



**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

**Evaluación del suministro de nutrientes sobre la
eficiencia de remoción de contaminantes de un humedal
artificial a escala de laboratorio**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

P R E S E N T A :

MIGUEL ANGEL ORDUÑA BUSTAMANTE

TUTORA:

MARÍA DEL CAMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

Año 2012

JURADO ASIGNADO:

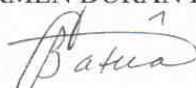
Presidente: Dra. Gabriela Eleonora Moeller Chavez, FI-UNAM
Secretario: Dra. María del Carmen Durán Domínguez, FQ-UNAM
Vocal: Dr. José Alberto Escalante Estrada, COLPOS
1er. Suplente: Dra. Mabel Vaca Mier, UAM-Azcapozalco
2do. Suplente: Dr. Ignacio Monje Ramírez, II-UNAM

Lugar donde se realizó la tesis:

LABORATORIO 301 DEL CONJUNTO "E" DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE
LA UNIVERISDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. CIUDAD
UNIVERSITARIA. DISTRITO FEDERAL, MÉXICO

TUTOR DE TESIS:

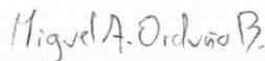
PRÒFA. DRA.-ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE B.



FIRMA

SUSTENTANTE:

Cand. Dr., M. en I., Ing. Agr. MIGUEL ANGEL ORDUÑA BUSTAMANTE


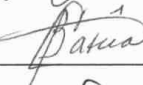


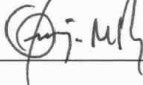


FIRMA

ENTREGA / RECEPCIÓN DE TESIS

Recibí la Notificación y el ejemplar de la tesis desarrollada por el alumno **Orduña Bustamante Miguel Angel**, para obtener el grado de **Doctor en Ingeniería**, en el Campo de Conocimiento de **Ingeniería Ambiental**.

Me doy por enterado que, de acuerdo a los artículos 55 y 66 de las Normas Operativas del Programa, cuento con un plazo no mayor de 20 días hábiles para revisar y señalar por escrito las observaciones y correcciones de carácter académico pertinentes en caso de que las hubiera, así como de 10 días hábiles posteriores a que el estudiante realice las mismas, para emitir mi voto ya sea positivo o negativo.

Jurado	Firma	Fecha
Presidente : Dr. Moeller Chávez Gabriela Eleonora	• <u></u>	• <u>11/08/11</u>
Secretario : Dra. Durán Domínguez Ma. del Carmen	• <u></u>	• <u>13/Jun/2011</u>
Vocal : Dr. Escalante Estrada Jose Alberto	• <u></u>	• <u>11/agosto/2011</u>
1er. Suplente : Dra. Vaca Mier Mabel	• <u></u>	• <u>13/agosto/2011</u>
2do. Suplente : Dr. Monje Ramirez Ignacio	• <u></u>	• <u>9/08/2011</u>

DEDICATORIA

A los compañeros de laboratorio

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM.

A la Coordinación de Estudios de Posgrado de la UNAM por haber otorgado la beca para la realización de este proyecto de investigación conducente a la obtención del grado de Doctor en Ingeniería.

A la Secretaría Académica de Posgrado e Investigación de la UNAM.

A la Facultad de Química, a los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (LIQAYQA) por las facilidades brindadas para la realización del trabajo de laboratorio y de gabinete que fueron requeridas para esta investigación.

A la Dra. Georgina Fernández Villagómez y al Dr. Pedro Martínez Pereda en particular y a los profesores de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería (actual Secretaría Académica de Posgrado e Investigación), por compartir su sabiduría y experiencia.

A los profesores con quienes tuve oportunidad de consultar y que aportaron valiosos comentarios en las distintas fases de mi trabajo: Dra. Marisela Bernal González, MC Rolando Salvador García Gómez, MAI Landy Irene Ramírez Burgos, Dr. Simón González Martínez, Dra. Georgina Fernández Villagómez, Dr. Adalberto Noyola Robles, Dr. Pedro Martínez Pereda, Dr. Ignacio Monje Ramírez, Dra. Mabel Vaca Mier, Dr. Alberto Escalante Estrada. En particular a la Dra. Carmen Durán Domínguez.

Contenido

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. Introducción	2
1.2. Objetivos	2
1.2.1. Objetivo general	2
1.2.2. Objetivos particulares	3
1.3. Hipótesis	3
1.4. Justificación	3
1.5. Alcances	4
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Contaminantes del agua residual	5
2.2. Alternativas de tratamiento	6
2.2.1. Desarrollo sustentable	9
2.3. Ventajas y desventajas de los humedales para el tratamiento de agua residual municipal	11
2.4. Descripción del sistema	15
2.4.1. Entradas, acumulación y salidas	15
2.4.2. Funcionamiento físico	16
2.4.3. Funcionamiento bioquímico	16
2.4.4. Análisis como sistema amortiguador	21
2.5. Costos por el tratamiento de agua residual municipal	21
2.6. Temas sobre tratamiento de agua residual en sistemas de humedales artificiales	22
2.6.1. Remoción de nutrientes	22
2.6.2. Pulimiento de efluentes tratados	27
2.6.3. Agua residual doméstica	29
2.6.4. Tratamiento de agua residual industrial	33
2.6.5. Tratamiento de agua de escurrimiento de áreas agrícolas	35
2.7. Reportes sobre tratamiento de agua residual en sistemas de humedales artificiales	37
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	42
3.1. Unidad experimental	42
3.1.1. Sistema de iluminación	45
3.1.2. Propagación del material vegetativo (<i>Phragmites australis</i>)	45
3.2. Agua residual sintética	45
3.3. Condiciones de operación	46
3.4. Comportamiento del sistema	47
3.5. Diseño experimental	50
3.5.1. Tratamientos	50
3.5.2. Niveles de los factores	51
3.5.3. Variables de respuesta	51
3.6. Análisis del sistema	51
3.7. Evaporación y evapotranspiración	53
3.8. Análisis estadístico	53

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1. Etapas experimentales.....	55
4.2. Condiciones de operación y condiciones ambientales.....	56
4.3. Determinaciones electroquímicas y alcalinidad.....	59
4.4. Remoción de la carga orgánica	63
4.5. Remoción de nitrógeno	65
4.6. Las relaciones C:N en la respuesta del sistema a la carga orgánica aplicada	66
4.7. Las relaciones N:K en la respuesta del sistema a la carga orgánica aplicada.....	67
4.8. Los flujos de nitrógeno propuestos en el sistema	68
4.9. El potencial redox y las especies químicas encontradas en el sistema	69
4.10. La actividad microbiológica en el sistema.....	69
4.11. La parte vegetal en el sistema	70
4.12. Discusión general.....	72
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	77
5.1. Conclusiones	77
5.2. Hipótesis surgidas durante la investigación.....	78
ANEXO A. RESULTADOS EXPERIMENTALES	79
ANEXO B. BALANCES DE MATERIA PARA NITRÓGENO Y CARBONO.....	115
ANEXO C. ACERVO FOTOGRÁFICO	121
ANEXO D. MANEJO DE LOS RESIDUOS DE ANÁLISIS	124
ANEXO E. GLOSARIO DE TÉRMINOS	125
BIBLIOGRAFÍA	129

Referencia de Tablas

PÁGINA	TABLA
7	Tabla 2.1. Bacterias heterótrofas (UniProt Consortium, 2011).
8	Tabla 2.2. Bacterias nitrificantes oxidadoras de amonio (UniProt Consortium, 2011).
8	Tabla 2.3. Bacterias nitrificantes oxidadoras de nitrito (UniProt Consortium, 2011).
9	Tabla 2.4. Bacterias desnitrificantes heterótrofas (UniProt Consortium, 2011).
9	Tabla 2.5. Bacterias desnitrificantes autótrofas (UniProt Consortium, 2011).
15	Tabla 2.6. Humedales construidos en países de Centroamérica para el tratamiento de agua residual municipal, bajo los criterios de la Cooperación Austriaca para el Desarrollo (CAD) y la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE) (CAD, 2006).
15	Tabla 2.7. Datos promedio registrados en un humedal artificial situado en la ciudad de Masaya, Nicaragua, con una capacidad de diseño para 846 personas (CAD, 2006).
28	Tabla 2.8. Niveles de contaminantes en el influente y efluente de un humedal construido para el tratamiento del efluente de agua residual de una granja porcina (Chi y col. 2004).
32	Tabla 2.9. Demanda bioquímica de oxígeno y sólidos suspendidos totales contenidos en el influente y efluente de 12 celdas de humedales artificiales utilizados en el tratamiento de agua residual doméstica (Karathanasis y col. 2003).
33	Tabla 2.10. Parámetros de desempeño de un humedal artificial experimental utilizado para tratar vinazas de la destilación de jugo de caña de azúcar (Olguín y col., 2003).
43	Tabla 3.1. Resultados de la prueba de porosidad del material de empaque de los biorreactores (tezontle $\Theta = 5$ mm).
44	Tabla 3.2. Cantidades de reactivo utilizadas para la preparación del agua residual sintética y cantidades de nutrientes aportadas (gL^{-1}).
45	Tabla 3.3. Niveles de nitrógeno, fósforo, potasio y <i>DQO</i> teórica aplicados a cada uno de los biorreactores.
45	Tabla 3.4. Composición de la solución nutritiva empleada en la propagación de las plantas.
48	Tabla 3.5. Carga orgánica, carga hidráulica y carga de nutrientes aplicados a los biorreactores en los tratamientos evaluados.
50	Tabla 3.6. Modelos cinéticos de primer y segundo orden (Henry y Heinke, 2000).
51	Tabla 3.7. Combinaciones de tratamientos resultantes de aplicar el modelo estadístico $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \varepsilon$.
56	Tabla 4.1. Combinaciones de nutrientes para el agua residual sintética alimentada a los seis biorreactores que se mantuvieron en operación.
58	Tabla 4.2. Promedios de temperaturas máxima, mínima y media ($^{\circ}\text{C}$) registradas a lo largo de las tres etapas experimentales.
59	Tabla 4.3. Resumen de los datos del balance hídrico para los biorreactores con planta, evapotranspiración, y sin planta, evaporación. Se presentan los valores totales (acumulado) y entre paréntesis los promedios diarios.
63	Tabla 4.4. Alcalinidad determinada en los efluentes de seis biorreactores a los 584 días de operación del sistema.
64	Tabla 4.5. Demanda química de oxígeno efluente para cada biorreactor en las tres etapas de experimentación ($\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$).
66	Tabla 4.6. Concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos en los efluentes de los biorreactores. Eficiencia de remoción de nitrógeno (fracción) en función de las concentraciones de entrada y salida del sistema.

- 67 Tabla 4.7. Datos de la *DQOs* de los efluentes indicando la relación carbono:nitrógeno, así como la fracción removida del sistema, en la tercera etapa experimental.
- 68 Tabla 4.8. Concentraciones de carga orgánica como *DQO* en entrada y salida durante la etapa 3 y concentraciones de nitrógeno en entrada y salida durante las etapas 2 y 3.
- 70 Tabla 4.9. Sacarosa consumida por muestras de efluente comparado con la sacarosa consumida por los biorreactores. Basado en datos de las Tablas A.12 y A.21.
- 71 Tabla 4.10. Biomasa estimada para cada etapa experimental utilizando el modelo exponencial de crecimiento para altura de planta ($\text{Biomasa} = \text{Biomasa}(0) \cdot \exp^{(0.0083 \cdot t)}$).
- 79 Tabla A.1. Demanda química de oxígeno soluble y niveles de nitrógeno para biorreactores con planta y sin planta a los 259 días de operación.
- 82 Tabla A.2. Valores de potencial redox promedio de una semana registrados cada hora durante 24 horas.
- 83 Tabla A.3. Lecturas puntuales del potencial redox realizadas en dos biorreactores, uno con planta y otro sin planta, en los puertos de muestreo a 5cm y 35cm de profundidad de la columna.
- 84 Tabla A.4. Balances parciales de agua para las tres etapas experimentales. Entre paréntesis se muestra la lámina (aplicada, evaporada y evapotranspirada) en cm por día.
- 85 Tabla A.5. Resumen de datos representativos sobre el comportamiento de las temperaturas en el área donde se establecieron los biorreactores durante la experimentación.
- 86 Tabla A.6. Modelo de primer orden para la variable altura de planta.
- 86 Tabla A.7. Valores del incremento en altura de planta, estimación de la constante cinética k , y valores estimados con un modelo de primer orden.
- 86 Tabla A.8. Valores del incremento en altura de planta, estimación de la constante cinética k , y valores estimados con un modelo de segundo orden.
- 87 Tabla A.9. Modelo de primer orden para la estimación del incremento del área foliar.
- 88 Tabla A.10. Valores del incremento en área foliar, estimación de la constante cinética k , y valores estimados con un modelo de primer orden.
- 88 Tabla A.11. Valores del incremento en área foliar, estimación de la constante cinética k , y valores estimados con un modelo de segundo orden.
- 90 Tabla A.12. Resultados de la determinación de la demanda química de oxígeno soluble en agua residual sintética y en el efluente de los biorreactores a los 428 días de operación del sistema.
- 91 Tabla A.13. Análisis de varianza para valores de *DQOs* obtenidos a los 428 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa (99mgL^{-1} como *DQO* teórica) a los biorreactores empacados modelo de humedales artificiales.
- 93 Tabla A.14. Concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente a los 428 días de operación de los biorreactores (169 días de aplicación de tratamientos) y fracción de nitrógeno presente con respecto a la concentración aplicada en forma de agua residual sintética.
- 94 Tabla A.15. Análisis de varianza ($\alpha=0.05$) para los datos de concentración de nitrógeno amoniacal efluente a los 428 días de operación del sistema (156 días de aplicación de tratamientos).
- 95 Tabla A.16. Concentración de nitrógeno amoniacal en dos biorreactores medidas a los 428 días de operación (169 días de aplicación de tratamientos) a tres profundidades en la columna.
- 96 Tabla A.17. Valores de nitrógeno de nitratos en el efluente de los biorreactores a los 428 días de operación, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica).
- 97 Tabla A.18. Concentración de nitrógeno de nitratos en muestras tomadas en los puertos de muestreo a profundidades de 20 y 35cm desde el borde.

- 98 Tabla A.19. Valores de concentración de nitritos (NO_2^-) en los puertos de muestreo de 5, 20 y 35cm por debajo del borde del biorreactor a los 428 días de operación, 169 días de operación con el nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica).
- 99 Tabla A.20. Resultados de la determinación de nitrógeno en el efluente de los biorreactores a los 169 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa ($99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica) y 428 días de operación del sistema.
- 99 Tabla A.21. Muestra los valores de sacarosa no consumida expresados en gramos para las muestras de cada uno de los efluentes incubadas y adicionadas con sacarosa (masa inicial: 2.5g).
- 100 Tabla A.22. Análisis de varianza para los valores de consumo de sacarosa (sacarosa no consumida) en muestras de 100mL adicionadas con 2.5g de sacarosa e incubadas durante 4 días a temperatura ambiente.
- 101 Tabla A.23. Potencial redox medido en las muestras de 100mL de efluente adicionadas con 2.5g de sacarosa tras cuatro días de incubación a temperatura ambiente (Corregidos para el electrodo Ag/AgCl , sumando 200mV a la lectura del potenciómetro).
- 101 Tabla A.24. Potenciales redox para reacciones de interés microbiológico (Matheus, 2002).
- 102 Tabla A.25. Valores de *pH* registrados en las seis columnas a lo largo de 169 días, segunda etapa experimental.
- 104 Tabla A.26. Demanda química de oxígeno soluble en el efluente de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental.
- 107 Tabla A.27. Nitrógeno amoniacal en el efluente de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental.
- 108 Tabla A.28. Análisis de varianza para los datos de nitrógeno amoniacal efluente para la tercera etapa experimental.
- 110 Tabla A.29. Nitrógeno de nitratos (mg-NL^{-1}) en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $240\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.
- 111 Tabla A.30. Nitrógeno de nitratos (mg-NL^{-1}) en los tres puertos de muestreo de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $296\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.
- 111 Tabla A.31. Nitrógeno de nitritos (mg-NL^{-1}) en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $296\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.
- 112 Tabla A.32. Valores de *pH* medidos en los efluentes de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental con una duración de 159 días.
- 113 Tabla A.33. Acidéz y alcalinidad para los efluentes de seis biorreactores a los 584 días de operación del sistema.
- 114 Tabla A.34. Valores de la conductividad eléctrica en $\mu\text{S/cm}$ medidos en el influente y en los puertos de muestreo de 5cm y 35cm (efluente).
- 115 Tabla B.1. Consideraciones para el balance de materia de nitrógeno.
- 117 Tabla B.2. Balance de materia para nitrógeno.
- 118 Tabla B.3. Consideraciones para el balance de materia de carbono.
- 120 Tabla B.4. Balance de materia para carbono.

Referencia de Figuras

PÁGINA	FIGURA
43	Figura 3.1. Configuración del biorreactor.
47	Figura 3.2. Serie de tiempo que muestra el tiempo de operación de los biorreactores y las tres etapas experimentales, con duraciones de 259, 169 y 156 días, respectivamente, descritas en el texto.
57	Figura 4.1. Gráfico de temperaturas, máxima, mínima y promedio diario registradas durante las tres etapas experimentales.
58	Figura 4.2. Balance hídrico del sistema.
60	Figura 4.3. Valores de <i>pH</i> para los efluentes de los seis biorreactores en las tres etapas experimentales.
61	Figura 4.4. Promedios de potenciales redox de cinco días de medición de manera continua en un biorreactor con planta y en uno sin planta.
71	Figura 4.5. Eficiencias de remoción de contaminación orgánica, $(1-(DQO_s/DQO_T))$ durante las tres etapas experimentales.
81	Figura A.1. Gráfico de valores de <i>pH</i> medidos en los efluentes de los cuatro biorreactores en operación durante la primera etapa de experimentación. Se muestran valores extremos y promedio del tratamiento y su influente (ARS).
82	Figura A.2. Potenciales redox promedio de una semana registrados en un biorreactor con planta y un biorreactor sin planta a intervalos de una hora, durante 24 horas. Los valores fueron corregidos para el electrodo Ag/AgCl utilizado en las mediciones sumando 200mV a la lectura del potenciómetro.
84	Figura A.3. Balance hídrico del sistema durante la duración de la experimentación. Se muestran los valores en lámina acumulada (cm). Los balances parciales para cada etapa se expresan numéricamente en la Tabla 4.3. La cantidad de agua evaporada se midió en el reactor sin planta y la cantidad de agua evapotranspirada es el promedio de cuatro columnas con planta.
85	Figura A.4. Temperaturas máxima, mínima y promedio diario (Día 1: 09-marzo-2009, día 596: 26-octubre-2010).
87	Figura A.5. Incremento en altura de planta en función del tiempo. Suma de altura de planta de dos biorreactores que recibían el mismo tratamiento durante los primeros 94 días de crecimiento.
89	Figura A.6. Incremento de área foliar en función del tiempo. Suma de las áreas foliares de dos biorreactores que recibían el mismo tratamiento durante los primeros 94 días de crecimiento.
91	Figura A.7. Demanda química de oxígeno soluble a los 428 días de operación del sistema, 169 días de aplicación de tratamientos con nivel bajo de sacarosa (99mgL^{-1} como <i>DQO</i> teórica). Se indica gráficamente la desviación estándar de cada promedio.
92	Figura A.8. Niveles de demanda química de oxígeno obtenida en los efluentes de los biorreactores tratados con 0, 10 y 40mg-NL^{-1} y con 0, 5 y 31mg-KL^{-1} .
93	Figura A.9. Gráfica de cajas (a) y gráfica de interacciones (b) para <i>DQOs</i> efluente a los 169 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa (99mgDQOL^{-1}).
95	Figura A.10. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para concentración nitrógeno amoniacal en el efluente a los 428 días de operación (159 días de aplicación de tratamientos), (X1= nitrógeno; X2= potasio).
97	Figura A.11. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para los valores de nitrógeno de nitratos en el efluente a los 428 días de operación de los biorreactores, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como <i>DQO</i> teórica).

