabitants. The wastewater was extracted after pre-treatment (chamber with 40 mm bars and a sand trap) and transported to a homogenizing tank (650 L). The HSSF was then fed by gravity (Vera *et al.*, 2014).

The HSSF system consists of four wetland horizontal subsurface flow units. Each HSSF unit has an area of 4.5 m², a total volume of 1.28 m³, a length/width ratio of 2, and a water table of 0.4 m in depth. The support medium was gravel (19 to 25 mm), with an average height of 0.57 m. Figure 1 shows the HSSF system: units HSSF-Phr1 and HSSF-Phr2 were planted with the *Phragmites australis* macrophyte species, respectively; units HSSF-Sch1 and HSSF-Sch2 were planted with the *Schoenoplectus californicus* macrophyte species, respectively. In each HSSF, three gravel samplers were installed in each zone: in Zone A (initial zone), 0.65 m from the entrance point; in Zone B (middle zone), 1.4 m from the entrance point; and in Zone C (output zone), 2.25 m from the wetland entrance point (Figure 1b-i). The superficial area of each zone is 1.5 m² (Rojas *et al.*, 2013).

Table 1 shows the operational and climatic parameters for all of the HSSF units. The hydraulic loading (HL) varied between 19.8-27.8 mm d⁻¹, and the hydraulic retention time (HRT) varied between 3 and 7 days. The organic loading rate (OLR) was between 3.3-4.2 g BOD₅ m⁻²·d⁻¹. The evapotranspiration rate (ET) presented maximum variations between winter (1.1 L m⁻² d⁻¹) and summer (4.0 L m⁻² d⁻¹). Marked seasonal trends of rainfall were observed, with maximum rainfall in the fall and winter (2.2-4.0 L m⁻²·d⁻¹) and minimum rainfall of 0.6 L m⁻²·d⁻¹ in the spring and summer.

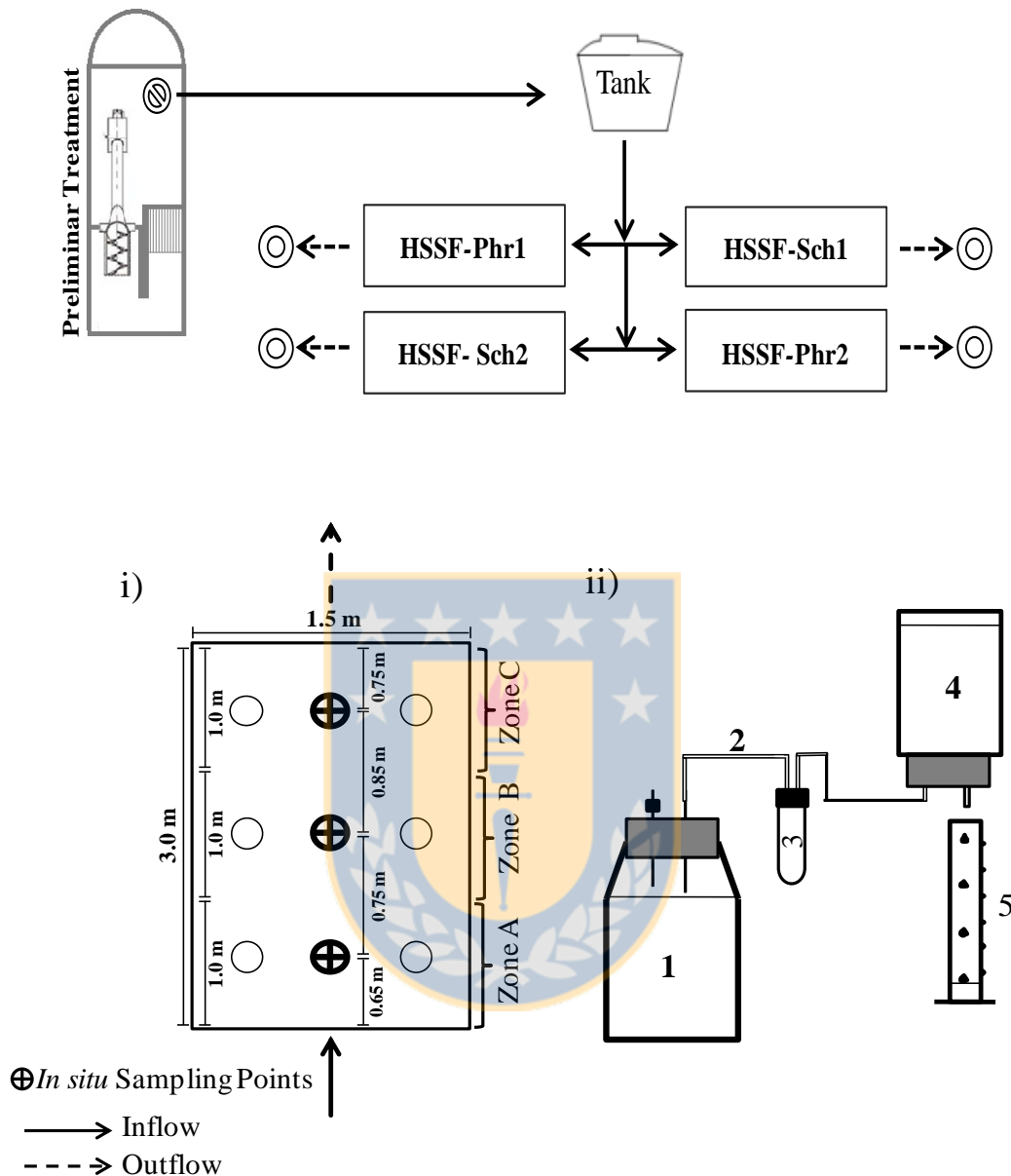


Figure 1. a) Configuring the pilot system of HSSF. HSSF-Phr1 and HSSF-Phr2: units planted with *Phragmites australis*. HSSF-Sch1 and HSSF-Sch2: units planted with *Schoenoplectus californicus*. b) i) Design and sampling points in the CW; ii) methanogenic activity system diagram consisting of the (1) mixture of the biomass and medium; (2) biogas circuit; (3) security camera; (4) Mariotte bottle (NaOH); and (5) tube with the volume of methane displaced.

Table 1. Operational and control parameters during different seasons in the constructed wetlands.

Operation (d)	Seasons	HL (mm d ⁻¹)	OLR (g BOD ₅ m ⁻² d ⁻¹)	HRT (d)		Climatic Parameters (L m ⁻² d ⁻¹)	
				HSSF-Phr	HSSF-Sch	ET	Precipitation
Stabilization Time							
0-85	Winter	27.8 ± 2.6	3.6 ± 0.7	3.5 ± 0.9	3.6 ± 0.2	1.1	4.7 ± 0.2
Operation period							
86-162	Spring	17.5 ± 2.5	4.2 ± 0.5	7.3 ± 0.8	7.6 ± 0.5	3.1	0.6 ± 0.2
163-256	Summer	19.8 ± 2.2	3.8 ± 0.6	6.7 ± 0.6	7.0 ± 0.6	4.0	0.6 ± 0.4
256-336	Fall	19.8 ± 2.2	3.3 ± 1.1	5.1 ± 0.6	5.3 ± 0.5	2.0	4.0 ± 0.9
337-420	Winter	19.8 ± 2.2	3.9 ± 1.2	5.3 ± 0.5	5.5 ± 0.3	1.1	2.2 ± 0.3

2.2 Sampling Strategy

The system was implemented in July 2011. The HSSFs were operated for 420 days, and the first 85 days corresponded to a stabilization period. The sampling was performed in the spring (S), summer (Sm), fall (F) and winter (W) over the total operation period, as indicated in Table 1.

At three points in each HSSF, the following measurements were monitored *in situ*: a) temperature, b) pH and c) oxidation reduction potential (ORP). The dissolved oxygen (DO) was measured only at one point (middle) because of the small variations. Figure 1b i) displays the *in situ* monitoring points. The parameters are presented as the average between the fall and winter (Fall/Winter) and spring and summer (Spring/Summer). A physicochemical characterization of the HSSF wastewater influent and effluent samples was performed in each season; this analysis determined the COD, BOD₅, total suspended solids (TSS), and volatile suspended solids (VSS). *In situ* and physicochemical characterizations were performed every 15 days (Vera *et al.*, 2014).

2.3 Methanogenic Activity

2.3.1 Inoculum: The anaerobic biomass used in the methanogenic activity essays corresponded to the biomass attached to the gravel of each HSSF. The biomass that adhered to the gravel was suspended in a saline solution (0.9% NaCl) and then sonicated for 3 min. The samples were then vortexed for 30 sec. The leachate is allowed to decant to analyze the TSS and VSS (Morato *et al.*, 2005). A sample of the granular material was withdrawn from Zone A, B and C (Figure 1bi). The sampling was performed between 300 and 400 days (seasons fall/winter).

2.3.2 *Specifies methanogenic activity tests (Maximum) (SMA_m)*: To determine the methanogenic activity, the extracted biomass was transferred from the CW to 100 mL reactors. A mix of volatile fatty acids (VFA) (2.0 g L⁻¹ acetic acid, 0.5 g L⁻¹ propionic acid and 0.5 g L⁻¹ butyric acid) and nutrients was subsequently added as described by Soto *et al.* (1993). Na₂S was added to each reactor to generate the anaerobic conditions (Soto *et al.*, 1993). Nitrogen gas was then bubbled

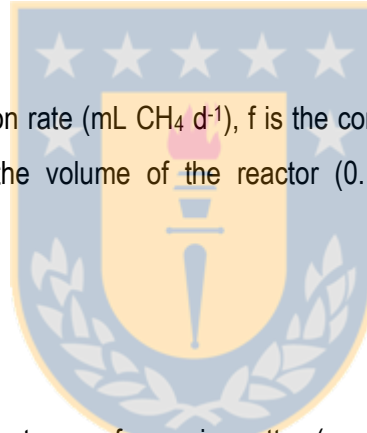
(for 3 min) in each reactor to remove air from the headspace. The assays were performed at 30°C. Methane production was measured by volumetric displacement method. This method is based on quantifying the amount of methane produced by the use of a displacing substance, such as NaOH (2.5%). The NaOH reacts with the biogas precipitating the CO₂, allowing just the methane measurement (Soto *et al.*, 1993), as shown in Figure 1b ii).”

Specific methanogenic activity_{maximum}, SMA_m (g COD g VSS⁻¹ d⁻¹), was determined according to equation 1 (Soto *et al.*, 1993).

$$SMA = R / f \cdot V \cdot [VS]$$

Equation 1

where R is the methane production rate (mL CH₄ d⁻¹), f is the conversion factor of CH₄ to g COD (388 mL CH₄ g COD⁻¹), V is the volume of the reactor (0.1 L) and [VS] is the biomass concentration (g VSS L⁻¹).



2.4. Mass balance

Mass balances were performed in terms of organic matter (measured as COD and BOD₅) and solids (TSS and VSS). Equation 2 explains the procedure for calculating the balances.

$$C_i \times Q_i \times D_o - C_{i+r} = C_e \times Q_e \times D_o$$

Equation 2

where:

C_i = wastewater influent concentration BOD₅, COD, TSS or VSS (g L⁻¹)

Q_i = input stream wastewater (L d⁻¹)

D_o = operation time (d)

C_{i+r} = intake/consumption by microorganisms or retention in HSSF (g)

C_e = effluent concentration BOD₅, COD, TSS or VSS (g L⁻¹)

Q_e = effluent output stream (L d⁻¹)

These values were obtained from the physicochemical characterization of the wastewater influent and effluent of the HSSFs. The calculations were performed at 420 days of operation. The BOD₅ and COD intake/consumption by microorganisms is considered degraded organic matter and TSS and VSS are considered retained in the CW.

2.5 Analytical methods

To characterize the influent and effluent of each HSSF, the samples were filtered through Whatman 0.45 µm membrane pore size filters. The physicochemical parameters were measured according to the protocols described in the Standard Methods (APHA, 1998). The BOD₅ was determined by the volumetric method of Winkler (5210-B) using an incubator Velp Scientifica (FTC 90E). The COD was determined by the colorimetric (5210-B) method using a Hach thermoreactor (45600-02) and UV-Vis spectrophotometer Thermo Spectronic (Genesis 10 UV). TSS and VSS were determined by gravimetric method 2540-D and 2540-E, respectively, using a Memmert (400 F) oven and muffle JSR (JSMF-30T). The *in situ* parameters, pH, ORP and temperature were measured in each HSSF unit using a portable multiparameter OAKTON (PC650–480485). The DO was measured using a portable oximeter (oxi 330i/set Hanna HI 9146-04) (Rojas *et al.*, 2013; Vera *et al.*, 2014).

2.6 Statistical analyses

Statistical analyses were performed for each HSSF using the statistical program INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2011). Previously, data were subjected to a normality test (the Shapiro–Wilk test) to determine the appropriate statistical tests for comparison. To compare the first HSSF to the second HSSF (HSSF-Phr1 vs. HSSF-Phr2; HSSF-Sch1 vs. HSSF-Sch2), (a) data with a normal distribution were analyzed using a paired t-test and (b) data without normal distribution were analyzed with a Wilcoxon test. To compare the first HSSF and second HSSF between the treatment lines (HSSF-Phr vs. HSSF-Sch), (a) data with a normal distribution were analyzed with a paired t-test and (b) data without normal distribution were analyzed with a Wilcoxon test. Furthermore, to compare the influence of the seasons (spring, summer, fall and winter), (a) data

with a normal distribution were analyzed by ANOVA and (b) data without a normal distribution were analyzed by a Kruskal–Wallis test. For all statistical tests, the significance level was $\alpha = 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Characterization of the influent

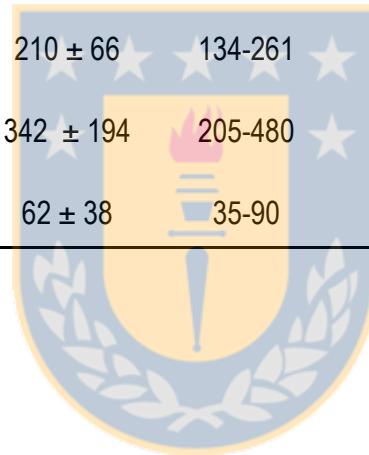
Table 2 shows the results of the physicochemical characterization of the influent. Over the entire period, BOD₅ and COD presented variations of up to 100 mg L⁻¹ and 210 mg L⁻¹, respectively. Simultaneously, the biodegradability capacity (BOD₅/COD relation) of the influent decreased between spring and summer (0.73) and fall and winter (0.56). These values are consistent with the findings of García et al. (2004) and Vymazal and Kröpfelová, (2011), who worked with influent with variations of BOD₅ and COD of up to 160 and 240 mg L⁻¹, respectively. The TSS and VSS concentrations presented a maximum increase of 180 mg L⁻¹ in the cold seasons (fall and winter). Similarly, García et al. (2004) observed variations of up to 130 mg TSS L⁻¹.

3.2 *In situ* parameters

Figure 2 shows the *In situ* parameters measured in Zones A, B and C for HSSF-Phr and HSSF-Sch. Figure 2a shows that during the spring/summer the average temperature was 21.1°C, with a maximum of 25.4 °C. During the fall/winter period, the average temperature was 11.9 °C, with a minimum of 6.4 °C. No significant differences between species were observed ($p \geq 0.05$). In Figure 2b, the pH ranges for the three zones present mean values of 7.1 during the spring/summer, with no significant differences between zones ($p \geq 0.05$). During the fall/winter, the pH in Zone A tends to be basic (≤ 8) (Figure 2b), which may be influenced by the characteristics of the influent. These values are consistent with the findings of García et al. (2004) who found pHs between 7.0-7.62.

Table 2.Physicochemical characterization of the influent.

Parameter	Concentration (mg L ⁻¹)							
	Spring		Summer		Fall		Winter	
	Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range
BOD₅	240 ± 33	216-264	179 ± 69	130-228	167 ± 58	129-255	200 ± 61	123-273
COD	296 ± 71	250-402	210 ± 66	134-261	260 ± 38	215-317	420 ± 72	311-454
TSS	275 ± 128	145-415	342 ± 194	205-480	457 ± 77	373-526	425 ± 154	280-565
VSS	207 ± 119	95-365	62 ± 38	35-90	453 ± 72	373-513	328 ± 166	165-473



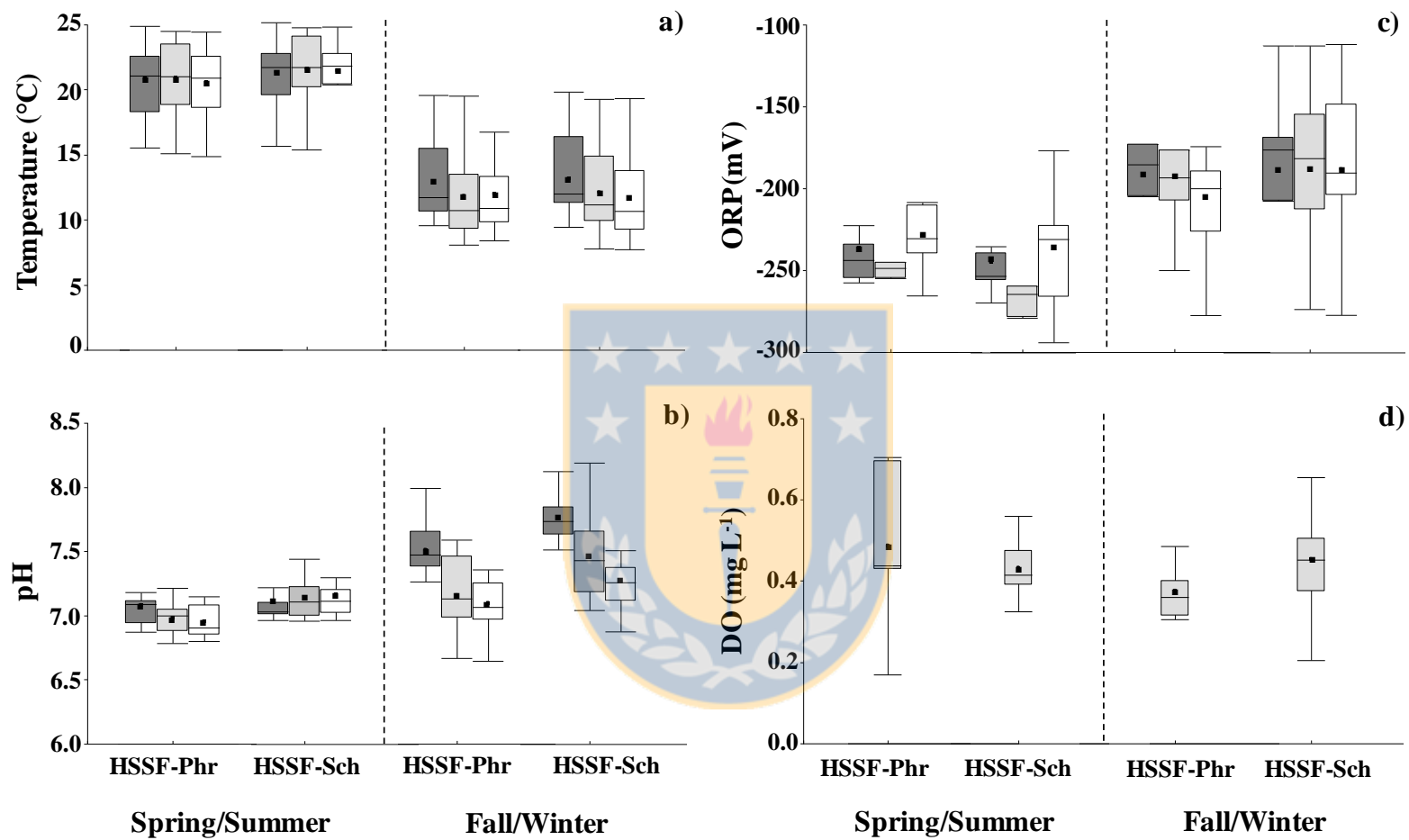


Figure 2. Seasonal *in situ* parameters in the HSSF: a) temperature, b) pH, c) ORP, and d) DO. Zone A (■); Zone B (■) and Zone C (□). HSSF-Phr: units planted with *Phragmites australis*, HSSF-Sch: units planted with *Schoenoplectus californicus*.

Figure 2c shows the ORP values in the HSSF units. The redox potential fluctuated from -134 mV to -251 mV. The average ORP during the spring/summer and fall/winter was -227 mV and -140 mV, respectively, with fluctuations of 15% and 40%, respectively. The anaerobic condition in the spring/summer can be influenced by the increasing temperature during the warm seasons accelerating biochemical processes and therefore the utilization of oxygen and other electron acceptors. Moreover, the oxygen solubility in water decreases with increasing temperature. As a result, the ORP decreases (Dušek *et al.*, 2008). The fluctuations in the ORP in the fall/winter could be attributed to other factors than the colder temperatures, the concentrations of pollutants displayed a variability of 50%, and the organic load could change biochemical processes, oxygen utilization and ability of wetland plants to ventilate soil by their aerenchyma (Dušek *et al.*, 2008). Under the reduced conditions found in the HSSF during the spring/summer, the main route of OM degradation in the wetland corresponds to anaerobic processes performed by methanogenic bacteria (Vymazal and Kröpfelová, 2008; Faulwetter *et al.*, 2009). Simultaneously, the DO concentrations ($<0.8 \text{ mg L}^{-1}$) and ORP (-170 to -300 mV) corroborate the anaerobic condition of these HSSFs (Figure 2d) and are consistent with the values determined by Vymazal and Kröpfelová (2008). This previous study noted anaerobic or anoxic conditions (-120 a -331 mV) at DO concentrations below 2 mg L^{-1} .

3.3. Organic matter and solids concentrations and removal efficiencies

Figure 3 shows the mean influent concentration (box-plot) and the mean removal efficiencies (bar chart) for HSSF-Phr (gray) and HSSF-Sch (white) during the monitored seasons. Table 3 shows the means and ranges for the concentration in HSSF effluents for all parameters evaluated. In its initial stage (0-162 days), the HSSF displayed BOD₅ removal efficiencies (57%) and a COD (26%) lower than that found in other studies ($>70\% \text{ BOD}_5$, $>65\% \text{ COD}$) (Vymazal and Kröpfelová, 2011; García *et al.*, 2004). This lower removal is explained by the fact that the organic load was $3.6\text{-}4.2 \text{ g BOD}_5 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, exceeding the 47 to 55% recommended for wetlands at its initial stage. According to García *et al.* (2004), the organic load should be less than $2 \text{ g BOD}_5 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ to achieve BOD₅ removal efficiencies greater than 90%. Likewise, the reduced amount developed plants (less than 40% coverage) and bacterial biomass found in the initial period could induce lower removal efficiencies for OM (57% for BOD₅ and 26% for COD) (Kouki *et al.*, 2009; Rojas *et al.*, 2013).

Subsequently, efficiencies as high as 80% were observed during winter for effluent concentrations in the range of 47-51 mg L⁻¹. These results are consistent with an efficiency of 20-75% BOD₅ and an effluent concentration between 27-60 mg L⁻¹ that were obtained by García et al. (2004), Vymazal and Kröpfelová, (2011), and Vera et al. (2011).

Figure 3b shows that the COD removal efficiency during spring (86-162 days) was 40%, displaying average effluent concentrations of 175 mg L⁻¹ (Table 3). Subsequently, the COD removal efficiencies were higher (67%) in the winter, displaying effluents concentrations of 138 mg L⁻¹ (Table 3). No significant differences between species were observed ($p \geq 0.05$). The removal efficiencies presented are consistent with the values observed in wetlands during their first 2 years of operation. During this time, the removal efficiency during the initial stage (two months of operation) displayed removal efficiencies of 65% and output concentrations of 93 mg COD L⁻¹ (García *et al.*, 2004; Vymazal and Kröpfelová, 2011). A decrease (30%) was noted during this period in the influent biodegradability capacity (determined as BOD₅/ COD).



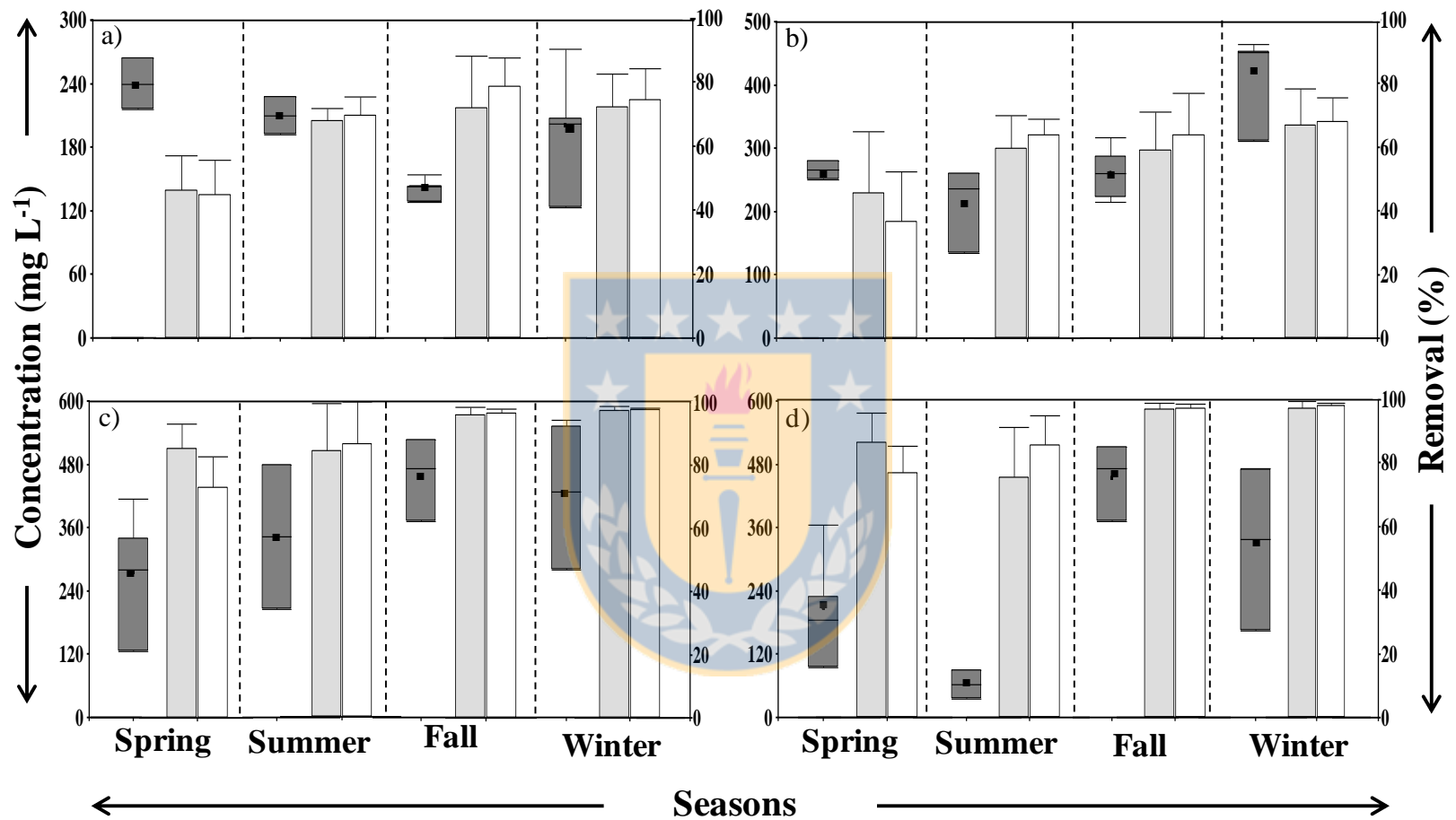


Figure 3. Average concentration of the influent (box-plot) and removal efficiencies (bar chart) for HSSF-Phr (gray) and HSSF-Sch (white) at the monitored stations for a) BOD₅, b) COD, c) TSS, and d) VSS.

Table 3. Physicochemical characterization of the effluent. HSSF-Phr, planted with *Phragmites australis*. HSSF-Sch, planted with *Schoenoplectus californicus*.

Parameter	Seasons	Concentration (mg L ⁻¹)							
		Spring		Summer		Fall		Winter	
		Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range
BOD ₅	HSSF-Phr	130 ± 44	90-180	66 ± 17	48-84	42 ± 16	18-69	51 ± 9	27-62
	HSSF-Sch	133 ± 44	96-174	64 ± 20	27-84	33 ± 8	21-48	47 ± 9	27-62
COD	HSSF-Phr	161 ± 67	100-266	80 ± 8	71-97	105 ± 31	71-156	141 ± 62	87-227
	HSSF-Sch	190 ± 72	110-297	73 ± 16	48-86	93 ± 34	58-145	135 ± 46	86-209
TSS	HSSF-Phr	33 ± 14	15-60	31 ± 24	10-65	17 ± 10	5-27	9 ± 5	4-21
	HSSF-Sch	46 ± 18	15-75	24 ± 12	5-55	15 ± 7	5-27	8 ± 3	2-13
VSS	HSSF-Phr	22 ± 8	9-35	12 ± 7	5-20	18 ± 12	5-35	9 ± 5	2-21
	HSSF-Sch	46 ± 36	5-150	7 ± 3	5-10	16 ± 7	5-27	7 ± 2	2-13

These results demonstrate the development of bacterial biomass on the wetland support (Samsó and García, 2013), and the removal efficiencies were 40-60% in the spring/summer (Figure 3). However, higher removal efficiencies of 75% and 65% were obtained for BOD₅ and COD, respectively, in the fall/winter (10-12°C). These results are consistent with the findings of Stein and Hook, (2005). This previous study reported that the temperature is not the primary factor influencing the efficiency. Rather, the efficiency depends on the presence of plants and/or the development of bacterial biomass (Truu *et al.*, 2009). Additionally, Samsó and García (2013) established that bacterial stability is reached between 400-700 days after the operation is initiated. Other authors (Vymazal and Kröpfelová, 2011; Vera *et al.*, 2011) have found that the BOD₅ and COD efficiencies are greater than 90% and 80%, respectively, after 2 years of operation.

However, Figures 3c and 3d display the removal efficiencies for the TSS and VSS. Since the establishment, the winter removal efficiencies for the TSS and VSS were between 70-96% for all HSSF units and the discharge effluent maintained concentrations below 12 mg L⁻¹ (winter) (Table 3). Significant differences ($p \leq 0.05$) were observed between seasons but not between plant species. The removal efficiencies found during the monitored operational period are consistent with those found in other studies (45-95% TSS) (Caselles-Osorio *et al.*, 2007; Vymazal 2011). Additionally, Tanner *et al.* (1998) determined that the solids removal rates are 1.2 to 2 times higher during the first two years of operation when compared to the next three years. Moreover, the applied loads increased from 4.5 g TSS m⁻² d⁻¹ to 8.7 g TSS m⁻² d⁻¹ between the spring/summer and fall/winter. This increase was primarily because of the increased solids concentration in the influent (~200 mg L⁻¹). Despite the increase in the load (4.2 g TSS m⁻² d⁻¹), the rate of accumulation and/or removal of solids was consistent with the increased load (Caselles-Osorio *et al.*, 2007). Simultaneously, the load applied during the fall/winter was within the values recommended by the USEPA (2000), i.e., below 20 g TSS m⁻² d⁻¹ for HSSF, to obtain effluent concentrations below 30 mg L⁻¹.

3.4 Relationship between the COD and methane emissions

Figure 4 shows the curves of the cumulative methane production ($\text{mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1}$) obtained in the tests performed with the anaerobic biomass extracted from the HSSF. The highest yields were found to be approximately $1100 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1}$ between 30 and 40 days of operation. González-Fernández et al. (2009) determined that 90% of the substrate is degraded in the first 22 days. This present study found that the methane production from the biomass showed an increase of between 32 to 54% in Zone B with respect to the other zones (A and C). On average, the biomass in Zone A produced $700 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch; Zone B produced $1035 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch; and Zone C produced $368 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch (Figure 4). This is explained by the influence of the substrates availability on the biomass development along the CW. Therefore, Samsó and Garcia, (2013) found heterotrophic bacteria in the entrance areas of CW, due to increased substrate availability. On the other hand, they were also found in the intermediate zones a greater development of archaeas, just after fermentation bacteria. No significant differences were found between species. However, a significant difference was noted between Zone B and the other zones (A and C) ($p \leq 0.05$).

Table 4 shows the specific methane production ($\text{mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$), SMA ($\text{g COD g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and COD intake (g COD d^{-1}), as determined in the methanogenic activity assays performed with the biomass extracted from zones A, B and C. The specific methane production average for HSSF-Phr and HSSF-Sch in Zone A was $25.43 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Therefore, this methanogenic activity is expected to degrade between 24 to 34% of the OM ($9\text{-}12 \text{ g COD d}^{-1}$) in zone A. However, the methanogenic activity average in Zone B was $35.55 \text{ mL CH}_4 \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch with 20 to 30% of the OM degraded. Moreover, a degradation of OM between 10 and 15% in Zone C with a biomass average of 135 g VSS for HSSF-Phr and HSSF-Sch (see Table 4) was noted.

The SMA results obtained in this study ($0.03\text{-}0.09 \text{ g COD}_{\text{CH}_4} \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$) are consistent with those determined by Ruiz et al. (2009). This previous study obtained values between $0.05\text{-}0.093 \text{ g COD}_{\text{CH}_4} \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$ when using wastewater as a substrate. Additionally, the SMA determined in the present study were between 15 to 90 times greater than those found by Caselles-Osorio et al.

(2007) ($0.001\text{-}0.002 \text{ g COD}_{\text{CH}_4} \text{ g VSS}^{-1} \text{ d}^{-1}$). These differences in results are attributed to the temperature (20°C) in which the research was conducted and the presence of refractory compounds in the accumulated solids (Caselles-Osorio *et al.*, 2007).

Table 4 shows the total methane production ($\text{mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) for the HSSF, which is determined from the specific activity and the biomass obtained in each HSSF zone. An average increase of $300 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (57%) in methane production was found between the input and output zones. Additionally, the estimated total methane produced for the entire HSSF (Σ Zone A+ Zone B + Zone C) corresponds to $1455 \pm 482 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ and $1305 \pm 27 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively. These values are consistent with those found in situ (0.4 a $4320 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) by Johansson *et al.* (2004), Liikanen *et al.* (2006), Inamori *et al.* (2007) and Uggetti *et al.* (2012).



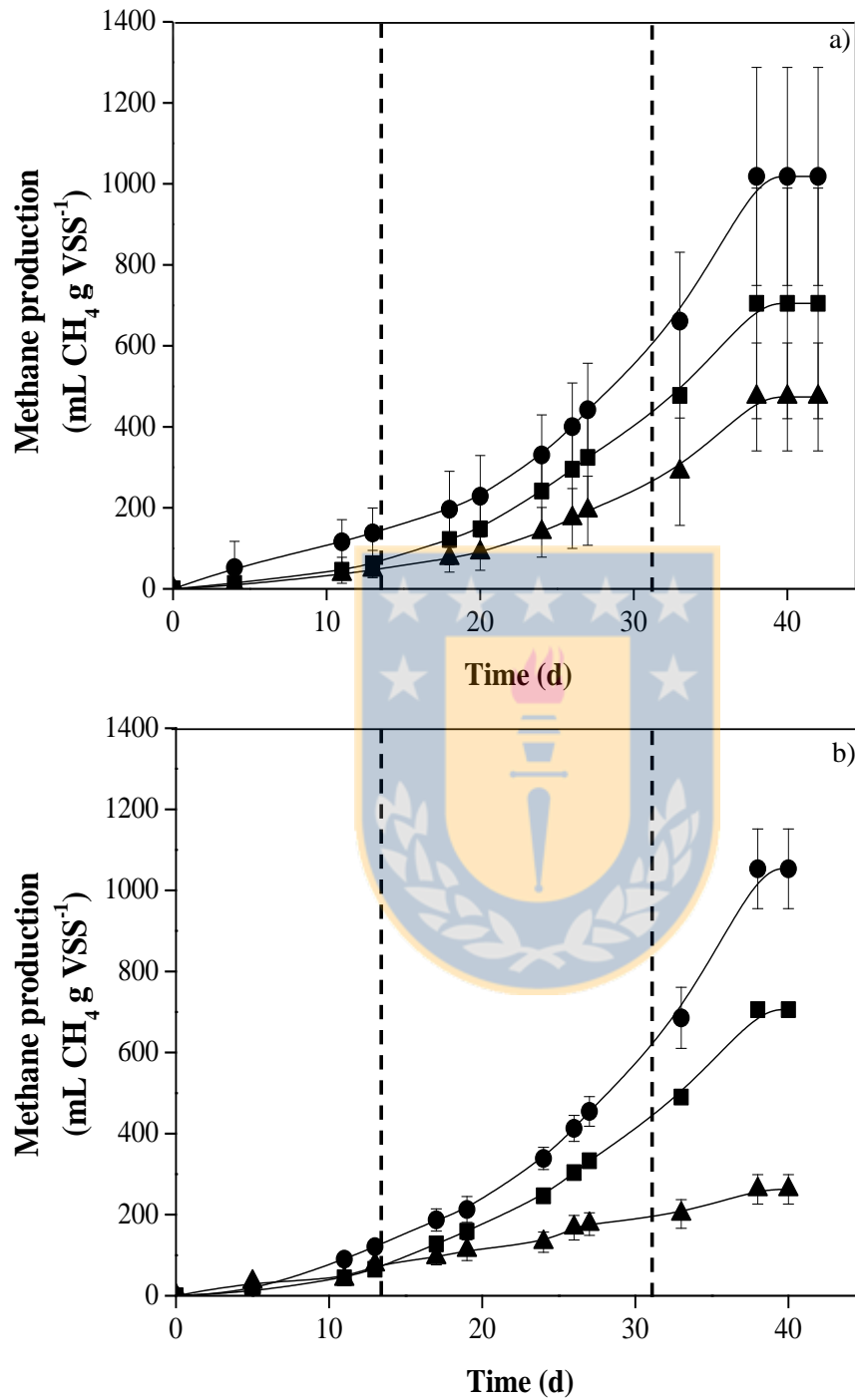


Figure 4. Methane production curve (cumulative) by zones for a) *Phragmites australis* and b) *Schoenoplectus californicus*. Zone A (■); Zone B (●); and Zone C (▲).