- 100 Figura A.12. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para los valores de consumo de sacarosa a los 428 días de operación de los biorreactores, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica).
- 103 Figura A.13. Valores de *pH* medidos en los efluentes de cuatro biorreactores, a los 428 días de operación.
- 104 Figura A.14. Gráfico que muestra los valores de concentración de *DQOs* de los efluentes de los biorreactores con su respectiva desviación estándar.
- 105 Figura A.15. *DQOs* en los efluentes de los biorreactores; a) en función de la dosis de nitrógeno alimentado; b) en función de la dosis de potasio alimentado; c) para los tratamientos N0K0, N1K1 y N2K2; d) para los tratamientos del modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$.
- 108 Figura A.16. Gráfico que muestra las concentraciones de nitrógeno amoniacal para los seis biorreactores en la tercera etapa experimental y la desviación estándar para cada punto.
- 109 Figura A.17. Gráfico de interacciones para los datos de nitrógeno amoniacal efluente en el modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$, para la tercera etapa experimental.
- 112 Figura A.18. Valores de *pH* medidos en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación.
- 116 Figura B1. Balance de materia para nitrógeno.
- 119 Figura B.2. Balance de materia para carbono.

Nomenclatura

A_1, a_{11}	Constantes de proporcionalidad (Ecuaciones 3.6, 3.7 y 3.8)
A	Área de la laguna de evaporación (Ecuación 2.2)
amoA	Gene que codifica para la enzima <i>amonio-monooxigenasa</i> de las bacterias oxidantes del amonio
AMP	Adenosina monofosfato o fosfato de adenosina
ARN F-específico	Colifagos de ARN F-específicos (específicos para E. Coli F+)
ATP	Adenosina trifosfato
B	Tezontle (Ecuación 3.4)
D	Volumen de agua (Ecuación 3.4)
C_A	Acumulación de carbono como biomasa bacteriana y vegetal (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
CF	Coliformes fecales
C_s	Salida de carbono como CO_2 y como biomasa bacteriana en suspensión (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
COD	Carbono orgánico disuelto
C_w	Coefficiente de transferencia de calor latente (Ecuación 2.1)
CW	Humedales construidos o artificiales (<i>constructed wetlands</i> en inglés)
C1	Nivel de carbono (carga orgánica) aplicado en la primera etapa experimental
C2	Nivel de carbono (carga orgánica) aplicado en la segunda etapa experimental
C3	Nivel de carbono (carga orgánica) aplicado en la tercera etapa experimental
DGGE	Electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (<i>denaturing gradient gel electrophoresis</i>)
DBO _{5,7}	Demanda bioquímica de oxígeno, a 5 y 7 días (forma convencional de cuantificar el contenido de contaminantes biodegradables de agua o aguas residuales)
DQO	Demanda química de oxígeno (forma convencional de cuantificar el contenido de contaminantes de agua o aguas residuales)
DQO _i	Demanda química de oxígeno que ingresa al sistema de humedales artificiales
DQO _s	Demanda química de oxígeno soluble
$dQ_i/dt, dQ_1/dt, dQ_2/dt$	Comportamiento de los elementos p_i pertenecientes a la clase Q_i a lo largo del tiempo (Ecuaciones 3.5, 3.6 y 3.7)
EC	Altas concentraciones de CO_2 (<i>elevated concentrations</i> en inglés)
Efluente	Corriente líquida que sale de un sistema de tratamiento de agua residual
E_H	Potencial de oxidación-reducción (redox)
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (<i>Environmental Protection Agency</i> , en inglés)
f_m, f_1, f_2	Función (Ecuación 3.5)
F	Pérdida de energía (Ecuación 2.1)
F	Distribución de probabilidad F, de Fisher
FAD ⁺	Flavina adenina dinucleótido, en su estado oxidado
FADH	Flavina adenina dinucleótido, en su estado reducido
FWS	Humedales artificiales que pueden funcionar como canales por los que fluye el agua residual sobre la superficie (<i>free water surface</i> , por su acepción en inglés)
GWP	Potencial de calentamiento global (<i>global warming potential</i> , en inglés)
h	Altura del biorreactor (Ecuación 3.1)
HSSF-CW	Humedales artificiales que pueden funcionar como canales por los que fluye el agua residual subsuperficialmente y de manera horizontal (<i>horizontal subsurface flow constructed wetland</i> , en inglés)
Influente	Corriente líquida que ingresa a un sistema
K	Constante cinética para el crecimiento vegetal (sección 2.6.2)
K_A	Acumulación de potasio como biomasa bacteriana y vegetal, potasio adsorbido a la superficie mineral (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
K_i	Potasio que ingresa al sistema de humedales artificiales (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)

K_S	Salida de potasio como biomasa bacteriana y como ion potasio (K^+) en solución (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
k_v	Constante cinética de primer orden para consumo de nitrato en volumen (sección 2.6.1)
$K1$	Nivel bajo de potasio aplicado en el agua residual sintética
$K2$	Nivel alto de potasio aplicado en el agua residual sintética
L_v	Calor latente de evaporación (Ecuación 2.1)
MGD	Millones de galones por día
NA	Nitrógeno amoniacal
N_A	Acumulación de nitrógeno como biomasa bacteriana y vegetal (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
N_i	Nitrógeno que ingresa al sistema de humedales artificiales (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
N_S	Salida de nitrógeno como biomasa bacteriana, como N_2 por desnitrificación, como ion nitrato (NO_3^-) en solución y como ion amonio (NH_4^+) en solución (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
$NADH$	Nicotinamida adenina dinucleótido, en su estado reducido
$NADPH$	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, en su estado reducido
NT	Nitrógeno total
$N1$	Nivel bajo de nitrógeno aplicado en el agua residual sintética
$N2$	Nivel alto de nitrógeno aplicado en el agua residual sintética
OD	Oxígeno disuelto (DO en inglés por <i>dissolved oxygen</i>)
P	Porosidad (Ecuaciones 3.2 y 3.4)
p	Probabilidad de no cometer el error tipo II
pa	Densidad del aire (Ecuación 2.1)
PE	Personas equivalentes
p_i	Elementos diferentes dentro de la clase Q_i (Ecuación 3.5)
PFK	Fosfofructoquinasa (<i>phosphofructokinase</i> en inglés)
PPF	Pirofosfato-D-fructosa-6-fosfato-1-fosfotransferasa (<i>pyrophosphate-D-fructose-6-phosphate-1-phosphotransferase</i> , en inglés)
$PL1$	Biorreactor sin planta
$PL2$	Biorreactor con planta (<i>Phragmites australis</i>)
POR, pOR	Potencial de óxido-reducción
$PPi, P_2O_5^{4-}$	Pirofosfatos
PT	Fósforo total
PVC	Cloruro de polivinilo, material polimérico ampliamente usado (<i>polyvinyl chloride</i> , en inglés)
p_w	Densidad del agua (Ecuación 2.2)
Q	Gasto volumétrico al biorreactor (Ecuación 3.3)
Q_i	Caudal que ingresa al sistema de humedales artificiales (2.4.1. Entradas, salidas, acumulación)
Q_i, Q_t, Q_2, Q_n	Clases de objetos por definir mediante un modelo matemático (Ecuaciones 3.5, 3.6, 3.7 y 3.8)
q_{10}	Humedad específica del aire a 10m sobre la superficie del suelo (Ecuación 2.1)
q_s	Humedad específica del aire al nivel de la superficie del agua (Ecuación 2.1)
r	Radio del biorreactor (Ecuación 3.1)
R, R'	Relaciones entre los elementos interactuantes p_i (Ecuación 3.5)
SF	Streptococos fecales
SFS	Humedales artificiales que pueden funcionar como canales por los que fluye el agua residual con flujo subsuperficial en los que el agua atraviesa un lecho de grava o arena (<i>subsurface flow system</i> , por su nombre en inglés)
SS	Sólidos suspendidos
SST	Sólidos suspendidos totales
STT	Sólidos totales totales
t	Tiempo en segundos (Ecuación 2.2)
TRH	Tiempo de residencia hidráulico (días)
$TRH1$	Tiempo de residencia hidráulico de 4 días

TRH2	Tiempo de residencia hidráulico de 8 días
TSUAR	Biorreactor anaerobio de flujo ascendente en dos etapas (<i>two-step upflow anaerobic reactor</i> , en inglés)
U_{10}	Velocidad del viento a 10m sobre la superficie del suelo (Ecuación 2.1)
US\$	Dólares estadounidenses
V	Volumen del biorreactor (Ecuación 3.3)
V_E	Volumen efectivo del biorreactor (Ecuación 3.2)
V_T	Volumen total del biorreactor (Ecuación 3.2)
VSSF	Humedales artificiales por los que fluye el agua residual subsuperficialmente y de manera vertical (<i>vertical subsurface flow</i> , en inglés)

Prefijos

h	hecto
k	kilo

Letras griegas

ΔV	Volumen total de agua perdida del sistema (Ecuación 2.2)
θ	Tiempo de residencia hidráulico (Ecuación 3.3)
π	Pi = 3.1416 (Ecuación 3.2)
μ_1, μ_2	Promedios de poblaciones estadísticas

Nota: En esta tesis se emplea el Sistema Internacional de Unidades, el punto decimal y el idioma español.

RESUMEN

Se estableció un experimento de laboratorio para evaluar el efecto de diferentes balances de la nutrición vegetal, sobre la eficiencia de humedales construidos en la remoción de carga orgánica carbonosa y de nitrógeno inorgánico, utilizando la especie vegetal *Phragmites australis*. Seis columnas de plástico se alimentaron con agua residual sintética con dos niveles de carga orgánica, dada por la combinación de concentración de sacarosa y tiempo de residencia hidráulico (TRH), y dos niveles de carga nitrogenada, dada por la concentración de sulfato de amonio y TRH. Los biorreactores se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio, con iluminación artificial con duración de 16 horas de iluminación por 8 horas de oscuridad. Se utilizaron dos tiempos de residencia hidráulicos, 4 y 8 días. Como carga orgánica se alimentó sacarosa, en niveles de 99 y 294mgO₂L⁻¹, como demanda química de oxígeno teórica (*DQO_T*). Los niveles de nitrógeno utilizados fueron 10 y 40mg-NL⁻¹, suministrando sulfato de amonio. Los niveles de potasio fueron 5 y 30mg-KL⁻¹, suministrando fosfato monobásico de potasio. Los biorreactores se mantuvieron en operación durante 584 días. Los niveles de nitrógeno no afectaron la eficiencia de remoción de carga orgánica carbonosa, medida como *DQO* soluble (*DQO_s*) con 94.9 y 93.8% para los niveles alto y bajo de nitrógeno aplicado, respectivamente. Los niveles de potasio evaluados no mostraron efecto sobre la remoción de materia orgánica carbonosa, medida como *DQO_s*. La relación N:K mostró tener efecto sobre la remoción de materia orgánica carbonosa. Las relaciones N:K de 1:0.5 y 1:0.775 dieron una eficiencia de 97.0%, mientras que las relaciones N:K de 1:0.125 y 1:3.1 mostraron una eficiencia de 91.8% de remoción de materia orgánica carbonosa. La eficiencia de remoción de nitrógeno inorgánico disminuyó a lo largo de la experimentación, a medida que el sistema se hizo más maduro y la capacidad de los sitios de intercambio iónico se fueron saturando.

ABSTRACT

Lab scale experiments were performed for the evaluation of different plant nutrition formulae, over efficiency of organic carbon and inorganic nitrogen loads, with the plant species *Phragmites australis*. Six columns were packed with volcanic slag and fed with synthetic wastewater prepared with two levels of organic carbon load, given by the combination of sucrose concentration and hydraulic residence time (HRT), and two levels of inorganic nitrogen load, given by ammonium sulfate concentration and HRT. Bioreactors were managed under laboratory conditions; artificial light was fixed at 16 hours day and 8 hours night. Two HRT, of 4 and 8 days, were evaluated. As organic carbon load, sucrose was fed at concentrations of 99 and 294mgO₂L⁻¹ as chemical oxygen demand (*COD*). Levels of nitrogen were 10 and 40mg-NL⁻¹, and potassium levels were 5 and 30mg-KL⁻¹, fed as ammonium sulfate and monobasic potassium phosphate, respectively. Bioreactors operated during 584 days. Fed nitrogen levels did not show effect over organic carbon removal efficiency, measured as soluble *COD* (*COD_s*), yielding 94.9 and 93.8% organic carbon removal for higher and lower levels of fed nitrogen, respectively. Levels of fed potassium also did not show effect over organic carbon removal efficiency. N:K ratio showed significant effect over organic carbon load abatement. N:K ratios of 1:0.5 and 1:0.775 yielded 97.0% of organic load removal efficiency whereas N:K ratios of 1:0.125 and 1:3.1 yielded 91.8% of organic carbon load removal. Inorganic nitrogen removal efficiency became lower along the experimental phases, as the system became ripen and ion exchange sites became saturated.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Introducción

La presente investigación está circunscrita en el ámbito de trabajo dedicado a buscar soluciones para el tratamiento de agua residual municipal, aquella agua que, proveniente de la red de suministro de agua potable, se ha utilizado en las labores domésticas de limpieza, aseo personal y desalojo de desechos fisiológicos y otros residuos generados por los habitantes de una ciudad o comunidad humana.

El tratamiento de las aguas residuales municipales es importante debido al impacto adverso que pueden generar hacia la salud humana y el ambiente. Así mismo, es un problema que puede solucionarse con tecnologías que cumplan con dos requisitos deseables, por un lado, ser tecnologías eficientes en su cometido y, al mismo tiempo, que sean económicamente viables. El contenido de microorganismos patógenos, elementos químicos nutritivos (N, P y K, principalmente), carbono orgánico, compuestos orgánicos tóxicos y metales pesados son algunos de los componentes más dañinos que pueden encontrarse en este tipo de aguas residuales.

Uno de los enfoques en los que también tiene aplicación este trabajo es el desarrollo sustentable, mediante el desarrollo de tecnologías eficientes en la generación de un producto con la calidad que exige la normativa vigente y al mismo tiempo eficiente en el uso de los recursos que se invierten en el proceso.

Los humedales artificiales diseñados para el tratamiento de agua residual municipal, son una aplicación racional de la capacidad que tienen los humedales naturales para capturar y procesar los contaminantes que se han vertido en ellos, procedentes de descargas de agua residual industrial y municipal. Las naciones que cuentan con humedales naturales en las cercanías de sus ciudades y parques industriales como los Everglades en Florida y Georgia en Estados Unidos, Alemania, los Países Bajos (Holanda, Bélgica y Luxemburgo) y los países nórdicos, Dinamarca, Noruega, Finlandia y Suecia, han dedicado gran número de trabajos de investigación a evaluar los impactos ambientales hacia estos ecosistemas como consecuencia de la descarga de aguas residuales. En ellos se ha constatado que son capaces de almacenar y procesar grandes cantidades de contaminantes. También se han estudiado cada vez con mayor detalle los procesos biológicos y físico-químicos que subyacen a su capacidad para amortiguar los efectos nocivos que la descarga de contaminantes puede generar sobre el medio ambiente y la salud humana.

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Investigar el efecto de dos niveles de los nutrientes nitrógeno y potasio sobre la eficiencia de un humedal artificial a escala de laboratorio en la remoción de contaminantes de agua residual sintética.

1.2.2. Objetivos particulares

Evaluar el efecto de diferentes niveles de nutrientes sobre la remoción de la contaminación generada por la materia carbonosa y nitrogenada de agua residual sintética con las concentraciones características de un agua residual municipal, utilizando un humedal artificial de flujo vertical.

Investigar el efecto de dos nutrientes, nitrógeno y potasio, sobre la generación de biomasa vegetal y su efecto sobre la eficiencia de remoción de materia orgánica de un humedal artificial.

Analizar el efecto del tiempo de residencia hidráulico sobre la remoción de la contaminación carbonosa y nitrogenada de agua residual sintética en un humedal artificial de flujo vertical.

Nota: Los objetivos planteados en este proyecto de investigación se enmarcan en las categorías de investigación, por el objetivo principal, evaluación, investigación y análisis, por los objetivos particulares.

1.3. Hipótesis

Mejorar la nutrición vegetal con nitrógeno y potasio, incrementa la eficiencia de remoción de materia orgánica carbonosa y nitrogenada en un humedal artificial alimentado con agua residual sintética.

Esta relación N:P:K maximiza el desarrollo de la vegetación, la biotransformación del carbono por las bacterias y el metabolismo del nitrógeno en el ecosistema microbiano, en un sistema de laboratorio que simula un humedal artificial de flujo vertical, alimentado con agua residual sintética que contiene una fracción carbonosa y una nitrogenada que interesa remover.

Para alcanzar el objetivo debe tomarse en cuenta que el agua residual contiene una fracción carbonosa y una nitrogenada y que en un humedal artificial de flujo vertical a escala de laboratorio bajo condiciones de N:P:K favorables para la vegetación se minimizaría la competencia por nutrientes (N) y por oxígeno (O₂) entre la biomasa bacteriana y la parte vegetal. Así se maximizaría el crecimiento de la vegetación y la biotransformación del carbono y el nitrógeno por las bacterias.

1.4. Justificación

Los humedales artificiales son sistemas de tratamiento de aguas residuales de relativamente baja inversión de capital, reducidos costos de mantenimiento y con la capacidad de funcionar como sitios de refugio para la fauna silvestre. Estos sistemas se han aplicado con éxito sobre todo en comunidades rurales de Estados Unidos y Europa en general, especialmente en Alemania, Austria y la República Checa, pero sus características van despertando interés para su aplicación en otros países. Se está dando la construcción de humedales cada vez más eficientes que sirven a poblaciones rurales crecientes (35,000 en una comunidad de Dakota del Norte, por ejemplo) (Weil, 1998). Por ser sistemas que echan mano de la vegetación natural del lugar, pueden adaptarse con cierta flexibilidad casi a cualquier ambiente. En lugares desérticos resultan sumamente benéficos ya que el recurso limitante es normalmente el agua, que resulta ser abundante para el sistema de tratamiento, además de que entrega una corriente de agua tratada lista para ser utilizada nuevamente en actividades o procesos que acepten la calidad de agua que produce el sistema.

Por otra parte, el estudio de los humedales artificiales como sistemas de tratamiento de agua residual doméstica ha demostrado satisfactoriamente que la vegetación no es directamente responsable de la remoción de nutrientes ni de los compuestos carbonosos. Sin embargo, los parámetros físico-químicos en un sistema con vegetación tienen claras diferencias con respecto a un sistema similar sin vegetación. Así mismo, las condiciones ambientales generadas en la zona de la rizosfera pueden cambiar de una especie a otra en la composición vegetal, como también ha sido demostrado experimentalmente.

En este trabajo se propone que la nutrición vegetal puede ser un factor modificable que influye sobre la velocidad de crecimiento y la tasa fotosintética, de manera que puede modificarse la eficiencia del sistema. Este aspecto en particular no se encuentra aún en los reportes de investigación aplicada sobre humedales artificiales para el tratamiento de agua residual doméstica o sintética.

En la presente investigación se manejaron diferentes balances de los nutrientes nitrógeno y potasio para generar diferentes velocidades de crecimiento y tasas fotosintéticas en una misma especie vegetal, y se evaluó la eficiencia del sistema en la remoción de contaminación orgánica y remoción de nutrientes de agua residual sintética.

Se propone que estudios de este tipo pueden contribuir a mejorar el entendimiento de estos sistemas, para incrementar su eficiencia y también para enfocar condiciones o parámetros que ayuden a desarrollar modelos teóricos más detallados, para la predicción de su comportamiento real y para el diseño de sistemas de tratamiento de agua residual municipal.