Table 4. Methane production and specific methanogenic activity.

HSSF	Zone	SMA (g COD _{CH₄} g VSS ⁻¹ d ⁻¹)	Intake of COD (g COD d ⁻¹)	Intake of COD (%) ^a	Specific activity (mL CH ₄ gVSS ⁻¹ d ⁻¹)	Volatile Suspended Solids (g)	Total Methane Production (mg CH ₄ m ⁻² d ⁻¹)
	A	0.07 ± 0.03	9.26 ± 3.06	24.78	25.47±9.91	140.99	502.72±195.63
HSSF-Phr	B	0.09 ± 0.02	11.86 ± 2.52	31.75	34.40±7.30	133.76	644.12±136.64
	C	0.04 ± 0.02	5.68 ± 2.77	15.22	16.49±8.03	133.76	308.72±150.30
	A	0.07 ± 0.01	12.83 ± 0.13	34.35	25.46±0.25	195.49	696.92±6.91
HSSF-Sch	B	0.09 ± 0.03	7.51 ± 0.72	20.09	36.69±3.54	79.36	407.68±39.28
	C	0.03 ± 0.01	3.69 ± 0.65	9.87	10.45±1.84	136.81	200.19±35.26

^a COD intake (%) was calculated with a load of 37.35 g COD d⁻¹.

Moreover, Liikanen et al. (2006) found increased methane emissions in the inlet zones ($10 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) compared with the exit zone ($4.4 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) in HSSF. This result is explained by the influent loading in the entrance areas of the HSSF (Caselles-Osorio *et al.*, 2007), resulting in a greater availability of organic substrates for the bacterial biomass growth associated with Zone A (140-195 g VSS) (wastewater entrance area). However, Inamori et al. (2007) found that *P. australis* and *Z. latifolia* generate greater BOD₅ loads with methanogenic (10×10^8 cells g soil⁻¹) compared to the methanotrophic (60×10^8 cells g soil⁻¹) biomass.

Moreover, the presence of macrophytes in HSSF regulates methane production and emission to the atmosphere (Inamori *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2007). Indeed, Grünfeld and Brix (1999) found that the methane production attenuates by 64% in the presence of *Phragmites australis*. Similarly, Inamori et al. (2007) observed that *Z. latifolia* and *Schoenoplectus lacustris* have shallow root systems, for which 90% of the roots are concentrated in the first 25 cm and the methanotrophic activity is mainly confined to the top of the soil. By contrast, the root system of *P. australis* is deeper (≥ 55 cm.) and can oxidize methane at a greater depth (Le Mer and Roger, 2001). In this regard, Zhu et al. (2007) showed that pruning the macrophytes increases the methane emissions by up to 50 times when performed at 15°C compared to operating at 10°C . Thus, methane emissions can be optimized and reduced by cutting the macrophytes during the fall ($\leq 15^\circ\text{C}$), and select macrophyte species would control the methane emissions.

However, because of temperature variations, the methane production and emission in natural and constructed wetlands can increase by 3 to more than 100 times (Teiter and Mander, 2005; Din and Cai, 2007; Waletzko and Mitsch, 2014). Zhu et al. (2007) determined that the methane emissions rate decreased by 12 times over variations of 5.5°C , dropping from $9.4 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (15°C) to $0.74 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (9.5°C) in the HSSF areas with macrophytes. Similarly, Ding and Cai (2007) determined that *Phragmites australis* methane emissions vary by up to 70 times between the warm season ($943 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) and cold season ($12.5 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Consequently, the temperatures at which the anaerobic assays are performed in this study (30°C) and the average temperatures in the HSSF in the fall/winter (15 and 10°C , respectively) must be considered. The methane production rates within the HSSF should be approximately 10 times lower during cold periods. Therefore, the estimated methane produced for real fall/winter

conditions does not exceed $160 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, agreeing with the work of Sha et al. (2011) and Zhu et al. (2007).

3.5 Mass balances for the organic matter and solids

According to Equation 2, a mass balance was performed and the results are shown in Table 5. Table 5 shows the balances for the OM (measured as COD and BOD_5) and solids (TSS and VSS) in the HSSF during the 420 days of operation. For both species, approximately 63% of BOD_5 and 50% of COD was degraded inside the HSSF. The results also show that the HSSFs are able to consume approximately $13.83 \text{ g COD d}^{-1}$ and $13.66 \text{ g COD d}^{-1}$ for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively. These values correspond to a 49% consumption of COD by HSSF-Phr and HSSF-Sch during the 420 days of operation. Therefore, when the COD intake are compared in the mass balances (Table 5) and the COD consumption is estimated from methanogenic activity ($25.4 \text{ g COD d}^{-1}$) (Table 4), the real COD consumption in the HSSF is estimated to be 50% of the methanogenic activity assays at maximal conditions.

Based on the obtained consumption of OM (measured as COD and BOD_5), the methane yields were estimated following the methods of Soto et al. (1993); this previous study established that the ratio of methane generated versus COD consumed is $0.369 \text{ LCH}_4 \text{ g COD}^{-1}$ (to 15°C). The daily productions were determined to be $710 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ based on COD consumed ($1283 \text{ g COD m}^{-2}$) and $355 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ based on BOD_5 consumed ($1023 \text{ g BOD}_5 \text{ m}^{-2}$); these values were averaged for both species. Therefore, when considering the methane production (determined with the balances $355\text{-}710 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) or the methane maximum production of methane (determined by the specific methanogenic assays $1305\text{-}1455 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), these methane productions are still considered to be low in relation to the methane production that can be found in other treatment systems, such as stabilization ponds ($16000\text{-}32000 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), primary treatment tanks ($3700\text{-}39500 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) and aerated secondary treatment tanks ($1000\text{-}7000 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) (Czepllel et al., 1993; Toprak, 1995; Wang et al., 2013).

Table 5. Mass balances for the constructed wetlands.

HSSF	Parameter	Influent (g m ⁻²)	Intake ^a or retention ^b		Effluent		Methane production (estimated) ^c (mg CH ₄ m ⁻² d ⁻¹)
			(g m ⁻²)	(%)	(g m ⁻²)	(%)	
HSSF-Phr	COD	2619	1291± 34	49 ± 1	1327 ± 34	51 ± 1	715 ± 17
	BOD₅	1623	1016± 25	63 ± 2	605± 25	37 ± 2	358 ± 35
	TSS	3735	3423± 9	92 ± 0	312± 9	8 ± 0	-
	VSS	2332	2158± 8	93 ± 0	137± 8	7 ± 0	-
HSSF-Sch	COD	2619	1275± 67	49 ± 3	1344± 67	51 ± 3	706 ± 7
	BOD₅	1623	1030± 26	63 ± 2	593± 26	37 ± 2	353± 9
	TSS	3735	3395± 49	91 ± 1	340± 49	9 ± 1	-
	VSS	2332	2108± 49	90 ± 2	223± 49	10 ± 2	-

^aIntake: BOD₅ and COD; ^bretention: TSS and VSS; ^cat 15°C according to Soto et al. (1993).

Finally, the solids removal efficiencies were greater than 90% for the TSS and VSS. These solids were retained by the microorganisms within the HSSF, releasing only 137 g VSS m⁻² (less than 10%) of approximately 2332 g VSS m⁻² admitted to the HSSF. In addition, no significant differences were noted between the plant species used for both the organic matter and solids ($p>0.05$).

4. CONCLUSIONS

- In this study, the removal efficiencies the operational period of the HSSF were 70-80% of the BOD₅ and greater than 60% of the COD.
- However, for a HSSF with an organic load rate of 28.06 g COD d⁻¹, in real conditions 13.83 g COD d⁻¹ was removed by HSSF-Phr and 13.66 g COD d⁻¹ was removed by HSSF-Sch through anaerobic and physical processes. These values corresponded to 49% of the COD consumed in the 420 days of operation.
- The total production of methane for HSSF-Phr was 1455± 482 mg CH₄ m⁻² d⁻¹, whereas the total production for HSSF-Sch was 1305± 27 mg CH₄ m⁻² d⁻¹. Under these maximal conditions, no significant differences were noted between species.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Grant No 21110449 from CONICYT (Chile) and CONICYT/FONDAP/15130015. The authors also thank the Doctoral Network REDOC.CTA, MINEDUC Grant UCO1202 at the University of Concepcion.

REFERENCES

- Aguirre, P., Ojeda, E., García, J., Barragán, J., Mujeriego, R., 2005. Effect of Water Depth on the Removal of Organic Matter in Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands. *J. Environ. Sci. Health*. 40, 1457–1466.
- American Public Health Association (APHA), 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- Ávila, C., Garfi, M., García, J., 2013. Three-stage hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse in warm climate regions. *Ecol. Eng.* 61, 43–49.
- Caselles-Osorio, A., Puigagut, J., Segú, E., Vaello, N., Granés, F., García, D., García, J., 2007. Solids accumulation in six full-scale subsurface flow constructed wetlands. *Water Res.* 41, 1388–1398.
- Czeplé, P., Crill, P., Harriss, R., 1993. Methane emissions from municipal wastewater treatment processes. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2472–2477.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tableda, M., Robledo, C., 2011. InfoStat statistical software. InfoStat Group, FCA, National University of Córdoba, Argentina. 336 pp.
- Ding, W., Cai, Z., 2007. Methane emission from natural wetlands in China: Summary of years 1995-2004 Studies. *Pedosphere*. 17, 475–486.
- Dušek, J., Pícek, T., Čížková, H. 2008. Redox potential dynamics in a horizontal subsurface flow constructed wetland for wastewater treatment: Diel, seasonal and spatial fluctuations. *Ecol Eng*, 34, 223–232.
- Enright, A., McGrath, V., Gill, D., Collins, G., Flaherty, V., 2009. Effect of seed sludge and operation conditions on performance and archaeal community structure of low-temperature anaerobic solvent-degrading bioreactors. *Syst. Appl. Microbiol.* 32, 65–79.
- Faulwetter, J., Gagnon, V., Sundberg, C., Chazarenc, F., Burr, M., Brisson, J., Camper, A., Stein, O., 2009. Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: A review. *Ecol. Eng.* 35, 987–1004.

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

García, J., Aguirre, P., Barragán, J., mujeriego, R., Matamoros, V., Bayona, J., 2005. Effect of key design parameters on the efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 25, 405–418.

García, J., Capel, V., Castro, A., Ruíz, I., Soto, M., 2007. Anaerobic biodegradation tests and gas emissions from subsurface flow constructed wetlands. *Bioresour. Technol.* 98, 3044–3052

García, J., Rousseau, D., Morató, J., Lesage, E., Matamoros, V., Bayona, J., 2010. Contaminant Removal Processes in Subsurface-Flow Constructed Wetlands: A Review. *Critical Reviews in Environ. Sci. Technol.* 40, 561–661.

González-Fernández, C. and García-Encina, P., 2009. Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry. *Biomass Bioenerg.* 33, 1065–1069.

Grünfeld, S., Brix H., 1999. Methanogenesis and methane emissions: effects of water table, substrate type and presence of *Phragmites australis*. *Aquat. Bot.* 64, 63–75.

Inamori, R., Gui, P., Dass, P., Matsumura, M., Xu, K.-Q., kondo, T., Ebie, Y., Inamori, Y., 2007. Investigating CH₄ and N₂O emissions from eco-engineering wastewater treatment processes using constructed wetland microcosms. *Process Biochem.* 42, 363–373.

Johansson, A., Gustavsson, A.-M., Öquist, M., Svensson, B., 2004. Methane emissions from constructed wetland treating wastewater-seasonal and spatial distribution and dependence on edaphic factors. *Water Res.* 38, 3960–3970.

Kadlec, R., Wallace, S., 2009. *Treatment Wetlands*. 2nd Ed. CRC Press. Boca Raton. Florida. 1016 pp.

Kouki, S., M'hiri, F., Saidi, N., Belaïd, S., Hassen, A., 2009. Performances of a constructed wetland treating domestic wastewaters during a macrophytes life cycle. *Desalination.* 246, 452–467.

- Le Mer, J., Roger, P., 2001. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *Eur. J. Soil Biol.* 37, 25–50
- Liikanen, A., Huttunen, J., Karjalainen, S., Heikkinen, K., Väisänen, T., Nykänen, H., Martikainen, P., 2006. Temporal and seasonal changes in greenhouse gas emissions from a constructed wetland purifying peat mining runoff waters. *Ecol. Eng.* 26,241–251.
- Marecos do Monte, H., Albuquerque, A., 2010. Analysis of constructed wetland performance for irrigation reuse. *Water Sci. Technol.* 61, 1699–1705.
- Morato, J., Codony, F., Mas, J. 2005. Utilisation of a packed-bed biofilm reactor for the determination of the potential of biofilm accumulation in water systems. *Biofouling* 21, 151 – 160.
- Nadarajah, N., Allen, D., Fulthorpe, R. 2007. Effects of transient temperature conditions on the divergence of activated sludge bacterial community structure and function. *Water Res.* 41, 2563–2571.
- Rojas, K., Vera, I., 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 start up operation of the horizontal subsurface flow constructed wetland. *Revista Facultad de Ingeniería.* 69, 289–299.
- Ruiz, I., Blázquez, R., Soto, M., 2009. Methanogenic toxicity in anaerobic digesters treating municipal wastewater. *Bioresour. Technol.* 100, 97–103.
- Samsó, R., García, J., 2013. Bacteria distribution and dynamics in constructed wetlands based on modelling results. *Sci. Total Environ.* 461, 430–440.
- Sha, C., Mitsch, W. J., Mander, Ü., Lu, J., Batson, J., Zhang, L., He, W., 2011. Methane emissions from freshwater riverine wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 16–24.
- Soto, M., Méndez, R., Lema J., 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity test. Theoretical basis and experimental set up. *Water Res.* 27, 1361–1376.
- Stein, O., Hook, P., 2005. Temperature, Plants, and Oxygen: How Does Season Affect Constructed Wetland Performance? *J. Environ. Sci. Health.* 40, 1331–1342.

Tanner, C., Sukias, J., Upsdell, M., 1998. Organic matter accumulation during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Water Res.* 32, 3046–3054.

Teiter, S., Mander, Ü., 2005. Emission of N₂O, N₂, CH₄, and CO₂ from constructed wetlands for wastewater treatment and from riparian buffer zones. *Ecol. Eng.* 25, 528–541.

Toprak, H., 1995. Temperature and organic loading dependency of methane and carbon dioxide emission rates of a full-scale anaerobic waste stabilization pond. *Water Res.* 29, 1111–1119.

Truu, M., Juhanson, J. and Truu, J., 2009. Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 407, 3958–3971.

Uggetti, E., García, J., Lind, S. E., Martikainen, P. J., Ferrer, I., 2012. Quantification of greenhouse gas emissions from sludge treatment wetlands. *Water Res.* 46, 1755–1762.

U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), 2000. Manual Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. EPA/625/R-99/010, Office of Research and Development Cincinnati, Ohio.

Van bodegom, P., Stams, F., Mollema, L., Boeke, S., Leffelaar, P., 2001. Methane Oxidation and the Competition for Oxygen in the Rice Rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3586–3597.

Vasudevan, P., Griffin, P., Warren, A., Thapliyal, A., Tandon, M., 2011. Localized domestic wastewater treatment: part I - constructed wetlands (an overview). *J. Sci. Ind. Res.* 70, 583–594.

Vera, I., García, J., Sáez, K., Moragas, L., Vidal, G., 2011. Performance evaluation of eight years experience of constructed wetland systems in Catalonia as alternative treatment for small communities. *Ecol. Eng.* 37, 364–371.

Vera, I., Araya, F., Andrés, E., Saez, K., Vidal, G. 2014. Enhanced phosphorus removal from sewage in mesocosm-scale constructed wetland using zeolite as medium and artificial aeration. *Environ. Technol.* 35, 1639-1649.

Vymazal, J., 2011. Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: a review. *Hydrobiologia.* 674, 133–156.

Vymazal, J., Kröpfelová, L., 2008. Is concentration of dissolved oxygen a good indicator of processes in filtration beds of horizontal flow constructed wetlands? In *Wastewater Treatment*,

Plant Dynamics and Management; (Vymazal, J., ed.); Springer: Dordrecht, The Netherlands. 311–317 pp.

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

Waletzko, E., Mitsch, W., 2014. Methane emissions from wetlands: An *in situ* side-by-side comparison of two static accumulation chamber designs. *Ecol. Eng.* 72, 95-102.

Wang, Y., Inamori, R., Kong, H., Xu, K., Inamori, Y., Kondo, T., Zhang, J., 2008. Influence of plant species and wastewater strength on constructed wetland methane emissions and associated microbial populations. *Ecol. Eng.* 32, 22–29.

Wang, Y., Yang, H., Ye, C., Xie, B., Huang, C., Zhang, J., Xu, M., 2013. Effects of plant species on soil microbial processes and CH₄ emission from constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 174, 273–278.

Zhu, N., An, P., Krishnakumar, B., Zhao, L., Sun, L., Mizuochi, M., Inamori, Y., 2007. Effect of plant harvest on methane emission from two constructed wetlands designed for the treatment of wastewater. *J. Environ. Manage.* 85, 936–943.



CAPITULO V

PHRAGMITES AUSTRALIS AND SCHOENOPLECTUS CALIFORNICUS IN CONSTRUCTED WETLANDS: DEVELOPMENT AND NUTRIENT UPTAKE



López, D., Sepúlveda, M., Vidal, G. (2015). *Phragmites australis and Schoenoplectus californicus in constructed wetlands: development and nutrient uptake. Soil science and plant nutrition*(Enviado).

***Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* in constructed wetlands:
Development and nutrient uptake**

López, D., Sepúlveda, M., Vidal, G.*

Engineering and Biotechnology Environmental Group, Environmental Science Faculty & Center EULA–Chile, University of Concepción.P.O. Box 160- C, Concepción-Chile. Tel.: +56-041-220 4067. Fax: +56-041-2661033. (E-mail: glvidal@udec.cl).

Corresponding author: glvidal@udec.cl

Received: September 2015.



Abstract

The goal of this work was to evaluate the development and nutrient uptake by *Phragmites australis* (Phr) and *Schoenoplectus californicus* (Sch) in subsurface flow constructed wetlands designed for wastewater treatment. Four horizontal subsurface flow constructed wetland (HSSF) systems with a surface area of 4.5 m² were planted with Phr and Sch. Wastewater was fed for 3 years at 1.6 to 4.8 g N m⁻² d⁻¹ and 0.2 to 0.6 g P m⁻² d⁻¹. Nutrients (total nitrogen –TN and total phosphorus – TP), organic matter (chemical oxygen demand – COD) and solids (total suspended solids - TSS) were evaluated. Nitrogen and phosphate uptake (high) during the period of study were 7.52 g N m⁻² and 0.83 g P m⁻² for Sch and 11.39 g N m⁻² and 0.23 g P m⁻² for Phr. Due to this, the biomass of Sch and Phr were 1782 g DW m⁻² and 385 g DW m⁻², respectively. However, the surface coverage of Sch was 85% while for Phr it was only 64%. Under these conditions, removal

efficiencies of TN, TP, COD and TSS by the HSSF during the studied period were 21-23%, 5-7%, 46-66% and 83-92%, respectively.

Keywords: constructed wetland, nutrients, *Phragmites australis*, *Schoenoplectus californicus*, wastewater.

1. INTRODUCTION

Rural areas of Chile are low-density nuclei (2.242.224 inhabitants), only 15% of which have wastewater collection and treatment systems (Araya *et al.*, 2014). Wastewater is characterized by having high organic content (biological organic matter - BOD₅: 200-470 mg L⁻¹ and chemical organic demand - COD: 200-740 mg L⁻¹), total nitrogen (35-100 mg TN L⁻¹), ammonium (6-66 mg NH₄-N⁺ L⁻¹), total phosphorus (6-30 mg TP L⁻¹), phosphates (6- 30 mg PO₄³⁻-P L⁻¹) and total suspended solids -TSS (65-500 mg TSS L⁻¹) (Vera *et al.*, 2013, Araya *et al.*, 2014).

Constructed wetland (CW) is a technological alternative for removing organic matter and nutrients from wastewater (Vymazal, 2011). These engineering systems have been designed to utilize natural vegetation processes, soils, and their associated microbial assemblages to assist in treating wastewater (Vymazal, 2011). Specifically, the CW with a horizontal subsurface flow (HSSF) removes between 67 to 84% of organic matter in terms of COD (loads of 7.4 to 76 g COD m⁻² d⁻¹) (Vymazal and Kröpfelová, 2011), 85-91% of solids, with loads of 2.8 to 10 g TSS m⁻² d⁻¹, 30-75% of total nitrogen, with a load of 2.6 a 10 g TN m⁻² d⁻¹, and 15-65% of total phosphorous, with a load of 0.4 g TP m⁻² d⁻¹ (Rai *et al.*, 2015). In this sense, an important part of the treatment in CW is attributable to the presence and activity of macrophytes and microorganisms (Stottmeister *et al.*, 2003; Vymazal and Kröpfelová, 2005). Particularly, research has shown that improvements in plant selection play an important role in nutrient removal from wastewater (Malecki-Brown *et al.*, 2010; Vymazal, 2011). The most commonly used genus of plants are the common reed (*Phragmites spp.*) and bulrush (*Schoenoplectus spp.*), due to their tolerance of substantial changes in pH (4-10), salinity (20–45 mg Cl⁻ L⁻¹), temperature (10–32 °C) and nutrient assimilation

(200-550 kg N ha⁻¹ yr⁻¹, 30-150 kg P ha⁻¹ yr⁻¹) (Wallace and Knight, 2006; Vymazal, 2011; Neubauer *et al.*, 2012).

Specifically, *Phragmites australis* (Phr) is a cosmopolitan macrophyte species, widely used in CW in North America and Europe. Březinová and Vymazal (2015) reported that aboveground standing stock of Phr is in the range of 34 to 74 g N m⁻². Zhao (2012) demonstrated that belowground nutrient storage increased during the growing season, with values of 13.2-36.1 g N m⁻² and 3.0-6.7 g P m⁻². Rodriguez and Brisson (2015) reported standing stock in aboveground biomass of *Phragmites* growing in natural stands in the range of 0.1–2.9 g TN m⁻² d⁻¹ removed to loads of 1.1-2.5 g TN m⁻² d⁻¹ and 0.05–0.83 g TP m⁻² d⁻¹ removed.

Schoenoplectus californicus (Sch) is found from California (37°0'0" north, 120°0'0" west) to Tierra del Fuego (54°0'0" south, 70°0'0" west). Sch is an annual or perennial plant with triangular stems up to 3 m tall and roots that penetrate down to 70-80 cm (Vymazal, 2011). The foliar biomass production of *Schoenoplectus* ranges between 350-2000 g DW m⁻² (Malecki-Brown *et al.*, 2010; Neubauer *et al.*, 2012). Neubauer *et al.* (2012) found that Sch foliar biomass contained 12.15 g TN m⁻² and 1.06 g TP m⁻², while rhizomes contained 0.4 g TN m⁻² and 0.06 g TP m⁻². The goal of this work was to evaluate the development and nutrient uptake by Phr and Sch in subsurface flow constructed wetlands designed for wastewater treatment.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Study area

The wetland system is located in Hualqui (36°59'26.93" south and 72°56'47.23" west), Biobío Region, Chile. The influent entering the HSSF was wastewater from a treatment plant that serves a rural community of 20,000 inhabitants. During the period 2011 to 2014, the average daily temperatures were 11.3 °C in fall (March to June), 9.8 °C in winter (June to September), 14.1 °C in spring (September to December) and 15 °C in summer (December to March). There were marked seasonal trends of rainfall, with maximum rainfall in the fall and winter (3.1 L m⁻²·d⁻¹) and minimum rainfall of 0.6 L m⁻²·d⁻¹ in the spring and summer.

2.2 HSSF constructed wetlands

The HSSF system consisted of four wetland horizontal subsurface flow units. The wastewater used in the HSSF was extracted after pre-treatment. The HSSF was then fed by gravity (Vera *et al.*, 2014). Each HSSF unit had an area of 4.5 m², a total volume of 1.28 m³ and a water table of 0.4 m in depth. The support medium was gravel, with an average height of 0.57 m (Navia *et al.*, 2003). Figure 1a shows the HSSF system: two units were planted with the macrophyte species *Phragmites australis* and labeled (HSSF-Phr1) and (HSSF-Phr2), respectively; and two units were planted with the species *Schoenoplectus californicus* macrophyte and labeled (HSSF-Sch1) and (HSSF-Sch2), respectively (López *et al.*, 2015). The operational and climatic parameters for the HSSF units were: hydraulic loading (HL) between 19.8-44.6 mm d⁻¹, and a hydraulic retention time (HRT) between 3 and 7 days. The evapotranspiration rate (ET) presented maximum variations between winter (1.1 L m⁻² d⁻¹) and summer (4.0 L m⁻² d⁻¹).

2.3 Sampling Strategy

The system was implemented in July 2011. The HSSFs were operated for 1163 days. Samplings were taken in the spring (S), summer (Sm), fall (F) and winter (W) over the entire operational period.

In each HSSF, the following measurements were monitored *in situ*: a) temperature, b) pH, c) oxidation reduction potential (ORP) and d) dissolved oxygen (DO). The parameters are presented as the average between fall and winter (F/W) and spring and summer (S/Sm). HSSF wastewater influent and effluent samples were characterized physicochemically every season. This analysis determined COD, total suspended solids (TSS), TN and TP. *In situ* and physicochemical characterizations were done every 15 days (López *et al.*, 2015).

2.4 Macrophyte sampling.

The sampled plants were evaluated with measurements: height (from the base to the apex) and relative abundance (stem m⁻²), with a PVC quadrant of 1 m² (Neubauer *et al.*, 2012). In addition, above and belowground biomass were determined and a proximate analysis was made.

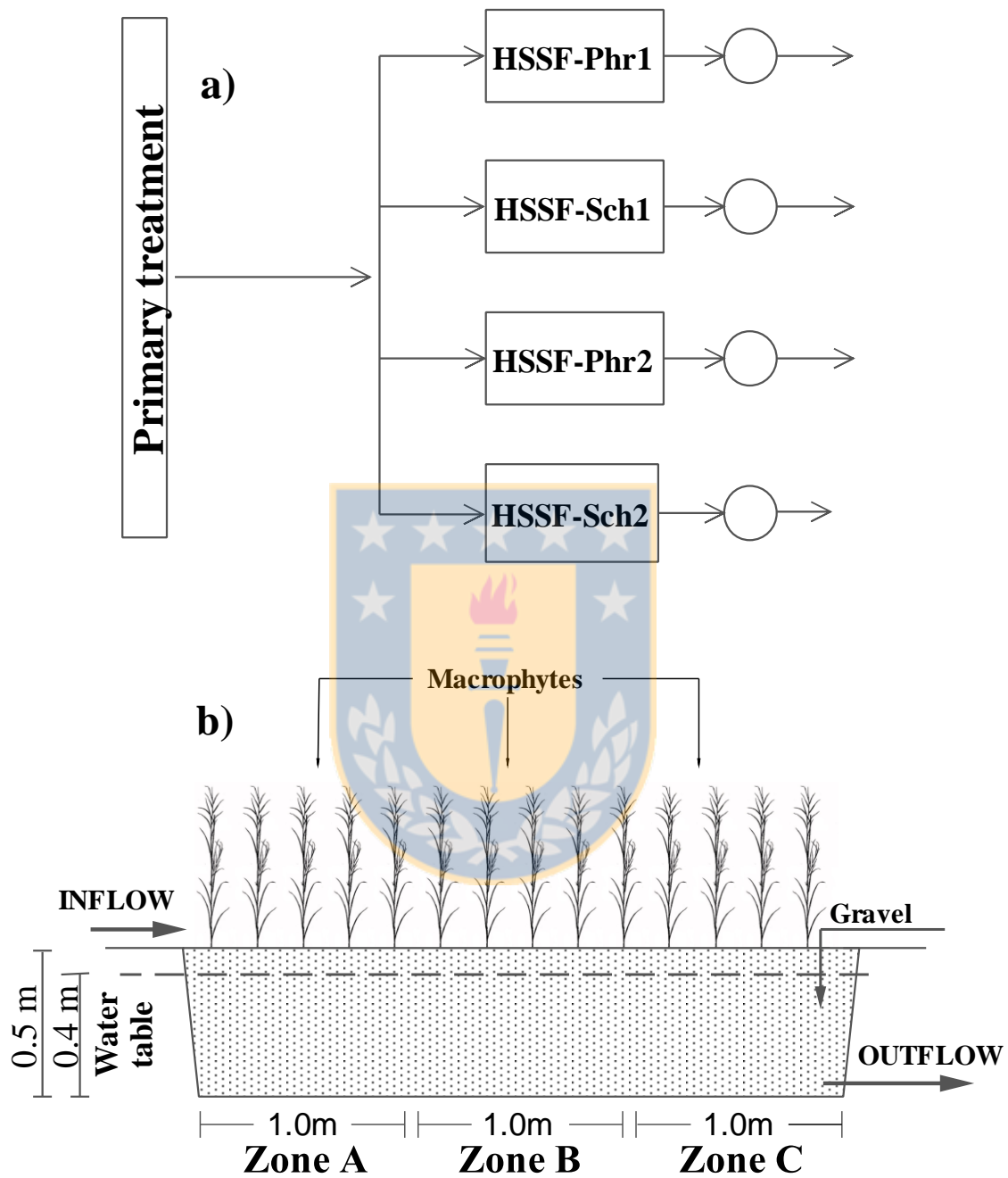


Figure 1.a) Configuring the pilot system with HSSF. HSSF-Phr1 and HSSF-Phr2: units planted with *Phragmites australis*. HSSF-Sch1 and HSSF-Sch2: units planted with *Schoenoplectus californicus*; b) Design and sampling areas in the CW.

All macrophyte analyses were done in spring (November 2012), winter (August 2013) and summer (January 2014). Each HSSF was separated into three zones: Zone A (initial zone); Zone B (middle zone); and Zone C (output zone). The surface area of each zone was 1.5 m² (Lopez *et al.*, 2015).

2.5 Analytical methods

To characterize the influent and effluent of each HSSF, the samples were filtered through Whatman 0.45 µm pore size membrane filters. The physicochemical parameters, COD, TN, TP and TSS, were measured according to the protocols described in Standard Methods (APHA, 1998). The *in situ* parameters, pH, ORP and temperature, were measured in each HSSF unit using a portable multiparameter OAKTON (PC650–480485). DO was measured using a portable oximeter (oxi 330i/set Hanna HI 9146-04) (Vera *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015).

Aboveground and belowground biomasses were obtained by dewatering at 75 °C for 24 h, until reaching constant weight. Proximate analysis was performed for below and aboveground biomass of Phr and Sch. TN was analyzed by digestion and distillation and TP by calcination and colorimetry (Neubauer *et al.*, 2012).

3. RESULTS

3.1 Characterization of the influent

Table 1 shows the results of the physicochemical characterization of wastewater influent for 1163 days. During the monitoring period, the influent concentrations of COD were 17 mg L⁻¹ (less than 10%) higher in the warm seasons (S/Sm) than in the cold seasons (F/W). TSS concentrations presented a maximum increase of 228 mg L⁻¹ in the cold seasons (fall and winter in 2012). The nutrients contained in the influent varied less than 10 mg L⁻¹, between 1 to 9 mg L⁻¹ for TN and between 0.5-2 mg L⁻¹ for TP. The influent presented standard deviations between 23 and 60% in F/W and 8-36% in S/Sm (from the mean) for all evaluated parameters.

Table 1.Physicochemical characterization of the influent.

Year	Seasons	Parameter (mg L ⁻¹)			
		COD	TSS	TN	TP
2011	Spring	296 ± 71	275 ± 128	93 ± 11	17 ± 6
	Summer	210 ± 66	342 ± 194	89 ± 1	14 ± 2
2012	Fall	260 ± 38	457 ± 77	92 ± 24	15 ± 1
	Winter	420 ± 72	425 ± 154	88 ± 65	14 ± 3
2013	Fall	194 ± 78	147 ± 115	68 ± 4	13 ± 1
	Winter	172 ± 32	137 ± 44	120 ± 16	14 ± 2
	Spring	318 ± 112	256 ± 44	107 ± 18	15 ± 3
	Summer	289 ± 9	124 ± 33	91 ± 15	13 ± 2

n=42 for COD; n=38 for TSS; n=31 for TN and TP

3.2 *In situ* parameters

Table 2 shows the *in situ* parameters measured for HSSF-Phr and HSSF-Sch. The pH levels did not change significantly between F/W and S/Sm, with variations between 6.8 and 7.1 for both species. Temperatures during S/Sm were on average 20.3 °C, with a maximum of 25.4 °C. During F/W, the average temperature was 12.05 °C, with a minimum of 6.4 °C. The redox potential for HSSF-Sch was on average -258 mV and -256 mV for HSSF-Phr in both seasons. DO was less than 0.46 mg L⁻¹ for both species throughout the monitored period.

Table 2. Seasonal *in situ* parameters in the HSSF. n= 42 for all parameters.

Macrophyte	Year	Period	Parameter			
			pH	T (°C)	ORP (mV)	OD (mg L ⁻¹)
<i>Phragmites australis</i>	2011	Spring/Summer	7.0 ± 0.0	21.0 ± 0.2	-233.9 ± 5.0	0.45 ± 0.0
	2012	Fall/Winter	6.8 ± 0.1	12.8 ± 0.1	-246.5 ± 8.3	0.68 ± 0.1
		Fall/Winter	7.0 ± 0.0	11.6 ± 0.0	-272.3 ± 4.1	0.23 ± 0.0
	2013	Spring/Summer	6.9 ± 0.0	19.6 ± 0.2	-271.4 ± 1.8	0.37 ± 0.1
<i>Schoenoplectus californicus</i>	2011	Spring/Summer	7.1 ± 0.0	21.6 ± 0.1	-242.8 ± 4.3	0.44 ± 0.0
	2012	Fall/Winter	6.9 ± 0.0	12.4 ± 0.3	-228.8 ± 10.1	0.67 ± 0.1
		Fall/Winter	6.9 ± 0.0	11.4 ± 0.1	-287.3 ± 2.3	0.21 ± 0.0
	2013	Spring/Summer	6.9 ± 0.0	19.0 ± 0.1	-273.6 ± 4.1	0.48 ± 0.1

3.3 Effluents concentration and removal efficiencies

Figure 2 shows the average effluent concentrations (box-plot) and efficiencies for removal of COD, TSS, TN and TP (bar chart) by HSSF-Phr (white) and HSSF-Sch (gray) during the monitored seasons. Average COD removal by HSSF-Phr was 55 and 63% for S/Sm and F/W, with effluent outlet concentrations of 122 and 110 mg L⁻¹, respectively. HSSF-Sch eliminated 46 and 66% in S/Sm and F/W, with effluent concentrations of 110 and 84 mg L⁻¹. Elimination increased from the first to the third year by 17% and 24% for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively.

Removal of solids presented less variation (10 %) between species and seasons, with efficiencies of 88 and 92 % for HSSF-Phr and 83 and 91 % for HSSF-Sch in S/Sm and F/W, respectively. The average outlet concentrations were 20 mg TSS L⁻¹ for HSSF-Phr and 28 mg TSS L⁻¹ for HSSF-Sch. TN removal decreases varied seasonally by 15 to 28 %. There were minor variations between species and seasons of less than 10 %, with an average of 23 % elimination in S/Sm and 21.5 % in F/W for both species. The same tendency occurred with TP, with TP elimination decreasing over the three years, with 10% elimination for HSSF-Phr and HSSF-Sch in S/Sm (first year) falling to 1% in F/W of the third year of operation. Elimination for both species was between 5 to 7 %, with concentrations of effluent of 12 to 14 mg L⁻¹.

3.4 Macrophytes development and nitrogen uptake

Figure 3 shows the plant abundance and height for HSSF-Phr and HSSF-Sch. Figure 3a shows the number of individuals and/or stems for HSSF-Phr (400 ± 112 stems), which was 64% higher than HSSF-Sch (143 ± 122 stems) during spring. For the first year (winter 2012), the number of stems increased 68% and 81% for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively. In turn, in the summer the number of individual plants in HSSF-Phr decreased by 75% due to the effect of a pest (Family: Aphididae). However, plants in HSSF-Sch were not affected by the pest and maintained their abundance, increasing the number of stems by 3.6% and reaching a coverage of 85%. Stem height varied seasonally by 18 to 61% for both species. On the other hand, stem size in HSSF-Phr decreased by 61%, from 1.06 m (spring-466 d) to 0.41 m during the period of senescence (winter-780 d), but increased size (0.87 m) during summer (986 d). Stem size in HSSF-Sch decreased by 40% over time.