1.5. Alcances

Los resultados de esta investigación muestran que el estado nutricional de las plantas dentro del sistema de humedales artificiales o contruidos tiene un efecto favorable en la eliminación de contaminación carbonosa y nitrogenada del agua residual, en este caso sintética. Por lo tanto, el balance de nutrientes (nitrógeno y potasio) que entran al sistema se propone como un parámetro de manejo de los humedales diseñados para el tratamiento de agua residual municipal.

En esta investigación se midieron los potenciales redox en diferentes partes del sistema de humedales y se hizo un seguimiento de sus valores a diferentes horas del día y de la noche. En el caso de este parámetro se propone el seguimiento de los valores de potencial redox como parámetro de manejo de los humedales diseñados para el tratamiento de agua residual municipal.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Contaminantes del agua residual

El agua residual es el agua que originalmente fue acondicionada para su uso (potable o de uso industrial, agrícola o pecuario) y que después de haber sido utilizada en un proceso productivo o servicio y que ha acumulado una cantidad de sustancias propias del uso al que ha sido sometida, la hacen impropia para reutilizarla en el mismo proceso que las generó o en otros procesos que se realicen dentro de la misma actividad productiva o de servicios, así como para su descarga en cuerpos de agua naturales. Por su origen existe una gran variedad de tipos de agua residual, pero de manera general se pueden tener los siguientes: Agua residual industrial, agua residual municipal, agua residual de actividades ganaderas, escorrentías de terrenos contaminados, escorrentías de terrenos agrícolas, entre otros (Henry y Heinke, 1999; Tchobanoglous y col., 1991; Winkler, 1998).

Los contaminantes presentes en el agua residual municipal son en su mayoría de tipo orgánico, provenientes de la orina, heces fecales y residuos de alimentos. Sin embargo, puede llevar, en menor proporción, cantidades variables de otros contaminantes de tipo orgánico e inorgánico, algunos de ellos biodegradables y otros no biodegradables, que pueden ser recalcitrantes y/o tóxicos (detergentes, disolventes químicos, insecticidas, blanqueadores, desinfectantes, etc.) (Tchobanoglous y col., 1991; Winkler, 1998).

Los componentes orgánicos biodegradables comienzan su descomposición desde que son vertidos al drenaje urbano, de manera que algunos de los derivados de procesos de degradación se encuentran presentes en concentraciones más o menos elevadas. De esta manera, entre los contaminantes orgánicos biodegradables y sustancias derivadas de su degradación pueden encontrarse en mayor concentración los siguientes: carbohidratos (celulosa, almidón, lignina, azúcares, entre otros), grasas, aminoácidos, ácidos nucleicos y ácidos orgánicos entre los componentes derivados de su degradación. Además algunos componentes inorgánicos producto de su mineralización, como ion amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-) y fosfatos (PO_3^{+3} , HPO_4^{-2}).

La mayor parte de la masa que compone a los contaminantes orgánicos biodegradables está constituida por estructuras de carbono, las cuales son utilizadas por los microorganismos como fuente de energía y como fuente de material estructural para la formación de más biomasa. El carbono que se utiliza como fuente de energía es eliminado del sistema (drenaje o planta de tratamiento) en forma de bióxido de carbono (CO_2) en los sistemas aerobios y en forma de metano (CH_4) y bióxido de carbono en los sistemas anaerobios (Bidwel, 1979; Brock y Madigan, 1993; Tchobanoglous y col., 1991).

Otros tipos de contaminantes presentes en el agua residual municipal son los compuestos no biodegradables orgánicos e inorgánicos. En este grupo de sustancias se encuentran residuos de solventes, insecticidas y detergentes, todos ellos de tipo orgánico, y residuos de cloro, amoniaco, metales, entre los inorgánicos (Henry y Heinke, 1999; Tchobanoglous y col., 1991; Winkler, 1998).

2.2. Alternativas de tratamiento

Los contaminantes presentes en el agua residual doméstica pueden ser transformados o eliminados mediante procesos de tipo biológico y mediante procesos de tipo físico-químico. El trabajo presente está enfocado en un proceso de tipo biológico, por lo que la revisión bibliográfica está dedicada a este grupo de procesos. El tipo de contaminantes que consumen la mayor cantidad de recursos (materiales y técnicos) en el agua residual municipal son los contaminantes orgánicos carbonosos, por encontrarse en grandes cantidades. Sin embargo, una vez eliminada o mineralizada la materia carbonosa de la corriente de agua, algunos de los componentes inorgánicos remanentes, principalmente nitrogenados y fosfatados, son motivo de preocupación debido a que generan procesos de eutrofización si alcanzan cuerpos de agua naturales (Henry y Heinke, 1999; Tchobanoglous y col., 1991; Winkler, 1998).

La remoción de los nutrientes principales, nitrógeno y fósforo, puede realizarse por medio de procesos que utilizan microorganismos. El principal modo de separar el nitrógeno es el proceso de nitrificación-desnitrificación, en el que el agua residual se somete a una aireación prolongada hasta que todo el nitrógeno contenido inicialmente en los aminoácidos sea transformado en amonio (NH_4^+) por amonificación y éste, a su vez, sea oxidado a nitrato (NO_3^-). A continuación, en un proceso anóxico, el nitrato es reducido a nitrógeno molecular (N_2) por bacterias desnitrificantes (Brock y Madigan, 1993; Schlegel, 2000; Tchobanoglous y col., 1991; Winkler, 1998). El nitrógeno puede salir del sistema en estado gaseoso por intercambio con la atmósfera cuando se encuentra en forma de nitrógeno molecular (N_2) y en forma de óxido nitroso (N_2O); cuando se encuentra en forma de amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) o ligado a compuestos orgánicos solubles como aminoácidos o glucolípidos puede salir del sistema en forma disuelta contenido en el efluente (flujo en masa). Una fracción del nitrógeno amoniacal puede quedar adsorbido a las superficies de intercambio del lecho rocoso o también en los sitios de intercambio generados por la materia orgánica acumulada en el espacio poroso del sistema durante su funcionamiento (Kadlec y col., 2005; Orduña, 2002; Orduña y col., 2002). Por su parte, el fósforo, presente principalmente en forma de fosfato inorgánico (PO_4^{3-}) después de la mineralización de la materia carbonosa, puede ser separado de la fase líquida por procesos de precipitación en *pH* alcalino, o por procesos biológicos alternando etapas aerobias con etapas anaerobias. Cuando se ha generado biomasa suficiente, la suspensión en condiciones aerobias se conduce a un sedimentador para eliminar en forma de lodos el fósforo que han acumulado las bacterias dentro del citoplasma, al realizar el metabolismo aerobio (en forma de adenosina-trifosfato, ATP).

Los componentes de tipo carbonoso contenidos en grasas y aceites, carbohidratos, aminoácidos y otras estructuras de origen orgánico son transformados por los microorganismos principalmente en el metabolismo energético a grupos acetyl, por procesos enzimáticos y después ingresando al ciclo de Krebs donde se sintetizan adenosina-trifosfato (ATP), nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reducido (NADPH) y flavina-adenina-dinucleótido-reducido (FADH). El poder reductor de estas dos últimas moléculas es utilizado en la cadena de transporte de electrones de la membrana interna de la mitocondria para transportar protones (H^+) hacia el espacio intermembranal y generar el gradiente de concentración que es utilizado por la estructura *ATP-sintasa*, embutida en la membrana interna de la mitocondria para la síntesis de ATP a partir de adenosina-difosfato (ADP) y fosfato inorgánico (Pi). Todo esto en condiciones aerobias (Brock y Madigan, 1993; Curtis y Barnes, 2000; Matheus y col., 2002; Schlegel, 2000).

El potasio es un elemento con poca movilidad en los suelos, aunque en un lecho rocoso como el que se utiliza en la construcción de humedales artificiales, tiende a permanecer en la solución y una fracción es asimilada por los microorganismos y las plantas para emplearse en los procesos metabólicos en los que interviene. En el citoplasma de células de plantas y bacterias el potasio participa en el transporte activo

de iones de sodio hacia el interior o hacia el exterior de la célula, según se requiere, para mantener en equilibrio osmótico el interior con sus alrededores (Bidwel, 1979; Brock y Madigan, 1993; Curtis y Barnes, 2000). Se ha sugerido que el potasio forma parte también de algunas enzimas que participan en la síntesis de compuestos estructurales de la célula vegetal como la lignina, celulosa, calosa y suberina (Payeras, 2008).

Como se mencionó antes, los procesos biológicos que conducen a la degradación y eliminación de los compuestos contaminantes acarreados en forma de sólidos suspendidos o como compuestos en disolución son realizados en su mayoría por microorganismos del grupo de las bacterias (procariotas). Las vías metabólicas de mayor interés en el presente trabajo son las vías de degradación de los compuestos de carbono para la obtención de energía (vías heterotróficas), por un lado; las vías que utilizan la oxidación de compuestos nitrogenados reducidos para la obtención de energía (vías autótrofas); y las vías que utilizan los compuestos nitrogenados oxidados como aceptores de electrones en la generación de energía a partir de estructuras orgánicas carbonadas (vías heterotróficas también) o bien la vía de reducción autótrófica del nitrógeno.

Bacterias heterótrofas

En los sistemas de tratamiento de agua residual, municipal o industrial, se encuentran grandes poblaciones de bacterias heterótrofas que son los organismos encargados de consumir (degradar) la materia orgánica presente como contaminante (algunos ejemplos se muestran en la Tabla 2.1). Aunque los estudios microbiológicos en este tipo de ecosistemas (artificiales) se centran en detectar la presencia de las especies que son patógenas para la población humana y para los animales domésticos, es también importante conocer las especies predominantes y que no son necesariamente fuentes de infección. Las bacterias presentes en los sistemas de tratamiento y que también incluyen especies patógenas de preocupación son: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Xantomonas* (Bartram y col., 2003).

Tabla 2.1. Bacterias heterótrofas (UniProt Consortium, 2011).

Superreino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género y especie	Taxón
Bacteria (Monera, Procariota)	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter beijerinckii</i>	262668
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	<i>Aeromonas piscicola</i>	600645
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium denitrificans</i>	281361
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	272620
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Moraxella boevrei</i>	346665
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Serratia marsescens</i>	617
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonaceae	<i>Pseudomonas syringae</i>	264453
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Xantomonas vesicatoria</i>	925775

Bacterias nitrificantes

Las bacterias nitrificantes tienen metabolismo quimioautótrofo, es decir, obtienen su energía de la molécula de amonio (NH_4^+) o de nitrito (NO_2^-) y utilizan bióxido de carbono (CO_2) como fuente de

carbono. Su sistema enzimático incluye a la enzima *amonio-monooxigenasa*, que oxida el amonio a hidroxilamina, o bien, a la *nitrito-oxidoreductasa*, que oxida el nitrito a nitrato. Dentro del grupo de bacterias que oxidan el amonio se encuentran los géneros: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* y *Nitrosolobus*. El grupo de las bacterias que oxidan el nitrito incluye: *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrosococcus* y *Nitrospira* (algunos ejemplos se muestran en las Tablas 2.2 y 2.3).

Tabla 2.2. Bacterias nitrificantes oxidadoras de amonio (UniProt Consortium, 2011).

Superreino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género y especie	Taxón
Bacteria (Monera, Procariota)	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Nitrosomonadaceae	<i>Nitrosomonas</i> <i>sp. B2</i>	146850
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Nitrosomonadaceae	<i>Nitrosomonas</i> <i>europaea</i>	915
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	<i>Nitrosococcus</i> <i>watsoni</i>	473531
Bacteria	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	<i>Nitrospira</i> <i>moscoviensis</i>	42253

Nitrosolobus = *Nitrospira*

Tabla 2.3. Bacterias nitrificantes oxidadoras de nitrito (UniProt Consortium, 2011).

Superreino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género y especie	Taxón
Bacteria (Monera, Procariota)	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Nitrobacter</i> <i>alkalicus</i>	93980
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfobacterias	Nitrospinaceae	<i>Nitrospina</i> <i>gracilis</i>	314274
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Nitrosomonadaceae	<i>Nitrosococcus</i> <i>mobilis</i>	51642
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	<i>Nitrosococcus</i> <i>watsoni</i>	473531
Bacteria	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	<i>Nitrospira</i> <i>moscoviensis</i>	42253

Bacterias desnitrificantes

En la desnitrificación las formas oxidadas de nitrógeno (nitrato, NO_3^- y nitrito, NO_2^-) entran a un vía metabólica que utiliza compuestos orgánicos de alta energía como aceptores de electrones (metanol, etanol, ácido acético, glucosa). La secuencia de reducción de dichas formas de nitrógeno es $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. En la desnitrificación autótrofa, la fuente de energía es inorgánica, como hidrógeno o compuestos reducidos de azufre como sulfuro de hidrógeno (H_2S) o tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) utilizando como fuente de carbono al bióxido de carbono (CO_2). Algunos de los géneros de bacterias en las que se ha encontrado la vía desnitrificante son: *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Rhizobium* y *Thiosphaera*. La vía de desnitrificación autótrofa, de interés práctico pero poco desarrollada por el momento, se encuentra en las bacterias *Magnetospirillum magnetotacticum*, *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans* y *Thioalkalivibrio denitrificans* que consumen O_2 durante la desnitrificación (Brock y Madigan, 1993; Curtis y Barnes, 2000; Schlegel, 2000). Las Tablas 2.4 y 2.5 proporcionan la ubicación taxonómica de algunas de estas bacterias.

Tabla 2.4. Bacterias desnitrificantes heterótrofas (UniProt Consortium, 2011).

Superreino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género y especie	Taxón
Bacteria (Monera, Procariota)	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Alcaligenes faecalis</i>	511
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Paracoccus denitrificans</i>	266
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonaceae	<i>Pseudomonas syringae</i>	264453
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus subtilis</i>	1423
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Hydrogenophilales	Hydrogenophilaceae	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	292415
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium mesosinicum</i>	335017
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	<i>Thiocystis gelatinosa</i> (<i>Thiosphaera gelatinosa</i>)	46450

Tabla 2.5. Bacterias desnitrificantes autótrofas (UniProt Consortium, 2011).

Superreino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género y especie	Taxón
Bacteria (Monera, Procariota)	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Magnetospirillum magnetotacticum</i>	272627
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Hydrogenophilales	Hydrogenophilaceae	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	292415
Bacteria	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Helicobacteraceae	<i>Sulfurimonas denitrificans</i> (<i>Thiomicrospira denitrificans</i>)	39766
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Ectothiorhodospiraceae	<i>Thioalkalivibrio denitrificans</i>	108003

2.2.1. Desarrollo sustentable

En el marco del desarrollo sustentable el tratamiento de aguas residuales juega un papel importante dando pie a un uso más eficiente de este recurso, haciendo reutilizables volúmenes de agua que de otro modo se descargarían sin tratamiento, alcanzando tarde o temprano cuerpos de agua naturales en donde generan efectos nocivos de diferentes clases, con impactos ambientales negativos de moderados a graves. Los humedales artificiales constituyen una propuesta que se ajusta a este enfoque de desarrollo dado que hace uso intensivo de los recursos disponibles en el sitio donde se implementa, esto es, los materiales de empaque o relleno pueden conseguirse en la localidad a la que se sirve, las especies vegetales pueden ser endémicas del sitio, permitiendo su mejor adaptación y evitando la importación de especies exóticas. La parte vegetal del sistema utiliza la energía radiante del sol para su propio crecimiento así como para el aporte de oxígeno, extracción de agua por evapotranspiración y otros factores que crean un medio favorable para el crecimiento de microorganismos heterótrofos y autótrofos que degradan la materia orgánica, eliminan de diversas maneras los nutrientes responsables de la eutrofización de cuerpos de agua y son capaces aún de transformar compuestos orgánicos tóxicos en formas inocuas para la vida acuática o para el uso ulterior al que se destine el producto (agua residual tratada), dentro de los límites de seguridad pertinentes. En este contexto es también importante el hecho de que algunas especies de animales silvestres pueden encontrar refugio, alimento y agua, por lo que se

convierten en sitios de amortiguamiento de los impactos ecológicos de la urbanización. Es de recalcar que en las áreas naturales perturbadas por la urbanización, industria, agricultura, ganadería, minería, vías de comunicación, desforestación, entre otras, las especies silvestres (animales, insectos, plantas, microorganismos) pierden o ven limitadas sus posibilidades de refugio, anidación, protección visual, mimetismo, alimentación y abrevado, por lo que estos sistemas pueden ayudar a mitigar en parte estos efectos indeseables de la presión social sobre los recursos.

En estos sistemas la dependencia de fuentes de energía externas se minimiza, con respecto a sistemas que emplean compresores de aire para alimentar los procesos aerobios, aunque se requiere de energía eléctrica para iluminación de las instalaciones, accesos y oficinas, bombeo y operación de instrumentos de medición, control automático, computadoras, válvulas y compuertas. También es importante la cantidad de energía que se invierte para la cosecha y disposición de la biomasa generada y de la sustitución periódica parcial o total del material de empaque, una vez que se satura con los sólidos acumulados a lo largo del tratamiento. Los residuos vegetales son considerados como no peligrosos, por lo que puede disponerse de ellos depositándolos en un relleno sanitario o utilizándolos como fuente de energía renovable. El caso de los residuos de empaque saturado con sólidos por el tratamiento de agua residual municipal está regulado por la NOM-004-SEMARNAT-2002, por lo que será necesario someterlos a un proceso de composteo previo a su colocación en un relleno sanitario o su empleo como mejoradores de suelo en terrenos agrícolas o forestales. La biomasa vegetal puede también triturarse mediante la maquinaria apropiada, como pretratamiento para su uso como acolchado orgánico (Gaitán, 2006; Orduña, 1994) o para incorporarlo a la dieta de animales de granja, siempre y cuando no contenga sustancias tóxicas.

Tomando en cuenta estas consideraciones, puede decirse que el sistema cumple con los lineamientos establecidos (ONU, USDA, EPA, SEMARNAT) para considerarlo como un proceso sustentable para el tratamiento de agua residual doméstica.

La Organización de las Naciones Unidas promueve el desarrollo sustentable a través de su División para el Desarrollo Sustentable (ONU, 2011) mediante la cooperación técnica y capacidad de construcción a niveles internacional, nacional y regional. Para alcanzar el desarrollo sustentable, menciona su sitio en internet, se requiere la integración de sus componentes económico, medioambiental y social, en todos los niveles. Esto se facilita a través del diálogo continuo y la acción conjunta a nivel global, enfocándolos en tópicos clave para el desarrollo sustentable.

El Plan de Implementación de Johannesburgo (JPOI, *Johannesburg Plan of Implementation*) adoptado en la cumbre mundial sobre desarrollo sustentable (WSSD, *World Summit on Sustainable Development*) de 2002, propone como objetivo reducir a la mitad el número de personas sin acceso a servicios de sanidad para el año 2015, en paralelo con el objetivo de desarrollo del milenio de reducir a la mitad el número de personas sin acceso a agua potable. En el aspecto relacionado con la sanidad menciona en forma particular los siguientes objetivos: Asegurar que en el año 2025 los servicios de sanidad alcancen todas las áreas rurales; mejorar la sanidad dentro de las instituciones públicas, en particular en las escuelas; promover las prácticas de higiene seguras; promover tecnologías y prácticas realizables y hacerlas social y culturalmente aceptadas; integrar la sanidad a las estrategias de manejo de los recursos hídricos; desarrollar mecanismos innovadores de financiamiento y participación y fortalecer las redes de información existentes (ONU, 2011).

El Consejo para el Desarrollo Sustentable del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 2011) da seguimiento y coordina los trabajos conjuntos del Departamento de Agricultura (USDA) y

otras agencias gubernamentales a niveles federal, regional y estatal en tres áreas de su competencia: Manejo forestal, agricultura y desarrollo rural y comunitario.