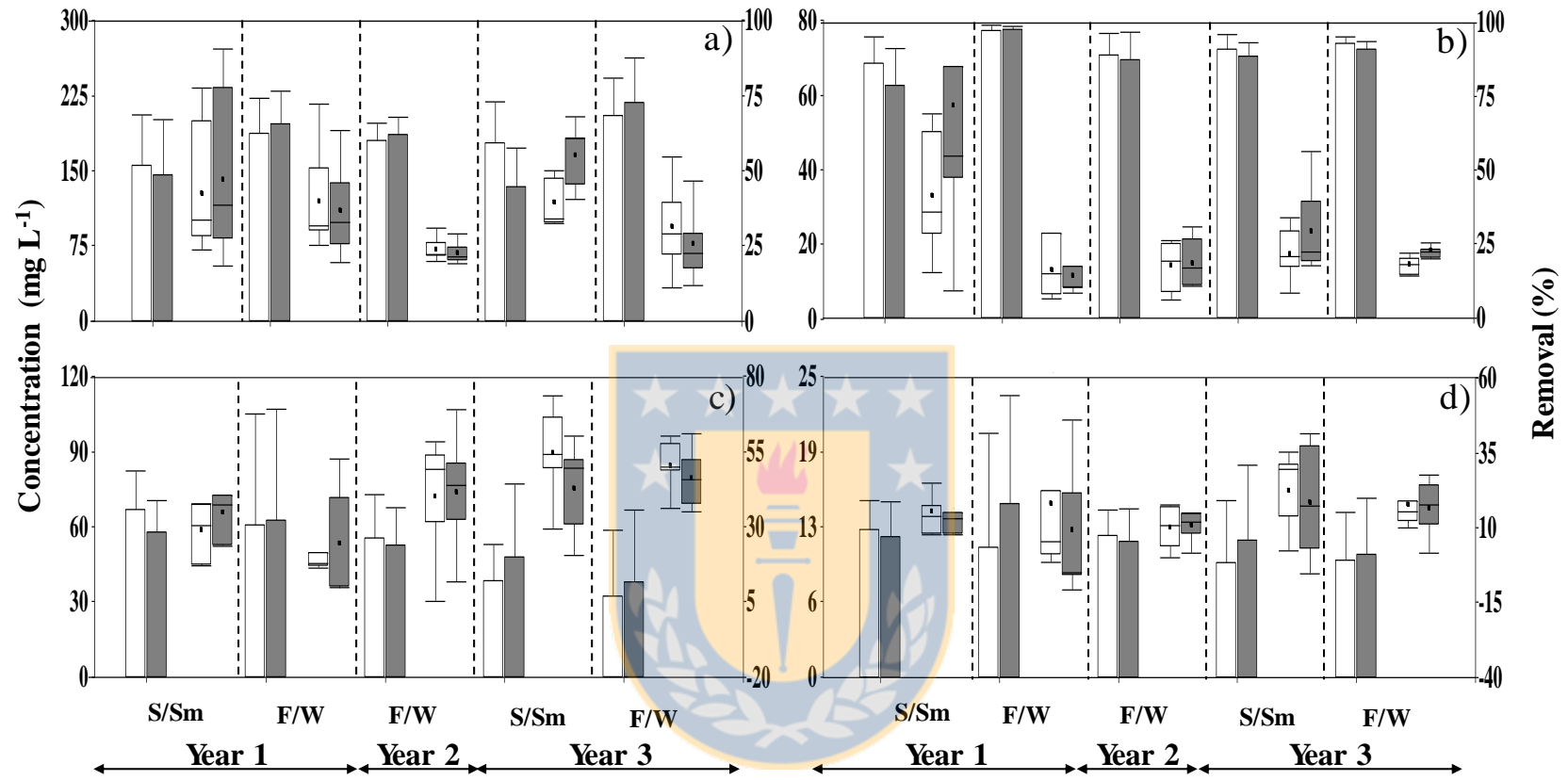


Figure 2. Effluent concentration (box plot) and mean removal efficiency (bar chart) for HSSF-Phr (□) and HSSF-Sch (■). (a) COD; (b) TSS; (c) TN; (d) TP.

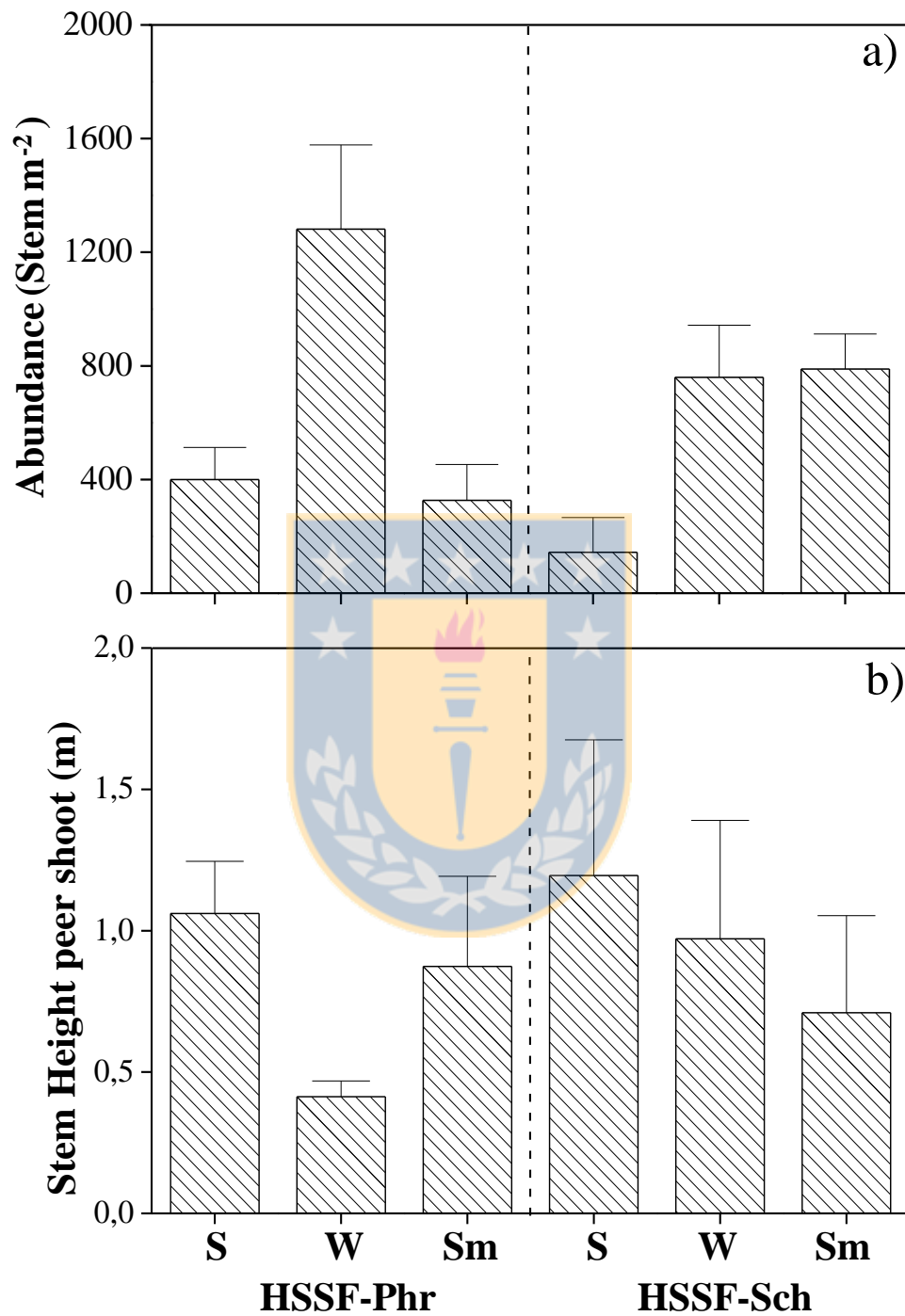


Figure 3. a) Seasonal abundance for *Phragmites australis* (HSSF-Phr) and *Schoenoplectus californicus* (HSSF-Sch). b) Seasonal stem height per shoot. a) *Phragmites australis*; b) *Schoenoplectus californicus*.

Figure 4 shows seasonal nitrogen and phosphorus content for HSSF-Phr and HSSF-Sch. Nitrogen content for both species was between 25 and 92%, being higher in spring than in the other seasons. Plant nitrogen content increased in spring from 17 to 24% throughout the HSSF. Nitrogen content in spring was 50 and 19 g N kg⁻¹ DW in the intake zone of the wetland (Zone A) and 66 and 23 g N kg⁻¹ DW in the output zone (Zone C) for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively. Plant nitrogen content was lowest in winter (4.9 to 9 g N kg⁻¹ DW), with variations of 25% for both species. In summer nitrogen content in Phr increased by 19 g N kg⁻¹ DW, while it increased by only 2.6 g N kg⁻¹ DW in Sch. On average during the three monitored seasons plant phosphorus content was higher (40%) for HSSF-Sch, with 0.86 g P kg⁻¹ DW, than for HSSF-Phr, with 0.51 g P kg⁻¹ DW. P content was more stable for HSSF-Sch (maximum variation of 33%) over the three seasons, while P content for HSSF-Phr varied by up to 72%. In summer phosphorus content was higher (57-75%) in the entrance areas (0.7 to 1.6 g P kg⁻¹ DW) than in the output areas (0.3 and 0.4 g P kg⁻¹ DW) for HSSF-Phr and HSSF-Sch, respectively.

HSSF biomass production and nutrient content for each species is presented in Table 3. Stem propagation was 32% higher for HSSF-Phr (654 g DW m⁻²) than for HSSF-Sch (444 g DW m⁻²) in spring (466 d), while stem propagation in winter (780 d) presented only minor variations of 1% (13 stems). However, in summer (986 d) the number of stems in HSSF-Phr decreased by 73% due to pest problems, while the number of plants in HSSF-Sch increased in the same period by 21% (1782 g DW m⁻²).

Table 3 shows the nutrient content in the HSSF species. The maximum seasonal variations in nitrogen content were 10 g N m⁻² for Phr and 6.28 g N m⁻² for Sch. Major differences (73%) were observed between species in spring and summer, while there was little variation in nitrogen content (3%) for either species in winter (0.04 g N m⁻²). On average the phosphorus content for Sch was 0.46 g P m⁻², which was 65% higher than that of HSSF-Phr (0.16 g P m⁻²). In turn, the phosphorus content was higher (0.42 g P m⁻²) in spring and summer than in winter (0.1 g P m⁻²).

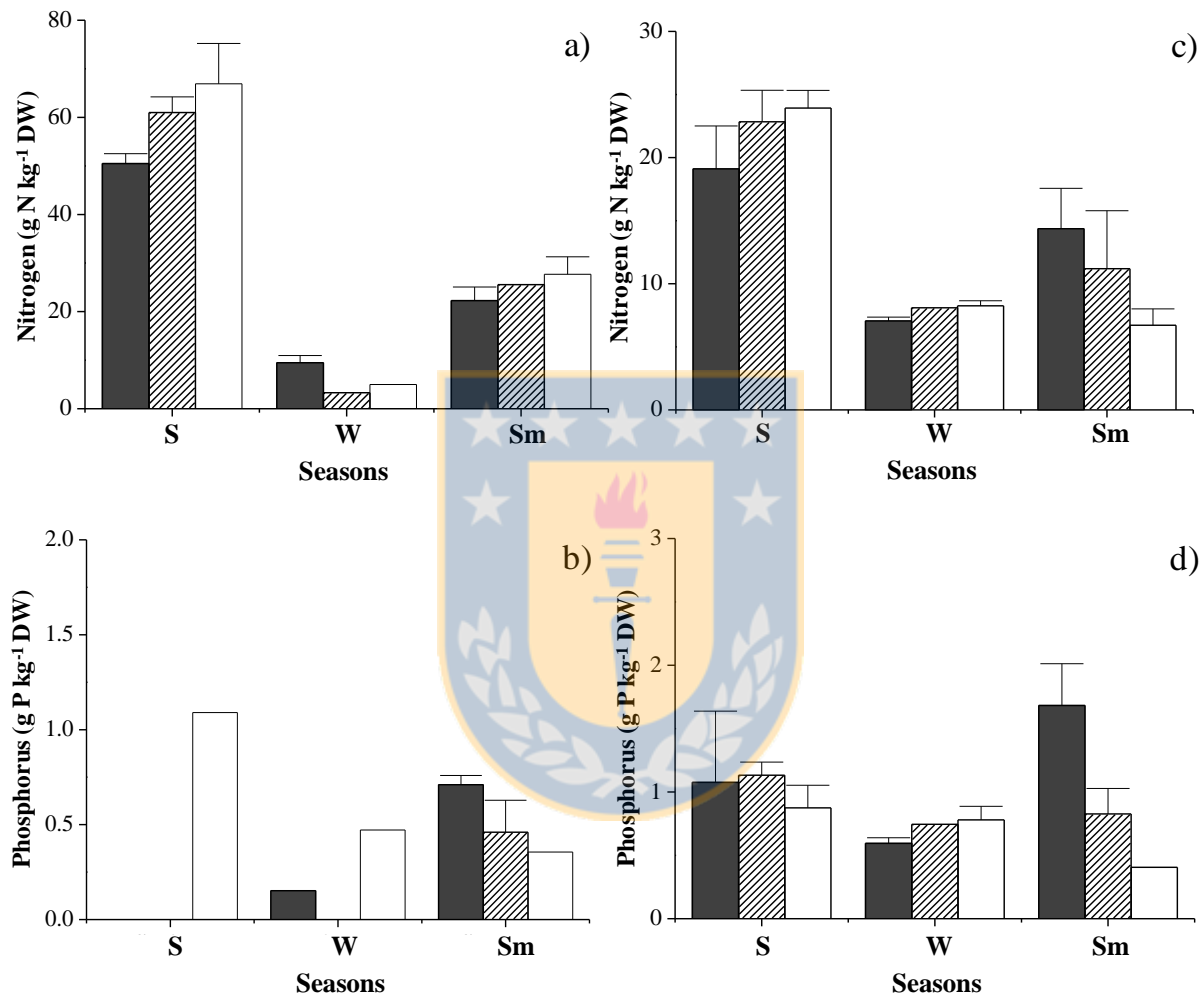
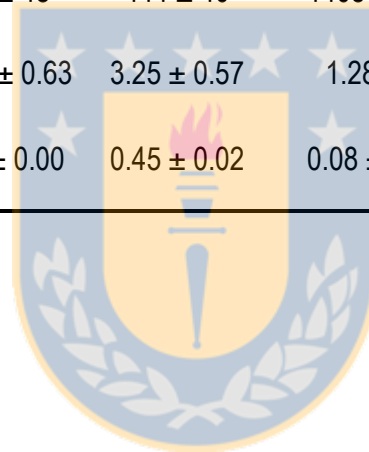


Figure 4. Nitrogen and Phosphorus content in plant tissue (foliar and root). (a) and (b) units planted with *Phragmites australis*; (c) and (d) units planted with *Schoenoplectus californicus*. Zone A (■); Zone B (▨) y Zone C (□).

Table 3. Biomass production and foliar nitrogen and phosphorous content in HSSF-Phr and HSSF-Sch.

Parameter	Unit	Seasons					
		Spring		Winter		Summer	
		HSSF-Phr	HSSF-Sch	HSSF-Phr	HSSF-Sch	HSSF-Phr	HSSF-Sch
Biomass Production	g DW m ⁻²	654 ± 48	444 ± 40	1405 ± 281	1392 ± 220	385 ± 145	1782 ± 177
Content plant tissue	g N m ⁻²	11.39 ± 0.63	3.25 ± 0.57	1.28 ± 0	1.24 ± 0.06	1.73 ± 0.5	7.52 ± 0.76
	g P m ⁻²	0.23 ± 0.00	0.45 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.19 ± 0.02	0.83 ± 0.03



4. DISCUSSION

The average concentrations of the physicochemical influent used in this study were 270 mg COD L⁻¹, 94 mg TN L⁻¹ and 14 mg TP L⁻¹, which are in agreement with those determined by Henze *et al.* (2002) to characterize concentrated wastewater. The influent solids (270 mg TSS L⁻¹) were 50% higher than those found by Garcia *et al.* (2004), due to the rural origin of the influent, presenting increased solid entrainment.

In situ measurement in the HSSF found no differences in pH values (6.8-7.1) between species or seasons. These values are consistent with the findings of Vymazal (2011), Kröpfelová (2011), and García *et al.* (2004), who worked with wastewater with pH levels ranging from 6.5 to 7.7. Temperature in the HSSF was directly conditioned by seasonal characteristics associated with a Mediterranean area, with maximum variations of 10°C. Furthermore, considering ORP ranges (-233 to -287 mV) and DO concentration (less than the 0.7 mg L⁻¹), an anaerobic condition was determined for the HSSF. This agrees with the findings of García *et al.* (2004) and Vyzamal (2011), who determined values between -351 to -390 mV and less than 0.1 mg DO L⁻¹ for HSSF.

Removal efficiencies by HSSF for COD, TSS, TN and TP did not show seasonal differences in cold (10°C) and warm weather (14°C). However, there were differences over time during the HSSF operation, which concurs with what Vymazal (2011) found in analyzing HSSFs several countries (Sweden, Norway, the USA and the Czech Republic). Vymazal determined that bacterial activity is not changed with low temperatures. Rather, supplies of carbon and nutrients are the main factors affecting HSSF efficiency. This is why COD removal efficiency improves over time, with a maximum removal of 72% (F/W in the third year.). However, this is lower than what was found by Vymazal and Kröpfelová (2011), who obtained efficiencies of 80 to 94%.

Nitrogen removal was 30% (0.98 g N m⁻² d⁻¹ removed) in the first year and less efficient (12%) by the spring of the third year (0.7 g N m⁻² d⁻¹ removed). Chen *et al.* (2014) determined that the efficiency of CW decreased from 1.05 to 1.10 g N m⁻² d⁻¹ in the initial stage to 0.23 to 0.31 g N m⁻² d⁻¹ in the final stage. This could be explained by the fact that TN loading increased from 2.6 to 3.1 g N m⁻² d⁻¹. Vymazal (2007) found that at removal efficiencies of 42% TN loading was 1.7 g N m⁻² d⁻¹. Therefore, the low removal rates in the HSSF could be due to limited ammonium nitrification,

which in turn is due to lack of dissolved oxygen under permanent saturation (Vymazal and Kröpfelová, 2011).

The efficiency of P removal by HSSF decreased steadily over the first three years, which concurred with Vohla *et al.* (2005), who found a decrease from 74.5 to 24.7 g P m⁻² yr⁻¹, which could be caused by washing Fe content out of the substrate. Mander *et al.* (2003) observed a decrease of 20.7 kg P yr⁻¹ to 5.1 kg P yr⁻¹ in an HSSF, which was attributed to the less efficient saturation of the support material. In other research, Vera *et al.* (2014), determined that the use of gravel as a support medium contributed to 20-50% of HSSF P removal.

Biomass in HSSF-Phr developed more rapidly during spring, with 400 stems and biomass production of 654 g DW m⁻² (over 75% coverage), than HSSF-Sch, which presented less coverage at 50% (143 and 444 g DW m⁻²). This can be explained by the fact that Phr has a propagation rate of 10 m yr⁻¹ while Sch has one of 15-30 cm yr⁻¹. The propagation rate of Phr is classified as very rapid and invasive (Wallace and Knight, 2006). Tanner (1996) found a density of 758 stems m⁻² in only 90 days from the start of cultivation. Along the same line, biomass production in HSSF was 23% higher than that found by Vymazal and Köpfelová (2005) in a CW with Phr production of less than 500 g DW m⁻² (first year). Subsequently, stem production in winter (1281 stems m⁻²) matched that determined by Rodriguez and Brisson (2015) and Vymazal and Köpfelová (2005), who observed the development of 1366 stems m⁻² in winter (first year) and biomass production between 1000 and 1600 g DW m⁻². Stem and biomass production for Sch during spring (143 stems and 444 g DW m⁻²) and winter (760 stems and 1392 g DW m⁻²) coincided with Neubauer *et al.* (2012), who found that *Schoenoplectus californicus* increased biomass from 522 g m⁻² in 2009 to 729 g m⁻² in 2010. In the summer 2013 HSSF-Phr was affected by aphids (family Aphididae), resulting in decreases of 75% in the number of stems (325 stems) and 72% in biomass (385 g DW m⁻²) in the HSSF-Phr. Meanwhile, the HSSF-Sch was not affected by the aphid attack and biomass increased 21% (1782 g DW m⁻²). This is because aphids prefer species like *Phragmites spp.*, affecting the photosynthetic capacity of the plant and consequently causing mortality. Despite the above, improved biomass production is expected in this study. Specifically, because it has been determined that maximum biomass development for Phr is between the third and fourth

growing season. Therefore, we expect improved biomass development and consequently improved HSSF efficiency (Vymazal and Köpfelová, 2005).

Nitrogen content for Phr varied between the growing season (spring) and senescence (winter) from 11.39 to 1.28 g N m⁻². This coincides with Tanner (2001), who found N accumulations in fall of 26 to 47 g N m⁻² and in summer (3rd growing season), of 69 g N m⁻². Moreover, it has been found that from 0.1 to 0.25 g N m⁻² d⁻¹ is released from living plant tissue during senescence. In particular, average N content (4.8 g N m⁻²) for HSSF-Phr was less than 86% according to Brezinová and Vymazal (2015), who determined an N content of 34.8 g N m⁻² (mean concentration in stems and leaves) for Phr, while, N content in Sch (1.24 to 7.52 g N m⁻²) was similar to what was determined by Weller *et al.* (2015) and Malecki-Brown *et al.* (2010), who found N content for *Schoenoplectus spp.*, *S. californicus* and *S. americanus* was 5.3 g N m⁻², 0.7-2.7 g N m⁻², and 2.9 g N m⁻², respectively.

The variability in N and P accumulation between the macrophyte species used in this study reflects the different ways some plant species respond to nutrient-favorable conditions (high load). Some species have greater apparent use efficiency, increasing growth to maximize production, while others tend toward a more conservative strategy of accumulating nutrients, as is the case with *Phragmites australis* (Tanner, 1996). Chen *et al.* (2014) determined that plant N consumption increases over time, being 0.9 to 1.7 times greater in the final stages of monitoring, due to root development and plant maturity. This coincides with the results obtained with Sch in our study, which with time increased biomass cover by about 85%, as well as increasing the amount of nutrients in tissues.

On average HSSF-Sch had more (40%) phosphorus in tissues with 0.86 g P kg⁻¹ DW and 0.51 g P kg⁻¹ DW than did HSSF-Phr over the three monitored seasons. In turn, P content was higher (0.42 g P m⁻²) in spring and summer than in winter (0.1 g P m⁻²). It has been reported that the P accumulation is in the range of 0.2 to 10.5 g P m⁻² in various types of CW and for HSSF it is 0.7 to 5.5 g P m⁻² (Vymazal and Kröpfelová, 2011). Malecki-Brown *et al.* (2010) determined that *Schoenoplectus californicus* has a close to addition 2.5 g P kg⁻¹DW and 0.55 g P m⁻².

Nitrogen assimilation by Phr and Sch were 2 to 12% and 2 to 28%, respectively. Less than 6% of the N load that entered the HSSF was assimilated by either plant species. In an investigation of

41 wetland plants, McJannet *et al.* (1995) found that N concentrations in plant tissues ranged from 0.25 to 2.14% and P concentrations from 0.13 to 1.07% (Stottmeister *et al.*, 2003). This is corroborated by Vymazal and Kröpfelová (2011), who found that P and N levels incorporated by *Phragmites australis* in HSSF were 2.3% and 3.7%, respectively. Vohla *et al.* (2005) determined that the P uptake by plants was 6.1% and microorganisms to 4.4% of total elimination. P assimilation in this study was less than 5% for Phr and between 4 and 9% for Sch.

In summary, less than 5% of the P and N loads in municipal wastewater are taken up by plants. Consequently, it has been determined that the temporal variability of nutrients and development of biomass accumulate mainly in shoot tissues in spring-summer, but are transferred to below-soil storage organs during senescence. Indeed, it has been suggested that the efficiency of elimination in HSSFs can be maximized by make crop before autumn to prevent translocation due to senescence.

5. CONCLUSIONS

There were no differences in removal efficiencies by HSSF for COD, TSS, TN and TP between the cold (11°C) and warm seasons (21°C). However, there were differences over time.

By the end of the three-year study, biomass (1782 g DW m⁻²) and coverage (85%) of Sch were higher than those of Phr (385 g DW m⁻² and 64%). However, the low level of development of Phr at the end of the monitoring period was mainly due to an attack by aphids.

The nutrient content in tissues of Sch and Phr presented markedly seasonal trends, with the highest concentrations of nitrogen (7.52 for Sch and 11.39 g N m⁻² for Phr) and phosphorus (0.23 for Phr and 0.83 g P m⁻² for Sch) during the growing seasons (spring and summer). Therefore, Phr and Sch are capable of removing a maximum of 6% of the N and P loads applied to the HSSF.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by Grant No 21110449 from CONICYT (Chile) and CORFO INNOVA BioBio (Chile) under Grant No. 13.3327-IN.IIP. The authors also thank the Doctoral Network REDOC.CTA, MINEDUC Grant UCO1202 at the University of Concepcion and CONICYT/FONDAP/15130015.

REFERENCES

American Public Health Association (APHA) 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., Washington D.C.

Araya, F., Vera, L., Morales, G., López, D., Vidal, G. 2014. Las aguas servidas en zonas rurales. En: Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales. Ediciones Universidad de Concepción, pp: 9-17.

Březinová, T., Vymazal, J. 2015. Nitrogen standing stock in *Phragmites australis* growing in constructed wetlands-Do we evaluate it correctly? *Ecol. Eng.* 74, 286-289.

Chen, Y., Wen, Y., Zhou, Q., Vymazal, J. 2014. Effects of plant biomass on nitrogen transformation in subsurface-batch constructed wetlands: A stable isotope and mass balance assessment. *Water Res.* 63, 158-167.

Ding, Y., Wang, W., Song, X., Wang, Y. 2014. Spatial distribution characteristics of environmental parameters and nitrogenous compounds in horizontal subsurface flow constructed wetland treating high nitrogen-content wastewater. *Ecol. Eng.* 70, 446-449.

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

Henze, M., Harremoës, P., Jansen, J., Arvin, E. 2002. Wastewater treatment; Biological and chemical processes. In *Environmental Engineering*. Springer-Verlag, Heidelberg, 430pp.

López, D., Fuenzalida, D., Vera, I., Rojas, K., 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.

Malecki-Brown, L., White, J., Brix, H. 2010. Alum application to improve water quality in a municipal wastewater treatment wetland: Effects on macrophyte growth and nutrient uptake. *Chemosphere*, 79, 186-192.

Mander, U., Teiter, S., Kuusemets, V., Lõhmus, K., Öövel, M., Nurk, K., Augustin, J. 2003. Nitrogen and phosphorus budgets in a subsurface flow wastewater treatment wetland. In: Water Resource Management II. Edited by: C.A. Brebbia, Wessex Institute of Technology, UK. 524 p.

McJannet, C., Keddy, P., Pick, F. 1995. Nitrogen and phosphorus tissue concentrations in 41 wetland plants: a comparison across habitats and functional groups. *Funct. Ecol.* 231-238.

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

Rai, U., Upadhyay, A., Singh, N., Dwivedi, S., Tripathi, R. 2015. Seasonal applicability of horizontal sub-surface flow constructed wetland for trace elements and nutrient removal from urban wastes to conserve Ganga River water quality at Haridwar, India. *Ecol. Eng.* 81, 115-122.

Rodríguez, M., Brisson, J. 2015. Pollutant removal efficiency of native versus exotic common reed (*Phragmites australis*) in North American treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 74, 364-370.

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

Tanner, C. 2001. Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 11-12.

Tanner, C. C. 1996. Plants for constructed wetland treatment systems—a comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecol. Eng.* 7, 59-83.

Vera, I., Araya, F., Andrés, E., Saez, K., Vidal, G. 2014. Enhanced phosphorus removal from sewage in mesocosm-scale constructed wetland using zeolite as medium and artificial aeration. *Environ. Technol.* 35, 1639-1649.

Vohla, C., Poldvere, E., Noorvee, A., Kuusemets, V., Mander, Ü. 2005. Alternative filter media for phosphorus removal in a horizontal subsurface flow constructed wetland. *J. Environ. Sci. Heal.* 40, 1251-1264.

Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2005. Growth of *Phragmites australis* and *Phalaris arundinacea* in constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 25, 606-621.

Vymazal, J., 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. 2011. Long-term performance of constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: Ten case studies from the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 37, 54-63.

Wallace, S., Knight, R. 2006. Small-scale constructed wetland treatment systems: Feasibility, Design Criteria, and O&M Requirements, Final Report, Project 01-CTS-5, Water Environment Research Foundation, Alexandria, Virginia, USA.

Weller, N., Childers, D., Turnbull, L., Upham, R. 2015. Aridland constructed treatment wetlands I: Macrophyte productivity, community composition, and nitrogen uptake. *Ecol. Eng.* (in press).

Zhao, Y., Xia, X., Yang, Z. 2013. Growth and nutrient accumulation of *Phragmites australis* in relation to water level variation and nutrient loadings in a shallow lake. *J. Environ. Sci.* 25, 16-5.



CAPITULO VI



HUMEDALES CONSTRUIDOS CON PLANTAS ORNAMENTALES PARA EL TRATAMIENTO DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES CONTENIDOS EN AGUAS SERVIDAS

Morales, G., **López, D.**, Vera, I., Vidal, G. (2013). *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* in constructed wetlands: development and nutrient uptake. *Theoria*, 22: 33-46.

Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas

Constructed wetlands with ornamental plants for removal of organic matter and nutrients contained in sewage

Morales, G., **López, D.**, Vera, I., Vidal, G.

Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental, Facultad de Ciencias Ambientales & centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. Tel.: +56-041-220 4067. Fax: +56-041-2661033. (E-mail: glvidal@udec.cl).



Corresponding author: glvidal@udec.cl

Resumen

Los humedales construidos es una tecnología viable para tratar aguas servidas en el sector rural debido a su bajo costo de operación y simplicidad en el manejo tecnológico. Además es importante destacar que la eficiencia en la eliminación de materia orgánica y nutrientes es de hasta 95% y 60%, respectivamente. Sin embargo, la mayoría de investigaciones se han centrado en la funcionalidad de plantas comunes tales como, *Phragmites* spp., *Typha* spp., *Schoenoplectus* spp. Pese al amplio uso de estas especies, es importante evaluar la utilización de especies ornamentales tales como, *Zantedeschia aethiopica*, *Canna* spp. e *Iris* spp. para aumentar a esta tecnología los beneficios ambientales y paisajísticos.

Debido a lo antes indicado, el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica que muestre la factibilidad de usar humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales para la eliminación de materia orgánica y nutrientes contenidos en las aguas servidas. Preliminarmente es posible indicar que las plantas ornamentales han mostrado una eficiencia de eliminación de materia orgánica medida como Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días (DBO5) variando entre 70 y 93%, mientras que en el caso de los nutrientes, la eliminación de Nitrógeno Total (NT) varía entre 45 y 73% y de Fósforo Total (PT) entre 40 y 80%. Debido a estos valores de eliminación, es posible concluir que los humedales construidos con plantas ornamentales pueden realizar un tratamiento de las aguas servidas en condiciones similares a las presentadas por plantas comunes. Sin embargo, las plantas ornamentales entregan un valor estético al entorno, junto a un posible beneficio económico para la población usuaria del sistema.

Palabras claves: aguas servidas, humedales construidos, materia orgánica, nutrientes, plantas ornamentales.

Abstract

The Constructed wetlands are a viable sewage treatment in rural areas because of its low cost of operation and simplicity in management technology. Moreover it is noteworthy that the efficiency of removal of organic matter and nutrients is up to 95 % and 60 %, respectively. However, most research has focused on the functionality of common plants such as *Phragmites spp.*, *Typha spp.*, *Schoenoplectus spp.* Despite the widespread use of these species, it is important to evaluate the use of ornamental species such as, *Zantedeschia aethiopica*, *Canna spp.* and *Iris spp.*, because this technology to enhance the environmental and landscape benefits.

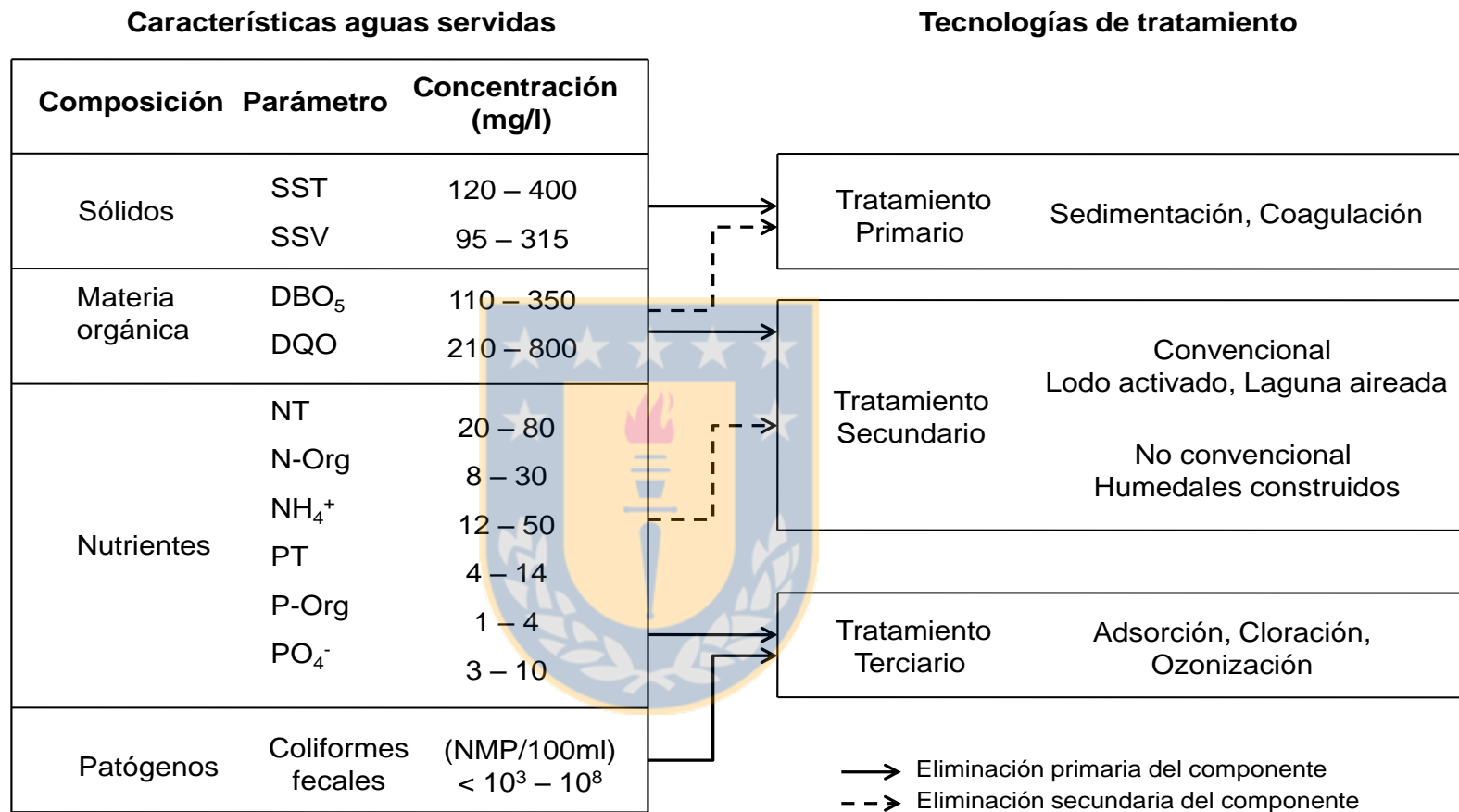
Due to this, the aim of this paper is to make a review that shows the feasibility of using subsurface flow constructed wetlands planted with ornamental species for the removal of organic matter and nutrients in sewage. Preliminarily, it is possible to indicate that the ornamental plants have shown an efficiency of removal of organic matter measured as Biochemical Oxygen Demand after 5 days

(BOD₅) varying between 70 and 93 % , while in the case of nutrients, removal of Total Nitrogen (NT) varies between 45 and 73 %, and Total Phosphorus (TP) between 40 and 80 %. Because of these, it can be concluded that the constructed wetlands with ornamental plants can treat a sewage in similar to those presented by common plant conditions. Moreover, ornamental plants delivered an aesthetic value to the environment, with potential economic benefit to the users of the system.

Keywords: constructed wetlands, sewage, nutrients, organic matter, ornamental plants.

1. INTRODUCCION

Las aguas servidas generadas por las comunidades contienen diversos compuestos entre los que se destacan la materia orgánica y los nutrientes. La descarga de estos compuestos contenidos en el agua servida genera efectos negativos en los ecosistemas acuáticos receptores (Habit *et al.*, 2005; Vera *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2013). Debido a lo anterior, la implementación de un sistema de tratamiento para su eliminación es necesaria. Al respecto, la Figura 1 muestra una relación entre las características de las aguas servidas y las tecnologías empleadas en las distintas etapas aplicadas al tratamiento. En Chile, para el tratamiento secundario de aguas servidas en zonas urbanas, se han utilizado tecnologías convencionales como los lodos activados (61%) y las lagunas aireadas (23%) (Baraño y Tapia, 2004). Sin embargo, no existe una definición de tecnología para áreas de baja densidad poblacional o de población dispersa, como son las zonas rurales.



Donde: SST: Sólidos suspendidos totales, SSV: Sólidos suspendidos volátiles, DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días, DQO: Demanda Química de Oxígeno, NT: Nitrógeno total, N-Org: Nitrógeno orgánico, NH₄⁺: Amonio, PT: Fósforo total, P-Org: Fósforo orgánico, PO₄⁻: Fosfato, NMP: Número más Probable.

Figura 1. Características y tecnologías utilizadas en el tratamiento de aguas servidas.

Al respecto, internacionalmente se ha recomendado el uso de tecnologías no convencionales o naturales como los humedales construidos. Esta es una tecnología de tratamiento de aguas residuales (entre las que se incluyen las aguas servidas) que consiste en lagunas o canales poco profundos (de menos de 1 m) plantados con especies vegetales típicas de zonas húmedas (García y Corzo, 2008). En ellos, el tratamiento de las aguas servidas es el resultado de una serie de fenómenos fisicoquímicos y biológicos (Kadlec y Wallace, 2009; Vera *et al.*, 2011). Actualmente, la aplicación de estos sistemas se encuentra en crecimiento en todo el mundo debido a sus bajos costos de inversión (0,0035 M\$/hab), consumo energético mínimo (0,1 Kw-h/m³), simplicidad de operación, ya que requieren un poco tiempo de trabajo de operario (0,6 h/d), baja generación de lodos y la provisión de hábitat para la vida silvestre (García *et al.*, 2001; García *et al.*, 2004; Rojas, 2012; Tanner, 2006; Vymazal y Kröpfelová, 2008). Sin embargo, pueden necesitar hasta 10 veces más superficie (0,5-20 m²/hab) que un sistema de lodos activados (0,2-0,3 m²/hab). Por esta razón, su aplicación principal es para las zonas rurales (de baja densidad poblacional), puesto que se tiene la disponibilidad de terreno a un precio asequible (García, 2004).

Estos sistemas se pueden clasificar de acuerdo a diversos criterios. La Figura 2 muestra una clasificación de humedales construidos para el tratamiento de aguas servidas basada en la circulación y dirección del flujo de agua. Además, la Figura 2 muestra los tipos de macrófitas (plantas) empleadas por cada tipo de humedal. De forma general se puede hablar de humedal sin medios de soporte (Humedales Superficiales, HS) y humedales con medios de soporte. Estos últimos, se dividen en humedales de flujo subsuperficial horizontal (HSS) y de flujo subsuperficial vertical (VSS). Los humedales con medios de soporte (HSS y HV) ofrecen dos ventajas respecto a los humedales sin medios (HS): a) evitar la exposición de agentes contaminantes durante el tratamiento, y b) funcionar bien en temperaturas ambientales de congelamiento (<4°C). En el caso de la vegetación, esta puede ser flotante, sumergida y emergente, y su aplicación cómo lo muestra la Figura 2, depende de la circulación del agua (Kadlec y Wallace, 2009).

De otro lado, la Tabla 1 muestra el comportamiento comparativo de los diferentes tipos de humedales construidos (Figura 2), respecto a tecnologías convencionales de tratamiento (lodos activados y lagunas aireadas), en cuanto a algunas características de energía, carga orgánica y

eficiencias de eliminación de materia orgánica (DBO₅) y nutrientes (NT y PT). De esta forma, los humedales construidos presentan eliminación de DBO₅, NT y PT, que puede variar entre 30 y 95%, 30 y 60%, y entre 10 y 60%, respectivamente. Estos valores son comparativamente similares a los valores alcanzados por las tecnologías convencionales (lodos activos y laguna aireada) (Tabla 1). Debido a esto, los humedales construidos se convierten en una alternativa eficaz en la eliminación de materia orgánica y nutrientes contenidos en el agua servida.

Uno de los valores que diferencian a un humedal construido respecto a una tecnología convencional, es el valor estético dado por las plantas. Las plantas utilizadas comúnmente en humedales construidos, corresponde a especies típicas de humedales naturales, como espadaña (*Typha spp.*), caña (*Phragmites spp.*) y junco (*Schoenoplectus spp.*) (Belmont *et al.*, 2004). Sin embargo, estudios recientes han evaluado la posibilidad de sustituir estas especies por macrófitas ornamentales con un valor comercial de sus flores, como son *Zantedeschia aethiopica*, *Canna spp.* *elris spp.* (Zurita *et al.*, 2011).

Por lo expuesto, el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica que muestre la factibilidad de usar humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales para la eliminación de materia orgánica y nutrientes contenidos en las aguas servidas.

1.2 Humedales construidos de flujo subsuperficial

Los humedales de flujo subsuperficial son sistemas en los que el agua circula de manera subterránea, a través de un medio granular y en contacto con las raíces y rizomas de las plantas. La Figura 3 muestra un corte longitudinal de los tipos de humedales construidos de flujo subsuperficial. Como medio granular suele usarse desde arena gruesa (D₁₀=2 mm) hasta grava gruesa (D₁₀=128 mm) (Crites *et al.*, 2006). Adherida al medio de soporte y a las raíces y rizomas de las plantas se forma una biopelícula, que tiene un papel fundamental en los procesos de descontaminación (Stottmeister *et al.*, 2003).

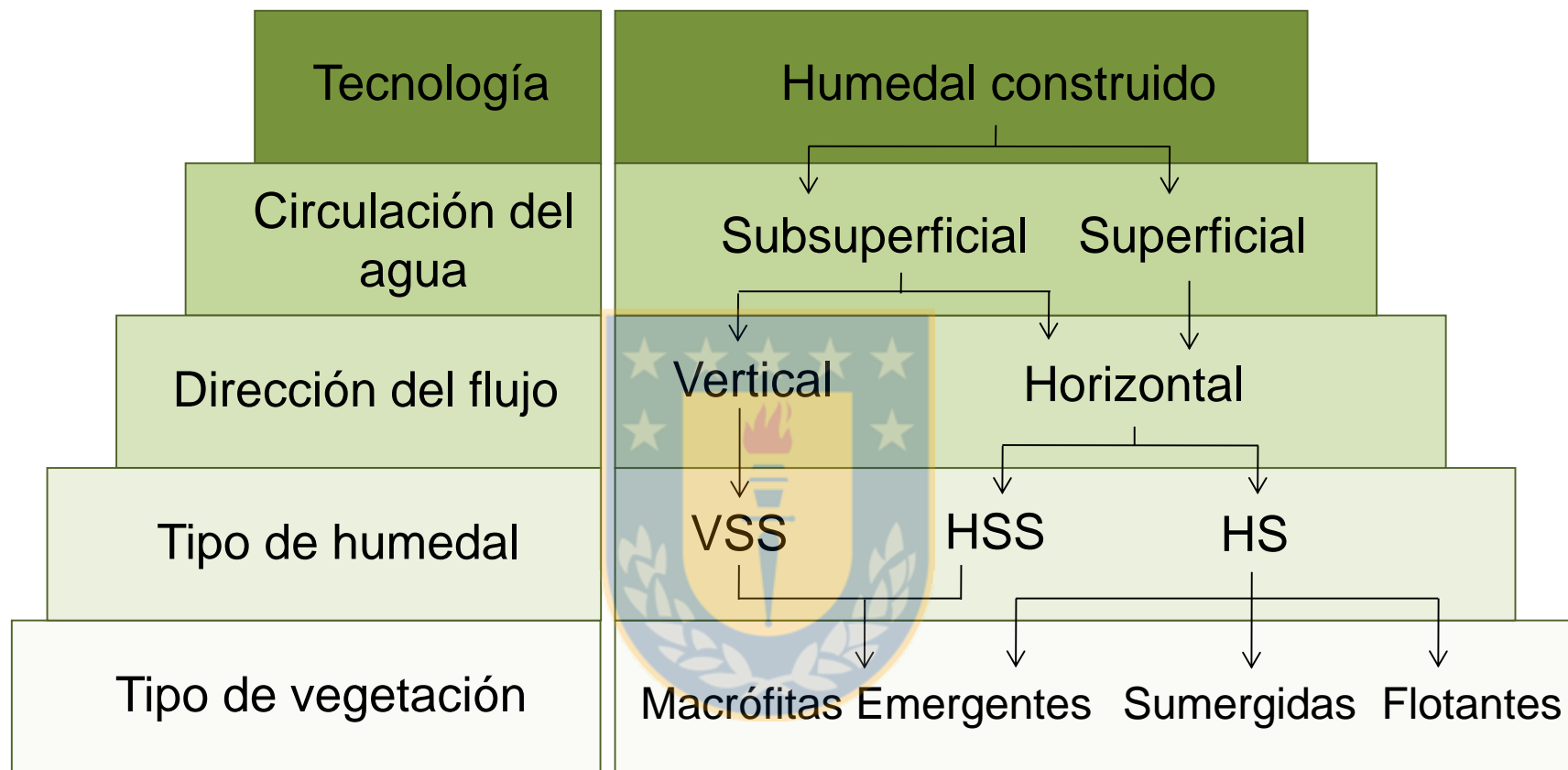
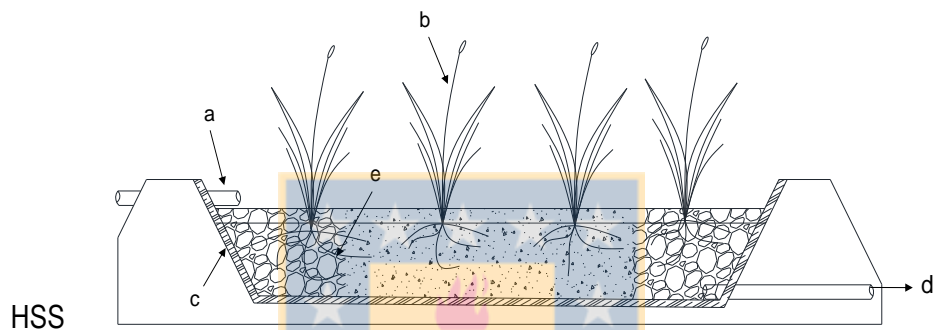
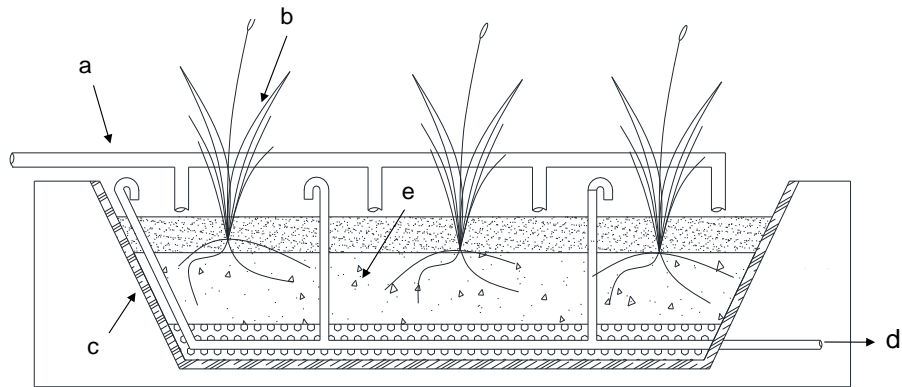


Figura 2. Clasificación de humedales construidos para el tratamiento de aguas servidas. Donde: HS: Humedal superficial, HSS: Humedal de flujo subsuperficial horizontal, VSS: Humedal de flujo subsuperficial vertical.

Tabla 1. Características de tecnologías convencionales y no convencionales utilizadas en el tratamiento de aguas servidas.

Tecnología	Características de la Tecnología y parámetros de operación				Eficiencias de eliminación y concentraciones efluentes						Ref.
	Área unitaria	Potencia instalada	TRH	Carga orgánica	DBO ₅		NT		PT		
	(m ² /hab)	(W/hab)	(d)	(gDBO ₅ /m ² d)	(%)	mg/l	(%)	mg/l	(%)	mg/l	
L	0,2 – 0,3	0,13 – 2,8	0,1 – 0,6	0,25 – 0,7*	85 - 95	10 - 30	30 - 40	15 - 35	30 - 45	4 – 10	[3,6]
LA	0,2 – 0,5	1,0 – 1,7	3 – 9	2,2 – 35	75 - 90	9 - 21	30 - 50	5 – 24	20 - 60		[3,5]
HS	5 – 20	-	5 – 15	1 – 12	54 - 88	5 - 50	30 - 60	10 - 40	10 - 50	0,5 - 11	[1,2,6]
VSS	0,8 – 5,5	-	1 – 2	10 – 25	30 - 95	5 - 100	35 - 55	35 - 75	10 - 60	4 - 12	[1,2,6]
HSS	3 – 10	7800	2 – 10	3 – 15	75 - 95	6 - 60	30 - 60	10 - 80	10 - 60	2-12	[1,2,4,6]

Referencias: [1] Brixet *et al.* (2007), [2] Crites *et al.* (2006), [3] Metcalf y Eddy (2003), [4] Rojas (2012), [5] Von Sperling (2007), [6] Vymazal (2005).*(kgDBO₅/m³d).TRH: Tiempo de retención hidráulica, DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, L: Lodo activado convencional, LA: Laguna facultativa aireada, HS: Humedal superficial, HSS: Humedal de flujo subsuperficial horizontal, VSS: Humedal de flujo subsuperficial Vertical.



a) Estructuras de entrada, b) Vegetación emergente c) Impermeabilización, d) Estructuras de salida, e) Medio granular.

Figura 3: Corte de humedales construidos de flujo subsuperficial vertical (VSS) y horizontal (HSS).

En los VSS, la circulación del agua es de tipo vertical y su aplicación se realiza en pulsos, de manera que no están permanentemente inundados. La profundidad del medio granular varía entre 0,5 y 0,8 m. Operan con cargas superiores a los HSS (entre 10 y 25 gDBO₅/m² d, Tabla 1), pero son más susceptibles a la colmatación (García, 2004). Estos sistemas presentan tasas de transferencias de oxígeno entre 10 y 24 mg O₂/m²·d, las que son superiores a las de los sistemas HSS (2,1 – 5,7 mg O₂/m²·d), produciendo efluentes más oxigenados (Crites *et al.*, 2006).

En los HSS, el agua circula horizontalmente a través del medio granular y las raíces de las plantas. La profundidad puede variar entre 0,3 y 1,0 m (Crites *et al.*, 2006). Se caracterizan por funcionar permanentemente inundados, con una lámina de agua que se encuentra entre 0,05 y

0,1 m por debajo de la superficie. Soportan cargas orgánicas que varían entre 3 y 15 gDBO₅/m²d (Tabla 1), siendo comúnmente recomendadas cargas de alrededor de 6 gDBO₅/m²d (García y Corzo, 2008).

1.3 Eliminación de materia orgánica y nutrientes en humedales construidos

En los humedales construidos, la descontaminación se lleva a cabo mediante procesos físicos, químicos y biológicos que incluyen, sedimentación, adsorción, asimilación por las plantas y transformaciones microbianas (Stottmeister *et al.*, 2003).

En relación a la materia orgánica, ésta puede estar dividida en particulada y disuelta. La eliminación de la materia orgánica particulada, se produce por filtración, cerca de la entrada de los HSS y cerca de la superficie en los VSS (Cooper *et al.*, 1996). En tanto que, la materia orgánica disuelta, es degradada por vías aeróbicas y anaeróbicas. La degradación aeróbica es llevada a cabo por bacterias heterótrofas aeróbicas y se produce cerca de las raíces de las plantas, debido a la disponibilidad de oxígeno allí existente (Aguirre, 2004). Por otro lado, de manera anaeróbica, bacterias fermentativas facultativas crecen originando substratos, que son degradados por microorganismos sulfato reductores y metanogénicos (García y Corzo, 2008). Los valores de concentración efluente que se obtienen con humedales de tipo subsuperficial se resumen en la Tabla 1.

Los mecanismos de eliminación, en el caso del nitrógeno, dependen de la forma en que éste se encuentre en el humedal, pudiendo presentarse como nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal (NH₄⁺) o nitrógeno oxidado (NO₂⁻ y NO₃⁻) (Aguirre, 2004). La mayor parte del nitrógeno, entre 60 y 90%, es eliminado por vía microbiana a través de la nitrificación-denitrificación (Plaza de los Reyes *et al.*, 2011). No obstante, también se incluyen procesos como, la volatilización de amonio, la adsorción de amonio, los procesos de Anammox (sigla del inglés “Anaerobic ammonium oxidation”) y la mineralización de nitrógeno orgánico (Vymazal, 2007). En cuanto a la asimilación por las plantas, esta varía entre 10 y 15%, cuando se tratan aguas servidas de concentración normal (Figura 1) (García *et al.*, 2004). La concentración de NT en el efluente tratado,

generalmente es mayor a 10 mg/l, lo que corresponde a una eliminación de entre 40 y 60% (Tabla 1) (Vymazal, 2007; Vera *et al.*, 2011).

En la eliminación del fósforo, los mecanismos bióticos incluyen la asimilación por las plantas y microorganismos. Los abióticos abarcan, la adsorción por el medio granular, precipitación, filtración y sedimentación (Vymazal, 2007; Kadlec y Wallace, 2009). El potencial de eliminación es limitado y está asociado a las propiedades fisicoquímicas e hidrológicas del medio de soporte, ya que el fósforo, es eliminado en hasta un 90% por adsorción (Brix *et al.*, 2001). La incorporación al tejido vegetal, representa entre 5 y 10% de la eliminación de PT (Vymazal, 2007; Wallace y Knight, 2006). En general, la eliminación del fósforo resulta compleja, debido a la escasa movilidad que presentan los compuestos que lo contienen. Así, no suele ser más de 60%, siendo común un valor inferior a 20% y con una concentración efluente de 2 a 12 mg/l (Tabla 1).

1.4 Plantas utilizadas en humedales construidos

Las plantas son un componente esencial en el diseño y operación de un humedal construido (Konnerup *et al.*, 2009). Entre la diversidad de funciones que proveen, se cuentan: a) promover el asentamiento y la retención de sólidos en suspensión (Aguirre, 2004), b) proporcionar superficie para el desarrollo de biopelículas microbianas (Bécares, 2004), y c) transportar oxígeno a su zona radicular (Vymazal, 2011). Adicionalmente, generan una vinculación con la vida silvestre al proveer hábitats, y mejoran estéticamente los lugares donde se implantan (Tanner *et al.*, 2006). Para su utilización en humedales construidos, las plantas deben tener ciertas características, como son: a) ser tolerantes a altas cargas orgánicas (entre 3 y 25 gDBO₅/m²d), b) tener abundantes raíces y rizomas, y c) poseer biomasa aérea alta para asimilar nutrientes (Vymazal, 2011).

Una de las plantas más utilizada es *Phragmites australis* (Caña) (García y Corzo, 2008). Esta planta presenta distribución cosmopolita y rápidas tasas de propagación (hasta 10 m/año). Sus tallos alcanzan alturas de casi 5 m en etapa madura y desarrolla abundantes rizomas y raíces, penetrando hasta 1 m de profundidad. Debido al desarrollo del sistema radicular, se ha

observado que esta especie presenta una elevada transferencia de oxígeno variando entre 0,02 y 12 g/m²d (Borin, 2003; Kadlec y Wallace, 2009; Vymazal, 2011; Wallace y Knight, 2006).

Asimismo, son empleadas, especies de los géneros *Typha* (Espadaña) y *Schoenoplectus* (Junco). Estas pueden crecer hasta profundidades de 0,6 m. Sus tallos alcanzan alturas de 3 m en etapa madura. Se propagan mediante rizomas con una tasa de 0,3 m/año, siendo capaces de desarrollarse a temperaturas entre 10 y 30°C (Borin, 2003; Wallace y Knight, 2006; USDA, 2012).

1.5 Plantas ornamentales utilizadas en humedales construidos

Además de las plantas antes mencionadas, en la actualidad, se ha recomendado la utilización de especies ornamentales para humedales construidos. Esto se deba a que las plantas ornamentales pueden mejorar la infraestructura del sistema de tratamiento, dándole mayor realce estético, y posiblemente otorgar beneficios económicos a la comunidad a través de la producción de flores de corte para su comercialización. Este beneficio económico permitiría recuperar parte de los recursos invertidos en la construcción y mantenimiento del sistema (Belmont *et al.*, 2004). Así, se ha documentado la utilización de más de 60 especies ornamentales y locales (Vymazal, 2011). Dentro de las plantas estudiadas en sistemas subsuperficiales se encuentran:

a) *Zantedeschia aethiopica*: de nombre común Cala, es una planta herbácea perenne. Crece en áreas con abundante agua. Se distribuye en todas las regiones subtropicales del mundo, con temperaturas entre 12 y 25 °C, aunque soporta las heladas. Alcanza los 1,5 m de altura y produce de 2 a 3 flores blancas por cada bulbo (Sacoto, 2010).

b) *Canna* spp.: denominadas Achiras, son plantas de rizoma corto y robusto que pueden alcanzar los 3 m de altura. Se distribuyen a lo largo de regiones subtropicales, desde Estados Unidos hasta Argentina. Se han cultivado para la decoración ya que poseen flores de color rojo oscuro a amarillo (Maas-Van de Kamer y Maas, 2008).

c) *Iris* spp.: comúnmente llamadas Lirios. *Iris pseudacorus* (Lirio amarillo), es una de la más utilizadas. Es una hierba perenne de hasta 1,5 m de altura, con un rizoma robusto. Se encuentra en cuerpos de agua de toda Europa, en el Medio Oriente y África norte. Las especies, *Iris*

versicolor e *Iris sibirica* también son utilizadas en humedales construidos en América del Norte y en Europa, respectivamente (Vymazal, 2011).

La Tabla 2 muestra una caracterización de plantas comunes y ornamentales utilizadas en humedales construidos de flujo subsuperficial. Dichas plantas, poseen características propias de su especie, las que son necesarias a considerar para su utilización en humedales construidos. En relación a las tasas de propagación, las especies que colonizan lentamente, como *Iris pseudacorus* (0,06 m/año), precisan mantener un mayor stock de plantas. La profundidad de penetración de plantas ornamentales varía entre 10 y 20 cm, la que es menor a la de macrófitas como *Phragmites australis*, cuyas raíces pueden llegar hasta 1m de profundidad. Por otro lado, la altura máxima alcanzada por plantas ornamentales, de entre 1,2 y 3 m, es inferior a la de macrófitas comunes, que varían entre 3 y 5 m. Respecto a la calidad del agua, plantas ornamentales toleran bajas concentraciones de salinidad (0-0,5 ppt), en relación a las especies comúnmente utilizadas (0-20 ppt).

La Tabla 3 presenta las eficiencias de eliminación alcanzadas para humedales subsuperficiales que emplearon especies ornamentales. Considerando que sistemas plantados con *Phragmites* spp., *Typha* spp. y *Schoenoplectus* spp., presentan valores de eliminación promedio entre 30 y 95% para DBO₅, y entre 10 y 60% para nutrientes (NT y PT). La Tabla 3 muestra como sistemas de humedales subsuperficiales plantados con especies ornamentales pueden alcanzar eficiencias similares, pese a las diferentes características descritas en el párrafo anterior y resumidas en la Tabla 2 (Konnerup, 2009, Zurita *et al.*, 2006).

Tabla 2. Caracterización de plantas comunes y ornamentales utilizadas en humedales construidos de flujo subsuperficial.

Planta ornamental		Características							
Familia	Nombre Científico	Nombre común	Método de propagación	Tasa de propagación (m/año)	Profundidad implantación (cm)	Rango de salinidad (ppt)	Rango de Temperatura (°C)	Altura máxima (m)	Ref
Comunes									
<i>Poaceae</i>	<i>Phragmites</i> spp.	Carrizo	Rizoma	Rápida	60 - 100	0 - 20	12 - 33	5	[1,6,7,8]
<i>Typhaceae</i>	<i>Typha</i> spp.	Espadaña	Rizoma	Muy Rápida (> 30)	30 - 40	0 - 0,5	10 - 30	3	[1,6,7,8]
<i>Cyperaceae</i>	<i>Schoenoplectus</i> spp.	Junco	Rizoma	Moderada (0,15)	70 - 80	0 - 5	16 - 27	3	[1,6,7,8]
Ornamentales									
<i>Araceae</i>	<i>Zantedeschia aethiopica</i>	Cala	Rizoma	Lenta	10 - 15		12 - 25	1,5	[4]
<i>Canaceae</i>	<i>Canna</i> spp.	Achira	Rizoma	Rápida	20	0	10 - 25	3	[1,3,8]
<i>Iridaceae</i>	<i>Iris</i> spp.	Lirio	Rizoma	Lenta (0,06)	15	0 - 0,5	10 - 20	1,2	[1,8]
<i>Cyperaceae</i>	<i>Cyperus</i> spp.	Papiro	Rizoma	Rápida	30	0 - 18	18 - 33	1,8	[1,2,5,8]

Referencias: [1] Borin (2003); [2] Heers (2006); [3] Maas-Van de Kamer y Maas (2008); [4] Sacoto (2010), [5] Tanner (2006), [6] USDA (2012), [7] Vymazal (2011), [8] Wallace y Knight (2006).

Tabla 3. Eficiencias de eliminación de humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales para tratamiento de aguas servidas.

Tipo y parámetros de operación del humedal			Eficiencias de eliminación y concentraciones efluentes					Referencia	
Tipo	Plantas	TRH	DBO ₅		NT		PT		
		(d)	(%)	mg/l	(%)	mg/l	(%)		mg/l
HSS	<i>Canna hybrids</i>	4			31 - 43	15.4 - 18.6	26 - 44	15 - 20	Konnerup <i>et al.</i> , 2009
	<i>Heliconia psittacorum</i>				6 - 22	8 - 9	4 - 22	8 - 9	
HSS	<i>Strelitzia reginae</i>	4	70 - 78	11 - 15	70 - 76	12 - 15	69 - 73	11 - 13	Zurita <i>et al.</i> , 2006
	<i>Zantedeschia aethiopica</i>		77 - 81	10 - 12	80 - 82	9 - 10	75 - 82	8 - 10	
	<i>Canna hybrids</i>		78 - 83	9 - 11	74 - 82	9 - 13	75 - 81	8 - 10	
	<i>Agapanthus africanus</i>		60 - 71	15 - 20	61 - 73	13 - 19	70 - 74	10 - 12	
	<i>Hemerocallis dumortieri</i>		63 - 74	13 - 19	74 - 78	11 - 13	69 - 73	11 - 13	
HSS	<i>Zantedeschia aethiopica</i>	4	76 - 82	21 - 28	48 - 61	11 - 15	45 - 54	4 - 5	Zurita <i>et al.</i> , 2008
VSS			75 - 86	16 - 28	43 - 53	13 - 16	46 - 60	3 - 4	
HSS	<i>Zantedeschia aethiopica</i>	4	73 - 79	21 - 28	48 - 60	11 - 15	41 - 48	3 - 5	Zurita <i>et al.</i> , 2009
VSS			78 - 83	16 - 28	42 - 54	13 - 16	46 - 53	3 - 4	
HSS	<i>S. reginae</i> , <i>A. africanus</i> , <i>Anthurium andreanum</i>	4	77 - 83	18 - 25	46 - 58	12 - 15	33 - 39	4 - 5	Zurita <i>et al.</i> , 2009
VSS			80 - 86	14 - 23	44 - 57	13 - 16	47 - 54	3 - 4	

Donde: TRH: Tiempo de Retención Hidráulico, DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, HSS: Humedal de flujo Subsuperficial horizontal, VSS: Humedal de flujo subsuperficial Vertical.

Las especies ornamentales *Zantedeschia aethiopica* (Cala), *Strelitzia reginae* (Ave del paraíso), *Anthurium andraenum* (Flor de flamenco), *Agapanthus africanus* (Agapanto) y *Hemmerocallis dumortieri* (Lirio de día) fueron estudiadas en sistemas HSS y VSS a escala de laboratorio. Al respecto, la eliminación de materia orgánica (DBO₅) y nutrientes (NT y PT) fue superior al 70%. Comparativamente, las especies *Z. aethiopica* y *C. hybrids* mostraron una mejor tasa de crecimiento respecto de las otras tres especies. Lo anterior se manifestó en la producción del número de flores y brotes por planta, siendo más alta en *Z. aethiopica*, con alrededor de 6 brotes y 10 flores producidas. En tanto, *C. hybrids*, produjo hasta 3 flores y 4 brotes por planta (Zurita *et al.*, 2006). Asimismo, en sistemas HSS y VSS a escala piloto que utilizaron tres de estas especies, las eliminaciones promedio fueron de hasta 80,52 y 50%, para DBO₅, NT y PT, respectivamente (Zurita *et al.*, 2009).

La especie *Z. aethiopica* fue estudiada de forma independiente en sistemas VSS y HSS a escala piloto alimentados con aguas servidas. Los valores efluentes promedio que se obtuvieron fueron de 23, 14 y 4 mg/l para DBO₅, NT y PT, respectivamente. Estos valores son similares a los alcanzados por sistemas con especies comunes y muestran la factibilidad de usar esta especie en los dos tipos de humedales subsuperficiales (Zurita *et al.*, 2008).

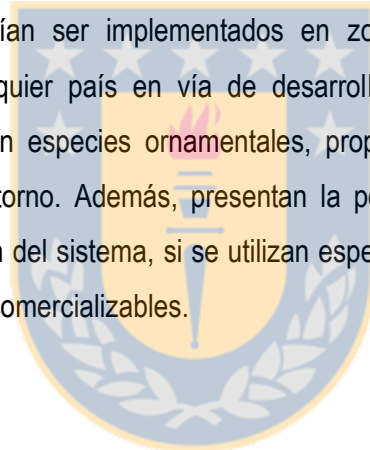
Además, se documentó que las especies *Heliconia psittacorum* (Platanillo) y *Canna generalis*, tuvieron un buen desarrollo durante el tratamiento de aguas servidas también a escala piloto. La eliminación de nutrientes, en sistemas con *Canna generalis*, varió entre 31 y 43%, y entre 26 y 44% para NT y PT, respectivamente. En comparación con sistemas de humedales que usaron *H. psittacorum*, que mostraron eficiencias de hasta 22% para NT y PT, podría concluirse que la especie *C. generalis* presenta un mejor comportamiento depurativo (Konnerup *et al.*, 2009).

Debido a los buenos resultados a escala piloto y laboratorio, existen reportes recientes del uso de especies ornamentales en sistemas de humedales construidos (HS, VSS y HSS) a escala real, obteniéndose como principal ventaja el mejoramiento paisajístico. En este sentido, las macrófitas, *Canna*, *Heliconia* y *Papyrus*, empleadas en estos escalamientos reales, han registrado valores de efluentes de 25 mg/l para DBO₅ y 11 mg/l para PT (Brix *et al.*, 2011). De igual manera, humedales del tipo VSS a escala real fueron plantados con una mezcla entre especies comunes

y ornamentales (*I. pseudacorus*), alcanzando eliminaciones de hasta 20 y 44% para NT y PT, respectivamente (Xie *et al.*, 2011).

2. CONCLUSIONES

De acuerdo a los diferentes estudios revisados se puede concluir que es posible sustituir las plantas comunes (*Phragmites* spp., *Typha* spp., *Schoenoplectus* spp.) por especies ornamentales como *Zantedeschia*, *Canna* spp. e *Iris* spp., en humedales construidos, sin afectar las eficiencias de eliminación para materia orgánica y nutrientes de hasta 86 y 80% para DBO₅ y nutrientes (NT y PT), respectivamente. Así, los humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales, podrían ser implementados en zonas rurales y de baja densidad poblacional, de Chile o cualquier país en vía de desarrollo. Estos sistemas de humedales subsuperficiales plantados con especies ornamentales, proporcionan como principal valor un mejoramiento estético del entorno. Además, presentan la posibilidad de obtener un beneficio económico para la mantención del sistema, si se utilizan especies ornamentales que permitan la producción de flores de corte comercializables.



BIBLIOGRAFIA

Aguirre, P. (2004), Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial. En: GARCÍA J, MORATÓ J, BAYONA J (eds). (2004), Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos. Barcelona: CPET, pp 17-30.

Barañao, P., Tapia, L. (2004), Tratamiento de las aguas servidas: Situación en Chile. Ciencia y Trabajo 6:111-117.

Bécares, E. (2004), Función de la vegetación y procesos de diseño de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal y flujo superficial. En: GARCÍA J, MORATÓ J, BAYONA J (eds). Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos. Barcelona: CPET, pp 51-62.

Belmont, M., Cantellano, E., Thomps, S., Williamson, M., Sánchez, A., Metcalfe, C. (2004), Treatment of domestic wastewater in a pilot-scale natural treatment system in central Mexico. Ecological Engineering 23:299-311.

Borin, M. (2003), Fitodepurazione: Soluzioni per il trattamento dei relui con le piante, Bologna: Edagricole, pp 197.

Brix, H., Arias, C., Bubba, M. (2001), Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. Water Science and Technology 44:47-54.

Brix, H., Schierup, H., Arias, C. (2007), Twenty years experience with constructed wetland systems in Denmark – what did we learn?. Water Science and Technology 56:63-68.

Brix, H., Koottatep, T., Fryd, O., Laugesen, C. (2011), The flower and the butterfly constructed wetland system at Koh Phi Phi—System design and lessons learned during implementation and operation. Ecological Engineering 37:729-735.

Crites, R.; Middlebrooks, J.; Reed, S. (2006), Natural wastewater treatment systems. Boca Raton: Taylor & Francis Group, pp 537.

García, J. Mujeriego, R., Obis J., Bou, J. (2001), Wastewater treatment for small communities in Catalonia (Mediterranean region). Water Policy 3:341-350.

García, J. (2004), Humedales construidos para controlar la contaminación: perspectiva sobre una tecnología en expansión. En: García J, Morató J, Bayona J (eds). Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos. Barcelona: CPET, pp 7-16.

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

García, J., Corzo A. (2008), Depuración con humedales construidos: Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial, Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental de la Universidad Politécnica de Catalunya, pp 108.

Habit, E., Parra, O., Valdovinos, C. (2005), Ictiofauna de un sistema fluvial receptor de aguas servidas: Respuestas a una planta de tratamiento (Río Quinchilca, Chile). *Gayana* 69:94–103.

Heers, M., (2006), Constructed wetlands under different geographic conditions: Evaluation of the suitability and criteria for the choice of plants including productive species. Master thesis Department of Environmental Engineering, Faculty of Life Sciences, Hamburg University of Applied Sciences, Germany, pp 166.

Kadlec, R., Wallace, S. (2009), *Treatment Wetlands*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, pp 1016.

Konnerup, D., Koottatep, T., Brix, H. (2009), Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*. *Ecological Engineering* 35: 248–257.

Maas-Van DE Kamer, H., Maas, P. (2008), The Cannaceae of the world. *Blumea* 53:247–318.

Metcalf, L., Eddy, H. (2003), *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th Edition, New York: McGraw-Hill, pp 1819.

Plaza De Los Reyes, C., Vera, I., Salvato, M., Borin, M. Y Vidal, G. (2011), Consideraciones para la eliminación de nitrógeno en humedales artificiales. *Tecnología del Agua* 330:40-49.

Rojas, K. (2012), Puesta en marcha de un sistema piloto de humedales construidos de flujo subsuperficial para la depuración de aguas servidas rurales: Consideración de indicadores de sustentabilidad. Tesis Ingeniería Ambiental, Universidad de Concepción, pp 114.

Sacoto, G. (2010), Respuesta fitotécnica de tres variedades de *Zantedeschia aethiopica* L. Spreng, a la aplicación de ácido giberélico y fertilización orgánica, en el Quinche, Provincia de Pichincha. Tesis Ingeniería Agronómica, Universidad Estatal de Bolívar, Venezuela, pp 144.

Stottmeister U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Küstner, M., Bederski, O., Müller, R., Moormann, H. (2003), Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances* 22:93-117.

Tanner, C., Champion, P., Kloosterman, V. (2006), New Zealand constructed wetland planting guidelines. National Institute of Water and Atmospheric Research report published in association with the New Zealand Water & Wastes Association, pp 26.

United States Department of Agriculture (USDA) (2012), Plant Database. Disponible en: <http://plants.usda.gov/classification.html>.

Vera, I., García, J., Sáez, K., Moraga, L., Vidal, G. (2011), Performance evaluation of eight years experience from constructed wetlands systems in Catalonia as alternative treatment for small communities. *Ecological Engineering* 37:364-371.

Vera, I., Sáez, K., Vidal, G. (2013), Performance of 14 full-scale sewage treatment plants: Comparison between four aerobic technologies regarding effluent quality, sludge production and energy consumption. *Environmental Technology* 34:2267-2275.

Von Sperling, M. (2007), Basic principles of wastewater treatment. London: IWA Publishing, pp 212.

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

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

Vymazal, J., Y Kröpfelová, L. (2008), Wastewater treatment in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow. *Environmental Pollution* 14. Springer, Heidelberg: Springer, pp 566.

Vymazal, J. (2011), Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: a review. *Hydrobiologia* 674:133-156.