El Departamento de Agricultura (USDA, 2011) también proporciona una serie de apoyos a través de su sitio en internet para los proyectos en sus distintas fases (planeación, construcción, operación y clausura), entre los que destacan: Calculadora de emisiones personales; economía rural sostenible a través de nuevas tecnologías para el manejo del agua; investigaciones del USDA para comunidades rurales; asociación para el manejo del aire y residuos; centro de información sobre sistemas alternativos de cultivo; uso de la energía eólica; labores de conservación de traspatio; uso del suelo, valor y manejo; sitios bajo saneamiento (*brownfields*); limpieza y desarrollo de sitios bajo saneamiento; recursos comunitarios: Recursos energéticos, hídricos y disposición de residuos; red de ligas a sitios de internet relacionados.

2.3. Ventajas y desventajas de los humedales para el tratamiento de agua residual municipal

Una de las principales ventajas que tiene el tratamiento de aguas residuales municipales en sistemas de humedales construidos es que para su funcionamiento y mantenimiento mínimo, no requiere de una entrada constante de energía y el mantenimiento se puede realizar con herramientas y equipos de mediana capacidad que pueden estar al alcance de muchas de las comunidades pequeñas o medianas (2500 a 50000 habitantes). Otra ventaja importante es que su construcción puede realizarse con materiales disponibles en la zona donde se construye, hablando particularmente del relleno para el lecho rocoso, que debe ser sustituido por material nuevo o reacondicionado una vez que se taponan su espacio poroso por acumulación de sedimentos y biomasa generada por el crecimiento de microorganismos y plantas (CAD, 2006; Caselles, 2007; EPA, 1999). La vegetación acuática que se requiere para el aporte de oxígeno fotosintético y para disminuir el caudal de agua mediante la evapotranspiración puede también ser oriunda de la comunidad a la que sirve el sistema, lo que se traduce en una adaptación más rápida y menores costos de adquisición y transporte. Desde el punto de vista de la seguridad, sus instalaciones básicas no comprenden estructuras que puedan poner en riesgo la integridad del personal que lo atiende y el acceso de visitantes podría permitirse sin muchas restricciones por este aspecto. Cuando la supervisión del sistema se realice en el mismo sitio se requerirá disponer de un laboratorio de análisis físico-químicos y microbiológicos; además, se podrá considerar la opción de montar equipos de registro en tiempo real para algunos parámetros de interés para el manejo del sistema, como análisis automatizados de *DQO* y *OD*, electrodos selectivos para amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y potencial redox. En este caso se requiere que el sitio que aloje las instalaciones cuente con servicios de energía eléctrica, comunicaciones y agua potable por lo menos. Estos servicios también se deben considerar cuando el diseño requiera de bombas para la distribución del efluente, para la recirculación de una fracción de efluente o para el llenado y evacuación de agua y lodos entre las diferentes etapas de tratamiento. También será necesario considerar los requerimientos de mano de obra que cumpla con el perfil técnico para cada una de las actividades. Algunas actividades requieren de maquinaria especializada, cuando así esté contemplado, como el movimiento de material de empaque, la cosecha y sustitución de vegetación, mantenimiento de vialidades, entre otras.

Una desventaja es que la superficie de terreno que requieren estos sistemas es relativamente mayor que para un sistema de tratamiento de tipo más intensivo como los sistemas de lodos activados, biodiscos, filtros percoladores, lagunas de oxidación, entre los más difundidos, debido a que la profundidad del lecho rocoso no debe ser mayor de 1m, además de que el volumen efectivo es la fracción correspondiente al espacio poroso del material empleado para el empaque. También considerado como una desventaja es la generación relativamente elevada de residuos por el corte de la vegetación al final

de cada ciclo de crecimiento, y por la sustitución del material de empaque una vez que la circulación de agua presenta dificultades, lo cual se manifiesta cuando el agua aflora a la superficie en la zona cercana al punto de entrada de agua residual. La administración de estos sistemas deberá elaborar un plan de manejo de residuos sólidos en el que se describa a detalle la forma en que se manejarán estos y otros residuos generados en menores volúmenes, así como los acuerdos con los encargados de la recepción de los mismos (LGEEPA, 2011, Art. 28: Evaluación de Impacto Ambiental). Se deberá contar con un sitio adecuado para la disposición final de estos residuos, de preferencia un relleno sanitario (Tchobanoglous y col. 1991); sin embargo, dependiendo de la demanda que puedan tener en la zona, tanto el sustrato como la biomasa vegetal pueden emplearse nuevamente, después de someterlos a un proceso de composteo (Gaitán, 2006). En el caso de los desechos vegetales, si no han sido expuestos a compuestos o elementos tóxicos pueden usarse para la alimentación de ganado y para la fabricación de artesanías o construcciones rústicas y, en el caso de los residuos del material de empaque, puede emplearse como relleno de jardineras o en la nivelación de áreas jardinadas, siempre y cuando el diámetro de partícula seleccionado sea compatible con esos destinos. El material de empaque también puede someterse a un proceso de limpieza y reutilizarse en el mismo sistema de tratamiento.

El trabajo de Caselles y col. (2007), menciona que las acumulaciones de sólidos fueron mayores en la parte proximal (3 a 57kg (materia seca) MSm^{-2}) que en la porción distal, cerca de la salida (2-12kg MSm^{-2}) de un humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal que trata el agua residual municipal de una pequeña comunidad del norte de España.

En los humedales construidos, las velocidades de acumulación de partículas orgánicas tienden a decrecer al madurar. Se ha observado que en los primeros dos años de operación, la tasa de acumulación fue de aproximadamente el doble que en los siguientes tres años (Tanner y col., 2001).

Actualmente, se está ensayando la técnica de resonancia magnética nuclear en una aplicación para dar seguimiento a la acumulación de partículas en el espacio poroso del sistema, con la finalidad de programar las actividades de cambio de lecho (Morris y col., 2011).

Como ventajas del empleo de humedales artificiales para el tratamiento de agua residual municipal, se pueden mencionar también los resultados reportados por diversos autores en cuanto al abatimiento de los niveles de contaminantes carbonosos (medidos como DQO y DBO_5) y nutrientes (nitrógeno y fósforo principalmente).

Weil (1998), describe un sistema de humedales artificiales en Dakota del Norte que consiste de tres celdas; la primera y tercera celdas con una profundidad de 0.2m y sembradas con 1200 plantas acuáticas de la especie *Typha latifolia* y 850 de la especie *Juncus effusus*. La segunda celda (situada entre las dos anteriores) funciona como una laguna aireada con 0.6m de profundidad. Tanto las especies de plantas utilizadas como la configuración del sistema contribuyen a reducir los niveles de nitrógeno y microorganismos patógenos del agua residual.

Kemp y George (1997) realizaron un experimento a escala piloto con un modelo de humedal artificial de flujo subsuperficial para el tratamiento de agua residual municipal incrementando el tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 1.7 a 4.3 días. El sistema se manejó con ciclos de llenado y vaciado periódicos. El incremento de TRH disminuyó la concentración de amonio en el efluente a 2.7mg-NL⁻¹. La concentración promedio de amonio en la entrada fue de 21mg-NL⁻¹. El nivel mínimo en el efluente para una sola celda de tratamiento fue de 13mg-NL⁻¹, mientras que a la salida de la segunda celda la concentración se redujo a 10mg-NL⁻¹. La concentración promedio en el efluente fue de 10mg-NL⁻¹. Sin embargo, se observaron variaciones estacionales, como el periodo de mayo a septiembre, durante el cual la concentración promedio de amonio en el efluente fue de 6mg-NL⁻¹. Con los datos obtenidos se

elaboró un modelo de primer orden que mostró un coeficiente de regresión, $r^2=0.94$. Éste se utilizó para determinar el TRH necesario para obtener una concentración final de 5mg-NL^{-1} , suponiendo que la concentración inicial de amonio fuera de 20mg-NL^{-1} y suponiendo que se emplearan dos celdas de tratamiento, obteniéndose un valor teórico de 3.9 días.

Hunter y col. (2001) experimentaron sobre la remoción de nitrógeno, fósforo y carbono orgánico en modelos de humedales a escala microcosmos. Alimentaron agua residual sintética y tomaron muestras del efluente cada 12 días durante 132 días. La remoción de amonio (NH_4^+) fue mayor en los modelos con vegetación (67%) comparado con los modelos sin planta (29%). La remoción de fosfato (ortofosfato, PO_4^{3-}) fue significativamente mayor en los modelos con planta (42%) que en los modelos sin planta (20%). Para carbono orgánico total (*TOC*, por sus siglas en inglés) no se encontró diferencia significativa entre modelos con planta (67%) y modelos sin planta (74%). Con respecto al tiempo de residencia hidráulico, la remoción de amonio fue significativamente mayor con 6 días (80%) que con 2 días de TRH (53%), la remoción de fosfato también fue significativamente mayor con 6 días (55%) que con 2 días (29%) de tiempo de residencia. No se encontraron diferencias en la remoción de carbono orgánico total (*TOC*) debidas al tratamiento (con o sin planta) pero sí con respecto al tiempo de residencia hidráulico donde hubo mayor remoción con 2 días (76%) que con 6 días (60%).

Estos trabajos muestran que los parámetros de diseño son diferentes, de acuerdo con el tipo de nutriente que se desea remover con estos modelos a escala de microcosmos. Los resultados muestran la elevada capacidad de remoción de nitrógeno y fósforo que pueden alcanzar las especies vegetales que se introducen en un sistema de este tipo. En el trabajo de Kemp y George (1997) se muestra que el tiempo de residencia hidráulico tiene un efecto significativo en la remoción de amonio aumentando de 52% con TRH de 1.7 días a 71.4% con TRH de 4.3 días.

Los trabajos de Busnardo y col. (1992), Padrón (2005) y de Rodríguez y Durán de Bazúa (2006) demuestran también la alta capacidad de las especies vegetales empleadas para la remoción de nitrógeno y fosfatos. Por su parte, Padrón (2005) señala en su investigación que los humedales artificiales tienen la capacidad de reducir significativamente la presencia de patógenos en el agua residual. El trabajo de Rodríguez y Durán de Bazúa (2006) demuestra, a su vez, que el humedal artificial tuvo la capacidad de remover la carga orgánica (*DQOs*) en 77.5% y el nitrógeno en más de 90%. En el trabajo de Busnardo y col. (1992) se corrobora que el régimen hidráulico tiene un papel importante en la eficiencia de remoción de nitrógeno y fósforo, cuando en sus resultados encontraron una eficiencia de remoción de nitrógeno inorgánico de 96% (con carga baja de nitrógeno) y 90% (con carga alta de nitrógeno) y las eficiencias de remoción de fosfatos fueron de 81% (con carga baja de fosfatos) y 90% (con carga alta de fosfatos).

El trabajo de Hubbard y col. (2004) indica que la vegetación en una laguna de tratamiento es capaz de remover los nutrientes de mayor importancia ecológica, por lo que a eutrofización se refiere, aunque no menciona la eficiencia de remoción de carga orgánica. La relación de nutrientes asimilados por la planta para *Typha latifolia* fue de 1:0.15:1.05 (N:P:K), mientras que para una planta acuática del género *Panicum* sp., fue de 1:0.15:0.69. Estos valores fueron calculados con base en los análisis foliares de los tejidos cosechados. Si se comparan con los obtenidos para un análisis foliar de maíz (Bidwel, 1979), de donde obtiene una relación 1:0.14:0.63, puede verse que la extracción de nutrientes de la planta de maíz se asemeja mucho con la de esta macrofita, lo que es de esperarse al ser ambos miembros de las gramíneas. La diferencia en el contenido de potasio, puede deberse a los distintos hábitos de crecimiento para ambas especies, ya que mientras que *Typha* posee un amplio sistema de tallos subacuáticos o rizomas pero no tallos aéreos, *Panicum* cuenta también con un amplio sistema de rizomas pero este

sistema se extiende hacia la parte aérea, de manera que los tejidos del tallo comprenden un porcentaje mayor de la biomasa cosechada.

En cuanto a aplicaciones de los humedales artificiales a casos particulares se pueden mencionar los siguientes tres: El primero es el trabajo reportado por Huddleston y col. (2000), quienes trataron el efluente de un tratamiento terciario de una refinería de petróleo en un humedal artificial obteniendo una remoción de carga orgánica (medida como DBO_5) del 80% y una remoción del nitrógeno amoniacal del 95%, con un tiempo de residencia hidráulico de 48h. El segundo reporte proviene de Mantovi y col. (2003), quienes utilizaron un humedal artificial de flujo subsuperficial ($75m^2$) con la macrofita *Phragmites* sp., para el tratamiento de un efluente combinado de un establo lechero y drenaje sanitario doméstico. Las remociones de sólidos suspendidos totales y carga orgánica (medida como DQO) fueron superiores al 90%, la remoción de nitrógeno fue de 50% y la de fósforo de 60%, los coliformes totales y *Escherichia coli* fueron eliminados en 99% y los estreptococos fecales en 98%. Ellos concluyen que la calidad del efluente tratado en ese sistema arroja valores aceptables de calidad para su descarga en cuerpos de agua superficiales, de acuerdo con los estándares italianos al respecto. En el tercer caso, se tiene el trabajo de Poach y col. (2004), quienes evaluaron un sistema de humedales conocido como Humedal-Laguna-Humedal (*marsh-pond-marsh*) para el tratamiento del efluente de una granja porcina, obteniendo remociones máximas durante el verano de 35 a 50% para sólidos suspendidos totales, 30 a 35% para la carga orgánica (medida como DQO), 37 a 51% para nitrógeno total y 13 a 26% para fósforo total.

Utilizando reactores a escala de laboratorio con 250L de capacidad, dos especies de macrofitas *Phragmites australis* y *Typha dominguensis*, tiempo de residencia hidráulico de 10d, relación C:N:P de 6.4:1:0.1, carga orgánica teórica de $230mgO_2L^{-1}$ y dos tipos de grava como sustratos, Rodríguez y Durán (2006) encontraron eficiencias de remoción de nitrógeno amoniacal de 88.7% y 93.3% en grava de pómez (*pumice*, como se llama en lengua inglesa) y grava de escoria volcánica (*tezontle*, como se llama en lengua náhuatl), respectivamente; para nitrógeno de nitratos las eficiencias fueron de 83.2% y 96.5% en grava de pómez y de tezontle, respectivamente; para nitrógeno total las eficiencias fueron de 85.1% y 93.1% en grava de pómez y de tezontle respectivamente; para demanda química de oxígeno soluble las eficiencias fueron de 70.0% y 77.5% en grava de pómez y grava de tezontle respectivamente. La mayor eficiencia en la eliminación de los contaminantes se atribuyó al mayor crecimiento de microorganismos en la escoria volcánica.

Bolaños y col. (2008) realizaron una investigación con humedales a escala de laboratorio utilizando dos especies de macrofitas acuáticas, *Pistia stratiotes* y *Egeria densa*, con un fotoperiodo de 12h, utilizando agua residual sintética preparada con ftalato ácido de potasio con valores de demanda química de oxígeno, DQO , teóricas de 250, 500 y $1000mgO_2L^{-1}$, obteniendo remociones como DQO de 77.45%, 84.25% y 93.47% para las DQO baja, media y alta, respectivamente, con la especie *Pistia stratiotes*; las remociones de DQO de 79.80%, 85.25% y 92.50% para las DQO baja, media y alta, respectivamente, con la especie *Egeria densa*. Aunque el hábito de crecimiento del follaje de *Egeria densa* es sumergido y el de *Pistia stratiotes* es aéreo, los resultados no muestran una clara diferencia en cuanto a la degradación de ftalato ácido de potasio, pero sí muestran una alta eficiencia con un tiempo de residencia hidráulico de 15 días.

En una experiencia que se realiza en países de Centroamérica, la Agencia Austriaca para el Desarrollo (CAD) y la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE) han promovido, en conjunto con las autoridades y universidades locales, la construcción y seguimiento de sistemas de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales municipales en comunidades que han presentado brotes epidémicos relacionados con su mala disposición, por la falta de instalaciones de drenaje y

tratamiento de estos desechos (CAD, 2006). La Tabla 2.6 muestra un listado de nueve plantas de tratamiento construidas en tres países centroamericanos en el marco de esta cooperación.

También, gracias a esta forma de trabajo, es posible contar con datos sobre el desempeño de los humedales construidos para el tratamiento de aguas residuales municipales funcionando en escala real, casos en los que se cuenta, además, con información sobre la disminución de casos de diarrea y otras enfermedades gastrointestinales, antes y después de la puesta en operación de estos sistemas. La Tabla 2.7 muestra los resultados de la evaluación de los parámetros de operación de un humedal construido diseñado para atender a la población de 846 personas en la comunidad de Masaya, Nicaragua (CAD, 2006).

Tabla 2.6. Humedales construidos en países de Centroamérica para el tratamiento de agua residual municipal, bajo los criterios de la Cooperación Austriaca para el Desarrollo (CAD) y la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE) (CAD, 2006).

Planta de tratamiento	Ubicación	Población beneficiada (diseño)
Salinas Grandes	León, Nicaragua	300
Residencial Millenium	Managua, Nicaragua	450
Proyecto Salto Transatlántico	Salto Masaya, Nicaragua	846
San José Las Flores	Chalatenango, El Salvador	1365
Masatepe	Masaya, Nicaragua	2200
Reparto La Providencia	León, Nicaragua	2782
Teupasenti	Danlí, Honduras	2812
Chichigalpa	Chinandega, Nicaragua	8752

Tabla 2.7. Datos promedio registrados en un humedal artificial situado en la ciudad de Masaya, Nicaragua, con una capacidad de diseño para 846 personas (CAD, 2006).

Parámetro	Influyente	Salida tanque					% de remoción
		Imhoff	BF1	BF2	BF3	BF4	
DBO ₅ (mgO ₂ L ⁻¹)	270	80	8	6	5	5	97.4
DQO (mgO ₂ L ⁻¹)	653	239	46	34	28	34	94.5
N-Total (mg-NL ⁻¹)	34	33	27	22	20	20	34.5
Fósforo total (mgL ⁻¹)	6.1	5.4	4.7	4.3	4.5	4.4	26.6
Sólidos suspendidos (mgL ⁻¹)	253	56	6	7	8	7	97.2
<i>E. coli</i> NMP/100mL)	1.6E+07	3.4E+06	1.3E+05	4.15E+04	1.5E+04	1.2E+05	99.52

BF1, BF2, BF3, BF4 = biofiltros 1,2, 3 y 4

2.4. Descripción del sistema

2.4.1. Entradas, acumulación y salidas

Entradas

En el sistema de tratamiento de agua residual municipal por medio de humedales artificiales que se trata en este trabajo pueden describirse las siguientes entradas: 1) Caudal que ingresa al sistema (Q_i); 2) Carbono medido como demanda química de oxígeno (DQO_i); 3) Nitrógeno (N_i); 4) Potasio (K_i).

Acumulación

Dentro del sistema se tendrá la acumulación de algunos de estos materiales en tanto que se alcanza el estado estable: 1) Acumulación de carbono como biomasa bacteriana y vegetal (C_A); 2) Acumulación de nitrógeno adsorbido en los sitios de intercambio iónico hasta su saturación y como biomasa bacteriana y vegetal (N_A); 3) Acumulación de potasio como biomasa bacteriana y vegetal, potasio adsorbido a la superficie mineral (K_A).

Salidas

Las salidas del sistema que se pueden describir son las siguientes: 1) Salida de carbono como CO_2 y como biomasa bacteriana en suspensión (C_S); 2) Salida de nitrógeno como biomasa bacteriana, como N_2 por desnitrificación, como ion nitrato (NO_3^-) en solución y como ion amonio (NH_4^+) en solución (N_S); 3) Salida de potasio como biomasa bacteriana y como ion potasio (K^+) en solución (K_S).

2.4.2. Funcionamiento físico

El funcionamiento físico del sistema está dado básicamente por el flujo de entrada de agua contaminada, el volumen útil del biorreactor y el material de empaque. El flujo de entrada y el volumen útil determinan el tiempo de residencia hidráulico, mientras que el conjunto de las tres variables afecta a la velocidad de flujo dentro de la matriz del empaque del biorreactor.