Wallace, S., Knight, R., (2006), Small-scale constructed wetland treatment systems: Feasibility, Design Criteria, and O&M Requirements, Water Environment Research Foundation: Alexandria, Virginia, pp 350.

Xie, X., He, F., Xu, D., Dong, J., Cheng, S., Wu, Z. (2011), Application of large-scale integrated vertical-flow constructed wetland in Beijing Olympic forest park: design, operation and performance. *Water and Environmental Journal* 26:100-107.

Zurita, F., De Anda, J., Belmont, M. (2006), Performance of laboratory-scale wetlands planted with tropical ornamental plants to treat domestic wastewater. *Water Quality Research Journal of Canada* 41:410-417.

Zurita, F., Belmont, M., De Anda, J., Cervantes-Martinez, J. (2008), Stress detection by laser-induced fluorescence in *Zantedeschia aethiopica* planted in subsurface-flow treatment wetlands. *Ecological Engineering* 33:110-118.

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

Zurita, F. Belmont, M., De Anda, J., White J. (2011), Seeking a way to promote the use of constructed wetlands for domestic wastewater treatment in developing countries. *Water Science and Technology* 63:654-659.

CAPITULO VII



1. Caracterización de aguas servidas

Uno de los objetivos de la presente tesis fue evaluar la incidencia de la estacionalidad en la eliminación de materia orgánica y nutrientes de las aguas servidas tratadas por un HSSF. Para ello, se analizaron las variaciones estacionales de los constituyentes del influente de agua servida tipo rural que fue utilizado en el HSSF durante un periodo de operación de 3 años. Concretamente, el agua servida se caracterizó en base a materia orgánica (medida como: DBO_5 , DQO), sólidos (SST y SSV), evaluados en la Tabla 2, capítulo IV y nutrientes (NT, N-NH_4^+ , PT y P-PO_4^{3-}), evaluados en la Tabla 1, capítulo V. La Tabla 1 del Capítulo I, mostró los principales constituyentes y relaciones de las aguas servidas. La Figura 1 resume mediante diagramas de caja, las concentraciones de DBO_5 , DQO, SSV, SST y sus respectivas relaciones, en el periodo de tres años.

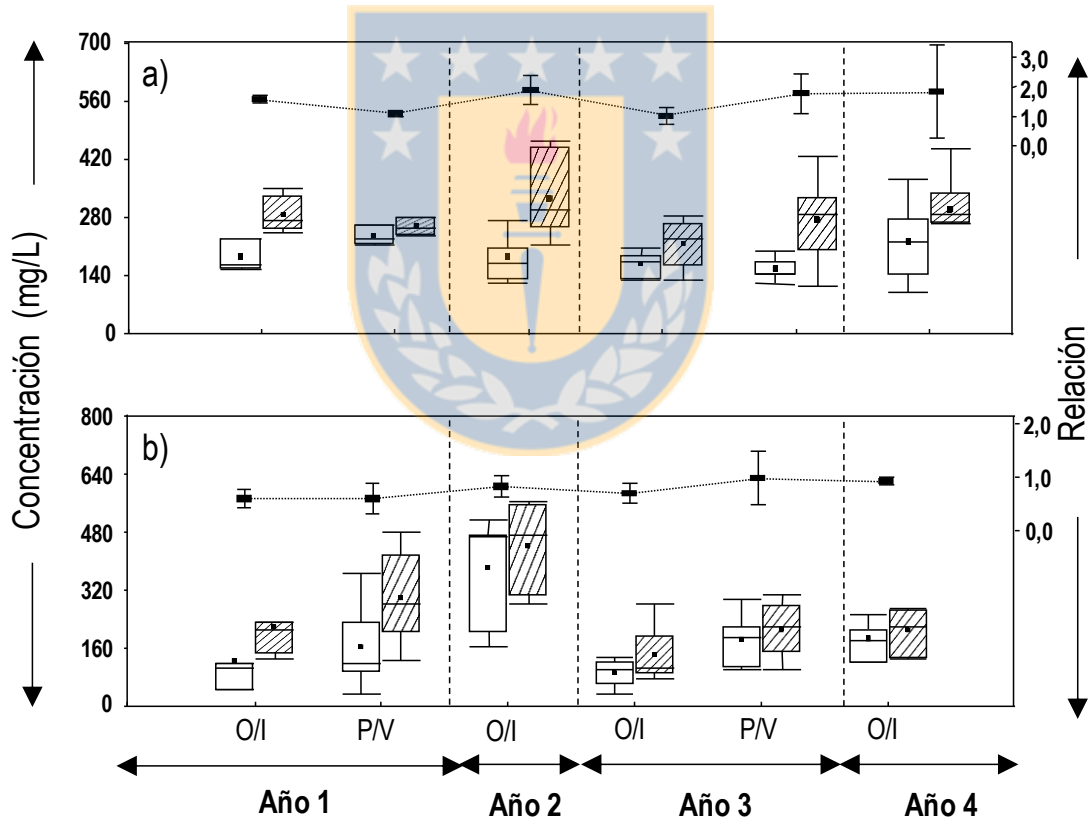


Figura 1. Concentraciones y relación de los constituyentes de aguas servidas durante Otoño/Invierno (O/I) y Primavera /Verano (P/V). a) Gráficos de cajas: DBO_5 (□) y DQO (▨) y relación DQO/DBO_5 (±); b) gráficos de cajas: SSV (□) y SST (▨) y relación SSV/SST (±).

La Figura 1 y 2, muestran la caracterización estacional promedio de las aguas servidas utilizadas en esta tesis. Estas aguas, se caracterizan por presentar en promedio un contenido en materia orgánica expresado como DBO₅ (187 ± 59 mg/L) y DQO (281 ± 89 mg/L), sólidos en suspensión (SST: 276 ± 179 y SSV: 210 ± 166 mg/L) y nutrientes, tales como nitrógeno (NT: 96 ± 28 mg/L), amonio (N-NH₄⁺: 83 ± 35 mg/L), fósforo (PT: 14 ± 2 mg/L) y fosfato (P-PO₄³⁻: 10 ± 3 mg/L), como se muestran en los capítulos III, IV y V de la presente tesis doctoral (López *et al.*, 2015; López *et al.*, 2016). Estos valores son similares a lo encontrado en diversas publicaciones, con respecto a la DBO₅, DQO y fósforo (PT y P-PO₄³⁻) (García *et al.*, 2004; Solano *et al.*, 2004; Puigagut *et al.*, 2007; Akrotos *et al.*, 2007; Zurita *et al.*, 2011; Vymazal y Kröpfelová, 2011; Vera, 2012; Lana *et al.*, 2013; Mburu *et al.*, 2013). Sin embargo, en lo referente al nitrógeno (NT y N-NH₄⁺) y sólidos (SST y SSV), estos valores fueron aproximadamente 50 y 70% mayor a lo determinado en las investigaciones anteriores, respectivamente. A su vez, evaluando la concentración media del agua servida utilizada en esta tesis y resumida en la Figura 1 y 2, se clasifica como tipo de agua servida concentrada, de acuerdo a Henze *et al.* (2002).

Por otro lado, durante todo el periodo de operación, se presentaron variaciones máximas de 77 mg DBO₅/L (32%), 121 mg DQO/L (35%) y sólidos de 320 mg/L (64%). Estas variaciones son consistentes a las encontradas en otras investigaciones, donde la DBO₅ y DQO presentó valores mayores a 160 y 240 mg/L, respectivamente (García *et al.*, 2004; Vymazal and Kröpfelová, 2011; Abou-Elela *et al.*, 2012).

Por su parte, los sólidos presentes en el influente presentaron un aumento considerable (56%) entre el año 1 y 3, generándose problemas de colmatación en los primeros 0,20 m (zona de entrada), debido al ingreso de grasas y sólidos en la de cada HSSF. Esto se debe a que el efluente utilizado corresponde a agua servida cruda procedente de un sistema de tratamiento de cribado de 40 mm. Para mitigar el problema, se implementó un sistema de tratamiento primario que consta de un desarenador (tanque 630 L), fosa séptica (1200L) y tanque de bombeo (630L), que permitió reducir la entrada de sólidos en un 65 y 74%, presentando concentraciones en promedio de 192 mgSST/L y 156 mgSSV/L respectivamente. De este modo, las concentraciones de entrada al los sistemas de HSSF, fueron concordantes a lo encontrado por otros autores (Henze *et al.* 2002; Solano *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2009; Mburu *et al.*, 2013) en aguas servidas

(ver Tabla 5, capítulo I) y caracterizadas de acuerdo a Henze et al. (2002), como aguas de tipo diluidas (ver Tabla 1, capítulo I).

En lo que respecta a los nutrientes, se presentaron variaciones máximas de hasta 63% (70 mg/L) para $N-NH_4^+$ amonio y de 52% (60 mg/L) para el NT entre la temporada O/I 2011 y O/I 2012, concordando con lo encontrado por Abou-Elela et al. (2012), quienes trabajaron con un influente que presentó variaciones en $N-NH_4^+$ de hasta 50% (10 mg/L).

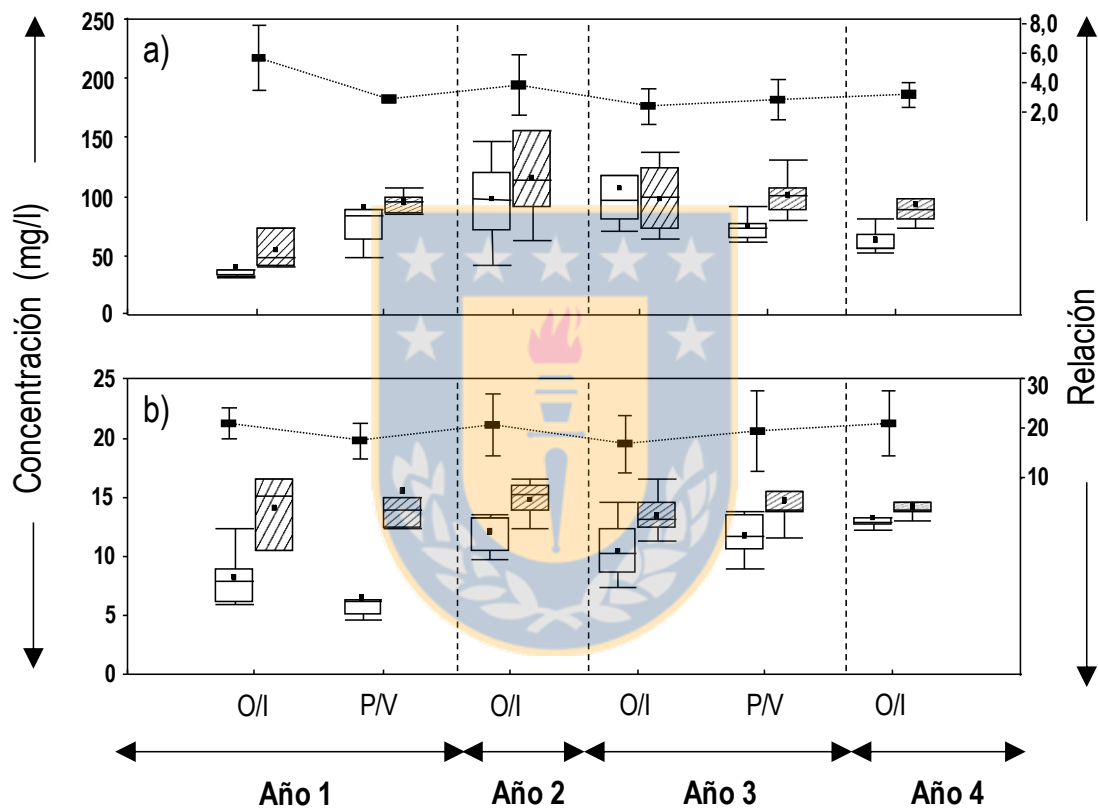


Figura 2. Concentraciones y relación de los constituyentes de las aguas servidas durante Otoño/Invierno (O/I) y Primavera /Verano (P/V). a) Gráficos de cajas: $N-NH_4^+$ (□) y NT (▨) y relación DQO/NT (±); b) gráficos de cajas: $P-PO_4^{3-}$ (□) y PT (▨) y relación DQO/PT (±).

A su vez, las concentraciones en promedio de nitrógeno utilizadas en esta tesis son 50% (46 mgNT/L) más altas a las determinadas en otras investigaciones (Zurita *et al.*, 2009; Trang *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2014; Abou-Elela *et al.*, 2012). Lo anterior, se puede deber a las características rurales que presentan las aguas servidas utilizadas en esta tesis, debido a que en estas zonas se pueden generar aportes procedentes de mantención o faena animal, la cual puede llegar a aportar hasta 610 mgNT/L (Chartier *et al.*, 2013). Por su parte, el PT presenta variaciones máximas de 10% (2,1 mg/L) y de 45% (5,9 mg/L) para el PO_4^{3-} . Las variaciones encontradas en PT son menores a las reportadas por Vohla *et al.*

(2005), quienes reportan variaciones de hasta 26% (4,5 mg/L) en PT.

La Figura 1 y 2 muestran las relaciones entre los diversos componentes en las aguas servidas. Las aguas servidas sin tratamiento biológico previo, se caracterizan por presentar una relación DQO/DBO₅ en zonas urbanas entre 1,5-3,5 y en zonas rurales de 1,4-2,0 y relación de SSV/SST entre 0,4-0,9, según lo descrito por algunos autores (Henze *et al.*, 2002; Vera, 2012; Puigagut *et al.*, 2007; Cisterna y Peña, 2010). Esto se corrobora con los resultados obtenidos en la presente tesis, donde las aguas servidas presentan en promedio una baja relación de DQO/DBO₅, con valores de 1,5 (0,7-2,4), indicando que una parte sustancial de la materia orgánica puede ser degradada biológicamente (Henze *et al.*, 2008; Tran *et al.*, 2015). Más aun, la relación de biodegradabilidad del material soluble (DBO₅/DQO: 0,5 – 0,9) indica que esta fracción de las aguas servidas presentan una fracción biodegradable que puede variar entre 3-35% (Sadecka *et al.*, 2013), constituido por grasas (12%), proteínas (4%) y carbohidratos (58%) (Shoan *et al.*, 2006). A su vez, la relación de biodegradabilidad del material particulado (SSV/SST: 0,64 – 0,90), indica que los sólidos en suspensión en las aguas servidas tienen un 76% de componente volátil y estos pueden ser degradado con éxito bajo condiciones anaeróbicas (Henze *et al.*, 2002, 2008). Desde la perspectiva que evalúa la capacidad de tratamiento de este influente, se puede observar que aguas servidas en todo el periodo de monitoreo evidencian un nivel de biodegradabilidad del 70% (DBO₅/DQO~0,7). Este fenómeno, se debe a que en general la fracción fácil y lentamente biodegradable en aguas servidas corresponde al 18 y 60% de la DQO total, respectivamente (Sadecka *et al.*, 2013). A su vez, las relaciones derivadas de la composición de las aguas servidas, permiten estimar la condición nutricional (DQO/NT y DQO/PT) de las aguas servidas, al momento de ser utilizados como sustrato en sistemas de

tratamiento biológico. Así, las aguas servidas en esta tesis se caracterizaron por estar en el rango bajo, con una relación promedio de DOQ/NT entre 3-6 durante la temporada de O/I y de 3 durante P/V y de 20 para relación DQO/PT, indicando bajas posibilidades de eliminar el nitrógeno y fósforo debido al bajo nivel nutricional para el crecimiento de la población bacteriana (Henze *et al.*, 2002). Algunos autores reportan la relación de nitrógeno en función de la concentración de carbono considerando que la proporción C/N y C/P, debe ser cercanos a 5-10/1 y 75/1, respectivamente, valores inferiores disminuyen la velocidad de reacción y superiores crean problemas de inhibición (Speece, 1987; Xia *et al.*, 2008; Belmonte, 2012; Ding *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2014).

2. Desempeño y funcionamiento de sistemas humedales construidos en el tratamiento de aguas servidas.

Con la finalidad de evaluar la capacidad de eliminación de materia orgánica y nutrientes en sistemas de HSSF alimentados con aguas servidas con distinta cargas orgánicas, establecido como parte del objetivo general y objetivo específico 1 de la presente Tesis (López, 2015). Se analizaron las variaciones en la eficiencia de eliminación de materia orgánica, sólidos y nutrientes para sistemas de HSSF, evaluados parcialmente en el capítulo IV y V de la presente tesis.

La Figura 3 y 4 muestran las eficiencias de eliminación, concentración de efluentes y cargas aplicadas a los HSSF de DQO; SST; NT y PT. Al evaluar la eficiencia de los sistemas HSSF en general se establece que para DQO eficiencias en promedio entre 41-73%, con concentraciones de efluentes entre 67-152 mg/L, sin diferencias por temporadas. Estas eficiencias son en promedio un 20% menores a las determinadas por otros autores en HSSF con eficiencias de eliminación de DQO entre 57-93% (Solano *et al.*, 2004; García *et al.*, 2004, 2005; Akrotos *et al.*, 2007; Trang *et al.*, 2010; Vymazal y Kröpfelová, 2011; Pedescoll *et al.*, 2011; Zurita *et al.*, 2011; Barbera *et al.*, 2014). Esta deficiencia en la eliminación de DQO, se puede deber a que los sistemas de HSSF, han trabajado a cargas orgánicas entre 4,7-11,3 gDQO/m²-d excediendo entre un 28-65% a las recomendadas por Garcia et al. (2004), para HSSF en etapas iniciales. A su vez, las cargas han presentado un incremento de hasta 50% (5,7 gDQO/m²-d), reduciendo la eficiencia entre un 7-21% (P/V-año 3). De acuerdo a Garcia et al. (2004), la carga orgánica debe

ser inferior a $2 \text{ gBOD}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$, considerando este valor y que la relación típica de DQO/DBO_5 es de 2,0 de acuerdo a Henze et al. (2008), se establece cargas de DQO debe ser menor $4 \text{ g DQO}/\text{m}^2\cdot\text{d}$. De este modo, la leve deficiencia en eliminación de DQO reportada en esta tesis con respecto a otras investigaciones se puede deber a que se trabajó a cargas límites para HSSF, durante sus primeros años.

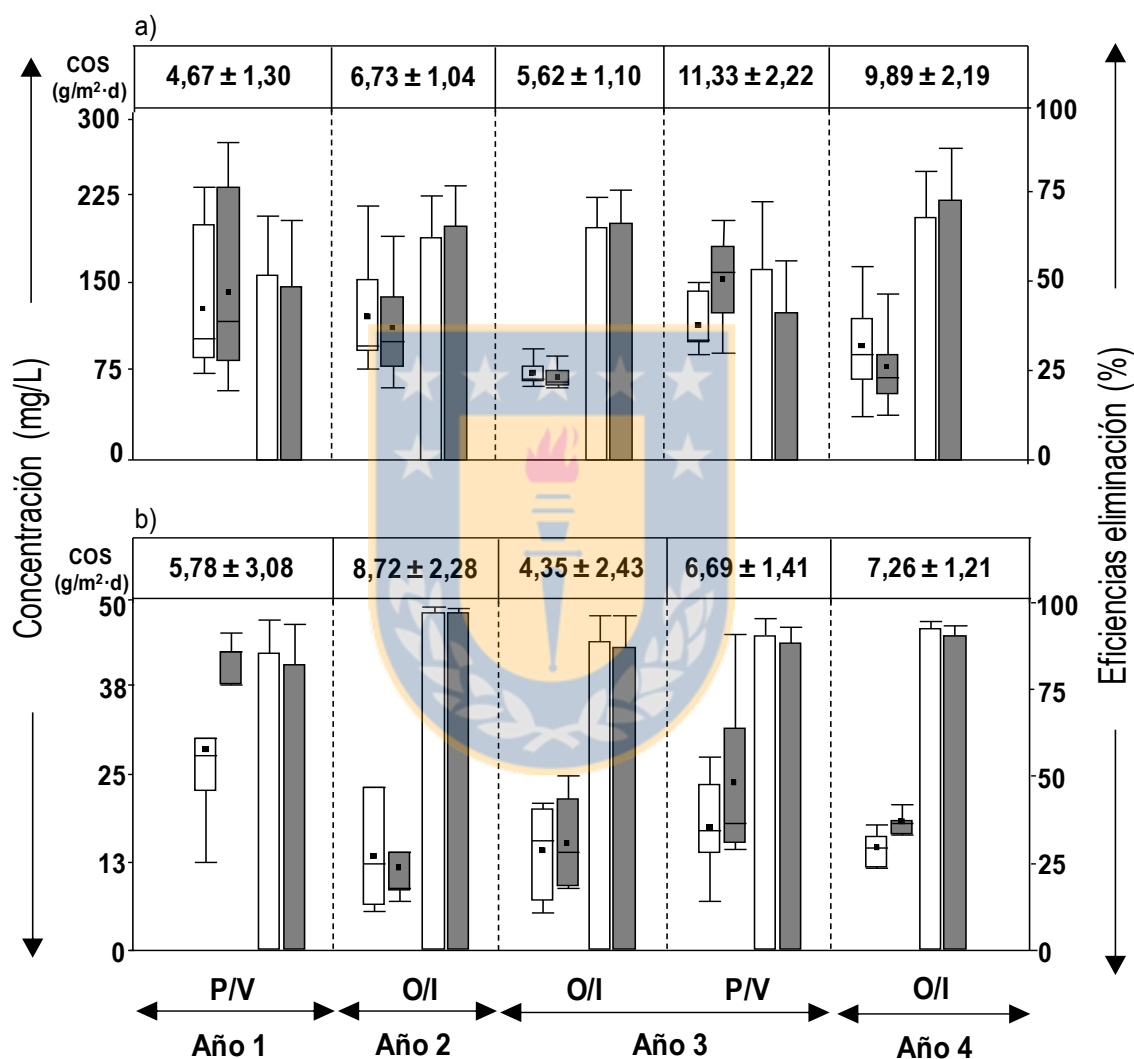


Figura 3. Promedio de la concentración de efluentes (cajas) y eficiencias eliminación (barras) para HSSF-Phr (Blanco) y HSSF-Sch (gris) en las estaciones monitoreadas para a) DQO, b) SST. Carga Orgánica Superficial (COS) para DQO (a) y SST (b).

Por su parte las eficiencias de eliminación para SST presentaron variaciones de 12%, con alto niveles de eficiencias de eliminación (86-98%), generando efluentes con concentraciones en promedio menor a 25 mg/L. Además, se determina que los sistemas de HSSF, presentaron tasas de acumulación y/o la eliminación de sólidos constantes durante todo el periodo de monitoreo, siendo la tasas de eliminación coherente con el aumento aproximado de 50% (4,2 gTSS/m²-d) de la carga que se produjo en O/I-año 2 (Caselles-Osorio et al., 2007). A su vez, no se presentan diferencias en eliminación de SST entre especies o asociadas a las estaciones ($p \geq 0,05$).

De este modo, las eficiencias de eliminación durante el período operativo fueron consistentes con los encontrados en otros estudios (45-95% SST) (Caselles-Osorio et al, 2007; Vymazal 2011; Pedescoll et al., 2013). Las altas tasas de eliminación de sólidos en los HSSF, se pueden explicar a que las cargas de sólidos aplicadas durante todo el periodo de monitoreo (4,3-8,7 gSST/m²-d), estuvieron dentro de los valores recomendados por la USEPA (2000), es decir, por debajo de 20 gSST/m²-d para HSSF, para obtener concentraciones de efluentes por debajo de 30 mg/L. Además, la instalación del tratamiento primario durante el segundo año, permitió mantener las eficiencias de eliminación, reduciendo en promedio 50% la carga de sólidos (4,37 gSST/m²-d). Más aún, esto concuerda con lo determinado por Tanner et al. (1998), quienes indicaron que las tasas de eliminación de sólidos son 1,2-2 veces mayor durante los dos primeros años de funcionamiento.

En cuanto a los nutrientes, la Figura 4a permite observar que en el caso del nitrógeno las eficiencias de eliminación han disminuido gradualmente, presentado una disminución en la eficiencia entre el año 1 (32%) y el 4 (8,5%) de hasta 73%. Estas eficiencias son entre 65-85% menores a las determinadas en otras investigaciones (55-90%) (Rai et al., 2015; Zhu et al., 2014; Abou-Elela et al., 2013; Zurita et al., 2009; Akrotos y Tsinhrantzis, 2007). Sin embargo, las concentraciones de NT (NT: 17-64 mg/L) presente en los influentes que se utilizaron en las investigaciones anteriores son inferiores a los utilizados en esta tesis (NT: 96 (50-120) mg/L)). El nitrógeno para el primer año presentó eficiencias en promedio de 30% (0,98 gN/m² dremovido) para finalizar en O/I del cuarto año con eficiencias menores a 12% (0,7 gN m² dremovido). Lo anterior, coincide con lo obtenido por Yoon et al. (2001), quien presentó una disminución de 26 % entre el primer y tercer año. Por su parte Chen et al. (2014), determinó que la eficiencia de los HC

disminuyó de 1,05-1,10 gN/m²·d en la etapa inicial a 0,23-0,31 gN/m²·d etapa final del monitoreo. Esto se podría explicar a que la carga de NT fue aumentando en el tiempo con valores entre 1,78 a 3,65 gN/m²·d. De acuerdo a Vymazal (2007), para eficiencias de 42% de eliminación de NT se operó a una carga de 1,7 gN/m²·d.

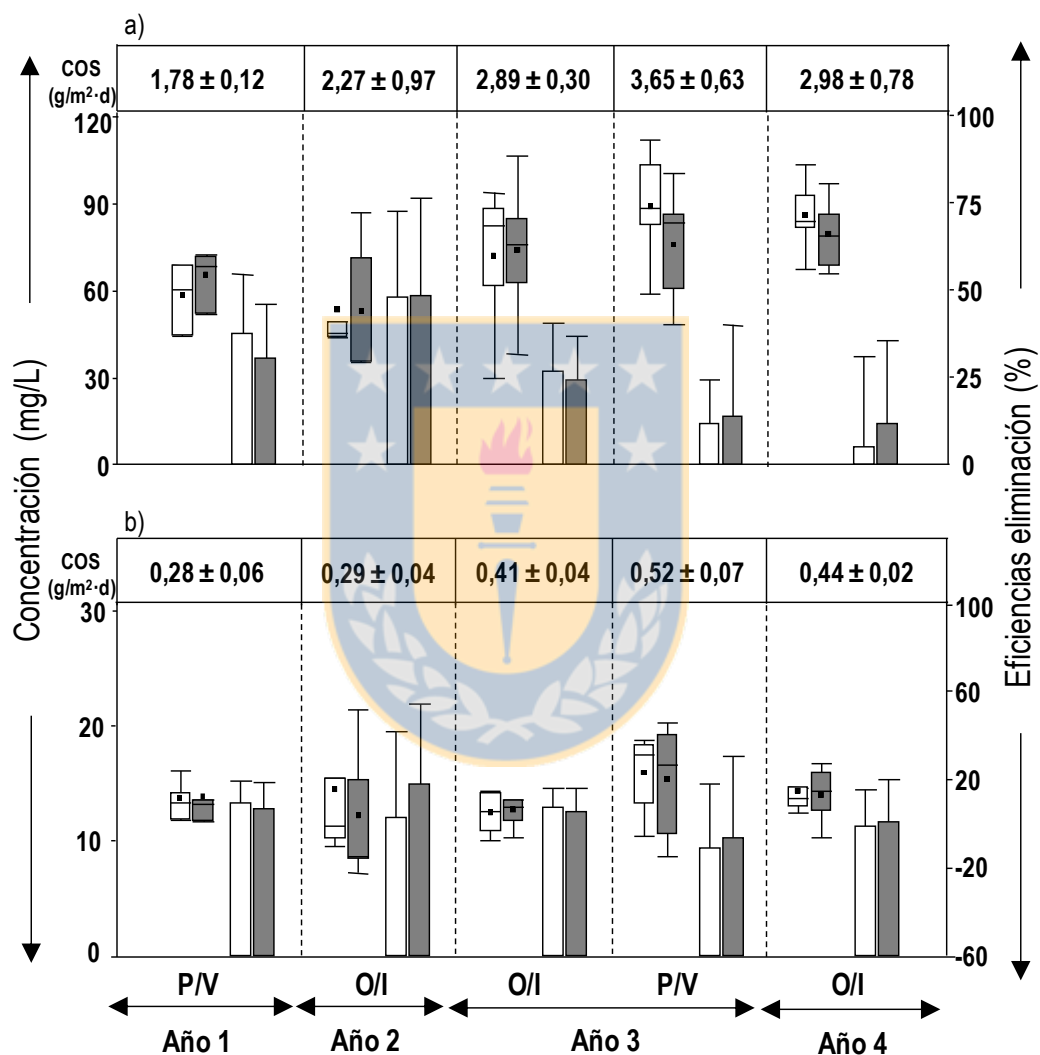


Figura 4. Promedio de la concentración de efluentes (cajas) y eficiencias eliminación (barras) para HSSF-Phr (Blanco) y HSSF-Sch (gris) en las estaciones monitoreadas para a) NT, b) PT. Carga Orgánica Superficial (COS) para NT (a) y PT (b).

Por otro lado, considerando la mayor tasa de eliminación de nitrógeno para los primeros dos años, se infiere que las tasas de eliminación pueden estar influenciadas probablemente a la eliminación de NH_4^+ por fenómenos de adsorción. La grava recién instalada puede haber aportado en la fijación de este ion durante este periodo. Se sabe que algunos sedimentos poseen la capacidad de adsorber hasta 20 gN/m^2 (Kadlec and Wallace, 2009; Lee *et al.*, 2009). Sin embargo, el NH_4^+ adsorbido puede ser rápidamente devuelto al sistema si el medio no presenta las características adecuadas (Vymazal., 2007). Esto coincide con lo observado al tercer año, donde se observa que las eficiencias disminuyen entre 20-25%, debido probablemente a que la baja capacidad de adsorción de la grava permite que este fenómeno solo aporte en la eliminación de nitrógeno inicio de la operación (Albuquerque *et al.*, 2010).

La nitrificación y desnitrificación se consideran los mecanismos de eliminación de nitrógeno dominantes en humedales subsuperficiales (Vymazal y Kröpfelová, 2007). La fuente de carbono orgánico es el principal donador de electrones para la desnitrificación, y la falta de fuente de carbono frena el proceso de desnitrificación (Zhu *et al.*, 2014). Por lo tanto, la relación C/N, puede condicionar directamente la eliminación del NT, promoviendo la actividad de los microorganismos desnitrificantes, sin embargo, se ha determinado que la degradación de la materia orgánica consume el OD en el sistema. En consecuencia, la nitrificación es inhibido, conduciendo a la disminución de la eficiencia de eliminación N (Zhao *et al.*, 2010,2011; Ding *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2014). Es así como, Zhu *et al.* (2014), determinó que cuando el sistema alcanza su cantidad óptima de fuente de carbono orgánico (relación C/N en 5), la tasa de eliminación alcanzó su valor máximo. Sin embargo, cuando la relación C/N se aumentó a 6 o más, la tasa de eliminación de TN no aumentó. Esta falta de aumento adicional es probable porque el carbono orgánico adicional consume OD, y por ende, se limita la nitrificación (Zhu *et al.*, 2014). Al respecto, Reddy *et al.* (1989) describen el aumento del oxígeno radicular ($0,5\text{-}4,2 \text{ mgO}_2/\text{L}$) de *Schoenoplectus*, bajo condiciones naturales y de madurez vegetacional (verano, otoño). Si fuera así, en el humedal se dispondría entre $0,01$ a $0,5 \text{ gO}_2/\text{gNH}_4^+$, condición que por sí sola no favorecería la nitrificación, ya que se requiere alrededor de $2,6 \text{ gO}_2/\text{g NH}_4^+$ (Boursier *et al.*, 2005).

Por su parte, Zhao *et al.*, (2010), en humedales subsuperficiales, determinaron eliminaciones superiores a 60% para COD y NT eran logradas bajo una relación C/N de 5. Sin

embargo, Albuquerque et al. (2010), estimó que las relaciones de C/N evaluadas (2,5 a 10), no aportaban significativamente a la eliminación de NH_4^+ y NO_3^- . A pesar de esto la tasa de eliminación de N-NH_4^+ fue incrementada de 0,8 a 2,4 $\text{gNH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ a una relación C/N de 10. En este sentido, se puede inferir que la baja eficiencia en la eliminación de NT (5–35%) encontrada en esta tesis, se encuentra asociada a la ausencia de los procesos de nitrificación/desnitrificación en los sistemas, dado a la baja relación C:N=3 del influente utilizado, generando la degradación acelerada de la fracción orgánica por parte de los microorganismos heterótrofos, lo que genera un agotamiento de la disponibilidad de oxígeno disuelto ($<0,5 \text{ mg O}_2/\text{L}$) (Saeed y Sun, 2011).

Por su parte, la Figura 4b, nos permite observar que la eliminación de fósforo por los HSSF presentó una disminución de continua durante los cuatro primeros años. Las máximas eficiencias se presentan durante el segundo año; sin embargo, esta eficiencia no supera el 20%. Para el cuarto año, las eficiencias decaen a valores negativos, siendo en promedio para ambas especies un 1%. Las eficiencias reportadas en esta tesis, son aproximadamente 70% menores a las reportadas por Rai et al. (2015), sin embargo, las diferencias en las eficiencias pueden estar dadas por que el sistema implementado por Rai et al. (2015), tenía recién 2 meses de funcionamiento cuando se realizó el primer monitoreo y se sabe que la capacidad de adsorción del material de soporte en una etapa inicial es superior, debido a que el HSSF al adquirir una condición anaeróbica (en el transcurso de la operación), propicia que los compuestos que ingresan al HSSF y en el P esta unido al Fe pueden ser reducidos y por ende, el P es liberado (Vohla et al., 2005, 2007). En la misma línea, las bajas eficiencias encontradas en esta tesis, coinciden con lo determinado por Vohla et al. (2005), quienes presentaron una disminución de 74,5 a 24,7 gP/m^2 año, que pudo ser causado por un lavado del contenido de Fe del sustrato. Por su parte, Mander et al. (2003), en HSSF presenta una disminución de 20,7 $\text{kgP}/\text{año}$ a 5,1 $\text{kg P}/\text{año}$, atribuyendo la menor eficiencia a la saturación del material de soporte. Los resultados anteriores, concuerdan con lo determinado por Cui et al. (2008), quienes indican que la grava es uno de los materiales de soporte más utilizado en los CW. Sin embargo, la capacidad de eliminación de P de este sustrato es uno de los más desfavorables. Vohla et al. (2005), reportaron que un sustrato rico en Fe, Al, y los iones de Ca pueden facilitar la eliminación de P de las aguas residuales. En el caso de la grava (material de soporte utilizado en esta tesis), presenta una capacidad de adsorción de P entre 0,02-0,05 gP/kg , debido a que el contenido de Fe es de

0,8 % Fe_2O_3 , de Al del 0,4% Al_2O), y los iones de Ca presentes en estos sustratos (Cucarella *et al.*, 2009; Pedescoll *et al.*, 2011; Vera *et al.*, 2014). Aun así, en se ha determinado eficiencias de eliminación de P mayores a 64% (0,4 gP/m² d), donde más del 80% es adsorbido por el medio de soporte (Vohla *et al.*, 2005), como consecuencia de las reacciones de adsorción y precipitación con el calcio (Ca), aluminio (Al) y el hierro (Fe) presentes en la grava (Brix *et al.*, 2001; Seo *et al.*, 2005). Debido a la variabilidad en la eficiencias, Brix *et al.* (2001), recomiendan la mezcla entre la grava y otros de materiales con mayor capacidad adsorción de P (por ejemplo: zeolita puede adsorber 0,33-0,46 kgP/gPS), con la cual se podría para mejorar la eficiencia de eliminación de P y la vida útil de los HC (Andrés, 2010; Cui *et al.*, 2008; Cucarella *et al.*, 2009). Además, a la hora de seleccionar un medio de soporte para los HC, el criterio en la selección de materiales en la mayoría de los estudios, eran sus propiedades físico-químicas, tales como Fe, Al, y el contenido de Ca; área superficial específica; porosidad y la conductividad hidráulica, ya que afectan a la velocidad y/o la capacidad de adsorción de P (Zhu *et al.*, 1997; Seo *et al.*, 2005). Sin embargo, el principal criterio para seleccionar el material de soporte en la mayoría de los HC está limitado a la eficiencia económica y la facilidad para ser aplicado al sitio real (Seo *et al.*, 2005).

Finalmente, las eficiencias de eliminación encontradas en los HSSF, demuestran que la estacionalidad no es el factor condicionante en las eficiencias de eliminación de materia orgánica y nutrientes asociadas a los procesos microbiológicos del HSSF. Estos resultados son consistentes con los hallazgos de Stein y Hook, (2005), quienes determinaron que la temperatura no es el factor principal que influye en la eficiencia. Más bien, la eficacia puede depender de la presencia de plantas, desarrollo de la biomasa bacteriana, cargas orgánicas aplicadas, relación C: N del influente, tipo de material de soporte, entre otros (Garcia *et al.*, 2004; Vohla *et al.* 2005; Truu *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2014).

3.- Comportamiento de macrófitas bajo diferentes condiciones de operación y estacionalidad.

Con la finalidad de evaluar el comportamiento diferencial de *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* bajo diferentes condiciones de operación y estacionalidad, establecido como objetivo específico 2 de la presente Tesis (López, 2015). Se analizaron las

variaciones en la producción de biomasa foliar y las eficiencias de asimilación de nutrientes de *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* en los sistemas de HSSF, evaluados parcialmente en el capítulo V y VI de la presente tesis.