Otras variables físicas importantes son la temperatura y presión a las que trabaja el sistema. Por lo que respecta a la temperatura, ésta se mantuvo dentro de los valores óptimos para el crecimiento de los organismos biológicos que se encontraban dentro del sistema, esto es, alrededor de los 20°C . Con respecto a la presión, el sistema se manejó a la presión del lugar que, para la elevación en que se realizó el experimento, es de 1012 mb (2250 msnm).

Los humedales artificiales (*constructed wetlands*, como se les conoce en inglés) son sistemas de tratamiento de agua residual conformados por canales o estanques de no más de 1m de profundidad, en los cuales se siembran especies vegetales acuáticas sobre un soporte inerte y en los que se favorece a los procesos biológicos y microbiológicos naturales, así como procesos físicos y químicos que contribuyen al tratamiento del agua residual. La mayoría de estos sistemas cuentan con películas, membranas o capas de materiales impermeables diseñados para controlar la difusión de agua a tratar, al subsuelo circundante. En su diseño se controlan la dirección del flujo, el tiempo de residencia del agua y el nivel de la misma en el sistema. Dependiendo del manejo, especies vegetales y otros factores puede o no contener un lecho de material poroso, ya sea roca, grava o arena o combinaciones de ellos (EPA, 1999).

Los humedales artificiales pueden funcionar como canales por los que fluye el agua residual sobre la superficie (*free water surface*, FWS, por su acepción en inglés), o bien como sistemas con flujo subsuperficial en los que el agua fluye a través de un lecho de grava o arena (*subsurface flow system*, por su nombre en inglés). Los sistemas de flujo superficial están conformados básicamente de canales o estanques, con algún tipo de barrera superficial para prevenir que el agua rebose, especialmente en la época de lluvias cuando el caudal aumenta y evitar que el suelo circundante azolve el sistema y dañe la vegetación emergente y tienen agua con un tirante relativamente pequeño que fluye a través del sistema (Tayade y col., 2005).

2.4.3. Funcionamiento bioquímico

Desde el punto de vista bioquímico el sistema no puede definirse con toda precisión, dado que interviene un conjunto de microorganismos con vías metabólicas muy variadas, además de una o varias especies vegetales. De estos componentes, el microbiológico es el más complejo ya que está constituido por muchas especies de bacterias y protozoarios principalmente. De la parte vegetal se puede decir, en general, que se compone de una sola especie y que se conoce su actividad bioquímica dentro del sistema. Sin embargo, las interacciones entre la parte vegetal, microbiana y física son objeto de estudio por su complejidad y la cantidad de variables que intervienen.

Parte microbiana del sistema

El trabajo que se describe en esta tesis se realizó bajo condiciones no controladas de asepsia, en cuanto al control de microorganismos se refiere. Esto quiere decir que no se realizó un control de los microorganismos presentes que no fuera la fuente de inóculo, proveniente de un sistema de tratamiento de agua residual del mismo tipo. Se puede decir que la composición microbiana está controlada por el funcionamiento mismo del sistema, de manera que se tiene un complejo de microorganismos adaptados a las condiciones ecológicas que prevalecen dentro de los límites físicos del mismo sistema.

El complejo de microorganismos que se presentan en un sistema de tratamiento biológico como el de este trabajo se puede describir desde diferentes puntos de vista: 1) Las especies que lo componen y sus poblaciones relativas; 2) Los procesos metabólicos que realiza dicho complejo; 3) Los hábitos de crecimiento de los microorganismos presentes. Con respecto al primer punto, no es objetivo de este trabajo identificar a los microorganismos presentes ya que éste es un aspecto de tipo microbiológico que requiere de trabajo altamente especializado y que se está desarrollando en diferentes equipos de trabajo, como se verá al revisar las publicaciones que se refieren a ese tema; sin embargo, es de interés en este trabajo tener una referencia sobre la cantidad total de microorganismos presentes para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de estas poblaciones. El segundo aspecto, que se refiere a los procesos metabólicos que realiza el complejo microbiano, es de gran interés para el trabajo ya que ayudará a entender el destino que tienen los materiales que se suministran al sistema, que son los contaminantes que se desea remover. En tercer lugar, se han mencionado los hábitos de crecimiento de los microorganismos que se hospedan dentro del sistema de tratamiento. Este aspecto es menos importante que el aspecto metabólico, pero es una de las características que marcan diferencias entre los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales.

Se ha estudiado con atención en los humedales artificiales la actividad de microorganismos involucrados en la degradación de la materia orgánica. Al respecto, Tietz y col. (2007) mencionan que la nitrificación puede hacerse muy eficiente en estos sistemas cuando se manejan con carga intermitente y que el paso limitante del proceso son las bacterias oxidantes del amonio. Mediante electroforesis en gel con gradiente desnaturante (*denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE*) identificaron el gene que codifica para la enzima *amonio-monooxigenasa* en las bacterias oxidantes del amonio, *amoA*, y determinaron que las especies responsables de la oxidación del amonio en el sistema fueron principalmente de dos grupos: por un lado las *Nitrosomonas europaea/Nitrosococcus mobilis*, que comúnmente se encuentran en los sistemas de tratamiento de aguas residuales municipales y, por otro lado, las del género *Nitrospira*, que no se encuentran con frecuencia en dichos sistemas, pero sí se encuentran en los humedales artificiales que tratan aguas residuales municipales. Por su parte, Knapp y Graham (2007), estudiaron el proceso de nitrificación en biorreactores a escala de laboratorio y encontraron que los tiempos de residencia hidráulicos prolongados pueden ser la causa de que el proceso se interrumpa. En un biorreactor con TRH de 0.1d, la nitrificación se mantuvo sin interrupciones; sin embargo, cuando aumentaron el TRH, la nitrificación se interrumpió por la extinción de *Nitrospira* en el sistema, por lo cual hubo una acumulación de nitrito (NO_2^-). Mencionaron que la acumulación de metales bajo las condiciones de operación pudo ser la causa de la falla del sistema.

Parte vegetal del sistema

Con respecto a la parte vegetal del sistema, como se mencionó antes, se puede decir que se trata de una sola especie, el *Phragmites australis*. El funcionamiento metabólico de la especie se puede describir con bastante detalle a partir de información bibliográfica especializada en el tema y lo mismo se puede decir de sus hábitos de crecimiento.

La ubicación taxonómica dentro del reino vegetal es la siguiente:

Especie vegetal: *Phragmites australis*

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Orden: *Poales*

Familia: *Poaceae*

Subfamilia: *Arundinoideae*

Tribu: *Arundineae*

Género: *Phragmites*

Especie: *australis*

Algunas de sus características botánicas son que se trata de una planta perenne, con un tallo de tipo rizoma rastrero que tiene capacidad para crecer en la superficie buscando agua. En la parte aérea el tallo es un culmo, que puede alcanzar los 4m de altura y 2cm de diámetro, presentando una gran inflorescencia al final del tallo. Presenta fotosíntesis *C4* (Plant Metabolic Network, 2011), es decir, que fija el bióxido de carbono (CO_2) en forma de un compuesto de 4 carbonos (*malato*) y no en uno de tres carbonos (*gliceraldehido-3-fosfato*) como las plantas con la vía fotosintética *C3*. También de acuerdo con la información publicada en Plant Metabolic Network (2011), utiliza el Ciclo 2 como vía de asimilación de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) en el que la enzima *glutamato-sintasa* adiciona una molécula de amonio en la molécula de *L-glutamina* para formar el *2L-glutamato* utilizando el poder reductor ya sea de una molécula de *NADH* por medio de la *ferredoxina*, un citocromo asociado con la cadena de transporte de electrones. El amonio del suelo se transporta hacia la savia de las plantas a través de la membrana celular por medio de las proteínas transportadoras *HAT* y *LAT* (*high affinity transporters* y *low affinity transporters*, por sus siglas en inglés).

Las características ecológicas de la especie la ubican como una planta que habita en suelos húmedos en las orillas de cursos de agua y lagunas. En ríos se encuentra en los tramos más bajos, en los que la baja velocidad del curso de agua les permite enraizar. Puede soportar bastante bien niveles moderados de salinidad en el agua y en el suelo, necesitando suelos encharcados con profundidades de hasta 50cm, por lo que es posible encontrarlo en las proximidades de marismas y zonas más salobres. Los carrizales son ocupados por multitud de aves acuáticas que los utilizan para nidificar. Algunas de esas aves reciben el nombre de carriceras (como las pertenecientes al género *Acrocephalus*).

Desde el punto de vista etnobotánico se le emplea comercialmente para la fabricación de artesanías y es ampliamente utilizado para la cestería, construcción de instrumentos agrícolas y como barrera rompevientos. Sin embargo también se le considera como maleza por su agresividad para colonizar las orillas de ríos, canales y cuerpos de agua de poca profundidad. Los canales que conducen agua a grandes distancias pueden ser colonizados en sus márgenes por poblaciones de *Phragmites australis* ocasionando grandes pérdidas de agua por efecto de la evapotranspiración. Por ello se destinan cantidades importantes de recursos humanos y materiales para mantener estos canales en condiciones óptimas de conducción, evitando la pérdida del recurso agua, que en zonas áridas o con poca disponibilidad de agua de buena calidad para consumo humano, industrial o agrícola, puede representar importantes recursos económicos desaprovechados.

En cuanto a las funciones de la parte vegetal en el ambiente del humedal artificial, trabajos como el de Guido (2006), muestran que el oxígeno que ingresa por difusión a un humedal artificial a escala de laboratorio contribuye a mantener un potencial de reducción algo mayor en el sistema, comparado con

un sistema aislado de la atmósfera (-241 mV). El mismo autor menciona una diferencia importante en la degradación de la materia orgánica (medida como *DQO*) atribuida al oxígeno fotosintético aportado por la planta al incrementarse de 31% en un biorreactor sin planta y aislado de la atmósfera a 53% en uno con planta y también aislado de la atmósfera.

Las plantas absorben nitrógeno en cuatro formas importantes: como nitrato, como amonio, como compuesto orgánico (por ejemplo, aminoácidos) y como urea. El nitrato es la forma más abundante de nitrógeno utilizable y la fuente más importante para ellas. El amoníaco es a veces relativamente abundante, por ejemplo, donde está ocurriendo fijación de nitrógeno y en suelos húmedos anaerobios. Sin embargo, el amoníaco es tóxico y su absorción en grandes cantidades puede imponer un esfuerzo severo al metabolismo de los carbohidratos que proveen los esqueletos de carbono para desintoxicarse (vía la formación de aminoácidos). Por ejemplo, algunas plantas que crecen en suelos ácidos son capaces de desintoxicarse del exceso de amonio formando sales amoniacaes a partir de ácidos orgánicos (*asparagina* a partir de *ácido aspártico* o *glutamina* a partir de *ácido glutámico*). Cuando se suministran iones amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) en solución nutritiva, algunas plantas toman el anión o el catión dependiendo del *pH*. Si la solución nutritiva es básica tomarán NH_4^+ , eliminando H^+ al intercambiarlo, por lo que bajará el *pH* al formarse ácido nítrico (HNO_3) con el nitrato restante. Inversamente, si el *pH* es ácido, absorberán NO_3^- , eliminando OH^- al intercambiarlo, por lo que subirá el *pH* al formarse hidróxido de amonio (NH_4OH). Las plántulas y plantas muy jóvenes tienden a absorber NH_4^+ , en tanto que las maduras absorben NO_3^- . Esto puede estar relacionado con la mayor abundancia de carbohidratos y poder reductor en la planta madura con activa fotosíntesis. Ciertas plantas, como el arroz, que viven en suelos pantanosos anaerobios, requieren NH_3 o fertilizantes con nitrógeno orgánico reducido y no pueden vivir solamente con nitratos (Bidwel, 1979). El NH_3 aportado por la fijación biológica o por aplicación de fertilizantes amoniacaes se convierte rápidamente en nitrato por la acción de las bacterias del suelo, así que la mayor parte del nitrógeno útil para la planta está en forma oxidada de ion nitrato. Dado que casi todos los compuestos orgánicos nitrogenados contienen o se constituyen por nitrógeno completamente reducido (NH_4^+), la planta debe reducir los nitratos para poderlos utilizar en las síntesis orgánicas mediante la enzima *nitrato-reductasa*. En un primer paso ocurre la formación de nitrito mediante la siguiente reacción: $\text{NO}_3^- + \text{NADPH} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O}$. La posterior reducción del nitrito a amoníaco sigue la secuencia: $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NH}_3$. La inversión de energía para esta reducción es grande, dado que se requieren ocho electrones para reducir el nitrógeno del nitrato (N^{5+}) a nitrógeno amoniacal (N^{3-}). La reducción del nitrato es realizada por dos enzimas: *nitrato-reductasa* y *nitrito-reductasa* y en ambos casos la reducción se realiza de manera asociada a la oxidación del *NADH* y del *NADPH* acoplados a la enzima reductasa por el *FAD*, una enzima con molibdeno. La energía y el poder reductor para la reducción de los nitratos deben derivarse del metabolismo fotosintético (*NADPH*) o del oxidativo (*NADH* y *FADH*). Así, la acumulación masiva de nitrato puede sobrecargar demasiado la capacidad fotosintética y las reservas de hidratos de carbono (carbohidratos, coloquialmente) de la planta, dando como resultado un crecimiento vegetativo excesivo (Bidwel, 1979; Curtis y Barnes, 2000; Matheus y col., 2002).

La reducción del nitrato por las plantas es altamente estimulada por la energía luminosa. Las enzimas reductoras a menudo se han encontrado ligadas al *NADPH*, por lo que a la *nitrito-reductasa* se le ubica frecuentemente en los cloroplastos, aunque se sabe que también está presente en el citoplasma. En muchas plantas, el bióxido de carbono (CO_2) y el nitrato (NO_3^-) compiten por el poder reductor, particularmente a intensidades lumínicas limitantes. Se ha encontrado incluso que la reducción fotosintética del nitrato no se lleva a cabo en ausencia de CO_2 . Esto sugiere la necesidad de un metabolismo de los carbohidratos concomitante, aún cuando todo o parte del poder reductor se derive directamente del *NADPH* o de la *ferredoxina* reducidos en la fotosíntesis. En altas intensidades

lumínicas es muy probable que la adición de nitrato a una célula u hoja en fotosíntesis aumente la producción de oxígeno. Todas estas evidencias indican que la energía de reducción generada en la fotosíntesis se utiliza directamente para reducir los nitratos y nitritos. Esto no siempre es preciso pues muchas plantas reducen nitratos en la raíz y muchos organismos no fotosintéticos pueden reducir nitratos y nitritos. Además, esas reducciones pueden ocurrir en la oscuridad en organismos fotosintéticos con ciclo MAC (metabolismo ácido de las crassuláceas), asociada al metabolismo oxidativo (*NADH* y *FADH*) (Bidwel, 1979).

Por otro lado, hay evidencias que indican que la reducción de los nitratos puede ser estimulada en las plantas por la luz azul (381 a 500nm) y es posible que las *flavinas* se reduzcan fotoquímicamente o que las enzimas flavoproteínas necesiten activarse por la luz para su máxima eficiencia operativa. La *nitrato-reductasa* es fuertemente inducida por la energía luminosa, por la presencia de nitrato y, en algunas plantas, por ciertas hormonas como el ácido giberélico y las citocininas. A diferencia de muchas enzimas, las que median la reducción de nitratos y nitritos no parecen inhibirse por su producto final, el NH_3 . Por otra parte, el aumento de NH_4^+ en las células reduce la actividad de la *nitrato-reductasa* porque inhibe la producción de *NADPH* o *NADH* (Bidwel, 1979).

Quintero y col. (2005), realizaron un experimento en el que utilizaron agua residual tratada (ART), agua potable y tres soluciones hidropónicas para evaluar la nutrición de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Para la evaluación utilizaron los valores determinados de nutrientes en los tejidos de raíces, parte aérea y semilla. Las plantas tratadas con ART presentaron deficiencias de Ca, Fe, K, Mg, Mn y N; así como también exceso de Cu, Na, P y Zn, desarrollándose mejor que las plantas cultivadas con agua potable. Las soluciones nutritivas en sus diferentes concentraciones permitieron el desarrollo normal de la planta de frijol. Sobre el trabajo reportado por Quintero y col. (2005), se puede comentar que las deficiencias de nutrientes observadas al utilizar agua residual tratada se deben a su presencia normalmente escasa en esta agua, excepto en el caso del nitrógeno. El Fe se oxida con mucha facilidad precipitándose en forma de óxido e hidróxido, el Ca y Mg pueden tener un comportamiento similar, aunque son elementos que no se encuentran de manera abundante en las descargas de agua residual doméstica. El K es sumamente soluble, aunque su concentración en agua residual puede ser baja (menor de $50\text{mg}\cdot\text{KL}^{-1}$). El N es un elemento que puede encontrarse en abundancia en la composición del agua residual, pero puede estar en formas químicas no asimilables por la planta o puede no estar disponible por ser los microorganismos los que lo asimilen después de haberlos extraído de las moléculas orgánicas que lo contienen.

Las diferentes formas del fósforo son también de importancia para la nutrición de las plantas del humedal artificial. Los pirofosfatos (PPi , $\text{P}_2\text{O}_5^{4-}$) contenidos en la molécula de *ATP* se hidrolizan ($\text{P}_2\text{O}_5^{4-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HPO}_4^-$) por hidrólisis del *ATP* ($\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{PPi}$), liberando energía que es utilizada para las reacciones de síntesis. La energía liberada por estas dos reacciones es utilizada para las reacciones anabólicas, como se ha mencionado. Otro compuesto importante es el fosfito (PO_3^{3+}) que estimula la síntesis de fitoalexinas y enzimas hidrolíticas, sustancias importantes en la transmisión de señales de defensa de las plantas cuando son atacadas por microorganismos, principalmente hongos. Los fosfitos de amonio, potasio, sodio, magnesio y aluminio se utilizan como fungicidas efectivos que tienen la particularidad adicional de transportar elementos nutritivos a toda la estructura de la planta gracias a la gran movilidad del ion fosfito dentro del sistema vascular del vegetal. Así mismo, interviene en la síntesis de calosa, lignina y suberina que refuerzan las paredes celulares de las células y la protegen de la invasión de las hifas de los hongos fitopatógenos (Matheus y col., 2002; Payeras, 2008; Rubilar y Balbontin, 2009).

2.4.4. Análisis como sistema amortiguador

Desde un punto de vista práctico en la operación de un sistema de tratamiento de agua residual municipal, es de interés que los picos de concentración de contaminantes que entran puedan ser abatidos y la concentración final de contaminantes resultante se encuentre dentro de los límites de trabajo establecidos, es decir, que la descarga de agua residual tratada cumpla con el límite máximo establecido por la legislación correspondiente, aún cuando se presenten pulsos con concentraciones elevadas de contaminantes en el influente.

Los humedales artificiales tienen una capacidad amortiguadora de los picos de contaminantes debida a: 1) Procesos de adsorción sobre las superficies de roca o arena utilizados como soporte; 2) capacidad de consumo disponible por parte de la biomasa vegetal y la biomasa bacteriana; 3) capacidad de acumulación de materiales particulados que son posteriormente fragmentados por la macrofauna presente (lombrices, nemátodos, caracoles) y posteriormente digeridos por la microfauna (protozoarios y bacterias principalmente) y que contienen sitios de intercambio donde los contaminantes pueden ser adsorbidos.

2.5. Costos por el tratamiento de agua residual municipal

Toet y col. (2005) mencionan que los sistemas de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales municipales son de interés por su relativamente bajo costo de operación al no requerir de la inversión de energía para la aireación que utilizan los sistemas de lodos activados, ampliamente difundidos en el mundo. Además, pueden hacerse visualmente atractivos y actúan como refugios para la vida silvestre (animales: aves, insectos y peces, principalmente), lo que resulta de gran interés para su promoción comercial. Por otro lado, tienen cierta desventaja por la mayor superficie requerida, situación que puede revertirse al ser utilizados como áreas de actividades lúdicas o deportivas, ya que no representan mayores riesgos para su observación por el público interesado. Los humedales artificiales también resultan ser un sistema de interés para el tratamiento ulterior de las aguas residuales, para hacer un tratamiento de pulido del efluente, de manera que puede ser el último eslabón de un sistema de tratamiento en serie, que no demanda un tratamiento previo muy exigente.