La Figura 5 muestra, la producción de biomasa, cobertura, abundancia y longitud de tallos para *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* en los HSSF, en distintas estaciones. Las macrófitas que crecen en humedales construidos tienen varias propiedades en relación con el proceso de tratamiento que las hace un componente esencial del diseño, permitiendo una mejora en la eficiencia general de los HSSF (Vymazal y Köpfelová, 2005; Stottmeister *et al.*, 2003; Brezinova y Vymazal, 2015; Rodríguez y Brisson 2015). Sin embargo, sólo unos pocos papeles o funciones cumplen las plantas en los HSSF (Vymazal, 2011). Es así como, en este trabajo y específicamente en la Figura 5, se ha podido determinar que la selección de las macrófitas es un factor determinante en el diseño, operación y eficiencias desarrolladas por los HSSF. El criterio de selección de las especies de macrófitas utilizadas en esta tesis, para el caso de *Phragmites australis* fue principalmente porque es una de las especies más utilizadas en HC (Vymazal, 2011), presenta distribución cosmopolita y se ha evidenciado una alta eficiencia de eliminación tanto de MO (57-95%) como nutrientes (20-80%) (García *et al.*, 2005; Akratos y Tsihrintzis, 2007; Öövel *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2009; Rodríguez y Brisson, 2015), ver Tabla 5 y 6, Capítulo I de la presente tesis. Por su parte, *Schoenoplectus* seleccionó principalmente porque es una de las especies de macrófitas más abundante en la región y al igual que HSSF-Phr se ha evidenciado una buena respuesta al utilizarlas en HC, (Weller *et al.*, 2015; Malecki-Brown *et al.*, 2010). De este modo, al evaluar y comparar ambas especies se evidencia que la especie HSSF-Phr tuvo una alta tasa de propagación, rápido desarrollo, reflejado al analizar la abundancia (340-450 ind/m²), biomasa (530-750 gPS/m²) y cobertura (68-90%) generada para primavera e invierno, en comparación con HSSF-Sch, que presentó un menor desarrollo, que se aprecia en la abundancia (120-170 ind/m²), biomasa (380-520 gPS/m²), y cobertura (44-70%). Posteriormente, se mantienen las tendencias con un gran desarrollo para HSSF-Phr (ej. 779-1800 Ind/m²) y un moderado desarrollo en el caso de HSSF-Sch (ej. 538-926 Ind/m²). Esto se puede explicar a que *Phragmites* presenta una tasa de propagación de 10 m/año y *Schoenoplectus* 15 a 30 cm/año. Siendo la tasa de propagación de *Phragmites* clasificada como muy rápida e invasiva (Wallace and Knight, 2006).

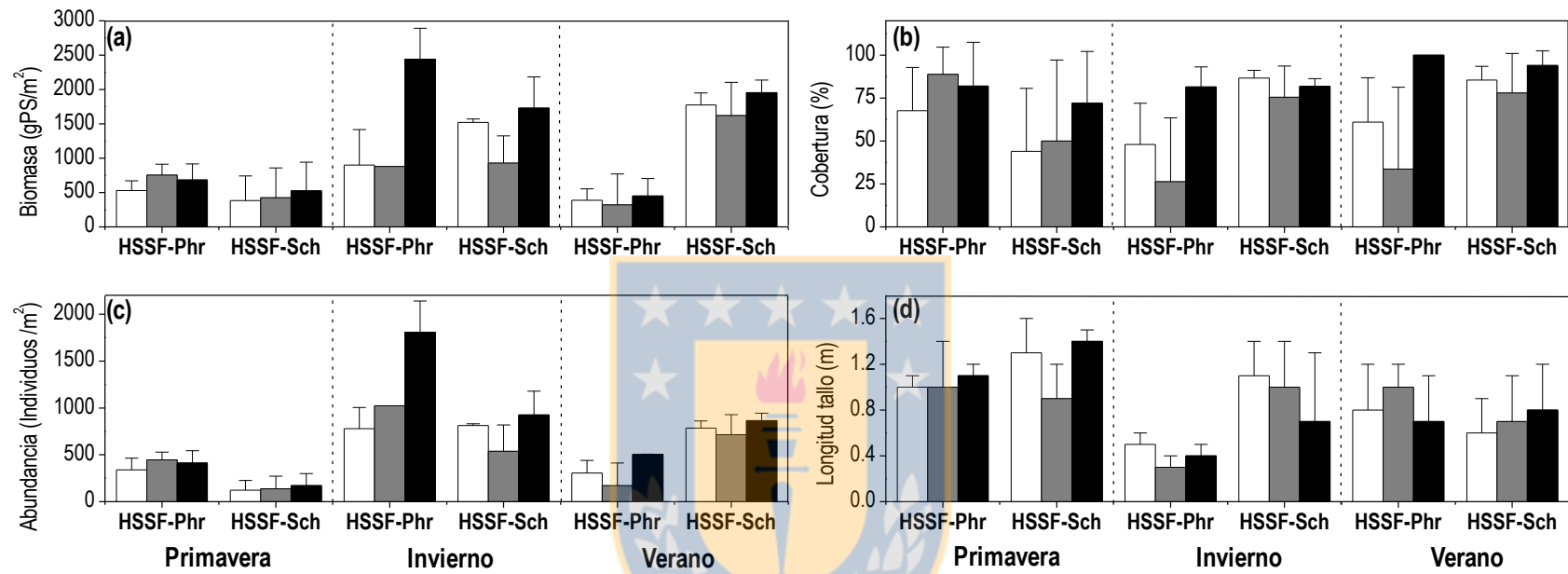


Figura 5. Variación estacional de HSSF-Phr (*Phragmites australis*) y HSSF-Sch (*Schoenoplectus californicus*). a) Biomasa; b) cobertura; c) abundancia y d) longitud de tallo. Zona A (□), Zona B (■) y Zona C (■).PS: Peso Seco.

A su vez, el desarrollo, propagación y crecimiento de las macrófitas encontrado en primavera e invierno es corroborado por Tanner (1996), quien observó una densidad de 758 tallos/m² en tan solo 90 días desde el inicio del cultivo. En la misma línea, se puede observar que la producción de biomasa en los HSSF fue mayor un 23% a lo encontrado por Vymazal y Köpfelová (2005), quienes determinaron para un HC con Phr un desarrollo para el primer año menor a 500 gPS/m². Sin embargo, para invierno la producción de biomasa (880-2440 gPS/m²) coincide con lo determinado por Vymazal y Köpfelová (2005), quienes encontraron una producción de biomasa entre 1000 y 1600 gPS/m². A su vez, la producción de tallos en invierno (780-1800 Ind/m²) coincide con lo determinado por Rodríguez y Brisson (2015), quienes en un año observaron el desarrollo de 1366 Ind/m². Por su parte, la producción de tallos y biomasa durante primavera (143 tallos y 444 gPS/m²) e invierno (760 tallos y 1392 gPS/m²) para HSSF-Sch, coinciden con lo encontrado por Neubauer et al. (2012), quienes encontraron que *S. californicus* aumentó su biomasa de 522 gPS/m² en el periodo 2009 a 729 gPS/m² en 2010. En verano, por el contrario, la tendencia de alta producción biomasa e individuos no se mantiene, ya que la especie *P. australis* durante verano se vieron afectados por una plaga pulgones de la familia Aphididae (136 especies descritas para Chile) (CORMA, 2012). En este estudio, los HSSF-Phr disminuyeron en promedio un 75% el número de tallos (325 tallos) y 72% la biomasa (385 gPS/m²). Por su parte, HSSF-Sch no se vio afectada por la plaga, aumentando su biomasa en un 21 % (1782 gPS/m²). Lo anterior, se debe a que este insecto presenta preferencias por especies foliares, tales como *Phragmites spp.*, afectando la capacidad fotosintética de la planta, ocasionado la mortalidad de la misma (Tanner, 1996; Jauset et al., 1998).

Por otra parte, se observa a en la Figura 5, una tendencia de mayor desarrollo de macrófitas (1900-2440 gPS/m²) y menores variaciones (30%) en cobertura de la Zona C. Esto coincide con lo determinado por Edwards et al. (2006) y Jinadasa et al. (2008), específicamente, Jinadasa et al. (2008) determinan mayor abundancia y tamaño de macrófitas en las zonas de salida del humedal, aumento que fue influenciado por la realización de podas. A su vez, sugieren que la menor producción de biomasa en las zonas de entrada podría ser inhibida por las mayores concentraciones de nutrientes (NH₄⁺) en esa zona. Al respecto, Clarke y Baldwin (2002) establecen que concentraciones de NH₄⁺ superiores a 100 mg/L generarían efectos negativos en las tasas de crecimiento vegetal de *Typha* y *Schoenoplectus*. Por lo tanto, considerando lo

anterior y la concentración promedio de NH_4^+ con la que se trabajó en esta tesis 82 mg/L (rangos: 40-120 mg/L), se puede inferir la tendencia de mayor crecimiento de las plantas en la Zona C de los HSSF, está influenciada por la mayor carga de componentes (ej. NH_4^+) de las aguas servidas en la zona de entrada.

La Figura 6 muestra el contenido foliar de nutrientes (en la temporada de mayor producción) para las especies de macrófitas utilizadas en esta tesis (evaluadas en capítulo V) y una planta ornamental (*Cyperus papyrus*) implementada el año 2015 en paralelo a los sistemas de HSSF y evaluada en el capítulo VI de la presente tesis.

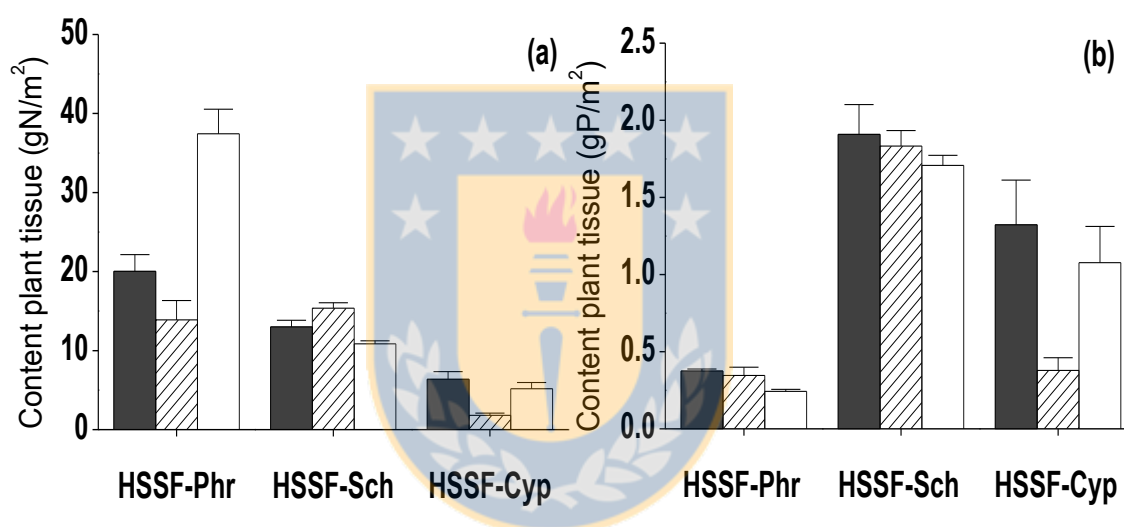


Figura 6. Acumulación promedio de nutrientes por zona para HSSF-Phr (barra gris), HSSF-Sch (barra con líneas) y HSSF-Cyp. Zona A (■), Zona B (▨) y Zona C (□).

La asimilación en promedio reportada para *P. australis* es inferior un 34-70% a lo encontrado por Brezinová y Vymazal (2015) y Zhao et al. (2012), que determinaron un contenido máximo de N (concentración medias en tallos) para Phr de 35 gN/m² y 75 gN/m², respectivamente. Por su parte, el N incorporado por Sch (10-15 gN/m²) fue similar a lo determinado Neubauer et al. (2012), quienes encontraron un contenido de nitrógeno para *Schoenoplectus californicus* de 13 gN/m². Resultados similares han sido reportados por Weller et al. (2015) quienes reportaron tasas de asimilación de nitrógeno en las plantas para *Schoenoplectus* de 0,7-5,3 gN/m². Por su parte, los resultados preliminares con *Cyperus* evidencian una acumulación de nitrógeno preferencial,

siendo mayor en las flores (32 gN/kgPS) (datos no incluidos en esta tesis), en comparación con lo encontrado en el tallo (7 gN/kgPS). Al respecto, abou-Elela, 2013, encontró que *Cyperus* logró asimilar en promedio 82,33 gN/m², con una biomasa de 51,6 kg/m². Por su parte, el fósforo asimilado por *S. californicus* fue un 40% mayor (0,86 gP/kgPS) respecto a *P. australis* con 0,51 gP/kgPS, en promedio durante las tres estaciones monitoreadas. Al respecto, Malecki-Brown et al. (2010), determinaron para *S. californicus* presenta una incorporación cercana a 2,5 gP/kgPS y 0,55 gP/m². Por otro lado, al comparar las macrófitas típicas de humedales (*P. australis* y *S. californicus*), se evidencia que a pesar de que *P. australis* presenta menor asimilación de N que en otros estudios, en esta investigación es la especie de macrófita que presenta mayor asimilación de nitrógeno (15-22 gN/kgPS) en comparación con Sch (5,5-9,5 gN/kgPS). Esto se puede atribuir a lo determinado por Zhu et al. (2014) que indican que el papel principal de las plantas en la eliminación de nitrógeno es proporcionar suministro continuo de oxígeno en la rizósfera para lograr la asimilación de nitrógeno. *P. australis* presenta mayor desarrollo y tamaño del sistema radicular (rizoma y raíces) respecto a *S. californicus* (Liu et al., 2011). En consecuencia, esta especie vegetal fue más eficiente en proporcionar oxígeno en la rizósfera y por ende, tomar nitrógeno.

A su vez, las variaciones estacionales fueron evaluadas en el capítulo V, donde se determinó que el contenido de nitrógeno y fósforo para Phr y Sch presentó mayor asimilación en la temporada de crecimiento (primavera) con 11,39 gN/m², y 0,42 gP/m², respecto a la temporada de senescencia (invierno) con 1,28 gN/m² y 0,1 gP/m². Lo anterior, coincide Tanner (2001), quien encontró acumulaciones de N en otoño entre 26 a 47 gN/m² y en verano (3^{ra} temporada de crecimiento), aumentó a 69 gN/m². Más aún, determinó que durante la senescencia se liberó entre 0,1 hasta 0,25 gN/m² d a partir de tejidos vegetales vivos. Por su parte, el fósforo coincide con lo que se ha informado por Vymazal y Kröpfelová, (2011) con intervalos de 0,2 a 10,5 gP/m² en varios tipos de HC y para los HSSF se ha presentado una acumulación de 0,7 a 5,5 gP/m². Considerando lo anterior, la asimilación promedio de nutrientes por parte de las plantas utilizadas en esta tesis, corresponde en promedio a un 6% de la carga de nitrógeno y fósforo que entra a los HSSF (para ambas especies). Coincidiendo, con lo determinado por Vymazal y Kröpfelová (2011) y Vohla et al. (2005), quienes entregan valores de asimilación por parte de las macrófitas en HSSF de 2,3 -6,1% del P y 3,7% del N que ingresa al HC.

En síntesis, considerando la baja incidencia que tienen las plantas en la eliminación de N y P (menos del 6%) contenido en las aguas servidas, se propone para optimizar y mejorar la factibilidad de uso de humedales construidos en zonas rurales dos medidas: 1) la variabilidad temporal de los nutrientes y biomasa muestran que los recursos se acumulan principalmente en los tejidos de brotes en primavera-verano, se sugiere para maximizar la eficiencia de eliminación en los HSSF, realizar la cosecha de la vegetación antes de otoño para evitar la translocación debido a la senescencia; 2) evaluar el uso de plantas ornamentales (ej. *Cyperus papyrus*, *Zantedeschia aethiopica*, *Agapanthus africanus*, *Strelitzia reginae*, *Typha angustifolia* o *latifolia*, *Iris spp.*,) o especies de macrófitas de interés comercial (ej. *Salix viminalis*), con el fin de implementarlos en zonas rurales para mejorar el valor estético del HC y además presentar la posibilidad de obtener un beneficio económico para la mantención del sistema.

4. Producción de metano por sistemas de tratamiento convencionales y humedales construidos.

Con la finalidad de evaluar la producción de metano y la actividad microbiológica metanogénica de la biomasa adherida al soporte granular del humedal construido de flujo horizontal subsuperficial, establecido como objetivo específico 3 de la presente Tesis (López, 2015). Se analizaron las emisiones de metano generadas por sistemas convencionales y no convencionales de tratamiento de aguas servidas, además, se realizó un balance de carbono con el cual se establecieron las eficiencias de eliminación estacionales de DQO y su potencial producción de metano, evaluados parcialmente en el capítulo IV de la presente tesis.

Al respecto, se sabe que la gestión y el tratamiento de las aguas domésticas e industriales se han identificado como una fuente importante de producción y emisión de metano (Bousquet *et al.*, 2006). En los sistemas de tratamiento de aguas servidas, los contaminantes orgánicos se degradan en dióxido de carbono (CO₂) y agua en condiciones aeróbicas, o se transforman en metano (CH₄) en condiciones anaeróbicas (Yan *et al.*, 2014). Por lo tanto, las plantas de tratamiento de aguas servidas son reconocidas como una de las principales fuentes de metano (Doorm *et al.*, 1997). La Tabla 1 muestra las emisiones de metano generadas por sistemas de tratamiento de aguas servidas de tipo convencional y no convencional. De acuerdo a lo que se

extrae de la Tabla 1 se puede ver la existencia de grandes diferencias entre los distintos procesos y tipos de tratamiento (Czepiel *et al.*, 1993, 1995; Wang *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2014). Para el caso de los sistemas convencionales, de acuerdo a Wang *et al.* (2011) y Yan *et al.* (2014), se constata que los diferentes procesos presentan flujos de emisión de metano muy similares. Las mayores producciones de metano se produjeron en los tanques desarenadores (3,6-108 gCH₄/m²·d), zona aeróbica (0,25-36 gCH₄/m²·d), y en gestión de los lodos (631-978 gCH₄/m²·d) (Wang *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2014). Teóricamente, metano se produce en condiciones anaerobias. Sin embargo, Yan *et al.* (2014), evidenció un mayor emisión de metano en la zona aeróbica, respecto a la zona anaeróbica. De acuerdo a estos autores, las tasas de emisión de gases de efecto invernadero están influenciados significativamente por las condiciones de funcionamiento de los sistemas y el tipo de proceso de tratamiento de aguas residuales (Yan *et al.*, 2014).

Por lado, la producción de metano por parte de los sistemas no convencionales (humedales de flujo horizontal subsuperficial), En humedales construidos las emisiones de metano están directamente relacionadas con la degradación de MO, siendo degradada principalmente por procesos microbiológicos anaeróbicos que representan el 94,7% de las reacciones bioquímicas (Vasudevan *et al.*, 2011). Los procesos anaeróbicos se deben principalmente a la carga orgánica y saturación continua del lecho, prevaleciendo condiciones anóxicas-anaeróbicas, con bajos potenciales oxido-reducción (-100 a -500 mV) y bajas concentraciones de oxígeno disuelto (< 2 mg/L) (Vasudevan *et al.*, 2011). En la Tabla 1 se evidencia que la producción de metano para los HSSF en promedio es de 1,068 gCH₄/m²·d con rangos entre 0,002 a 6,48 gCH₄/m²·d, presentando variaciones que son el resultado de una serie de factores, entre ellos, la condición de oxido-reducción, carga orgánica aplicada, especie de macrófita utilizada, temperatura, movilización del CH₄, características espaciales y estacionales, entre otros (Grünfeld y Brix., 1999; Wang *et al.*, 2013). Más aun, la profundidad del humedal influye directamente en la eficiencia, constatándose en una investigación realizada por Aguirre, *et al.* (2005), quienes determinaron que humedales con altura lamina de agua de 0,5 m, presentan mayores eficiencias de eliminación de DQO (72-81%), respecto a humedales someros (0,27 m) (59-64%).

Tabla 1. Emisiones de metano en sistemas convencionales y humedales construidos.

Tipo de tratamiento	Tecnología	Unidad de Proceso/ Ubicación del sistema	Volumen (m ³) ^a / Área (ha) ^b	Influente (mgDQO/L)	Metano			
					gCH ₄ /m ² ·d	kgCH ₄ /m ² ·año		
Convencional	Anaeróbico/Anóxico/Óxico (A-A-O)	Influente estación bombeo	450	200	4,34-6,82	1,58-2,49		
		Tanque desarenador aireado	1225		6,19-18,87	2,26-6,89		
		Tanque anaeróbico	16000		2,13-3,44	0,78-1,26		
		Tanque anóxico	44600		0,11-0,18	0,04-0,07		
		Tanque aeróbico	65800		1,12-2,75	0,41-1,00		
		Tanque clarificador final	38400		0,06-0,11	0,02-0,04		
		Sedimentador alta densidad	5200		1,78-3,02	0,65-1,10		
		Tanque concentración de lodos	8700		1,07-1,89	0,39-0,69		
		Tornillo transportador de lodo	15		631-978	232-356		
		Secado lodo	250		0,11-0,23	0,04-0,08		
		Lodo activado (zanja de oxidación)	Tanque desarenador		70000 ^c	306-689	3,6-15,84	1,31-5,78
		Lodo activado	2,4-9,6				0,87-3,5	
		Anaeróbico/Anóxico/Óxico A ₂ O y A ₂ O reverso	Tanque desarenador		230000 ^c	353-687	14,4-108	5,25-40,29
			Tanque anóxico				0,25-63,6	0,09-23,21
			Tanque anaeróbico				0,25-12	0,08-4,38
	Tanque aeróbico			0,25-36	0,09-13,14			
No convencional	Humedal de Flujo horizontal subsuperficial	HSSF-Estonia	0,03	62,8-125	0,002-0,454	0,00073-0,165		
		HSSF-Noruega	0,00009	22,3	0,173	0,063		
		HSSF-Polonia	0,56		0,05-0,89	0,02-0,32		
		HSSF-Chile	0,0045	297	1,305-1,455	0,476-0,5310		
		HSSF-España	0,00004-0,0055	210-420	0,0214-0,571	0,007-0,208		
		HSSF-Republica Checa	0,0748	123	0,35-2,98	0,12-1,08		
		HSSF-Japón	0,0002-0,0012	50-200 ^d	0,06-6,48	0,02-2,36		

Referencias: Yan *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2011; Søvik *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Pícek *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; López *et al.*, 2015; Corbella y Puigagut, 2015. ^aValor de volumen de unidad de proceso en sistemas convencionales; ^b Valor de área para humedales de flujo horizontal subsuperficial; ^c Capacidad (m³/día); ^d DBO₅.

En sistemas de HSSF, las emisiones de metano dependerán del sistema de tratamiento primario, es así como Corbella y Puigagut. (2015), determinaron que al utilizar un sistema anaeróbico (Reactor hidrolítico de Manto de Lodos de Flujo Ascendente (HUSB)) como sistema primario, aumentó la emisión de metano 12 veces, respecto a un HC con sedimentador convencional. A su vez, las emisiones de metano suelen ser mayores en la zona de entrada, detectándose emisiones de metano de hasta un 24% mayores en la zona de entrada, respecto a la salida, e incluso hasta 20 veces mayores según otros autores (Tanner *et al.*, 1997; Teiter y Mander, 2005). Lo anterior se debe a que en sistemas de flujo horizontal existen mayores concentraciones de materia orgánica en la zona cercana al influente debido a la retención de esta (García, 2010). Esta tendencia se observa en los resultados documentados por otros autores donde describe una correlación positiva entre las emisiones de metano y COT del influente (Søvik *et al.*, 2006; García *et al.*, 2010; Mander *et al.*, 2014). Por su parte, Corbella y Puigagut. (2015), determinaron que en promedio, las emisiones de metano son 1,5 veces mayor al aumentar 35 gDQO/m²·d la carga de entrada. Por otra parte, particularmente, la cantidad y tipo de vegetación utilizada en el HC, juegan un papel importante tanto en la producción, oxidación y transporte de CH₄ a la atmósfera (Grünfeld y Brix., 1999; Van Bodegom *et al.*, 2001). Se ha encontrado que el metano puede ser oxidado en la interfase de los sitios anóxicos y óxicos de las raíces de las plantas, donde los gradientes de concentración de metano y difusión de oxígeno a través de las raíces puede reducir las emisiones de metano (Inamori *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013). Grünfeld y Brix (1999), encontraron que la presencia de macrófitas (*Phragmites australis*) atenúa la tasa de producción de metano en un 27%, aumentando la proporción de CH₄ oxidado del 7% al 18%. Por otra parte, las emisiones también dependerán de la capacidad del sistema de transporte de gases y ciclos de desarrollo de las macrófitas. Asimismo, las emisiones de metano son variables y muestran una clara relación con la temperatura y la densidad de la vegetación. Es así como, de Klein y van der Werf, (2014), evidenciaron que las emisiones medias de CH₄ en HC con vegetación son mayores a altas temperaturas, con 0,187 gCH₄/m²·d a 15°C y 0,588 gCH₄/m²·d a 24°C.

En resumen, al comparar los sistemas de HC y los distintos sistemas de tratamiento se puede evidenciar que al considerar los sistemas de humedales como tratamientos secundarios de aguas servidas y al compararlos con los sistemas secundarios convencionales (lodos activados, tanque

aeróbico, tanque anóxico, tanque anaeróbico), resumidos en la Tabla 1, se demuestra que la emisión de metano de los HSSF (0,002 a 6,48 gCH₄/m²·d) está entre los rangos determinados para sistemas convencionales (0,11-63 gCH₄/m²·d), presentando en promedio una menor emisión de 76%, 93% y 89%, respecto a sistema anaeróbico, anóxicos y aeróbicos, respectivamente, de acuerdo a lo determinado por Wang *et al.* (2011) y Yan *et al.* (2014). Lo anterior coincide con lo determinado por Czepllel *et al.*, 1993; Toprak, 1995; Wang *et al.*, 2013, quienes encontraron emisiones de metano para sistemas de tratamiento, tales como lagunas de estabilización y lodos activados entre 16-32 gCH₄/m²·d y 27 gCH₄/m²·d, respectivamente. Al respecto, Mander *et al.* (2014), indican que en general los sistemas de HC presentan factores de emisión de metano altas, sin embargo, el valor absoluto de las emisiones es relativamente pequeña y entre 1-2 órdenes de magnitud menores a las encontradas en plantas de tratamiento convencionales. Sin embargo, las emisiones de metano es un factor importante en el funcionamiento de HC, siendo la principal tarea, a la hora de implementar HC como alternativas de tratamiento, la optimización de la eficiencia de eliminación de MO y nutrientes, con las menores tasas de emisión de metano. Es por ello, que para mitigar las emisiones de metano en HC, se podría recomendar evaluar y considerar: a) reducir la altura de la lámina de agua para reducir las emisiones de metano; b) seleccionar macrófitas con alto desarrollo radicular, de manera de poder oxidar el metano generado, y a su vez, realizar podas controladas de manera de reducir la tasas de emisión de gases por parte de las macrófitas, c) evitar colmatación en zonas de entrada, para evitar anaerobiosis en zonas de alta carga (zona de entrada), de modo de homogeneizar y a su vez regular la emisión de metano a lo largo del humedal (Tanner *et al.*, 1997; Grünfeld y Brix, 1999; Teiter y Mander, 2005; Inamori *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013; Mander *et al.*, 2014).

Por otro lado, en la Figura 7, muestra un balance de la eficiencia de eliminación estacional de la DQO provenientes de las aguas servidas. En este balance se consideró la DQO total, la cual fue fraccionada en DQO soluble y DQO particulada de acuerdo a Sadecka *et al.* (2013). En el estudio mencionado, se realizó un fraccionamiento de DQO de las aguas servidas en 10 países (entre ellos: Sudamérica, Dinamarca, Alemania, Norte América, Italia, entre otros) y de acuerdo al promedio de las fracciones, se determinó que la fracción soluble rápidamente biodegradable (S_S), corresponde a un 18% y la fracción particulada lentamente biodegradable (X_S), corresponde a un

47%. De este modo, con estas fracciones de la DQO se realizó la estimación de metano de esta tesis, considerando la DQO retenida en el HSSF. Al respecto, es importante considerar que para una mejor aproximación en la producción de metano, se consideró, concretamente que la fracción biodegradable particulada está relacionada con macromoléculas que se deben desglosar en formas más simples, antes de ser aprovechadas por los microorganismos (Mathieu & Etienne, 2000; Rodríguez *et al.*, 2012). A su vez, la fracción biodegradable disuelta está relacionada con compuestos que pueden ser directamente adsorbidos para la síntesis del nuevo material celular, como ácidos grasos volátiles, carbohidratos simples, aminoácidos, alcoholes, entre otros (Grady *et al.*, 1999).

Se extrae de este balance, que la mayor proporción de DQO que ingresa al HC, corresponde a la fracción disuelta (54-59%), respecto a la fracción particulada (41-46%), sin diferencias por estación ($p \geq 0,05$). Lo anterior, coincide con lo determinado por Pedescoll *et al.* (2011), quienes determinan que el 60 y 40% de DQO en las aguas servidas domésticas con tratamiento primario (sedimentador convencional), se compone de materia orgánica disuelta y particulada, respectivamente. Es importante considerar que los procesos para la eliminación de partículas que cumple el tratamiento primario en esta tesis, no sólo reduce la cantidad total de la MO, sino que también estaría modificando la composición química de la MO restante (Tran *et al.*, 2015). En relación con el fraccionamiento de la MO y su incidencia en la degradación en los HSSF, Caselles-Osorio y García (2006) y Caselles-Osorio *et al.* (2007) evaluaron la eficiencia de eliminación de dos HSSF alimentado con agua servida sintética con cargas entre 6,0-23 g DQO $m^2 \cdot d$. Se alimentó con almidón para simular MO como un sustrato lentamente biodegradable en un humedal y glucosa como un sustrato fácilmente biodegradable en otro. Ambos humedales mostraron eficiencias de eliminación promedio muy similares, 85 a 95%. Por lo tanto, los HFSS no parecen ser sensibles al tipo de materia orgánica de los influentes, independientemente de si es fácilmente (como la glucosa) o lentamente (como el almidón) biodegradable.

En consecuencia a lo anterior, se muestra en la Figura 7 que la fracción X_s de la DQO que ingresa a los HSSF en su mayoría queda retenida o es asimilada por parte de la biomasa microbiológica presente en el HSSF, con retenciones y/o asimilaciones entre 76-79% (3,9-4,9 $gDQO_p/m^2 \cdot d$) para HSSF-Sch y para HSSF-Phr con retenciones y/o asimilaciones entre 83-86%

(4,3-5,4 gDQO_P/m²·d). Por su parte la fracción disuelta S_S que queda retenida en el HSSF, corresponde a 55-59% (4,1-4,4 gDQO_S/m²·d) para HSSF-Sch y entre 55-64% (4,1-4,8 gDQO_S/m²·d) para HSSF-Phr. De la fracción retenida, se estima que la producción de metano por vías metanogénicas, es del orden de 0,7-1,0 gCH₄/m²·d para la fracción X_S y 0,6-0,8 gCH₄/m²·d para S_S, sin diferencias entre especies o estación. Al comparar los valores de producción de metano obtenidos en este balance, con lo determinado en promedio por otros autores (0,83 gCH₄/m²·d con rangos -0,002-6,486 gCH₄/m²·d) (Søvik *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Picek *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; Corbella y Puigagut, 2015.) y por lo determinado al evaluar la actividad microbiológica metanogénica (1,3-1,5 gCH₄/m²·d) en el capítulo IV de esta tesis (López *et al.*, 2015), se evidencia que la producción de metano estimada coincide a lo determinado en otras investigaciones. A su vez, hay que considerar que la estimación de metano se determinó considerando que la totalidad de los procesos encargados de la degradación de MO en el HSSF, correspondieron a procesos metanogénicos, sin considerar sulfato-reducción. Lo anterior, se considera debido a lo determinado por Chen *et al.* (2008), quienes demostraron en sistemas anaerobios, que se puede generar competencia en la degradación de MO entre las arqueas metanogénicas (acetoclásticas) y las bacterias sulfatoreductoras (BSR) cuando existe una razón DQO/SO₄²⁻ ≤ 1,7 donde predominan BSR y la otra por toxicidad por presencia de sulfuro (S⁻²), a concentraciones mayores a 50 mgH₂S/L (Caselles-Osorio y García, 2006; Von Sperling, 2007; Chen *et al.*, 2008). Debido a que estas condiciones no se dan en los sistemas HSSF, es decir, la relación DQO/SO₄²⁻ ≥ 3, por lo tanto la actividad metanogénica debería estar prevaleciendo. A su vez, la profundidad del HSSF influye directamente sobre las condiciones de oxido-reducción y por ende, en la microbiología que se desarrolla en el humedal (Chang *et al.*, 2008). Para potenciales de -215 mV prevalecen las BSR y a -244 mV, existe aumento de metanogénicas (Mitsch y Gosselink, 2000). En esta tesis las condiciones de oxido-reducción en promedio fueron de -257 mV con rangos en promedio de -228 a -287 mV, valores entregados en Tabla 2, capítulo V de la presente tesis. Consecuentemente, debido a lo expuesto en los dos puntos anteriores, es que se considera la degradación por la vía metanogénica como la principal ruta de degradación de la MO (Mitsch y Gosselink, 2000; Von Sperling, 2007; Chen *et al.*, 2008).

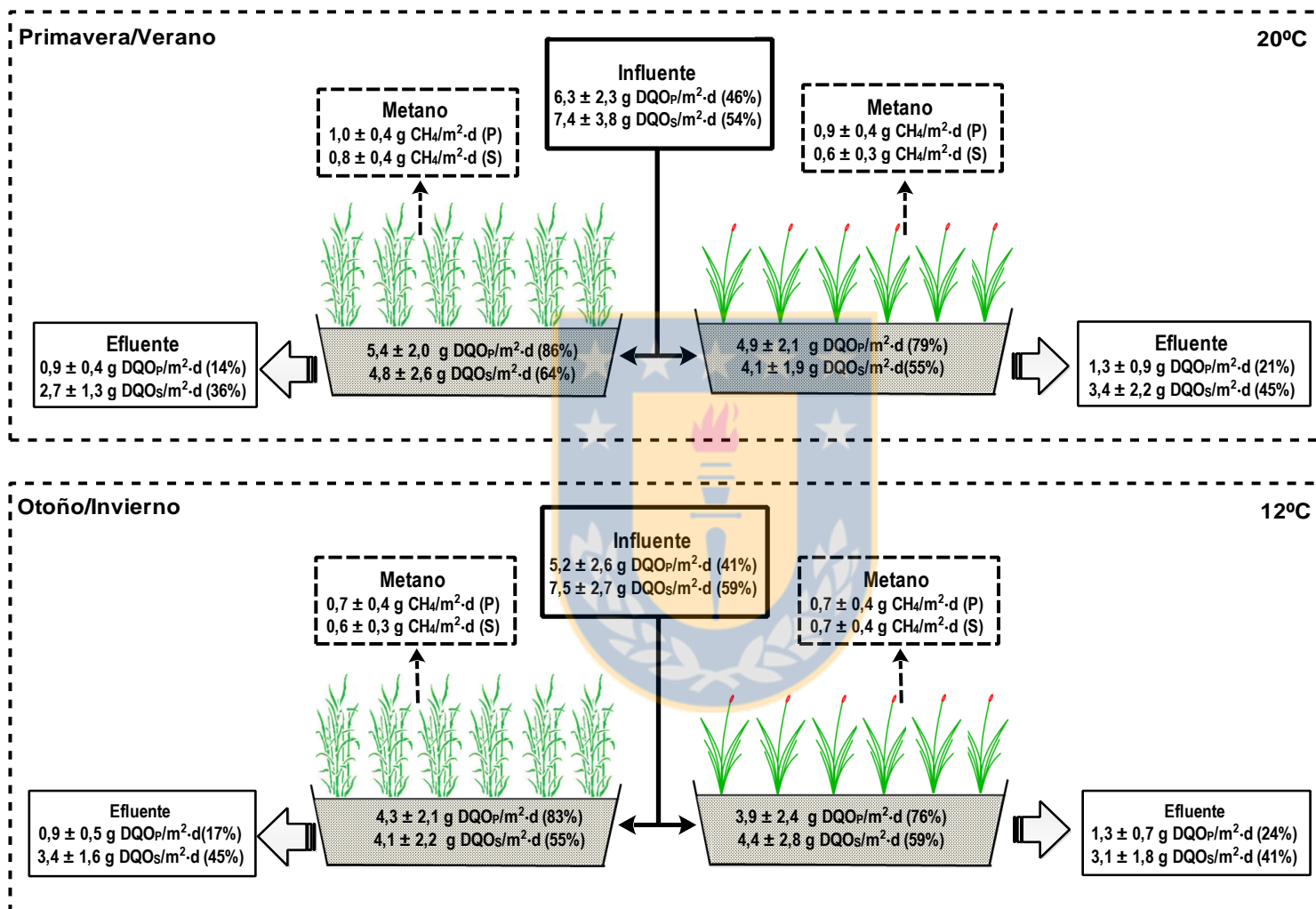


Figura 7. Balances de materia orgánica y estimación de la producción de metano en humedales construidos.

CAPITULO VIII

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES FINALES



1. CONCLUSIONES

- La evaluación de la incidencia de la estacionalidad sobre las eficiencias de eliminación de MO y nutrientes por parte de los HSSF, evidencian que la eliminación para COD, TSS, no presentan diferencias estacionales entre las temporadas frías (11°C) y cálidas (21°C). Sin embargo, se presentan diferencias a lo largo del tiempo de funcionamiento del HSSF. Por su parte, el nitrógeno para el primer año presentó eficiencias en promedio de 30% (0,98 gN/m²-delimitado) para finalizar en primavera del tercer año con eficiencias menores a 12% (0,7 gN/m²-delimitado). Respecto a lo anterior, se puede inferir que esta disminución en la eficiencia, se puede deber a un aumento en la carga de NT entre estas estaciones, pasando de 2,6 a 3,7 gN/m²-d. Por su parte, la eficiencia de eliminación de P a través de los HSSF presentó una disminución de continua durante los cuatro primeros años. Las máximas eficiencias se presentan durante el segundo año, sin embargo esta eficiencia no supera el 20%. Para el cuarto año, las eficiencias decaen a valores negativos (promedio=1%).

- La tasa de propagación de *Phragmites australis* en una etapa inicial es superior a *S. californicus*. Sin embargo, a largo plazo se estableció biomasa (1782 gPS/m²) y cobertura (85%) para *S. californicus* respecto a *P. australis* (385 gPS/m² y 64 %), durante los tres primeros años de operación. No obstante, la disminución en el desarrollo de *P. australis* al final del periodo de monitoreo, se debió principalmente al efecto de una plaga de áfidos que la atacó. Por su parte, el contenido de nutrientes en los tejidos de *P. australis* y *S. californicus* presentó una tendencia marcadamente estacional, presentando las concentraciones de nitrógeno (7,52 y 11,39 gN/m² para Sch y Phr) y fosforo (0,23 y 0,83 gP/m² para Phr y Sch) durante las temporadas de crecimiento (primavera y verano). Así, a escala piloto *P. australis* y *S. californicus* son sólo capaces de eliminar nutrientes en un máximo de 6% de la carga de N y P aplicada al HSSF.

- La producción total de metano determinado al evaluar la actividad microbiológica metanogénica (AME_m)(1,3-1,5 gCH₄/m²-d) y lo estimado en el balance de masa estacional (0,6-1,0 gCH₄/m²-d) realizado para *P. australis* y *S. californicus*, presentaron rangos similares, sin evidenciar diferencias significativas estacionales.

- Dadas las conclusiones anteriores, puede indicarse que se acepta parcialmente la hipótesis de trabajo propuesta, puesto que los sistemas de humedales construidos no presentan un

comportamiento diferencial asociado a la estacionalidad o a la macrófita utilizada, respecto a la eliminación de MO y sólidos. Sin embargo, la respuesta de estos sistemas está mayormente ligada a la carga orgánica aplicada y biomasa microbiológica que se fue estableciendo en los HSSF a lo largo del tiempo. Además, se evidencia que la estacionalidad condiciona la asimilación de nutrientes por parte de las macrófitas en los HSSF. Sin embargo, esta asimilación presenta una incidencia menor al 6% en la eficiencia de eliminación total de nutrientes. Finalmente, para la actividad microbiológica metanogénica y por ende la producción de metano, se demuestra que están condicionados principalmente por la carga orgánica aplicada y al desarrollo de biomasa en el sistema de HSSF.

2. RECOMENDACIONES FINALES

- Considerando las bajas eficiencias reportadas en la eliminación de nutrientes (menor al 10 %) por estos sistemas, se propone con la finalidad de optimizar la eliminación de N y P, experimentar con sistemas de humedales construidos de flujo vertical subsuperficial y/o con sistemas híbridos, de manera, de complementar los procesos generados en cada tipo de humedal, y así optimizar la eliminación de nutrientes. Más aún, sería recomendable considerar medios de soporte alternativos (por ejemplo: zeolita puede adsorber 0,33-0,46 kgP/gPS), o con una mezcla entre la grava y otros de materiales con mayor capacidad adsorción de P con la finalidad de optimizar la eliminación de P y a su vez la vida útil de los HC.

- Respecto a la selección de macrófitas, se recomienda evaluar el uso de plantas ornamentales o plantas con valor comercial. Específicamente, el uso de especies ornamentales en humedales construidos genera un valor estético adicional y paisajístico en áreas rurales. Además, como se evidenció parcialmente en esta tesis, las plantas ornamentales presentan una capacidad superior de acumulación de nutrientes en sus flores. Debido a esto, se recomienda estudiar más exhaustivamente el aporte de estas plantas en HSSF.

- Finalmente, respecto a la producción y emisión de metano en sistemas HSSF, se recomienda evaluar: a) la modificación de la altura de la lámina de agua para reducir las emisiones de metano; b) seleccionar macrófitas con alto desarrollo radicular, de manera, de poder oxidar el

metano generado, y a su vez, realizar podas controladas de manera de reducir la tasas de emisión de gases por parte de las macrófitas; c) evitar colmatación en zonas de entrada, para evitar anaerobiosis en zonas de alta carga (zona de entrada), de modo de homogeneizar y a su vez regular la emisión de metano a lo largo del humedal; d) para complementar la investigación realizada en esta tesis, sería de gran importancia hacer determinaciones de metano *In situ*, de manera de corroborar y comparar con las emisiones de metano estimadas mediante la AME_m y los balances de masa.



CAPITULO IX



- Abou-Elela, S., Golinielli, G., Abou-Taleb, E., Hellal, M. 2013. Municipal wastewater treatment in horizontal and vertical flows constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 61, 460-468.
- Agua Potable Rural (APR) y Dirección de Obras Hidráulicas (DOH). 2012. Situación y desafíos del saneamiento rural en Chile y su marco regulatorio. Ministerio de obras publicas.
- Aguirre, P. 2004. Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial. En:García, J., Morató, J., Bayona, J. 2004. Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos. Ediciones CPET, Centro de Publicaciones, Campus Nord, Barcelona, España, 100 pp.
- Ahn, C., Gillevet, P., Sikaroodi, M. 2007. Molecular characterization of microbial communities in treatment microcosm wetlands as influenced by macrophytes and phosphorus loading. *Ecol. Indic.* 7, 852-863.
- Akpor, O., Muchie, B. 2013. Environmental and public health implications of wastewater quality. *Afr. J. Biotech.* 10, 2379-2387.
- Akrotos, C., Tsihrantzis, V. 2007. Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 29, 173-191.
- Albuquerque, A., Oliveira, J., Semitela, S., Amaral, L. 2010. Evaluation of the effectiveness of horizontal subsurface flow constructed wetlands for different media. *J. Environ Sci.* 22, 820-825.
- Andrés, E. 2010. Evaluación de la capacidad de retención de fósforo mediante procesos de adsorción empleando zeolita, y su aplicación en sistemas de humedales construidos para la depuración de aguas residuales urbanas. Tesis para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad de Concepción-Universidad de Valladolid. 93 pp.
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D., Plugge, C. M., Stams, A. 2011. Biomethanation and its potential. *Method. Enzymol.* 494, 327-351.
- Araya, F., Pesante, S., Vera, I., Vidal, G. 2014. Las aguas servidas en zonas rurales. En: Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales: situación actual y desafíos. Eds. Vidal, G. y Araya, F. Universidad de Concepción, Chile. 118 pp.
- Arias, C., Brix, H. 2005. Phosphorus removal in constructed wetlands: can suitable alternative media be identified?. *Water Sci. Technol.* 51, 267-274.

- Ashbolt, N., Grabow, W., Snozzi, M. 2001. Indicators of microbial water quality. In: World Health Organization. 2001. Water quality: Guidelines, standards, and health: Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease. L. Fewtrell, J. Bartram (Eds.). IWA Publishing., 425 pp.
- Barbera, A., Borin, M., Ioppolo, A., Cirelli, G., Maucieri, C. 2014. Carbon dioxide emissions from horizontal sub-surface constructed wetlands in the Mediterranean Basin. *Ecol. Eng.* 64, 57-61.
- Barceló, D. 2008. Aguas Continentales: Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua. Informes CSIC, Madrid, España, 277 pp.
- Barrera, A. 1999. Análisis y caracterización de los parámetros de las aguas residuales necesarios para el dimensionamiento de estaciones depuradoras de menos de 2000 Hab- Eq. Tesis para optar al grado de Ingeniero Ambiental. Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, España, 120 pp.
- Bastian, R. 1993. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment and Wildlife Habitat: 17 Case Studies. In EPA 832-R-93-005. US Environmental Protection Agency, Municipal Technology Branch Washington, DC.
- Belmonte, M. 2012. Reducción de materia orgánica y nutrientes contenidos en purines de cerdo a través de tecnologías combinadas y su efecto en bioindicadores acuáticos. Tesis para optar al título Doctorado en ciencias ambientales, Universidad de Concepción, 250 pp.,
- Berdegué, J. Jara, E. Modrego, F. Sanclemente, X. Schejtman, A. 2010. Comunas Rurales de Chile. Documento de Trabajo N° 60. Programa Dinámicas Territoriales Rurales. Rimisp, Santiago, Chile. 43 pp.
- Bitton, G. 2011. *Wastewater microbiology*. 4th ed. John Wiley Sons. Unites States. 781 pp.
- Borin, M., Tocchetto, D. 2007. Five year water and nitrogen balance for a constructed surface flow wetland treating agricultural drainage waters. *Sci. Total Environ.* 380, 38-47.
- Boursier, H., Béline, F., Paul, E. 2005. Piggery wastewater characterization for biological nitrogen removal process design. *Bioresource Technol.* 96: 351–358.
- Březinová, T., Vymazal, J. 2015. Nitrogen standing stock in *Phragmites australis* growing in constructed wetlands—Do we evaluate it correctly? *Ecol. Eng.* 74, 286-289.

- Brix, H., Arias, C., Del Bubba, M. 2001. Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 47-54.
- Buck, S., Denton, G., Dodds, W., Fisher, J., Flemer, D., Hart, D., Welsh, E. 2000. Nutrient criteria technical guidance manual: rivers and streams. Washington, DC: USEPA. 253 pp.
- Caselles-Osorio, A., García, J. 2006. Performance of experimental horizontal subsurface flow constructed wetlands fed with dissolved or particulate organic matter. *Water Res.* 40, 3603-3611.
- Caselles-Osorio, A., García, J. 2006. Performance of experimental horizontal subsurface flow constructed wetlands fed dissolved or particulate organic matter. *Water Res.* 40, 3603-3611.
- Caselles-Osorio, A., Porta, A., Porras, M., García, J. 2007. Effect of high organic loading rates of particulate and dissolved organic matter on the efficiency of shallow experimental horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Water Air Soil Poll.* 183, 367-375.
- Chambers, P., Allard, M., Walker, S.L., Marsalek, J., Lawrence, J., Servos, M., Busnarda, J., Munger, K., Adare, K., Jefferson, C., Kent, R., Wong, M. 1997. Impacts of municipal effluents on Canadian waters: a review. *Water Qual. Res. J. Can.* 32, 659-713.
- Chartier, C., López, D., Vidal, G. 2014. Anaerobic Technology Influence on Pig Slurry Biofertilization: Evaluation of Enteric Bacteria. *Water, Air, Soil Poll.* 225, 1-10.
- Chen, Y., Cheng, J. J., Creamer, K. S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresour. Technol.* 99, 4044-4064.
- Chen, Y., Wen, Y., Zhou, Q., Vymazal, J. 2014. Effects of plant biomass on nitrogen transformation in subsurface-batch constructed wetlands: A stable isotope and mass balance assessment. *Water Res.* 63, 158-167.
- Christy, P., Gopinath, L., Divya, D. 2014. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 34, 167-173.
- Chung, A., Wu, Y., Tam, N., Wong, M. 2008. Nitrogen and phosphate mass balance in a subsurface flow constructed wetland for treating municipal wastewater. *Ecol. Eng.* 32, 81-89.

- Cisterna, P., Peña, D. 2010. Determinación de la relación DQO/DBO₅ en aguas residuales de comunas con población menor a 25.000 habitantes en la VIII región. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/chile13/trab-12.pdf>.
- Clarke, E., Baldwin, A. 2002. Responses of wetland plants to ammonia and water level. *Ecol. Eng.* 18, 257-264.
- Corporación chilena de la Madera (CORMA). 2012. Insectos de Chile nativos, introducidos y con problemas de conservación, Guía de Campo. Ed. Corporación Chilena de la Madera, Concepción, Chile.
- Conrad, R., Klose, M., Claus, P., Enrich-Prast, A. 2010. Methanogenic pathway, ¹³C isotope fractionation, and archaeal community composition in the sediment of two Clearwater lakes of Amazonia. *Limnol. Oceanogr.* 55, 689–702.
- Cooper, P. 2005. The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates. *Water Sci. Technol.* 5, 81-90.
- Corbella, C., Puigagut, J. 2015. Effect of primary treatment and organic loading on methane emissions from horizontal subsurface flow constructed wetlands treating urban wastewater. *Ecol. Eng.* 80, 79-84.
- Crites, R., Middlebrooks, J., Reed, S. 2006. Natural Wastewater Treatment Systems. Taylor Francis Group. Boca Raton, US. 537 pp.
- Cronk, J., Frennessy, M. 2001. Wetlands plants, biology and ecology. Lewis Publishers, USA, 439 pp.
- Cucarella, V., Renman, G. 2009. Phosphorus sorption capacity of filter materials used for on-site wastewater treatment determined in batch experiments a comparative study. *J. Environ. Qual.* 38, 381-392.
- Cui, L., Zhu, X., Ma, M., Ouyang, Y., Dong, M., Zhu, W., Luo, S. 2008. Phosphorus sorption capacities and physicochemical properties of nine substrate materials for constructed wetland. *Arch. Environ. Con. Tox.* 55, 210-217.
- Czepiel, P. M., Crill, P. M., Harriss, R. C. 1993. Methane emissions from municipal wastewater treatment processes. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2472-2477.

- de Klein, J., van der Werf, A. 2014. Balancing carbon sequestration and GHG emissions in a constructed wetland. *Ecol. Eng.* 66, 36-42.
- DeJournett, T. D., Arnold, W. A., LaPara, T. M. 2007. The characterization and quantification of methanotrophic bacterial populations in constructed wetland sediments using PCR targeting 16S rRNA gene fragments. *Appl. Soil Ecol.* 35, 648-659.
- Ding, Y., Song, X., Wang, Y., Yan, D. 2012. Effects of dissolved oxygen and influent COD/N ratios nitrogen removal horizontal subsurface flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 46, 107-111.
- Dirección General de Aguas (DGA). 2012. Estrategia Nacional de Recursos Hídricos 2012-2025. 40 pp.
- Dirección Obras Hidráulicas (DOH) y Dirección de Planeamiento (DPL). 2014. Identificación de brechas para la disponibilidad de agua potable rural, Chile: todos con agua; Regiones piloto Atacama y Los Ríos. Programa agua potable rural, Chile. 29 pp.
- Dong, X., Reddy, G. B. 2010. Soil bacterial communities in constructed wetlands treated with swine wastewater using PCR-DGGE technique. *Bioresource Technol.* 101, 1175-1182.
- Du, X., Xu, Z., Li, J., Zheng, L. 2014. Characterization and removal of dissolved organic matter in a vertical flow constructed wetland. *Ecol. Eng.* 73, 610-615.
- Dulekgurgen, E., Doğruel, S., Karahan, Ö., Orhon, D. 2006. Size distribution of wastewater COD fractions as an index for biodegradability. *Water Res.* 40, 273-282.
- Dünner, I., 2004. Evaluación Integral de Plantas de tratamiento de Aguas Servidas y alternativas de tratamiento en localidades rurales concentradas. Aplicaciones en las regiones RM y VII. Memoria para optar al título de Ingeniero civil. Universidad de Chile. 175 pp.
- Dyer, S., Peng, C., McAvoy, D., Fendinger, N., Masscheleyn, P., Castillo, L., Lim, J. 2003. The influence of untreated wastewater to aquatic communities in the Balatuin River, The Philippines. *Chemosphere*, 52, 43-53.
- Edwards, K., Čížková, H., Zemanová, K., Šantrůčková, H. 2006. Plant growth and microbial processes in a constructed wetland planted with *Phalaris arundinacea*. *Ecol. Eng.* 27, 153-165.
- Elmitwalli, T., Soellner, J., De Keizer, A., Bruning, H., Zeeman, G., Lettinga, G. 2001. Biodegradability and change of physical characteristics of particles during anaerobic digestion of domestic sewage. *Water Res.* 35, 1311-1317.

- Frêne, C., Ojeda, G., Santibáñez, J., Donoso, C., Sanzana, J., Molina, C., Andrade, P., Núñez-Ávila, M. 2014. Agua en Chile: diagnósticos territoriales y propuestas para enfrentar la crisis hídrica. Eds. Cristián Frêne y Pedro Andrade. Chile, 58 pp.
- Fu, G., Zhang, J., Chen, W., Chen, Z. 2013. Medium clogging and the dynamics of organic matter accumulation in constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 60, 393-398.
- García, J., Aguirre, P., Barragán, J., Mujeriego, R., Matamoros, V., Bayona, J. M. 2005. Effect of key design parameters on the efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 25, 405-418.
- García, J., Aguirre, P., Mujeriego, R., Huang, Y., Ortiz, L., 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., Capel, V., Castro, A., Ruiz, I., Soto, M. 2007. Anaerobic biodegradation tests and gas emissions from subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technol.* 98, 3044-3052.
- García, J., Corzo, A. 2008. Depuración con humedales construidos. Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial. Universidad Politécnica de Catalunya, España, 108 pp.
- Garcia, J., Rousseau, D., Morato, J., Lesage, E., Matamoros, V., Bayona, J. 2010. Contaminant removal processes in subsurface-flow constructed wetlands: a review. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* 40, 561-661.
- Gerald, M. 2003. The microbiology of Anaerobic Digesters. Wiley-Interscience. A John Wiley Sons, Inc., Publication. New Jersey, United States. 177 pp.
- Gerardi, M. 2006. Wastewater bacteria. Wiley-Interscience. A John Wiley Sons, Inc., Publication. Pennsylvania, United States. 255 pp.
- Grady, C., Daigger, G., Lim, H., 1999. Biological wastewater treatment. ed. marcel dekker (New York). p. 48-161.
- Grünfeld, S., Brix, H. 1999. Methanogenesis and methane emissions: effects of water table, substrate type and presence of *Phragmites australis*. *Aquat. Bot.* 641, 63-75.
- Guerrero, M. 2014. Estudio del impacto ambiental y plan de manejo ambiental de la planta de tratamiento de aguas servidas de la junta administradora de agua potable y alcantarillado de la

parroquia Quinchicoto. Tesis para optar al título de Magister en Agroecología y Ambiente. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. 138 pp.

- Habit, E., Parra, O., Valdovinos, C. 2005. Ictiofauna de un sistema fluvial receptor de aguas servidas: respuestas a una nueva planta de tratamiento (Río Quilque, Chile Central). *Gayana*, 69, 94–103.
- Halverson, N. 2004. Review of constructed subsurface flow vs. surface flow wetlands. Aiken: Westinghouse Savanna River Company, U.S. 42 pp.
- Hanjra, M., Blackwell, J., Carr, G., Zhang, F., Jackson, T. 2012. Wastewater irrigation and environmental health: Implications for water governance and public policy. *Int. J. Hyg. Envir. Heal.* 215, 255-269.
- He, S., Yan L., Kong, H., Liu, Z., Wu, D., Hu, Z. 2007. Treatment efficiencies of constructed wetlands for eutrophic landscape river water. *Pedosphere*, 17, 522–528.
- Henze, M. Harremoës, P., LaCour-Jansen, J., Arvin, E. 2002. *Wastewater treatment: biological and chemical processes*. Springer Science, Heidelberg, Germany. 430 pp.
- Henze, M., Comeau, Y. 2008. Wastewater characterization. *Biological wastewater treatment: principles, modelling and design*. IWA Publishing, London, 33-52.
- Holeton, C., Chambers, P., Grace, L., Kidd, K. 2011. Wastewater release and its impacts on Canadian waters. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 68, 1836-1859.
- Hunt, P., Stone, K., Matheny, T., Poach, M., Vanotti, M., Ducey, T. 2009. Denitrification of nitrified and non-nitrified swine lagoon wastewater in the suspended sludge layer of treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 35, 1514-1522.
- Hussein, H., Farag, S., Kandil, K., Moawad, H. 2005. Tolerance and uptake of heavy metals by Pseudomonads. *Process Biochem.* 40, 955-961.
- Inamori, R., Gui, P., Dass, P., Matsumura, M., Xu, K. Q., Kondo, T., Inamori, Y. 2007. Investigating CH₄ and N₂O emissions from ecoengineering wastewater treatment processes using constructed wetland microcosms. *Process Biochem.* 42, 363-373.
- Instituto Nacional de estadística (INE). 2002. Glosario de términos de demografía y estadísticas vitales. Revisión agosto del 2015. <http://palma.ine.cl/demografia/menu/glosario.pdf>.

- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Summary for Policymakers. In: Climate Change 2007: Mitigation. In: Metz, B., Davidson, O.R., Bosch, P.R., Dave, R., Meyer, L.A. (Eds.), Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report IPCC, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 18 pp.
- Jauset, A., Cliville, R., Muñoz, M., Pons, X. 1998. Ensayo de preferencia de individuos alados de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)(Homoptera: Aphididae) sobre siete gramíneas cultivadas. *Boletín de sanidad vegetal: Plagas*, 24, 391-398.
- Jinadasa, K., Tanaka, N., Sasikala, S., Werellagama, D., Mowjood, M., Ng, W. 2008. Impact of harvesting on constructed wetlands performance—a comparison between *Scirpus grossus* and *Typha angustifolia*. *J. Environ. Sci. Health, Part A*, 43, 664-671.
- Johansson, A., Gustavsson, A., Öquist, M., Svensson, B. 2004. Methane emissions from a constructed wetland treating wastewater—seasonal and spatial distribution and dependence on edaphic factors. *Water Res.*38, 3960-3970.
- Kadlec, R. 2003. Effects of pollutant speciation treatment wetlands design. *Ecol. Eng.*201, 1-16.
- Kadlec, R., Knight, R. 1996. *Treatment Wetlands*, Lewis Publishers, CRC Press, 893 pp.
- Kadlec, R., Tanner, C., Hally, V., Gibbs, M. 2005. Nitrogen spiraling in subsurface-flow constructed wetlands: implications for treatment response. *Ecol. Eng.*25, 365-381.
- Kadlec, R., Wallace, S. 2009. *Treatment Wetlands*. Taylor y Francis Group, Boca Raton, USA, 1016 pp.
- Kantawanichkul, S., Kladprasert, S., Brix, H. 2009. Treatment of high-strength wastewater in tropical vertical flow constructed wetlands planted with *Typha angustifolia* and *Cyperus involucratus*. *Ecol. Eng.*35, 238-247.
- Khanal, S. 2008. *Anaerobic biotechnology for bioenergy production. Iowa: Wiley-Blackwell.*179 pp.
- Lana, L., Moraes, D., Von Sperling, M., Morato, M., Vasconcellos, G., Paraense, M., Moreira, T. 2013. Performance of a single stage vertical flow constructed wetland system treating raw domestic sewage in Brazil. *Water Sci. Technol.* 68, 1599-1606.
- Le Mer, J., Roger, P. 2001. Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: a review. *Eur. J. Soil Biol.*37, 25-50.

- Leal, L. H., Temmink, H., Zeeman, G., Buisman, C. J. N. 2011. Characterization and anaerobic biodegradability of grey water. *Desalination*, 270, 111-115.
- Lee, C., Kim, J., Hwang, K., O'Flaherty, V., Hwang, S. 2009. Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters. *Water Res.*43, 157-165.
- Li, L., He, C., Ji, G., Zhi, W., Sheng, L. 2015. Nitrogen removal pathways in a tidal flow constructed wetland under flooded time constraints. *Ecol. Eng.*81, 266-271.
- Lin, Y., Jing, S., Wang, T., Dy, L., 2002. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environ. Pollut.* 119, 413–420.
- Liu, C., Xu, K., Inamori, R., Ebie, Y., Liao, J., Inamori, Y. 2009. Pilot-scale studies of domestic wastewater treatment by typical constructed wetlands and their greenhouse gas emissions. *Front. Envir. Sci Eng. China*,3, 477-482.
- Liu, D. Y., Ding, W. X., Jia, Z. J., Cai, Z. C. 2011. Relation between methanogenic archaea and methane production potential in selected natural wetland ecosystems across China. *Biogeosciences*, 8, 329-338.
- López, D., Fuenzalida, D., Vera, I., Rojas, K., 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.
- Luederitz, V., Eckert, E., Lange-Weber, M., Lange, A., Gersberg, R. M. 2001. Nutrient removal efficiency and resource economics of vertical flow and horizontal flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 18, 157-171.
- Lv, X., Yu, J., Fu, Y., Ma, B., Qu, F., Ning, K., Wu, H. 2014. A meta-analysis of the bacterial and archaeal diversity observed in wetland soils. *Scientific World J.*2014, 1-12
- Maddison, M., Mairing, T., Remm, K., Lesta, M., Mander, Ü. 2009. Dynamics of *Typha latifolia* L. Populations in treatment wetlands in Estonia. *Ecol. Eng.* 35, 258-264.
- Malecki-Brown, L. M., White, J. R., Brix, H. 2010. Alum application to improve water quality in a municipal wastewater treatment wetland: Effects on macrophyte growth and nutrient uptake. *Chemosphere*, 79, 186-192.

- Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S. F., Mitsch, W. J. 2014. Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: a review. *Ecol. Eng.* 66, 19-35.
- Mander, Ü., Teiter, S., Kuusemets, V., Lõhmus, K., Öövel, M., Nurk, K., Augustin, J. 2003. Nitrogen and phosphorus budgets in a subsurface flow wastewater treatment wetland. *Comput. Mech.* 135-148.
- Mann, R., Bavor, H., 1993. Phosphorus removal in constructed wetlands using gravel and industrial waste substrata. *Water Sci. Technol.* 27, 107–113.
- Mara, D. 2004. Domestic wastewater. Treatment in developing countries. Routledge, Earthscan. London, Sterling, UK, 293 pp.
- Mathieu, S.; Etienne, P. 2000. Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various So/Xo ratios. *Water Res.* 34:1233-1246.
- Mayo, A. W., Bigambo, T. 2005. Nitrogen transformation in horizontal subsurface flow constructed wetlands I: Model development. *Phys. Chem. Earth, Parts A/B/C.* 30, 658-667.
- Mburu, N., Tebitendwa, S., Rousseau, D., van Bruggen, J., Lens, P. 2012. Performance evaluation of horizontal subsurface flow–constructed wetlands for the treatment of domestic wastewater in the tropics. *J. Environ. Eng.* 139, 358-367.
- McHenry, J., Werker, A. 2005. In-situ monitoring of microbial biomass in wetland mesocosms. *Water Sci. Technol.* 51, 233-241.
- Magonikal, J., Mines, M., Visscher, P. 2004. Anaerobic metabolism: linkage to trace gases and aerobic processes. *Biogeochemistry*, 8, 317-424.
- Metcalf y Eddy. 2003. Wastewater Engineering: Treatment, and Reuse. McGraw-Hill, New York, USA, 1820 pp.
- Ministerio Desarrollo Social (MDS). 2015. Metodología formulación y evaluación de proyectos de evacuación, tratamiento y disposición de aguas servidas sector rural. División de Evaluación Social de Inversiones, Chile. 16 pp.
- Mitsch, W., Gosselink, J. 2000. Wetlands, 3rd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York, 920 pp.
- Montalvo, S., Gerrero, L. 2003. Tratamiento anaerobio de residuos. Producción de biogás. Universidad Técnica Santa María, Valparaíso, Chile. 413 pp.

- Moreno, J., Moral, R., García, J. Valero, J. Bernal, M. 2007. Aspectos biológicos de la digestión anaeróbica. En: De residuo a recurso. El camino hacia la sostenibilidad. Ed. Mundi-prensa. España, 319 pp.
- Muga, H., Mihelcic, J. 2008. Sustainability of wastewater treatment technologies. *J. Environ. Manage.* 88, 437-447.
- Neubauer, M., Plaza de los Reyes, C., Pozo, G., Villamar, C. A., 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.
- Nguyen, L. M. 2000. Organic matter composition, microbial biomass and microbial activity in gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Ecol. Eng.* 16, 199-221.
- Öövel, M., Tooming, A., Muring, T., Mander, Ü. 2007. Schoolhouse wastewater purification in a LWA-filled hybrid constructed wetland in Estonia. *Ecol. Eng.* 29, 17-26.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). 2006. The New Rural Paradigm: Policies and Governance. OECD Rural Policy Reviews. Organisation for Economic Co-Operation and Development. Paris. 168 pp.
- Pedescoll, A., Corzo, A., Álvarez, E., Puigagut, J., García, J. 2011. Contaminant removal efficiency depending on primary treatment and operational strategy in horizontal subsurface flow treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 372-380.
- Pedescoll, A., Sidrach-Cardona, R., Sánchez, J., Carretero, J., Garfi, M., Bécares, E. 2013. Design configurations affecting flow pattern and solids accumulation in horizontal free water and subsurface flow constructed wetlands. *Water Res.* 47, 1448-1458.
- Pelissari, C., Sezerino, P., Decezaró, S., Wolff, D., Bento, A., de Carvalho Junior, O., Philippi, L. 2014. Nitrogen transformation in horizontal and vertical flow constructed wetlands applied for dairy cattle wastewater treatment in southern Brazil. *Ecol. Eng.* 73, 307-310.
- Pícek, T., Čížková, H., Dušek, J. 2007. Greenhouse gas emissions from constructed wetland-plants as important sources of carbon. *Ecol. Eng.* 31, 98-106.
- Pinney, M. L., Westerhoff, P. K., Baker, L. 2000. Transformations in dissolved organic carbon through constructed wetlands. *Water Res.* 34, 1897-1911.

- Plaza de los Reyes, C., Vera, L., Vidal, G., Salvato, M., Borin, M. 2011. Consideraciones para la eliminación del nitrógeno en humedales artificiales. *Tecnología del agua*, 31, 40-49.
- Puigagut, J., Villaseñor, J., Salas, J. J., Bécares, E., García, J. 2007. Subsurface-flow constructed wetlands in Spain for the sanitation of small communities: a comparative study. *Ecol. Eng.* 30, 312-319.
- Quanrud, D., Karpiscak, M., Arnold, R. 2001. Behavior of organic carbon during subsurface wetland treatment in the Sonoran Desert. *Water Sci. Technol.* 44, 267-272.
- Rai, U., Upadhyay, A., Singh, N., Dwivedi, S., Tripathi, R. 2015. Seasonal applicability of horizontal sub-surface flow constructed wetland for trace elements and nutrient removal from urban wastes to conserve Ganga River water quality at Haridwar, India. *Ecol. Eng.* 81, 115-122.
- Ramalho, R. 1996. Tratamiento de Aguas Residuales. Editorial Reverté, Barcelona, España, 707 pp.
- Reddy, K., D'Angelo, E., DeBusk, T. 1989. Oxygen transport through aquatic macrophytes: the role in wastewater treatment. *J. Environ. Qual.* 19, 261-267.
- Reddy, K., DeBusk W. 1987. Nutrient storage capabilities of aquatic and wetland plants. In: Reddy, K., Smith WH, editors. *Aquatic plants for water treatment and resource recovery*. Orlando, Florida: Magnolia Publishing, United states, 337 pp.
- Reddy, K., Patrick, W. 1984. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *Crit. Rev. Environ. Control.* 13, 273-309.
- Reynolds, K. 2002. Tratamiento de aguas residuales en Latinoamérica. *Latinoamérica.* 12, 1-4.
- Rivett, M., Buss, S., Morgan, P., Smith, J. Bemment, C. 2008. Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes. *Water Res.* 42, 4215-4232.
- Rodríguez, J., Mañunga, T., Cárdenas, C. 2012. Effect of organic matter fractions on the performance of a pulp and paper mill wastewater treatment system. *Revista UDCA Actualidad Divulgación Científica.* 15, 447-455.
- Rodríguez, M., Brisson, J. 2015. Pollutant removal efficiency of native versus exotic common reed (*Phragmites australis*) in North American treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 74, 364-370.
- Rodríguez, P. 2012. Saneamiento en el sector rural: En busca de opciones sostenibles. *Agua Potable Rural. Revista AIDIS.*

- Rodríguez, P. 2011. Análisis de la Situación de las Aguas Servidas en Zonas Rurales de la IV, VI y RM de Chile y Proposición de un Sistema Sustentable para su Tratamiento. Memoria para optar al título de ingeniero civil. Universidad de Chile, 151 pp.
- Rousseau, D., Santa, S. 2007. Quantification of oxygen transfer pathways in horizontal subsurface-flow constructed wetlands. In Mander, Ü., Koiv, M., Vohla, C. eds. 2nd International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control WETPOL 2007, Tartu, Estonia, 260 pp.
- Rousseau, D., Vanrolleghem, P., De Pauw, N. 2004. Model-based design of horizontal subsurface-flow constructed treatment wetlands: A review. *Water Res.* 38, 1484-1493.
- Ruiz, I., Díaz, M., Crujeiras, B., García, J., Soto, M. 2010. Solids hydrolysis and accumulation in a hybrid anaerobic digester-constructed wetlands system. *Ecol. Eng.* 36, 1007-1016.
- Sadecka, Z., Jedrezak, A., Pluciennik-Koropczuk, E., Myszograj, S., Suchowska-Kisielewicz, M. 2013. COD Fractions in Sewage Flowing into Polish Sewage Treatment Plants. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 27, 185-195.
- Saeed, T., 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.
- Scheehle, E., Doorn, M. 2003. Improvements to the US wastewater methane and nitrous oxide emissions estimates. *US EPA report*, 10 pp.
- Seo, D., Cho, J., Lee, H., Heo, J. 2005. Phosphorus retention capacity of filter media for estimating the longevity of constructed wetland. *Water Res.* 39, 2445-2457.
- Shackle, V., Freeman, C., Reynolds, B. 2000. Carbon supply and the regulation of enzyme activity in constructed wetlands. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1935-1940.
- Shah, F., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Raja, I., Shah, M. 2015. Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. *Renew. Sustainable Energy Rev.* 42, 627-642.
- Shon, H., Vigneswaran, S., Snyder, S. 2006. Effluent organic matter (EfOM) in wastewater: constituents, effects, and treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. technol.* 36, 327-374.
- Solano, M., Soriano, P., Ciria, M. 2004. Constructed wetlands as a sustainable solution for wastewater treatment in small villages. *Biosyst. Eng.* 87, 109-118.

- Søvik, A., Augustin, J., Heikkinen, K., Huttunen, J., Necki, J., Karjalainen, S., Wachniew, P. 2006. Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *J. Environ. Qual.* 35, 2360-2373.
- Speece, R. 2008. Anaerobic Biotechnology and Odor/Corrosion Control for Municipalities and Industries. J. M. Speece, Ed: Archae Press. Nashville, Unites States, 586 pp.
- Stefanakis, A., Tsihrintzis, V. 2009. Performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands treating simulated municipal wastewater: effect of various design parameters. *Desalination.* 248, 753-770.
- Stein, O. Hook, P. 2005. Temperature, plants, and oxygen: how does season affect constructed wetland performance?. *J. Environ. Sci. Health,* 40, 1331-1342.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Moormann, H. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93-117.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Müller, R.A., and Moormann, H. 2003. Effect of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93-117.
- Subsecretaría de Desarrollo Regional y Administrativo (SUBDERE). 2009. Manual de soluciones de saneamiento sanitario para zonas rurales. Centro de Documentación y Publicación CEDOC. Chile, 202 pp.
- Subsecretaría de Desarrollo Regional y Administrativo (SUBDERE). 2014. Taller sobre estrategia para las plantas de tratamiento de las aguas servidas rurales en Chile. Noticia disponible:<http://www.subdere.cl/sala-de-prensa/subdere-y-bid-desarrollan-taller-sobre-estrategia-para-las-plantas-de-tratamiento-de->. Extraído: marzo 2015.
- Sundaravadivel, M., Vigneswaran, S. 2001. Constructed wetlands for wastewater treatment. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.* 31, 351-409.
- Súper Intendencia de Servicios Sanitarios (SISS). 2014. Informe anual de coberturas urbanas de servicios sanitarios. Santiago, Chile, 24 pp.
- Tanner, C. 1996. Plants for constructed wetland treatment systems—a comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecol. Eng.* 7, 59-83.