Según especialistas (Weil, 1998), los humedales artificiales ocupan menos superficie por habitante servido en comparación con las lagunas de oxidación, que son una opción aplicable en las comunidades rurales. Este autor estima que un humedal artificial requiere de un tercio del movimiento de suelo requerido para servir a un mismo número de habitantes mediante un sistema con lagunas de oxidación. No puede decirse lo mismo con respecto a sistemas más intensivos como el de lodos activados o las zanjas de oxidación. Con respecto a la generación de lodos, también existe una ventaja relativa dado que en los humedales construidos los lodos son retenidos en la primera fracción de las celdas, donde se acumulan y compactan, de manera que cuando se realizan labores de mantenimiento se pueden manejar en forma concentrada y con poco contenido de humedad, facilitando su manejo y disposición final adecuados.

De acuerdo con Cueto (1993), al comparar los costos para el tratamiento de aguas residuales municipales por medio de sistemas convencionales, con los costos del tratamiento utilizando humedales artificiales, este último sistema conlleva menores costos hasta un punto de compensación que se ubica en un gasto de $18,925\text{m}^3\text{d}^{-1}$ (5 MGD), que equivale al gasto de aguas residuales generado por una población de 50,000 habitantes. Estos datos corresponden a una corriente previamente sometida a un tratamiento secundario, considerando una vida útil de 20 años, un costo de capital de US\$0.42 por litro (US\$1.60/galón) y con costos de mantenimiento y operación de US\$0.10 por litro (US\$0.40/galón), de acuerdo con la misma fuente.

Un reporte de la Cooperación Austriaca para el Desarrollo y la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (CAD, 2006) indica que, en un sistema de biofiltro, los costos de construcción están directamente relacionados con la distancia existente entre los bancos de materiales (para el lecho filtrante y para la impermeabilización) y el lugar donde se ubica la planta. Los costos unitarios dependen principalmente de la capacidad del sistema. Para comunidades cuyas poblaciones oscilan entre 800 y 9,000 habitantes (tomando en cuenta todos los biofiltros de la región centroamericana), los costos varían entre US\$ 33 y US\$ 60 per cápita. Estos costos aumentan en la medida de que los sistemas presenten una menor capacidad.

El mismo reporte (CAD, 2006) indica que, en cuanto a su operación y mantenimiento, el costo del sistema es menor cuanto mayor sea la población atendida. Así por ejemplo, en el sistema de biofiltro de San José Las Flores (Tabla 2.6), el costo de operación y mantenimiento es de US\$ 5.5 por persona al año, con una población atendida de 630 personas. En la planta piloto de Masaya, con un caudal equivalente al generado por 1,000 personas, el costo es de US\$ 4.8 por persona al año. Finalmente, en el sistema de biofiltro de La Providencia, León (Nicaragua), este costo es de US\$ 1.75 por persona al año, dado que la población conectada asciende a 2,782 habitantes.

2.6. Temas sobre tratamiento de agua residual en sistemas de humedales artificiales

En este apartado se presentan resultados de investigación sobre tratamiento de aguas residuales municipales utilizando humedales artificiales y que se han encontrado al revisar los reportes publicados en revistas científicas.

2.6.1. Remoción de nutrientes

El trabajo de Reddy y col. (1989) menciona que el transporte de oxígeno a través de los conductos de aire del tallo (tejido de aerénquima) y las raíces de macrofitas acuáticas hacia la zona radical soporta la oxidación del amonio (NH_4^+) y la formación de nitrato (NO_3^-) que por difusión se traslada a la zona anaerobia adyacente donde se realiza la desnitrificación. Para probar esa hipótesis se desarrolló un estudio en una cámara de crecimiento para determinar la transformación del amonio marcado aplicado ($^{15}\text{NH}_4^+\text{N}$) a nitrógeno gaseoso ($^{15}\text{N}_2$) en la zona radicular de tres especies de macrofitas acuáticas: *Oryza sativa* L., (arroz), *Pontederia cordata* L. y *Juncus effusus* L. Del total de nitrógeno amoniacal aplicado, el nitrógeno eliminado del sistema por la vía nitrificación-desnitrificación después de 18 días fue del 29% para la zona radicular de *Oryza sativa* y de 23% para cada una de las macrofitas acuáticas, *Pontederia cordata* y *Juncus effusus*. El flux máximo de $^{15}\text{N}_2$ fue de 102, 113 y 122 $\text{mg-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$ para *Juncus effusus*, *Oryza sativa* L., y *Pontederia cordata*, respectivamente. Para las tres especies de macrofitas acuáticas utilizadas, alrededor de la cuarta parte del nitrógeno añadido se eliminó del sistema en 3 a 4 semanas después de la aplicación. En las unidades donde no se colocó planta se perdió alrededor de un décimo en el mismo periodo.

Una fracción importante del gas formado (Reddy y col., 1989) por la desnitrificación en la rizosfera fue atrapado en el suelo antes de escapar a través de la planta. Las plantas macrofitas acuáticas actúan como un conducto para el transporte de los gases de la desnitrificación desde la zona de la raíz hasta la atmósfera. Los procesos responsables para este proceso de conversión en etapas fueron la difusión del amonio (NH_4^+) del suelo anaerobio hacia la rizosfera oxigenada, la oxidación microbiana del amonio en la rizosfera, la difusión del amonio de regreso hacia la zona anaerobia, la desnitrificación microbiana del nitrato (NO_3^-) a nitrógeno gas (N_2) y óxido nitroso N_2O y posiblemente la difusión de parte de este nitrógeno gaseoso y N_2O a través de los canales del aerénquima hacia la atmósfera.

Seyoum y Beutel (2008) determinaron la tasa de remoción de nitrato y el nivel de oxígeno disuelto (*OD*) en modelos de humedales a escala de mesocosmos operando en forma intermitente o por lotes (*batch*, en

inglés) con dos especies vegetales, *Typha* spp., y *Scirpus* spp., utilizando como material de empaque el sedimento de un humedal maduro que trata agua residual municipal. Las constantes cinéticas de primer orden para consumo de nitrato en volumen (kv) fueron $0.30d^{-1}$ para *Typha* spp., y $0.21d^{-1}$ para *Scirpus* spp., y las diferencias fueron estadísticamente significativas. Las tasas de remoción de nitratos fueron de alrededor de $500mg\text{-NL}^{-1}d^{-1}$ cuando se aplicaron niveles altos de nitrato ($>15mg\text{NL}^{-1}$), siendo 25% mayores en *Typha* spp., que en *Scirpus* spp. El nivel de oxígeno disuelto en *Scirpus* spp., se mantuvo entre 0.5 y $2.0mg\text{L}^{-1}$, mientras que para *Typha* spp., la variación se mantuvo debajo de $0.3mg\text{L}^{-1}$. En *Scirpus* spp., se observó variación diaria en el nivel de oxígeno disuelto con un pico en las tardes y un mínimo en las mañanas.

Hirota y Tsuchiya (2003) proponen un método indirecto para estimar de manera continua la tasa de flujo convectivo de gas en una plantación de *Phragmites australis*. La tasa de flujo obtenida por este método indirecto coincide con el obtenido mediante un método directo en el que el culmo es separado de la planta y luego conectado a un dispositivo medidor del flujo. El valor máximo para el flujo total del gas, considerando que hay una variación diaria debida a la presión dinámica diferencial en los culmos, fue de $26Lm^{-2}h^{-1}$ al mediodía. El flujo total diario de gas medido fue de $170Lm^{-2}d^{-1}$. El flujo de gases a través de las hojas y los culmos puede ser aún más eficiente que la difusión en muchas especies acuáticas. Este sistema de transporte no sólo provee de oxígeno para la respiración a las raíces y rizomas, sino que también transporta varios gases derivados del metabolismo y los libera hacia la atmósfera, como el metano (CH_4) generado en el sedimento.

Mander y col. (2008b) midieron flujos de óxido nitroso (N_2O), nitrógeno gaseoso (N_2), metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) en parajes riparios de *Alnus incana* (*grey alder*, su nombre en lengua inglesa) en el sur de Estonia y de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn (en lengua inglesa *black alder*) en Brandemburgo, Alemania. Los ecosistemas riparios (o ribereños) son conocidos por su poder en la purificación de agua; sin embargo, se conoce poco sobre sus ciclos internos, y en particular sobre las emisiones de gases. En este estudio se encontró que existe una relación entre la actividad en las áreas cuyo régimen hídrico se ha alterado y hay mayores flujos de CO_2 y N_2O , por lo que el potencial de efecto invernadero (*global warming potential*, *GWP*) de los parajes riparios estudiados fue relativamente alto.

Al hacer comparaciones entre los parajes poblados con *Alnus incana* y *Alnus glutinosa*, Mander y col. (2008b) encontraron que la mediana de los valores de nitrógeno gaseoso (N_2) y óxido nitroso (N_2O) fueron 700 a $1200kgN_2\text{-Nha}^{-1}\text{año}^{-1}$, 0.9 a $2.6kgN_2O\text{-Nha}^{-1}\text{año}^{-1}$ en *Alnus incana* y de 360 a $400kgN_2\text{-Nha}^{-1}\text{año}^{-1}$ y 0.2 a $0.7kgN_2O\text{-Nha}^{-1}\text{año}^{-1}$, para *Alnus glutinosa*. Las emisiones de N_2 fueron significativamente mayores en *Alnus incana* mientras que las emisiones de N_2O fueron superiores en *Alnus glutinosa*. Los sitios poblados con *Alnus glutinosa* actuaron como un sumidero para el metano (CH_4).

Los bosques de *Alnus* son sitios de mayor poder de fijación de nitrógeno (N_2) por su asociación simbiótica con actinobacterias del género *Frankia* (Mander y col., 2008b). Debido a las altas tasas de fijación de nitrógeno algunos autores han ubicado a los bosques de *Alnus* como fuentes de contaminación de cuerpos de agua con excesos de nitrógeno. Mientras que otros autores consideran que los bosques riparios de *Alnus* son ecosistemas que remueven eficientemente el nitrógeno del agua. Esta contradicción se debe a la zonación de los parajes de *Alnus* en el paisaje: En áreas ribereñas, el nitrógeno en exceso se elimina por desnitrificación, mientras que en condiciones de suelos más aireados o en localidades de mayor altitud se presenta la percolación hacia los flujos de agua subterránea.

El óxido nitroso (N_2O), uno de los gases con efecto invernadero, se incrementa en la atmósfera a razón de 0.3% anual, tiene una vida media en la atmósfera de 120 años aproximadamente, un *GWP* (*global*

warming potential) de 296 en relación con el CO₂ y, en un horizonte de 100 años, es responsable del 5% del calentamiento anticipado (Mander y col. 2008b). Las zonas de vegetación lacustre son generadoras potenciales de óxido nitroso. De manera semejante, los humedales y bosques lacustres pueden ser fuentes de metano, otro gas de invernadero que se incrementa en la atmósfera a razón de 0.8% anual. El metano en la atmósfera tiene una vida media de 8.4 años y en el horizonte de 100 años tiene un potencial de calentamiento global de 23, relativo al bióxido de carbono y es responsable de aproximadamente el 20% del calentamiento global anticipado.

En otro reporte, Mander y col. (2003), publican los resultados de mediciones con el método de cámara cerrada en campo por el método He-O para análisis de columnas de suelo inalteradas, en muestras tomadas entre octubre de 2001 y junio de 2002, de un humedal artificial que trata aguas residuales municipales. Los flujos promedio de N₂O-N, N₂-N y CH₄-C de varios puntos de muestreo fueron 0.1 a 59, 4.1 a 1,458 y -0.04 a 2,094 mgm⁻²d⁻¹, respectivamente. El flujo de N₂O fue significativamente más alto en las cámaras instaladas en la línea de entrada, mientras que el flujo de metano fue mayor en la entrada del sistema cuando se presentaron condiciones de mayor humedad. La nitrificación y desnitrificación fueron los procesos más importantes en la remoción de nitrógeno del sistema, los cuales contribuyeron con el 42.9% de la remoción total de este elemento.

Mander y col. (2005) midieron los flujos de óxido nitroso (N₂O), nitrógeno gaseoso (N₂) y metano (CH₄) en dos humedales construidos (CW) en Estonia utilizando los métodos de cámara cerrada y el de He-O en el período de octubre de 2000 a marzo de 2003. Las tasas de emisión para N₂O-N, N₂-N y CH₄-C en ambos humedales tuvieron grandes variaciones a escala temporal y espacial, con valores de 1 a 2600, 170 a 130,000 y -1.7 a 87,000 μgm⁻²h⁻¹, respectivamente. Los valores máximos para los tres gases se observaron en la estación cálida. Hubo una relación significativa entre las tasas de emisión y la profundidad del acuífero: Las emisiones de CH₄ y N₂ se incrementaron, mientras que las emisiones de N₂O decrecieron cuando el nivel del manto acuífero subió. Aún cuando las emisiones de N₂O y CH₄ de los humedales Loo y Kodijärve, en Estonia, fueron relativamente altas, su potencial para el calentamiento global (GWP) en un horizonte de 100 años no es significativo. Estas emisiones fueron de 4.5 a 16.3 toneladas de CO₂ equivalentes por hectárea por año en Kodijärve y de 12.1 a 17.3 Ton-CO₂ equivalentes-ha⁻¹año⁻¹ en Koo.

Los objetivos principales del trabajo de Mander y col. (2005), fueron: 1) Medir y comparar las tasas de emisión de óxido nitroso (N₂O), nitrógeno gaseoso (N₂) y metano (CH₄) en un humedal construido (HSSF-CW) para tratamiento de agua residual municipal; 2) Determinar los factores más significativos que controlan los flujos de óxido nitroso (N₂O), nitrógeno gaseoso (N₂) y metano (CH₄) en un humedal construido (HSSF-CW); y 3) Evaluar el potencial de calentamiento global de las emisiones de óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄) desde humedales construidos (HSSF-CW). El humedal utilizado se encuentra en Kodijärve, al sur de Estonia, y se utiliza para purificar el agua residual de un hospital con una población de 40 personas. Los procesos responsables de la generación de gases con efecto invernadero en los humedales construidos (HSSF-CW) incluyen la desnitrificación, que es la reducción microbiológica de NO₃-N a NO₂-N y en una segunda etapa a las formas gaseosas: NO, N₂O y N₂, y la generación de metano. La concentración de óxido nitroso en la atmósfera se incrementa con una tasa de 0.3% anual, tiene una permanencia de 120 años y un potencial de calentamiento global de 320 con respecto al CO₂ en un horizonte de 100 años y es responsable del 5% del calentamiento global anticipado. La concentración de metano en la atmósfera se incrementa con una tasa de 0.8% anual, tiene una permanencia de 12 a 17 años y un potencial de calentamiento global de 24.5 con respecto al CO₂ en un horizonte de 100 años y es responsable del 25% del calentamiento global anticipado.

Al contrario de lo que sucede en un humedal, un suelo bien drenado actúa como consumidor de metano atmosférico debido a su oxidación (emisión negativa) por la acción de bacterias oxidantes de amonio o las metanótrofas.

Durante el periodo del estudio el humedal se alimentó con cargas de 3,470, 2,414 y 373kg $ha^{-1}año^{-1}$ para DBO_7 , nitrógeno total y fósforo, respectivamente. La eficiencia para eliminar estos contaminantes fue satisfactoria para BOD_7 y fósforo total (66 a 95 y 63 a 96%, respectivamente). Sin embargo, la eficiencia para eliminar nitrógeno fue moderada, entre 12 y 85%.

Las concentraciones elevadas de nitrógeno amoniacal (30–65mg $NH_4^+-NL^{-1}$), inhibieron la segunda fase autotrófica de la nitrificación, de nitrito (NO_2^-) a nitrato (NO_3^-) (Kadlec y Knight, 1996). En este trabajo se encontró que existe correlación entre las concentraciones de nitrógeno amoniacal y nitrato en el agua y las emisiones de N_2O y N_2 , lo que refuerza la hipótesis de estos autores de que la mayor parte del óxido nitroso es generada durante el proceso de nitrificación.

Meuleman y col. (2003) estudiaron la remoción de nutrientes y materia orgánica en un humedal construido de flujo vertical en Holanda. Para ello realizaron un balance de agua y un balance de materia. El sistema tenía la especie vegetal *Phragmites australis* y estuvo constituido por cuatro compartimientos de 0.25ha cada uno, recibiendo el agua residual de un centro recreativo. Las cargas anuales estimadas fueron de 16,700kg- $DQO-ha^{-1}$, 6,700kg- BOD_5-ha^{-1} , 2,400kg-N- ha^{-1} y 335kg-P- ha^{-1} . Las eficiencias de remoción fueron elevadas para DQO (81%) y DBO_5 (96%). Casi la totalidad de *Escherichia coli* y bacteriófagos con ARN F-específico (>99%) fueron eliminados del agua residual. La eficiencia de remoción de nutrientes fue mucho más baja, con un 30% para el nitrógeno y 24% para fósforo. Las fracciones de nutrientes removidas por absorción de la planta y cosecha fueron del 15% del nitrógeno total y 10% del fósforo total de entrada, la fracción removida por desnitrificación fue de 8% del nitrógeno total de entrada y las fracciones removidas por sedimentación y acumulación de material orgánico en el suelo fueron 7% del nitrógeno total y 14% del fósforo total de entrada. Para aumentar la remoción de nitrógeno y fósforo recomiendan cosechar la biomasa de *Phragmites* en octubre y no en diciembre, como ellos lo hicieron. Este sistema de flujo vertical quedó saturado con fósforo después de 15 años de operación. Ellos recomiendan seleccionar materiales de empaque con alta capacidad para retener este elemento, como sedimentos arenosos y sólidos sedimentados de sulfato de aluminio utilizados en la potabilización del agua de suministro. También recomiendan colocar un material aislante debajo del sistema para evitar que el transporte de contaminantes alcance el agua subterránea.

Nádas y col. (2008) estudiaron el efecto de las elevadas concentraciones (EC) de CO_2 atmosférico durante 15 meses sobre la tasa de asimilación de CO_2 , contenido de carbohidratos y la actividad de enzimas importantes en la regulación del metabolismo de los carbohidratos (glucólisis y gluconeogénesis) sobre dos especies de dicotiledóneas dos especies de pastos (monocotiledóneas) de clima templado y con metabolismo $C3$: *Filipendula vulgaris* y *Salvia nemerosa*, dicotiledóneas; *Festuca rupicola* y *Dactylis glomerata*, monocotiledóneas. La adaptación de la vía fotosintética a la elevada concentración (EC) fue a la baja en *Festuca* y *Dactylis*, mientras que para *Filipendula* y *Salvia* la vía fotosintética se adaptó a la baja. Bajos valores de CO_2 hicieron que las hojas de *Festuca* y *Filipendula* acumularan almidón, mientras que *Filipendula* y *Dactylis* acumularon azúcares solubles. La EC disminuyó la actividad de la *pirofosfato-D-fructosa-6-fosfato-1-fosfotransferasa* ($PF6P$) evaluada con *fructosa-2,6-bifosfato* en *Filipendula* y *Dactylis* y la incrementó en *Festuca* y *Salvia*. El crecimiento bajo EC disminuyó la actividad de la *fosfofructoquinasa* ($PF6K$) en las cuatro especies, con el valor más bajo para *Salvia* y el más alto para *Festuca*. Con la prueba en medio *Fructosa-2,6-bifosfato*, EC incrementó la relación $PF6P/PF6K$, excepto en *Filipendula*. La *Fructosa-1,6-bifosfatasa* en el citosol fue inhibida por EC , con el mayor efecto sobre *Filipendula* y el menor sobre *Festuca*. La actividad de la

glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa decreció bajo las condiciones *EC* en las cuatro especies. Las relaciones de las actividades de *Fru-1,6-P2asa* a *PFK* y *PFK* sugieren que *EC* puede forzar el metabolismo de los azúcares hacia la glucólisis en las dicotiledóneas.