- Tanner, C. 2001. Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 11-12.
- Tanner, C., Adams, D., Downes, M. 1997. Methane emissions from constructed wetlands treating agricultural wastewaters. *J. Environ. Qual.* 26, 1056-1062.
- Tanner, C., Clayton, J., Upsdell, M. 1995. Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands—II. Removal of nitrogen and phosphorus. *Water Res.* 29, 27-34.
- Tanner, C., Kadlec, R., Gibbs, M., Sukias, J., Nguyen, M. 2002. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands—influence of wastewater characteristics. *Ecol. Eng.* 18, 499-520.
- Tanner, C., Nguyen, M., Sukias, J. 2005. Nutrient removal by a constructed wetland treating subsurface drainage from grazed dairy pasture. *Agr. Ecosyst. Environ.* 105, 145-162.
- Tanner, C., Sukias, J., Upsdell, M. 1998. Organic matter accumulation during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Water Res.* 32, 3046-3054.
- Teiter, S., Mander, Ü. 2005. Emission of N₂O, N₂, CH₄, and CO₂ from constructed wetlands for wastewater treatment and from riparian buffer zones. *Ecol. Eng.* 25, 528-541.
- Thauer, R., Kaster, A., Seedorf, H., Buckel, W., Hedderich, R. 2008. Methanogenic archaea: Ecologically relevant differences in energy conservation. *Nat. Rev. Microbiol.* 6, 579–591
- Thongtha, S., Teamkao, P., Boonapatcharoen, N., Tripetchkul, S., Techkarnjararuk, S., Thiravetyan, P. 2014. Phosphorus removal from domestic wastewater by *Nelumbo nucifera* Gaertn. and *Cyperus alternifolius* L. *J. Environ. Manage.* 137, 54-60.
- Toprak, H. 1995. Temperature and organic loading dependency of methane and carbon dioxide emission rates of a full-scale anaerobic waste stabilization pond. *Water Res.* 29, 1111-1119.;
- Tran, N., Ngo, H., Urase, T., Gin, K. 2015. A critical review on characterization strategies of organic matter for wastewater and water treatment processes. *Bioresour. Technol.* 193, 523-533.
- Trang, N., Konnerup, D., Schierup, H., Chiem, N., Brix, H. 2010. Kinetics of pollutant removal from domestic wastewater in a tropical horizontal subsurface flow constructed wetland system: Effects of hydraulic loading rate. *Ecol. Eng.* 36, 527-535.

- Truu, M., Juhanson, J., Truu, J. 2009. Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 407, 3958-3971.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) 1992. Manual Wastewater Treatment/Disposal for Small Communities. Cincinnati, Ohio, USA, 120 pp.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) 2000. Manual: Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. Cincinnati, Ohio, USA, 166 pp.
- Van Bodegom, P., Stams, F., Mollema, L., Leffelaar, P. 2001. Methane oxidation and the competition for oxygen in the rice rhizosphere. *Appl. Environ. Microb.* 67, 3586-3597.
- van der Nat, F. J. W., Middelburg, J. J. 1998. Seasonal variation in methane oxidation by the rhizosphere of *Phragmites australis* and *Scirpus lacustris*. *Aquat. Bot.* 61, 95-110.
- Van Haandel, A., Lettinga, G. 1994. Anaerobic Sewage Treatment. John Wiley Sons. Michigan, USA, 226 pp.
- Vasudevan, P., Griffin, P., Warren, A., Thapliyal, A., Tandon, M. 2011. Localized domestic wastewater treatment: part I constructed wetlands an overview. *J. Sci. Ind. Res.* 70, 583-594.
- Vera, I. 2012. Análisis de funcionamiento y patrones asociativos de sistemas de tratamiento convencionales y naturales de aguas servidas para la eliminación de materia orgánica y nutrientes. Trabajo de grado, Doctorado Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción, Chile. 236 pp.
- Vera, I., Araya, F., Andrés, E., Sáez, K., Vidal, G. 2014. Enhanced phosphorus removal from sewage in mesocosm-scale constructed wetland using zeolite as medium and artificial aeration. *Environ. Technol.* 35, 1639-1649.
- Vera, I., García, J., Sáez, K., Moragas, L., Vidal, G. 2011. Performance evaluation of eight years experience of constructed wetland systems in Catalonia as alternative treatment for small communities. *Ecol. Eng.* 37, 364-371.
- Villarroel, C. 2012. Asociaciones Comunitarias de Agua Potable Rural en Chile: Diagnóstico y Desafíos. Santiago: Sara Larraín y Teresa Montecinos. Chile. 24 pp.
- Vohla, C., Alas, R., Nurk, K., Baatz, S., Mander, Ü. 2007. Dynamics of phosphorus, nitrogen and carbon removal a horizontal subsurface flow constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 380, 66-74.

- Vohla, C., Köiv, M., Bavor, H. J., Chazarenc, F., Mander, Ü. 2011. Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands-A review. *Ecol. Eng.* 37, 70-89.
- Vohla, C., Poldvere, E., Noorvee, A., Kuusemets, V., Mander, Ü. 2005. Alternative filter media for phosphorous removal in a horizontal subsurface flow constructed wetland. *J. Environ. Sci. Heal.* 40, 1251-1264.
- von Sperling, M. 1996. Comparison among the most frequently used systems for wastewater treatment in developing countries. *Water Sci. Technol.* 33, 59-72.
- von Sperling, M. 2007. Biological Wastewater Treatment. Volume 1: Wastewater characteristics, treatment and disposal. IWA Publishing, London, England, 292 pp.
- 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. 2011. Long-term performance of constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: Ten case studies from the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 37, 54-63.
- Vymazal, J. 2013. Emergent plants used in free water surface constructed wetlands: a review. *Ecol. Eng.* 61, 582-592.
- Vymazal, J. 2013. Vegetation development in subsurface flow constructed wetlands in the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 61, 575-581.
- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. F., Haberl, R., Perfler, R., Laber, J. 1998. Removal mechanisms and types of constructed wetlands. *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe*, 17-66.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2005. Growth of *Phragmites australis* and *Phalaris arundinacea* in constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecol. Eng.* 25, 606-621.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2008. Wastewater Treatment in Constructed Wetlands with Horizontal Sub-Surface Flow. *Environmental Pollution* 14. Springer, Heidelberg, Germany, 566 pp.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2009. Removal of organics in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: a review of the field experience. *Sci. Total Environ.* 407, 3911-3922.

- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2011. A three-stage experimental constructed wetland for treatment of domestic sewage: first 2 years of operation. *Ecol. Eng.* 37, 90-98.
- Wallace, S., Knight, R. 2006. *Small-scale Constructed Wetland Treatment Systems: Feasibility, Design Criteria and OM Requirements*. IWA Publishing. R-21 pp.
- Wang, J., Zhang, J., Xie, H., Ren, Y., Hu, Z. 2011. Methane emissions from a full-scale A/A/O wastewater treatment plant. *Bioresource Technol.* 102, 5479-5485.
- Wang, Y., Inamori, R., Kong, H., Xu, K., Inamori, Y., Kondo, T., Zhang, J. 2008. Influence of plant species and wastewater strength on constructed wetland methane emissions and associated microbial populations. *Ecol. Eng.* 32, 22-29.
- Wang, Y., Yang, H., Ye, C., Chen, X., Xie, B., Huang, C., Xu, M. 2013. Effects of plant species on soil microbial processes and CH₄ emission from constructed wetlands. *Environ. Poll.* 174, 273-278.
- Weedon, C. M. 2003. Compact vertical flow constructed wetland systems- First two years' performance. *Water Sci. Technol.* 48, 15-23.
- Weller, N. A., Childers, D. L., Turnbull, L., Upham, R. F. 2015. Aridland constructed treatment wetlands I: Macrophyte productivity, community composition, and nitrogen uptake. *Ecol. Eng.* (In press).
- Wu, J., Zhang, J., Jia, W., Xie, H., Gu, R. R., Li, C., Gao, B. 2009. Impact of COD/N ratio on nitrous oxide emission from microcosm wetlands and their performance in removing nitrogen from wastewater. *Bioresource Technol.* 100, 2910-2917.
- Yan, X., Li, L., Liu, J. 2014. Characteristics of greenhouse gas emission in three full-scale wastewater treatment processes. *J. Environ. Sci.* 26, 256-263.
- Yoon, C., Kwun, S., Ham, J. 2001. Feasibility study of a constructed wetland for sewage treatment in a Korean rural community. *J. Environ. Sci. Health, Part A*, 36, 1101-1112.
- Zhang, C. B., Wang, J., Liu, W. L., Zhu, S. X., Ge, H. L., Chang, S. X., Ge, Y. 2010. Effects of plant diversity on microbial biomass and community metabolic profiles in a full-scale constructed wetland. *Ecol. Eng.* 36, 62-68.

- Zhao, Y., Liu, B., Zhang, W., Ouyang, Y., An, S. 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.
- Zhao, Y., Xia, X., Yang, Z. 2013. Growth and nutrient accumulation of *Phragmites australis* in relation to water level variation and nutrient loadings in a shallow lake. *J. Environ. Sci.* 25, 16-25.
- Zhu, H., Yan, B., Xu, Y., Guan, J., Liu, S. 2014. Removal of nitrogen and COD in horizontal subsurface flow constructed wetlands under different influent C/N ratios. *Ecol. Eng.* 63, 58-63.
- Zurita, F., Belmont, M., De Anda, J., White, J. 2011. Seeking a way to promote the use of constructed wetlands for domestic wastewater treatment in developing countries. *Water Sci. Technol.* 63, 654-659.
- Zurita, F., De Anda, J., Belmont, M. 2009. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 35, 861-869.



ANEXO I



1. DATOS PERSONALES

Nombre: Daniela Andrea López Leyton
Fecha de nacimiento: 15 de junio de 1983
Nacionalidad: Chilena
RUT: 15.478.858-1
E-mail: dlopez@udec.cl/ danielalopezleyton@gmail.com
Teléfono: +56-041-3251047 / +56-954450539

2. FORMACION ACADEMICA

2007. Licenciado Biología Marina. Facultad de Ciencias naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. Chile.

2008. Bióloga Marina. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas Universidad de Concepción. Chile.

2010. Diplomado en Análisis y Gestión del Ambiente. Facultad de Ciencias Ambientales y Centro EULA-CHILE, Universidad de Concepción. Chile.

2011. Dra. (c) Ciencias Ambientales con mención en Sistemas Acuáticos Continentales. Facultad de Ciencias Ambientales y Centro EULA-CHILE, Universidad de Concepción. Chile.

3. ESTADIAS DE INVESTIGACION

2008-2009: Pasantía de investigación para capacitación en técnicas moleculares para la determinación de microorganismos provenientes de matrices ambientales realizada en el Laboratorio de microbiología Sanitaria y ambiental, de la Escuela de Óptica y optometría, en la Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, España (Diciembre 2008 - Septiembre del 2009). Financiada por el Proyecto Alfa Tecnologías sostenibles para la potabilización y el tratamiento de aguas residuales (TECSPAR), AML/19.0902/97/666/II-543-FI-FA-FCD.

4. EXPERIENCIA EN DOCENCIA

4.1 Docencia

2015: Participación en el curso de postgrado: “Recuperación de Energía y Compuestos Valiosos a Partir de Materia Orgánica y Nutrientes a Través de la Digestión Anaeróbica y los Humedales Construidos, desde una Perspectiva Ecosistémica”. Dictado en el marco del Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales mención Sistemas Acuáticos Continentales. Apoyo en trabajo terreno. Facultad de Ciencias Ambientales y Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, 7-15 Enero 2015. Coordinadora: Dra. Gladys Vidal.

2014: Clases para la Curso de Revalorización de Residuos y su impacto Ambiental (Código 999089). Para la carrera de Ingeniería Ambiental, titulada “Tecnologías para detección de contaminantes microbiológicos”, de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Concepción. Noviembre 2014. Coordinadora: Dra. Gladys Vidal.

2014: Profesora (22hrs.) de la asignatura Ecotoxicología (código: CQM-311). Facultad de Ciencias. Universidad Católica de la Santísima Concepción. Septiembre a Octubre 2014.

2014: Charla de difusión con el tema “Tecnologías naturales para mejorar el ambiente”. Liceo San Bautista de Hualqui C-41, Hualqui. Realizada dentro del programa 1000 Científicos 1000 Aulas.

2011-2014: Ayudante en el curso “Aspectos Ambientales de Procesos Productivos con Recursos Biológicos” Código 240413. Dictada en la Facultad de Ciencias Ambientales y Centro EULA-CHILE, por la Dra. Gladys Vidal. Se realizaron actividades de 4 horas/semanales, desde Agosto a Diciembre.

4.2 Tesis co-dirigidas

2015: “Producción de metano en el tratamiento de aguas servidas por humedales de flujo horizontal subsuperficial utilizando *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus*: Efecto en las comunidades microbianas”. Tesis para obtener el título de Bioingeniero por el alumno Mario Sepúlveda Mardones de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad de Concepción (Marzo 2015 – Marzo 2016). Prof. Guía Dra. Gladys Vidal.

2013: “Operación de un sistema piloto de humedales construidos para la depuración de aguas servidas: Consideraciones de la actividad biológica en la eliminación de materia orgánica y nutrientes”. Tesis para obtener el título de Bioingeniero del alumno Daniel Fuenzalida Hinrichs de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad de Concepción (Marzo 2012 – Enero 2013). Prof. Guía Dra. Gladys Vidal.

2011: “Evaluación de la retención de coliformes fecales en columnas de suelo franco limoso, tras aplicación de purín de cerdo crudo y tratado anaeróbicamente”. Tesis para obtener el título de Bioingeniero de la alumna Constanza Chartier Espinoza, de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad de Concepción (Agosto 2010 – Mayo 2011). Prof. Guía Dra. Gladys Vidal.

5. PARTICIPACION EN PROYECTOS

5.1. Proyectos de Investigación

2014-2016: Estudiante Doctorado asociado en Proyecto INNOVA BIO-BIO N°13.3327-IN.IIP "Recuperación de agua mediante jardines depuradores a partir de aguas servidas rurales: Aplicaciones innovadoras con impacto para la comunidad rural". Investigador Responsable: Dra. Gladys Vidal.

2011-2014: Investigador asociado en proyecto MAPFRE “Control de la contaminación de aguas servidas en áreas rurales de alta sensibilidad sísmica, a través de humedales construidos: Incidencia en la eliminación del potencial biológico evaluado como disrupción endocrina (CON2ASER)”. Investigador Responsable: Dra. Gladys Vidal.

2009-2010: Técnico de laboratorio en el proyecto INNOVA 07-PC S1-198 “Generación de información para el diseño y operación de sistemas de tratamiento de bajo costo y ambientalmente sustentables para planteles porcinos” Investigador Responsable: Dra. Gladys Vidal.

2008: Asesora científica en proyecto explora. ED12/081. “El efecto del agua contaminada en la agricultura Nacimentana”, realizado por alumnos de octavo año de enseñanza básica, de la Escuela Nacimiento de Nuestro Señor, Nacimiento. Profesor/Investigador Responsable Sra. María Teresa Retamal.

2007-2008: Alumna tesista de pregrado en el proyecto FONDECYT 1070509. “Integrated biological treatment for the removal of estrogenic endocrine disrupter’s compounds contains in Eucalipto and Pino Kraft mill effluents”. Investigador Responsable: Dra. Gladys Vidal.

6. PUBLICACIONES

6.1 Publicaciones Indexadas

- Perez, L., Codony, F., **López, D.**, Fittipaldi, M., Adrados, B., Morató, J. (2010) Quantification of *Helicobacter pylori* levels in soil samples from public playgrounds in Spain. *Journal of Zhejiang University Science B (Biomedicine & Biotechnology)*. 11 (1): 27-29.
- **López, D.**, Chamorro, S., Silva, J., Bay-Schimth, E., Vidal, G. (2011) Chronic Effect of *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* Kraft Mill Effluents and Phytosterols on *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87:633–637.
- Villamar, C., Rodríguez, **D., López, D.**, Peñuela, G., Vidal G. (2013) Effect of the generation and physical–chemical characterization of swine and dairy cattle slurries on treatment technologies. *Waste Management & Research*, 31: 820–828.
- Chartier, C., **López, D.**, Vidal, G. (2014) Anaerobic technology influence on pig slurry biofertilization: evaluation of enteric bacteria. *Water, Air, & Soil Pollution*, 225: 1790-1800.
- **López, D.**, Fuenzalida, D., Vera, I., Rojas, K., Vidal, G. (2015) Organic matter removal and methane production in constructed wetlands systems planted with *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* for wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 83: 296–304.
- Chamorro, S., **López, D.**, Brito, P., Jarpa, M. and Vidal, G. (2016) Feeding Assay and Growth Rate on *Daphnia magna* Exposed to Kraft Pulp Mill Effluent. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* (submitted).
- **López, D.**, Sepúlveda, M., Vidal, G. (2016) *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* in constructed wetlands: Development and nutrient uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* (submitted).
- **López, D.**, Sepúlveda, M., Ruiz-Tagle, N., Sossa, K., Vidal, G. (2016) Determination of communities of bacteria and archaea in a constructed wetland treating wastewater through the techniques of qPCR-DGGE. *Ecological Engineering* (En redacción).

6.2 Publicaciones No Indexadas con comité editorial

- Jarpa, M., **López, D.**, Chamorro, S. Monsálvez, E., y Vidal, G. (2009) Efecto de la concentración de nutrientes en la eficiencia de biodegradación de la materia orgánica y compuestos disruptores con actividad estrogénica. Revista Técnica e Informativa No. 6 (Agua, Saneamiento y Medioambiente).
- **López, D.**, Vera, I., Chamorro, S., Baeza A. y Vidal, G. (2013) Control de la contaminación de aguas servidas en áreas rurales de alta sensibilidad sísmica, a través de humedales construidos: incidencia en la eliminación de potencial biológico evaluado como disrupción endocrina. Revista Seguridad y Medio Ambiente Fundación Mapfre 129: 1-10.
- Morales, G., **López, D.**, Vera, I., Vidal, G. (2013) Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas. Theoria, 22: 33-46.

7. LIBROS, CAPITULOS DE LIBROS

- Chartier, C., **López, D.**, Vidal G. (2012) Influencia de la tecnología anaeróbica en la biofertilización con purín de cerdo en el suelo limoso. En: Aportes a la gestión y optimización de la tecnología ambiental del sector porcino. Ediciones Universidad de Concepción. . 101-108. ISBN: 978-956-227-367-1.
- Pozo, G., **López, D.**, Campos, J., Vidal, G. (2012) Lagunas anaerobias: sistemas de tratamiento o almacenamiento de purines. En: Aportes a la gestión y optimización de la tecnología ambiental del sector porcino. Ediciones Universidad de Concepción. 29-36. ISBN: 978-956-227-367-1.
- Araya, F., Vera, L., Morales, G., **López, D.**, Vidal, G. (2014) Tratamientos convencionales y no convencionales. En: Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales: situación actual y desafíos. Editores: G. Vidal y F. Araya. Ediciones Universidad de Concepción, ISBN 978-956-227-378-7, Registro de Propiedad Intelectual 242.970 año 2014, 118 pp.
- **López, D.** (2014) Fichas educativas: Indicadores Biológicos para evaluar calidad de efluentes. En Gestión sustentable para la celulosa. Edición Universidad de Concepción. Registro: 244. 498 año 2014.
- **López, D.**, Reyes-Contreras, C., Sepúlveda, M., Vidal, G. (2015) Procesos de transformación y remoción de material orgánica y sólidos suspendidos. En: Humedales Construidos: Una tecnología Aplicable en América Latina. (En edición).

8. CONTRIBUCIONES A CONGRESOS

8.1. Congresos internacionales

- Pozo, G., **López, D.**, Campos, J., Vidal, G. (2010) Consideraciones para la reactivación de una laguna de estabilización anaeróbica para el tratamiento de purines, bajo condiciones climáticas mediterráneas extremas. II International Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management (SIGERA II), Foz de Iguazú, 15-17 de Marzo de 2010.
- Villamar, C., Vera, I., **López, D.**, Vidal, G. (2011) Estrategias para evaluar el tipo de tratamiento y la aplicación de purines porcinos a partir de su caracterización fisico-química. II International Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management (SIGERA II), Foz de Iguazú, 15-17 de Marzo de 2011.
- Chamorro, S., **López, D.**, Baeza, R., Olivares, A., Pina, B. and Vidal, G. (2012) Characteristic of the Kraft mill effluents from *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* by means combination of yeast bioassays and CG-MS chemical analysis. 10th IWA Symposium on Forest Industry Wastewater, 8th International Conference on Effects of Pulp and Paper Mill Effluents. University of Concepción, Chile, 8-12 January 2012.
- Chamorro, S., **López, D.** and Vidal, G. (2012) Evaluación de eficiencia de sistema MBBR en la eliminación de compuestos activos presentes en efluente de pulpa Kraft a través de *Daphnia magna*. XXXIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Salvador, Bahia, Brasil, 3-7 de Junio 2012.
- **López D.**, Chartier C., Vidal, G (2013) Anaerobic technology influence on the fertirrigation with pig slurry: evaluation on the fecal coliforms. 13th World Congress on anaerobic digestion. Santiago de Compostela, España. 25-28 de Junio 2013.
- **López, D.**, Fuenzalida, D., Vera I, Rojas, K., Vidal G. (2014) Evaluación de las emisiones de metano provenientes de humedales de flujo subsuperficial que tratan aguas servidas a través de actividad metanogénica. II Conferencia Panamericana de sistemas de humedales para el tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua. Morelia, México. 9-12 de junio 2014.
- Morales, G., **López, D.**, Vera, I., Vidal, G. (2014) Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas.

II Conferencia Panamericana de sistemas de humedales para el tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua. Morelia, México. 9-12 de junio 2014.

- Vera, I., Jorquera, C., **López, D.**, Vidal, G. (2014) Humedales construidos para el reúso de aguas servidas en Chile: relación entre la zona geográfica y los parámetros críticos de control. . II Conferencia Panamericana de sistemas de humedales para el tratamiento y mejoramiento de la calidad del agua. Morelia, México. 9-12 de junio 2014.

- **López, D.** Vidal, G. (2014) Evaluation of methane emissions from subsurface flow wetlands that treat wastewater through methanogenic activity. XI Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia. Habana, Cuba. 25 al 28 de Noviembre 2014.

- **López, D.** Vidal, G. (2014) Evaluation of methane emissions from subsurface flow wetlands that treat wastewater through methanogenic activity. XI Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia. Habana, Cuba. 25 al 28 de Noviembre 2014.

- **López, D.**, Sepúlveda, M., Reyes-Contreras, C., Vidal, G. (2015) Evaluation of methane emissions from constructed wetlands that treat wastewater through methanogenic activity. WETPOL 2015 - 6th International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control. Annual Conference of the Constructed Wetland Association. York, United Kingdom. 13 al 18 de Septiembre 2015.

- **López, D.**, Sepúlveda, M., Vidal, G. (2016) *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* en humedales construidos: desarrollo y asimilación de nutrientes. III Conferencia Panamericana de Sistemas de Humedales para el Tratamiento y Mejoramiento de la Calidad del Agua. Santa Fe, Argentina. 15 al 19 de Mayo 2016, (aceptado).

- Acevedo, L., Baeza, A.C., **López, D.** y Vidal, G. (2016) Evaluación de procesos de desinfección (cloro y uv) para tratamiento de aguas servidas provenientes de humedales construidos. III Conferencia Panamericana de Sistemas de Humedales para el Tratamiento y Mejoramiento de la Calidad del Agua. Santa Fe, Argentina. 15 al 19 de Mayo 2016, (aceptado).

8.2. Congresos nacionales

- Huenchufiir, C., Utreras, J., **López, D.**, Alveal, K., López, H. (2007) *Gelidiocolax* sp. (Gracilariales, Rhodophyta): Nueva especie "parásita"? sobre *Gelidium linguatum* descrita para Chile. XXVII Congreso de Ciencias del Mar. Iquique (Chile), 28 de mayo al 01 de Junio de 2007.
- Chamorro, S., Monsalvez, E., **López, D.**, Mondaca, M.A. y Vidal, G. (2007) Compuestos emergentes con actividad endocrina en aguas residuales. XVII Congreso Chileno de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Puerto Varas, X Región, 14 al 16 de Noviembre de 2007.
- Jarpa, M., **López, D.**, Chamorro, S., Monsálvez, E., Vidal G. (2008) Efecto de la concentración de nutrientes en la eficiencia de biodegradación de la materia orgánica y compuestos disruptores con actividad estrogénica. XXXI Congreso de la Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Santiago (Chile), 12- 15 Octubre de 2008.
- **López, D.**, Chamorro S., Silva J., Bay-Schimth E., and Vidal G. (2011) Chronic Effect of *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* Kraft Mill Effluents and Phytosterols on *Daphnia magna*. 10th IWA Symposium on Forest Industry Wastewaters. Concepción (Chile), 8-11 de Enero 2011.
- Villamar, C.A., Vera, I., **López, D.** and Vidal, G. (2011) "Strategies to evaluate the type of treatment and swine slurry application from their physical-chemical characterization". II Internacional Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management. Foz do Iguaçu, Brasil. 15 a 17 de Marzo de 2011.
- Chartier C., **López D.**, Vidal G. (2011) Evaluación de la reducción de coliformes fecales en columnas de suelo franco limoso, tras aplicación de purín de cerdo crudo y tratado anaeróticamente. XIX Congreso Chileno de Ingeniería Sanitaria y Ambiental AIDIS Concepción (Chile), 28-30 Noviembre 2011.
- Morales, G., **López, D.**, Chamorro, S., Vidal, G. (2013) Indicadores biológicos para el análisis de efluentes de celulosa Kraft. XX Congreso Chileno de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. AIDIS. "Desarrollo Sustentable: un desafío país". Santiago, Chile. 7-9 de octubre 2013.

9. OTRAS ACTIVIDADES ACADÉMICAS

2005: Trabajos en el laboratorio de macroalgas de la estación de biología marina en Dichato. Determinación y caracterización de la flora marina de la bahía de Coliumo.

2006: Ayudante del laboratorio de Bioensayos, Facultad de Ciencias Naturales y oceanográficas de la Universidad de Concepción.

10. SOPORTE A LA ADMINISTRACION ACADEMICA

2012: Staff de apoyo a la organización de los congresos “10th IWA Symposium on Forest Industry Wastewater” Co-chair: Gladys Vidal y “8th Internacional Conference on the Fate and Effects of Pulp and Paper Mill Effluents” Co-chair: Ricardo Barra, ejecutados entre el 8 y 11 de Enero del 2012 y Organizados por el Centro EULA-Chile.

2012: Staff de Organización de Seminario Internacional “Humedales naturales y construidos: Innovación para la conservación y gestión sustentable de la biodiversidad.” Dirigido por Gladys Vidal, Asociado al proyecto Mapfre. Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 11 de Diciembre 2012.

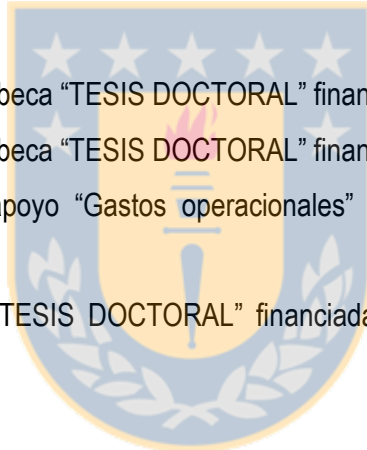
11. BECAS

2015: Obtención extensión de beca “TESIS DOCTORAL” financiada por CRHIAM.

2015: Obtención extensión de beca “TESIS DOCTORAL” financiada por CONICYT.

2012-2013: Obtención beca/apoyo “Gastos operacionales” financiada por CONICYT para el desarrollo de la tesis doctoral.

2011-2014: Obtención beca “TESIS DOCTORAL” financiada por CONICYT para estudios de doctorado en Chile.



12. VARIOS

Manejo de Software: Word, Excel, Power point, Edraw Mind Map 6.0, Origins 6.0, Infostat 2008.

B1 “Independent User”, de los estándares del “Marco de Referencia Común para Lenguas Modernas de la Comunidad Europea” (CEF).

ANEXO II





Relationship between the removal of organic matter and the production of methane in subsurface flow constructed wetlands designed for wastewater treatment



D. López, D. Fuenzalida, I. Vera, K. Rojas, G. Vidal*

Engineering and Environmental Biotechnology Group, Environmental Science Faculty & Center EUSA-Chile, Universidad de Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 April 2015

Received in revised form 17 June 2015

Accepted 29 June 2015

Available online xxx

Keywords:

Methanogenic Activity

Wastewater

Constructed wetland

Phragmites australis

Schoenoplectus californicus

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the relationship between the organic matter removal and methane production in wetlands with a horizontal subsurface flow (HSSF) treating wastewater using *Phragmites australis* (Phr) and *Schoenoplectus californicus* (Sch). Four HSSF systems with a superficial area of 4.5 m² a water table depth of 0.4 m that were planted with Phr and Sch were evaluated. For the evaluation, each HSSF was divided into three transversal zones (A, B, and C). The operation was controlled for the hydraulic loading (19.8–27.8 mm d⁻¹), hydraulic retention time (3–7 d) and organic loading rates (3.3–4.2 g biological oxygen demand–BOD₅ m⁻² d⁻¹). The removal efficiencies for the organic matter (BOD₅ and chemical oxygen demand (COD)) and solids were evaluated in each HSSF during the 420 days of operation. To evaluate the methane produced in the HSSFs, maximum methanogenic activity assays from the biomass of three zones (A, B and C) along the HSSF were performed. The results show that the HSSF planted with Phr and Sch presented removal efficiencies of 70–80% BOD₅, more than 60% for the COD and 70–95% of solids during the monitoring period. However, the methane biomass activity shows similar average methane production for HSSF-Phr and HSSF-Sch, although a mild difference was noted between Zone A (700 mL CH₄ g volatile suspended solid–VSS⁻¹) Zone B (1035 mL CH₄ g VSS⁻¹) and Zone C (368 mL CH₄ g VSS⁻¹). Moreover, mass balance determined that HSSF-Phr and HSSF-Sch are able to degrade 13.74 g COD d⁻¹. Finally, the average methane production for HSSF-Phr and HSSF-Sch was 1455±482 mg CH₄ m⁻² d⁻¹ and 1305±277 mg CH₄ m⁻² d⁻¹, respectively.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Constructed wetlands (CW) are proven, effective wastewater treatment systems (Vymazal and Kröpfelová, 2008; García et al., 2010; Vera et al., 2011). In particular, the use of HSSF in wastewater treatment has shown solids elimination efficiencies above 90% (Caselles-Osorio et al., 2007) and organic matter (OM) measured as a COD and BOD₅ reductions in the range of 67–84% and 78–94%, respectively (Vymazal and Kröpfelová, 2011). In this way, the concentrations of COD and BOD₅ in the effluent treated by HSSF have values lower than 60 mg L⁻¹ and 20 mg L⁻¹, respectively (Vera et al., 2011; Rojas et al., 2013; Vymazal and Kröpfelová, 2008). The main OM removal processes in HSSF correspond to anaerobic microbiological processes (greater than 94.7%) because of the continuous saturation of the bed and applied organic load

(3–15 g BOD₅ m⁻² d⁻¹) (Marecos do Monte and Albuquerque, 2010; Vasudevan et al., 2011). Consequently, anoxic-anaerobic conditions prevail in HSSF with a redox potential in the range of –100 mV to –500 mV and with dissolved oxygen concentrations below 2 mg L⁻¹ (Vasudevan et al., 2011; Vymazal and Kröpfelová, 2008). Additionally, these processes can be influenced by the design parameters of the HSSF, including the water depth (depth of the water table), length/width ratio and type of granular medium (gravel) (Aguirre et al., 2005; García et al., 2005). In the HSSF designed with a hydraulic piston flow, the OM contained in the wastewater decreases by 50%, principally in the section of the entrance of HSSF (Tanner et al., 1998; García et al., 2007; Caselles-Osorio et al., 2007). This occurs because the particulate fraction precipitates and the soluble fraction is removed, although they are influenced by the wastewater path in the HSSF (Kadlec and Wallace, 2009; Ávila et al., 2013).

However, the depth of the water table (greater than 30 cm) in the HSSF generates conditions that allow the development of anaerobic microbiological activity (greater than 90%)

* Corresponding author. Fax: +56 41 2204073.
E-mail address: gvidal@udec.cl (G. Vidal).

HUMEDALES CONSTRUIDOS CON PLANTAS ORNAMENTALES PARA EL TRATAMIENTO DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES CONTENIDOS EN AGUAS SERVIDAS*

CONSTRUCTED WETLANDS WITH ORNAMENTAL PLANTS FOR REMOVAL OF ORGANIC MATTER AND NUTRIENTS CONTAINED IN SEWAGE

GABRIELA MORALES, DANIELA LÓPEZ, ISMAEL VERA Y GLADYS VIDAL

Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile
 Autor correspondencia: Dra. Gladys Vidal, Fax 41-2207076, Teléfono 41-2204067, gvidal@udec.cl

RESUMEN

Los humedales construidos es una tecnología viable para tratar aguas servidas en el sector rural debido a su bajo costo de operación y simplicidad en el manejo tecnológico. Además es importante destacar que la eficiencia en la eliminación de materia orgánica y nutrientes es de hasta 95% y 60%, respectivamente. Sin embargo, la mayoría de investigaciones se han centrado en la funcionalidad de plantas comunes tales como, *Phragmites* spp., *Typha* spp., *Schoenoplectus* spp. Pese al amplio uso de estas especies, es importante evaluar la utilización de especies ornamentales tales como, *Zantedeschia aethiopica*, *Canna* spp. e *Iris* spp. para aumentar a esta tecnología los beneficios ambientales y paisajísticos.

Debido a lo antes indicado, el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica que muestre la factibilidad de usar humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con especies ornamentales para la eliminación de materia orgánica y nutrientes contenidos en las aguas servidas.

Preliminarmente es posible indicar que las plantas ornamentales han mostrado una eficiencia de eliminación de materia orgánica medida como Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días (DBO₅) variando entre 70 y 93%, mientras que en el caso de los nutrientes, la eliminación de Nitrógeno Total (NT) varía entre 45 y 73% y de Fósforo Total (PT) entre 40 y 80%. Debido a estos valores de eliminación, es posible concluir que los humedales construidos con plantas ornamentales pueden realizar un tratamiento de las aguas servidas en condiciones similares a las presentadas por plantas comunes. Sin embargo, las plantas ornamentales entregan un valor estético al entorno, junto a un posible beneficio económico para la población usuaria del sistema.

Palabras clave: Aguas servidas, humedales construidos, materia orgánica, nutrientes, plantas ornamentales.

ABSTRACT

Constructed wetlands are a viable sewage treatment in rural areas because of its low cost of operation and simplicity in management technology. Moreover it is noteworthy that the efficiency of removal of organic matter and nutrients is up to 95% and 60%, respectively. However, most research has focused on the functionality of common plants such as *Phragmites* spp., *Typha* spp., *Schoenoplectus* spp. Despite the widespread use of these species, it is important to evaluate the use of ornamental species such as, *Zantedeschia aethiopica*, *Canna* spp. and *Iris* spp., because this technology to enhance the environmental and landscape benefits.

*AGRADECIMIENTOS: Este trabajo fue parcialmente financiado por el Proyecto INNOVA BIOBIO 13.3327-IN. III, CONICYT/FONDAP/15130015 y Red Doctoral REDOC.CTA, MINEDUC Proyecto UCO1202 de la Universidad de Concepción.

***Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* in constructed wetlands:**

Development and nutrient uptake

Daniela López, Mario Sepúlveda and Gladys Vidal

Engineering and Biotechnology Environmental Group, Environmental Science Faculty
& Center EULA–Chile, University of Concepción. P.O. Box 160- C, Concepción-Chile.

Tel.: +56-041-220 4067. Fax: +56-041-2661033. (E-mail: glvidal@udec.cl)

Submitted to: *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*

Running title: Nutrient uptake by *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus*



(*)Corresponding author: Dr. Gladys Vidal

E-mail: glvidal@udec.cl

Telephone: 56-41-2204067

Fax: 56-41-2207076

PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN Y REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA Y SÓLIDOS SUSPENDIDOS

López, D., Reyes, C., Sepúlveda, M., Vidal, G. *

¹Environmental Science Center EULA-Chile, University of Concepción, P.O. Box 160-C, Concepción, Chile; ²Department of Statistics, Faculty of Mathematics and Physical Sciences, University of Concepción, Concepción, Chile

Corresponding author: glvidal@udec.cl

En: Humedales Construidos en Latinoamérica, Eds. Zurita y Alarcón (In press).

RESUMEN

La eliminación de MO a través de HC es el resultado de la interacción de numerosos procesos físicos, químicos y bióticos que suceden de manera simultánea. La materia en suspensión (SS), es eliminada principalmente a través de procesos físicos, principalmente por filtración a través del medio granular; sedimentación debida a la baja velocidad de circulación del agua y por el tamizado que sucede a nivel de los espacios intersticiales del medio granular. La eliminación de SS ocurre mayoritariamente en la zona de entrada al sistema, disminuyendo la concentración de forma exponencial a lo largo del lecho del humedal. En general, la eficiencia de eliminación de MO (expresada como DBO₅ y DQO) y SS alcanza valores superiores al 85%. En los sistemas de FSSV, como resultado de la alimentación intermitente, se generan zonas aeróbicas y anaeróbicas de manera simultánea, permitiendo así una mayor eficiencia de eliminación (>90%) en comparación con un sistema FSSH. Las emisiones de metano por parte de los HC, estarán mediados principalmente por la mineralización de la MO, oxidación del metano y finalmente por el transporte y emisión de este gas a la atmósfera. Por su parte, la eliminación de los compuestos recalcitrantes en HC, estará influenciada principalmente por parámetros de diseño del humedal y por las características de cada compuesto. Por lo tanto, el flujo de metano generado desde los humedales y la eliminación de compuestos recalcitrantes, puede ser regulado y optimizado al momento de diseñar y operar de los HC.