Pinney y col. (2000) presentan el perfil longitudinal de concentraciones de carbono orgánico disuelto (*DOC*) de un humedal artificial diseñado para tratar el efluente de una laguna que trata agua residual municipal ($DOC=15-25\text{mgL}^{-1}$) en Kingman, Arizona. El sistema, construido en 1992, cubre una superficie de 9ha y consiste de tres celdas (700 x 50m) conectadas en serie. Tienen una profundidad mínima de 0.2m y cuentan con una cubierta vegetal de *Scirpus* y *Typha*. Las aguas residuales de la ciudad de Kingman, Arizona, son tratadas en este sistema, que tiene un gasto de entrada de $3,710\text{m}^3\text{d}^{-1}$, un tiempo de residencia hidráulico de 10 días y una carga hidráulica de 4.1cmd^{-1} . El objetivo del sistema es reducir los niveles de nitrógeno ($10\text{mg-N-NO}_3\text{L}^{-1}$) para cumplir con los requerimientos de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para recarga de agua al acuífero. La laguna de tratamiento previa al humedal entrega un efluente con DBO_5 de 60mgL^{-1} y contenido de nitrógeno de 24 a $34\text{mg-N-NH}_4\text{L}^{-1}$. Los requerimientos de la EPA para el contenido de nitratos se cumplieron rutinariamente durante el tiempo que duró el estudio. Aunque se ha reportado que los humedales abaten los niveles de *DBO* carbonosa, el destino del carbono orgánico disuelto (*COD*), un parámetro que no se ha reglamentado en México ni en los Estados Unidos, a pesar de que tiene gran importancia ecológica e impactos sobre la salud humana, no se ha estudiado con detenimiento en estos sistemas.

Los mismos autores (Pinney y col., 2000) hacen una serie de consideraciones sobre el manejo y diseño de humedales para el tratamiento de aguas residuales municipales. Ellos comentan que los efluentes de los sistemas de tratamiento de aguas residuales pueden contener compuestos húmicos naturales (cresoles, fenoles y acetamidas), biopolímeros formados durante el tratamiento del agua, así como sustancias antropogénicas (por ejemplo compuestos farmacéuticos, xilenos y compuestos clorados) que permanecen inalterados durante el tratamiento del agua. Su presencia debe ser considerada para el diseño de sistemas de potabilización de agua para el consumo humano. La reutilización de aguas residuales como una fuente de agua para consumo humano ha ido creciendo en el mundo, especialmente en las regiones de clima seco, como el suroeste de los Estados Unidos, utilizando alta tecnología como la ósmosis inversa o baja tecnología o combinaciones de ambas como el tratamiento en humedales para la recarga de acuíferos.

Sus resultados (Pinney y col., 2000) sugieren que el porcentaje de carbono orgánico disuelto (*COD*) generado por la vegetación se incrementa con tiempos de residencia hidráulicos más largos, ocasionando que el *COD* total que sale del humedal sea sólo un poco menor que los niveles en el influente. Así mismo, la mayor parte del *COD*, con alto porcentaje de sustancias refractarias, pudiera ser generado por las plantas. Los resultados de remoción de carbono orgánico disuelto por el humedal muestran que hay una variación estacional, alcanzando un máximo de 47% en febrero y un mínimo de 9% en junio. Observaron así mismo que durante los meses de verano luego de una disminución de las concentraciones de *COD* en la primera mitad del humedal, las concentraciones volvieron a incrementarse hacia el final del humedal. La proporción de sustancias orgánicas lábiles disminuyó a lo largo del humedal.

En el mismo reporte de Pinney y col. (2000), se mencionan los resultados que obtuvieron de un experimento paralelo a escala de microcosmos, en una serie de humedales con tiempos de residencia hidráulicos entre 1.6 y 7.4 días utilizando vegetación del género *Typha*, durante 56 días. Aproximadamente entre 5 y 8% del incremento de biomasa de *Typha* fue solubilizado como carbono orgánico disuelto (*COD*), entre 45 y 60% permaneció en el biorreactor como biomasa acumulada y el restante 30 a 50% fue evacuado del sistema como carbono orgánico particulado o fue metabolizado por

los microorganismos. Aunque las concentraciones de carbono orgánico disuelto disminuyen muy poco a lo largo del sistema, su composición cambia considerablemente debido a la adición de carbono orgánico disuelto por la vegetación.

García (2002) presenta la evaluación de un sistema de humedales artificiales para el tratamiento de agua residual municipal en la comunidad de Mansilla de las Mulas, en la comunidad autónoma de León, España, constituido por seis celdas o células, dos de ellas empacadas con grava y sembradas con *Scirpus lacustris*, dos más con la misma especie creciendo en forma hidropónica (sin lecho rocoso) y las dos últimas empacadas con grava y sin especie de macrofitas creciendo en ellas, como control. El tiempo de residencia hidráulico en todas las células era de 3 días. Se determinaron los parámetros físico-químicos DBO_5 , DQO , nitrógeno y fósforo y de los parámetros bacterianos se evaluaron coliformes totales y fecales, estafilococos, *C. perfringens* y heterótrofos totales. La evapotranspiración estimada para las células con vegetación fue de 0.7mm d^{-1} en verano y de 0.32mm d^{-1} en invierno, lo cual corresponde a un 31% y 15% del caudal de entrada, respectivamente. No se encontró una correlación entre la presencia de plantas y la eliminación de materia orgánica medida como DBO_5 y DQO . La eliminación de amonio fue significativamente mayor en las celdas con planta (13%) lo mismo que la eliminación de fósforo (18%). El autor menciona cómo los procesos más importantes en la remoción de amonio, la nitrificación-desnitrificación, se ven aumentados por la actividad vegetal. Para la remoción de fósforo, supone el autor que los principales mecanismos de remoción fueron la adsorción al sustrato mineral y la precipitación química. Los porcentajes de remoción de microorganismos patógenos fueron superiores a 99% en los humedales con planta y sensiblemente menores en los humedales sin planta, el mecanismo parece estar relacionado con la generación de ambientes oxidantes y los exudados que llegan a contener ciertos componentes antibióticos. También menciona que fue mayor la eliminación de patógenos bajo flujo subsuperficial que en régimen de flujo superficial.

2.6.2. Pulimiento de efluentes tratados

El Hamouri y col. (2007) evaluaron el comportamiento de tres humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal (*horizontal subsurface flow constructed wetland, h-SSF-CW*) colocados a la salida de un biorreactor anaerobio de flujo ascendente en dos etapas (*two-step upflow anaerobic reactor, TSUAR*) y un sedimentador, para tratar 9.5m^3 de agua residual municipal por día. Dos humedales fueron sembrados, uno con *Arundo donax* y el otro con *Phragmites australis*, el tercero se utilizó como control sin sembrar. Las dimensiones de los humedales fueron $8 \times 3.5 \times 1\text{m}$ (largo x ancho x profundidad) y fueron empacados con una capa inferior de 40cm de una mezcla de grava de roca caliza (*limestone*, 2.0 a 14.0mm) 50% y arena gruesa (0.3 a 0.5mm) 50%, y una capa superior de 40cm de grava de roca caliza (12 a 14mm). Comentan que los humedales construidos en la actualidad se basan cada vez más en unidades híbridas que combinan flujo vertical con flujo horizontal para obtener una mejor remoción del nitrógeno, la llamada “configuración francesa”, con la que se han tratado aguas residuales crudas en filtros sembrados y colocados en serie. El porcentaje de pérdidas de agua expresado como flujo perdido / flujo aplicado fue de 11 y 17% (40 y 57mm d^{-1}), respectivamente, para *Arundo donax* y *Phragmites australis*, mientras que en el control, sin plantas, la pérdida de flujo obtenida, 2% (7mm d^{-1}), podría explicarse como agua evaporada durante la frecuente presencia de agua superficial en este lecho.

Los valores obtenidos para la constante cinética K (20°C), fueron 1.384, 1.284 y 0.904d^{-1} , respectivamente, para *Arundo*, *Phragmites* y para el control, lo que significa diferencias de 53 y 42%, respectivamente para *Arundo* y *Phragmites*, indicando claramente la ventaja de utilizar lechos con vegetación (El Hamouri y col., 2007). La demanda química de oxígeno bajó de 385 a 70mg L^{-1} (82%), a 85mg L^{-1} (78%) y a 130mg L^{-1} (66%) para *Arundo*, *Phragmites* y el control, respectivamente. Por su

parte, la demanda bioquímica de oxígeno se redujo de 220 a 40mgL⁻¹ (82%), a 45mgL⁻¹ (79%) y a 70mgL⁻¹ (68%) para *Arundo*, *Phragmites* y el control, respectivamente. Así mismo, el contenido de sólidos suspendidos totales (SST) disminuyó de 189 a 40mgL⁻¹ (79%), a 38mgL⁻¹ (80%) y a 74mgL⁻¹ (60%) para *Arundo*, *Phragmites* y el control, respectivamente. El contenido de nitrógeno total (NTK) disminuyó de 60 a 53mgL⁻¹ (11%), a 55mgL⁻¹ (8%) y a 5mgL⁻¹ (8%) para *Arundo*, *Phragmites* y el control, respectivamente. El contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₄) disminuyó de 63 a 58mgL⁻¹ (8%), a 57mgL⁻¹ (9%) y a 60mgL⁻¹ (5%) para *Arundo*, *Phragmites* y el control, respectivamente.

Chi y col. (2004) emplearon un humedal construido de flujo subsuperficial (*subsurface flow constructed wetland, SSFCW*) para el pulimiento de un efluente de una granja porcina previamente tratado, con cargas orgánicas variables utilizando tres tiempos de residencia hidráulicos: 8.5d (etapa 1), 4.3d (etapa 2) y 14.7d (etapa 3). Las eficiencias expresadas como porcentajes de reducción de los cuatro contaminantes principales fueron: Sólidos suspendidos (SST) 96-99%, demanda química de oxígeno (DQO) 77-84%, fósforo total 47-59% y nitrógeno total (NT) 10-24% (Tabla 2.8).

Tabla 2.8. Niveles de contaminantes en el influente y efluente de un humedal construido para el post-tratamiento del agua residual pre-tratada de una granja porcina (Chi y col., 2004).

Parámetro	Etapa 1			Etapa 2			Etapa 3		
	Influente	Efluente	Eficiencia	Influente	Efluente	Eficiencia	Influente	Efluente	Eficiencia
SST	519 (256)	21 (14)	96	519 (271)	6 (4)	99	873 (480)	10 (6)	99
DQO	1160 (367)	190 (62)	84	1160 (319)	264 (62)	77	1115 (300)	198 (61)	82
DBO ₅	411 (170)	39 (28)	91	394 (68)	56 (16)	86	343 (52)	28 (12)	92
NH ₄ ⁺ -N	185 (27)	144 (19)	22	184 (41)	183 (28)	1	161 (41)	151 (22)	6
NO ₂ ⁻ -N	0.06 (0.02)	0.03 (0.01)	50	0.07 (0.10)	0.04 (0.02)	43	0.04 (0.01)	0.03 (0.01)	25
NO ₃ ⁻ -N	3.7 (3.5)	1.7 (2.2)	54	1.7 (1.6)	1.1 (1.1)	35	3.4 (1.6)	1.2 (1.0)	65
NTK	204 (34)	156 (17)	24	216 (47)	196 (31)	9	197 (56)	159 (24)	19
NT	208 (34)	158 (16)	24	218 (47)	197 (32)	10	200 (54)	160 (25)	20
PO ₄ ³⁻ -P	28.1 (4.5)	19.2 (4.3)	32	28.9 (5.1)	19.8 (4.3)	31	28.7 (6.7)	17.6 (2.8)	39
PT	40.3 (15.8)	21.2 (3.3)	47	39.4 (8.5)	20.9 (4.6)	47	43.6 (9.1)	18.0 (2.8)	59
POR	-345 (12)	-310 (17)	- ^e	-349 (11)	-316 (10)	-	-323 (22)	-296 (16)	-
OD	0.12 (0.03)	0.1 (0.01)	-	0.15 (0.05)	0.13 (0.05)	-	0.14 (0.04)	0.13 (0.03)	-

^aSST, sólidos suspendidos totales; DQO, demanda química de oxígeno; DBO₅, demanda química de oxígeno; NTK, nitrógeno total Kjeldahl ; NT, nitrógeno total; PT, fósforo total; POR, potencial de óxido-reducción; OD, oxígeno disuelto

^bUnidades en mgL⁻¹, excepto para POR (mV)

^cDesviación estándar entre paréntesis

^dRE eficiencia de remoción (%)

^eNo aplica

Aunque los mecanismos físicos fueron predominantes para la remoción de los contaminantes, la contribución de los mecanismos microbiológicos se incrementó a lo largo del experimento alcanzando 48% de la DQO eliminada y 16% del nitrógeno total removido en la última fase del experimento (Chi y col., 2004). El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) sólo realizó una mínima parte de la remoción total de contaminantes. El tratamiento previo que recibió el efluente que se alimentó al humedal construido, consistió en sedimentación primaria, digestión o degradación anaerobia (TRH=20d), oxidación aerobia (TRH=6d) y sedimentación final (TRH=6h). El volumen del humedal construido era de 22m³ y estuvo

empacado con grava de 1.27 a 1.91cm de diámetro. Los valores medidos para los contaminantes del efluente tratado (Tabla 2.8) expresados como cargas de contaminantes en las tres fases de la experimentación fueron: Carga hidráulica de 6, 12 y 3.5cmd⁻¹, SST de 312, 624 y 303kgha⁻¹d⁻¹, DQO de 700, 1,370 y 390kgha⁻¹d⁻¹, DBO₅ 247, 474 y 119kgha⁻¹d⁻¹, NT 125, 262 y 69kgha⁻¹d⁻¹, PT (fósforo total) 24, 47 y 15kgha⁻¹d⁻¹ y NA (nitrógeno amoniacal) de 110, 220 y 60kgha⁻¹d⁻¹, para las etapas 1, 2 y 3, respectivamente.

Park y col. (2008) evaluaron la eficiencia de humedales construidos de flujo superficial con plantas de *Acorus* y *Typha*, en el tratamiento del efluente de una planta de tratamiento para la remoción de compuestos orgánicos (materia orgánica disuelta), aniones (nitratos, sulfatos y fosfatos), metales (Cu, Ni, Zn, Fe y Mn) y metaloides (As), en Damyang, Corea. La secuencia de tratamiento fue la siguiente: Planta de tratamiento → humedal con *Acorus* → humedal con *Typha* → efluente. El tiempo de residencia hidráulico fue de 6h, con un flujo de 1,800m³d⁻¹, el volumen fue de 468m³ (dimensiones: 30, 120 y 0.13m). La hidrofobicidad y la hidrofiliidad de las muestras fueron determinadas utilizando resinas XAD-8 y XAD-4. De esta manera los materiales orgánicos hidrofóbicos quedaron adsorbidos en XAD-8, los transfílicos o fracción intermedia quedó adsorbida en XAD-4 y los materiales orgánicos hidrofílicos no fueron retenidos en las resinas. Las mediciones de carbono orgánico disuelto mostraron incrementos entre la salida de la planta de tratamiento y la salida de los humedales. Esto lo atribuyeron a las sustancias orgánicas que percolan los sedimentos del humedal y a la descomposición de la vegetación de los humedales. La caracterización de los materiales orgánicos reveló que hubo formación de componentes húmicos (compuestos aromáticos) durante el periodo invernal, como lo demuestran los análisis con resinas, en los que se encontraron mayores proporciones de compuestos hidrofóbicos durante esa época del año. Los nitratos fueron controlados satisfactoriamente debido probablemente a la actividad bacteriana desnitrificante bajo condiciones relativamente anóxicas de acuerdo con los valores de potencial de óxido-reducción de +186mV en el humedal con *Typha*, comparados con +480 y +570mV para el efluente de la planta de tratamiento y el humedal con *Acorus* respectivamente. Los niveles de sulfatos y fosfatos fueron abatidos en el humedal con *Typha*, mientras que en el humedal con *Acorus* sus niveles de entrada y salida fueron estadísticamente iguales. Las concentraciones de cobre, níquel y zinc se redujeron, las concentraciones de hierro y manganeso se incrementaron y la concentración de arsénico permaneció sin cambio.

2.6.3. Agua residual doméstica

En un trabajo de investigación reportado por Dusek y col. (2008), se midió el potencial redox (E_H) en un humedal construido de flujo subsuperficial de flujo horizontal para el tratamiento de agua residual municipal en la República Checa. El sistema, diseñado para 150 personas equivalentes (PE), sembrado con *Phragmites australis*, se puso en operación en 2001. El sistema tenía altas eficiencias en la remoción de contaminación orgánica con 82% de la DBO₅ y 74% de la DQO. La remoción de nitrógeno total también fue alta, con un valor de 62.6% (24.5mgL⁻¹ en el influente a 10.3mgL⁻¹ en el efluente), de fósforo 75.4% (4.9 a 1.7mgL⁻¹) y de sólidos suspendidos de 52%. Las concentraciones de contaminantes orgánicos medida como DBO₅ y DQO decrecieron rápidamente en los primeros 2m, desde la entrada. El potencial redox (E_H) se midió a dos profundidades, 0.2 y 0.5m de la superficie del lecho a distancias regulares medidas desde la entrada. Se utilizaron electrodos de platino, se hicieron lecturas continuas cada 15 minutos por un período de 27 meses, de 2002 a 2004.

Al sistema están conectados actualmente 100PE (personas equivalentes), el influente pasa por un tratamiento previo que consiste en cribado grueso, filtro de arena y el paso por una cámara séptica Imhof (Dusek y col., 2008). A continuación el flujo se divide en dos caudales que se distribuyen en dos lechos

paralelos empacados con grava (10 a 20mm) y con el fondo sellado con arcilla natural del mismo sitio. Las zonas de entrada y salida estuvieron rellenas con rocas de 50 a 100mm. El gasto de entrada normal fue de $0.12 \pm 0.1 \text{ L s}^{-1}$, con máximos de 1 L s^{-1} durante precipitaciones intensas. El tiempo de residencia hidráulico fue de 8 a 16 días.

Dusek y col. (2008) comentan también que los aceptores de electrones son reducidos en los suelos anaerobios en el siguiente orden: NO_3^- , MnO_2 , $\text{Fe}(\text{OH})_3$, SO_4^{2-} y CO_2 . Las condiciones anaerobias se definen por la combinación de la ausencia de oxígeno molecular (O_2) y un potencial redox menor de +400mV; potenciales redox menores de +400mV son indicadores de acción desnitrificante; en potenciales redox menores de +100mV se da la reducción de los iones Fe^{3+} ; con potenciales redox menores de -100mV se da la reducción de sulfatos y de sustancias orgánicas en condiciones anaerobias y anóxicas; y potenciales redox debajo de -200mV indican la actividad de las bacterias metanogénicas, respectivamente. Cuando la actividad bacteriana es intensa se pueden presentar valores de potencial redox menores que los esperados para el par redox que funciona en el sistema. Las determinaciones del potencial redox en el suelo son de utilidad para caracterizar los pares redox en condiciones reductoras, es decir, el sustrato utilizado, causado por el agotamiento del oxígeno molecular (O_2) como consecuencia de la saturación con agua. El valor del potencial redox en los suelos sobre-saturados con agua de los humedales es afectado por el nivel de agua, la actividad microbiana, la presencia de plantas y las concentraciones de aceptores de electrones.

El potencial redox se midió, como ya se dijo, con electrodos de platino (Dusek y col., 2008). Los electrodos se insertaron en tubos de plástico de 10.0cm de diámetro ranurados y se instalaron verticalmente a dos profundidades (0.2 y 0.5m) en el lecho a lo largo del trayecto, entre la entrada y la salida. El potencial redox se midió a distancias de 1, 3, 5, 7 y 13m de la entrada del lecho. Diez electrodos de platino (fabricados por EDT, Turnv, República Checa) se conectaron individualmente a las terminales altas. El electrodo de referencia (Ag/AgCl) se conectó a las terminales bajas de los canales del registrador de datos (*data-logger* M4216, Fiedler, Electronics for Ecology, República Checa). El potencial redox se midió de manera continua desde junio de 2002 hasta septiembre de 2004, cada 15 minutos. Se utilizó el software Most 2.3 (Fiedler, Electronics for Ecology, República Checa) para el manejo del registrador de datos. Como base de datos se utilizó MySQL 5.0 (MySQL AB, Suecia) para el almacenamiento de la información y su análisis. La base de datos fue manejada a través del explorador de Internet utilizando phpMyAdmin 2.10. Los valores de potencial redox fueron corregidos en relación con el electrodo normal de hidrógeno sumando +200mV. Los valores de potencial redox no se corrigieron a $\text{pH}=7$ porque el pH en mezclado (muchos pares redox en el agua de los poros) era muy cercano a 7 (6.87 ± 0.25) durante todo el periodo de estudio. Las puntas de los electrodos de platino se cepillaron para remover cualquier cubierta formada en su superficie y se limpiaron con solución de $\text{HCl}-\text{HNO}_3$. De esta manera no se tuvo evidencia de “envenenamiento” de las puntas de platino (Pt). El funcionamiento de los electrodos de platino fue verificado con la solución estándar *POR* ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] + \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ en solución amortiguadora de fosfato). Los flujos de agua entrante y saliente se midieron con una sonda ultrasónica US1000 (Fiedler, Electronics for Ecology, República Checa). Las temperaturas se midieron con sensores modelo Pt100.

Para marcar la estacionalidad de las mediciones se definió como periodo frío de noviembre a abril y como periodo cálido entre mayo y octubre (Dusek y col., 2008). Los valores promedio mensuales máximos de E_H se encontraron en abril y octubre, y los valores mínimos fueron los de junio y julio. Los valores de E_H fueron muy semejantes a 0.5m de profundidad a distancias de 1, 3, 5 y 7m de la entrada, mientras que el valor de E_H se incrementó en 250mV a la distancia de 13m de la entrada en relación con la distancia de 7m. Se encontró el mismo comportamiento a 0.2m de profundidad. Sin embargo, estos

valores contradicen los resultados obtenidos para las concentraciones de contaminantes en el agua del espacio poroso a lo largo del lecho de *Phragmites australis*. Durante todo el periodo de medición, el valor de E_H fue significativamente mayor a 0.2m que a 0.5m de profundidad. Los valores de E_H a 0.2 y 0.5m estuvieron altamente correlacionados para todas las distancias excepto a 13m de la entrada. Se encontró que el potencial redox puede cambiar muy rápidamente (en un lapso de dos horas) desde valores francamente anaerobios (-200mV) hasta valores de condiciones anóxicas u óxicas (+500mV) y viceversa. Estas fluctuaciones tan rápidas fueron atribuidas principalmente a la acción de la planta, por los exudados orgánicos emitidos por las raíces y por su capacidad para transportar oxígeno al suelo a través del tejido de aerénquima.

Karathanasis y col. (2003) evaluaron el comportamiento de 12 celdas de humedales construidos que tratan el agua residual de una zona habitacional en Kentucky, Estados Unidos. Cada humedal trata el agua residual generada por cinco familias y pasa antes por uno o dos tanques sépticos. Los humedales fueron de cuatro tipos de acuerdo con la vegetación: Dos con monocultivo *Typha latifolia* L., y *Festuca arundinacea* Schreb., respectivamente, un tercero con policultivo y el cuarto fue un sistema sin vegetación. Tres celdas estuvieron sembradas con *Typha latifolia* L., tres con *Festuca arundinacea* Schreb., tres con policultivo (*Iris pseudachorus* L., *Canna* x. *Generalis* L.H. Bail, *Hemerocallis fulva* L., *Hibiscus moscheutos* L., *Scirpus validus* Vahl., y *Mentha spicata* L.). Todos los humedales descargan en canales con un recorrido de 46 a 74m en el terreno natural antes de su descarga a un cuerpo receptor, proporcionando un tratamiento adicional. El flujo que ingresaba en las celdas fue de $0.85\text{m}^3\text{d}^{-1}$ en promedio de todos los humedales (0.57 a $1.42\text{m}^3\text{d}^{-1}$). Las celdas de tratamiento tienen un lecho de 41 a 46cm de profundidad empacado con grava caliza (*limestone*) de 2.5 a 6cm de diámetro. Durante un año se tomaron muestras del efluente con una frecuencia mensual y en ellas se analizaron los siguientes parámetros: Coliformes fecales (*CF*), streptococos fecales (*SF*), demanda bioquímica de oxígeno (*DBO₅*) y sólidos suspendidos totales (*SST*). La remoción de bacterias fecales fue mayor de 93% en todos los sistemas y no hubo diferencias significativas entre ellos. Los sistemas con vegetación mostraron mayores eficiencias para la remoción de *DBO₅* (<75%) y sólidos suspendidos totales (>88%) que en los sistemas sin vegetación (63 y 46% respectivamente). A lo largo del año los sistemas con policultivo y *Typha* mostraron una eficiencia ligeramente mayor para todos los parámetros evaluados (ver Tabla 2.9) y, además, se mostraron menos susceptibles a las variaciones estacionales. Los sistemas sin vegetación mostraron poca eficiencia en la remoción de *DBO₅* y *SST*, por lo que no los recomiendan para el tratamiento de esos efluentes.

Karathanasis y col. (2003) comentan que los sistemas de humedales artificiales son normalmente buenos para la remoción de bacterias patógenas, con eficiencias superiores a 95%. Sin embargo, su eficiencia varía de acuerdo a la actividad microbiana, carga hidráulica, tiempo de residencia hidráulico, tipo de vegetación y variaciones estacionales (con deterioro del desempeño durante el invierno).

Los autores Karathanasis y col. 2003, comentan también, que el desempeño de los humedales con *Typha* mejora si se cosecha la biomasa aérea al final de la estación de crecimiento o antes del inicio de la primavera sin permitir que se descomponga sobre la superficie del sistema. Los humedales con *Festuca arundinacea* Schreb., tienen una zona radicular más limitada que *Typha*, lo que limita el área disponible para que se forme una biopelícula además de que existe mayor proliferación de predadores de las bacterias. Esto reduce su eficiencia. Los humedales sin vegetación fueron eficientes en la remoción de *CF* y *SF*, pero poco eficientes en remover *DBO₅* y *SST*.

Tabla 2.9. Demanda bioquímica de oxígeno y sólidos suspendidos totales contenidos en el influente y efluente de 12 celdas de humedales artificiales utilizados en el tratamiento de agua residual doméstica (Karathanasis y col., 2003).

Tratamiento	DBO ₅ (mgL ⁻¹)			SST (mgL ⁻¹)		
	Influente	Efluente	%	Influente	Efluente	%
<i>Typha</i>	392	81	79	1310	136	90
	(96)	(43)	(5)	(1376)	(114)	(7)
Policultivo	271	69	75	2102	202	90
	(96)	(35)	(3)	(1788)	(178)	(6)
<i>Festuca</i>	230	58	75	814	97	88
	(125)	(28)	(4)	(908)	(92)	(7)
No plantado	274	102	63	418	226	46
	(157)	(30)	(5)	(284)	(162)	(10)

Desviación estándar entre paréntesis

Mander y col. (2008a) midieron los flujos de N₂O (óxido nitroso), CH₄ (metano), CO₂ (bióxido de carbono) y N₂ (nitrógeno gaseoso) en dos humedales construidos utilizados para el tratamiento de agua residual doméstica en Estonia, el de Kodijärve (*HSSF*) que trata el agua residual de un hospital equivalente a 40 personas y el de Koo, que trata el agua residual doméstica de aproximadamente 300 personas equivalentes. Los humedales están poblados predominantemente con *Phragmites australis* y *Scirpus sylvaticus*. El flujo de CO₂-C fue significativamente bajo (0.6g-Cm⁻²d⁻¹) en uno de los lechos de flujo horizontal (*horizontal subsurface flow, HSSF*) de un humedal híbrido (*hybrid CW*), mientras que las unidades de flujo horizontal (*HSSF*) y flujo vertical (*vertical subsurface flow, VSSF*) tuvieron emisiones de 1.7 y 2.0g-Cm⁻²d⁻¹. También se calcularon los balances de masa para C y N en uno de los humedales de flujo horizontal (312.5m²) para 2001 y 2002. El ingreso de carbono total en este sistema fue similar en 2001 y 2002 (772 y 719kg-C-año⁻¹, respectivamente), pero se distribuyó de manera diferente en los flujos de salida en cada año. En 2001, los principales flujos de entrada fueron el suelo y la acumulación microbiana (663kg-C-año⁻¹) o sea, 85.8% del carbono total que ingresó, seguido por la producción primaria neta de la parte vegetal del sistema (NPP) que fue de 10.2% (78.7kg-C-año⁻¹) y por el carbono que ingresó en la corriente de agua residual (3.9%, o sea 30.1kg-C-año⁻¹).

En el año 2002 (Mander y col., 2008a), el 55.7% de la entrada anual de carbono correspondió a la producción primaria neta de la parte vegetal, mientras que el incremento almacenado en el suelo constituyó el 28.5% (204.9kg-C-año⁻¹) y el carbono que ingresó en el agua residual fue el 15.7% (112.9kg-C-año⁻¹). El principal flujo de salida de carbono fue generado por la respiración en el suelo, incluyendo bacterias del suelo y de los detritus, así como la respiración de raíces y rizomas, y fue de 120kg-C-año⁻¹ (97.5%) y 230kg-C-año⁻¹ (98.2%) en 2001 y 2002 respectivamente. El flujo medido de CH₄-C permaneció por debajo de 0.1% del flujo total de salida del carbono.

Se encontró (Mander y col., 2008a) que el lecho de flujo subsuperficial horizontal es un gran sumidero de carbono al acumular 649 y 484kg-C-año⁻¹ por humedal (carbono secuestrado) en 2001 y 2002 respectivamente. Sin embargo, las acumulaciones negativas en el suelo y en la biomasa microbiana en los años subsiguientes indican que disminuyó la cantidad de carbono secuestrado. El promedio anual de remoción de nitrógeno del sistema fue de 38 a 59kg-N-año⁻¹ (46 a 48% de la carga inicial de nitrógeno total). El flujo más importante de nitrógeno en el balance fue la generación de nitrógeno gaseoso (N₂) que fue de 22.7kg en 2001 y 15.2kg en 2002, seguido por el nitrógeno asimilado por la parte subterránea de las plantas, que fue de 2.3 y 11.9kg-N-año⁻¹ en 2001 y 2002, y la asimilación de nitrógeno por encima de la superficie del suelo, que fue de 2.3 y 11.9kg-N-año⁻¹, respectivamente, para 2001 y 2002. Las emisiones de óxido nitroso fueron bajas, con valores de 0.37 a 0.60kg-N-año⁻¹.

Mander y col. (2008a) comentan también que numerosos estudios han demostrado que la desnitrificación es un proceso importante en los humedales construidos y naturales utilizados como zonas de amortiguamiento para los ecosistemas. La relación entre N_2O a N_2 es un indicador sobre las cantidades de fertilizantes nitrogenados aplicados que han sido transformadas al peligroso N_2O y cuánto se ha transformado al inocuo N_2 . Esta relación, al igual que en sistemas agrícolas, en humedales construidos es una característica de la calidad del proceso de desnitrificación. Las tasas de desnitrificación en suelos son influenciadas también por la disponibilidad de carbono y nitrato, el tiempo de residencia y el *pH*. El metano (CH_4) es generado en suelos y sedimentos anaerobios, mientras que los suelos bien drenados actúan como sumideros del metano atmosférico por su oxidación, que realizan las bacterias oxidadoras del metano o metanótrofas. El balance de carbono se ha estimado en muchos sistemas naturales de humedales alrededor del mundo, la mayoría de los cuales están localizados en las regiones boreales y árticas, que se ha calculado, poseen alrededor de un tercio del inventario global de carbono.

2.6.4. Tratamiento de agua residual industrial

Olgún y col. (2008) evaluaron el comportamiento de humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal (*subsurface flow constructed wetlands, SSF CW*) sembrados con *Pontederia sagittata*, para el tratamiento de vinazas provenientes de la destilación de etanol en la cuenca del río Papaloapan, México (Tabla 2.10). Se construyeron cuatro unidades de fibra de vidrio de 3 x 0.3 x 0.5m (largo x ancho x profundidad), se empacaron con grava de roca volcánica de 4cm y porosidad de 50%, el volumen de trabajo fue de 180L y la profundidad de la columna de agua de 0.4m. Cuatro unidades experimentales se sembraron con *Pontederia sagittata* con una densidad de 31.1 plantas por metro cuadrado y dos unidades más se utilizaron como control sin sembrar, para evaluar la biopelícula. Las seis unidades se alimentaron continuamente con la vinaza de la destilación de la fábrica “La Gloria” (Veracruz, México) diluida en relación 1:115 (v/v) con agua de la red de agua potable, ajustando su *pH* a 6.0. Se evaluaron dos tiempos de residencia, 2.5 y 5 días. De esta manera, se tuvo que las cargas orgánicas aplicadas fueron 47.26 y 94.83gDQOm⁻²d⁻¹, para los tiempos de residencia hidráulicos de 5 y 2.5d, respectivamente. La tasa de crecimiento vegetal, con base en biomasa seca, fue de 0.027±0.014d⁻¹ del día 15 al 29 y de 0.04±0.019d⁻¹ del día 23 al 29. Al final del período experimental la tasa se redujo a 0.001±0.0005d⁻¹.

Tabla 2.10. Parámetros de desempeño de un humedal artificial experimental utilizado para tratar vinazas de la destilación de jugo de caña de azúcar (Olgún y col., 2003).

Parámetro	TRH=2.5d		TRH=5d	
	Influyente	Con planta	Con planta	Sin planta
DQO (mg-O ₂ L ⁻¹)	1181.5	229.0 (80.6%)	233.4 (80.2%)	707.8 (40.1%)
NTK (mg-NL ⁻¹)	25.9	6.9 (73.4%)	6.2 (76.0%)	11.5 (55.5%)
NO ₃ ⁻ (mg-NL ⁻¹)	6.6	2.8 (56.0%)	2.6 (58.7%)	3.4 (45.6%)
NH ₄ ⁺ (mg-NL ⁻¹)	3.8	3.7 (2.0%)	3.4 (10%)	6.9 (-84.3%)
SO ₄ ²⁻ (mg-L ⁻¹)	75.1	22.9 (69.5%)	23.6 (68.6%)	32.24 (57.0%)
Potasio (mgL ⁻¹)	163.8	166.0 (-1.38%)	165.8 (-1.3%)	166.9 (-1.9%)

Olguín y col. (2008) atribuyeron la reducción en la concentración de nitrógeno amoniacal en los tratamientos con planta a la extracción ejercida por los mismos vegetales, mientras que en las unidades sin planta el nitrógeno amoniacal se incrementó en 100% por arriba de la concentración de entrada hasta la salida del sistema. La baja en la concentración de sulfatos se atribuyó al fenómeno, ya conocido en estos sistemas, que cuando se alimentan altas concentraciones de sulfatos y las condiciones redox son favorables, una fracción importante del carbono orgánico eliminado puede estar relacionado con la reducción de sulfatos. Ellos consideran que en el caso de las concentraciones de potasio, donde no se encontraron diferencias entre los niveles a la entrada y a la salida del sistema, no se observó una absorción importante por parte de las plantas. Sin embargo, el potasio contenido en el efluente será una característica favorable en este caso, en el que se utilizará para el riego agrícola en cultivos de caña de azúcar.

En los humedales de flujo sub-superficial la materia orgánica puede ser oxidada, tanto a nivel de la lámina de suelo óxica, cerca de la zona radicular, donde el oxígeno puede ser el aceptor final de electrones, favoreciendo la nitrificación, así como en la lámina de suelo reductora donde el nitrato actúa como el primer aceptor terminal de electrones, facilitando la desnitrificación (Mitsch y Gosselink, 2000). Así mismo, el trabajo de Reddy y col. (1989) confirma esa hipótesis al establecer que el oxígeno necesario para la nitrificación fue transportado a través del tejido de aerénquima de las macrofitas acuáticas hacia la zona radicular con la consiguiente difusión del nitrato (NO_3^-) formado hacia la zona anaerobia adyacente, donde se lleva a cabo la desnitrificación. Ellos demostraron que el flujo máximo de nitrógeno (flux) por este proceso para *Juncus effusus*, *Oryza sativa* (arroz) y *Pontederia cordata* fue de 102, 113 y 122mg-Nm⁻²d⁻¹. También se ha reportado que los humedales de flujo sub-superficial horizontal proporcionan buenas condiciones para la desnitrificación, pero la nitrificación del amonio se ve muy limitada (Vymazal, 2002; Vymazal y Kröpfelová, 2008; Vymazal, 2011).

Salzman y col. (2001) calcularon la evaporación de lagunas que reciben las aguas de proceso procedentes de la fundición de aluminio. La evaporación se calculó mediante un balance de energía con la siguiente ecuación:

$$F = -p_a L_v C_w U_{10} (q_{10} - q_s) \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde F es la energía perdida, p_a es la densidad del aire, L_v el calor latente de evaporación, C_w el coeficiente de transferencia de calor latente, U_{10} la velocidad del viento a 10m sobre la superficie del suelo, q_{10} la humedad específica del aire a 10m sobre la superficie del suelo, y q_s la humedad específica del aire al nivel de la superficie del agua (suponiendo que está saturado). Se han sugerido valores para C_w de 1.9×10^{-3} y de 1.45×10^{-3} . El segundo de estos valores, sugerido por Hicks (1972), citado por Salzman y col. (2001), fue el que se utilizó ya que con el primer valor se encontró un nivel mayor de error. El volumen total de agua perdida del sistema se calculó con la siguiente fórmula:

$$\Delta V = F A t / p_w L_v \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

donde A es el área de la laguna de evaporación, p_w la densidad del agua y t el tiempo en segundos. Combinando ambas fórmulas se obtiene

$$\Delta V = -(p_a / p_w) A C_w U_{10} t (q_{10} - q_s) \quad (\text{Ecuación 2.3}).$$

La temperatura a 10m de altura se utilizó para extrapolar el dato de presión parcial de saturación del aire al nivel de la superficie del agua.

El trabajo de Lovera y col. (2006) presenta resultados sobre la eficiencia en un pequeño humedal construido en la comunidad Lacabamba, en Perú. Este sistema recibe aguas residuales municipales en mezcla con aguas residuales de la extracción y beneficio de metales. Se trata de un sistema

convencional, tanque Imhoff, modificado para albergar el sistema de humedal construido. Tiene un tiempo de residencia hidráulico de 4.28 días, un caudal de diseño de $3.0\text{m}^3\text{d}^{-1}$ y una carga hidráulica de $0.05\text{m}^3\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$. Sobre la eficiencia en remoción de materia orgánica encontraron un porcentaje de remoción (57.7 a $30.0\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$), la concentración de nitrógeno amoniacal se incrementó de 4.83 a 5.45mg-NL^{-1} y la concentración de fosfato disminuyó de 2.2 a 1.2mg-PL^{-1} , también se presentan datos de concentraciones de metales: Plomo, cadmio y cromo, que fueron determinados para evaluar si era posible reutilizar el efluente para el riego de hortalizas. Los niveles presentes en el efluente para estos metales: $\text{Pb}=26.0\text{mgL}^{-1}$, $\text{Cd}=3.5\text{mgL}^{-1}$, $\text{Cr}=0$; con plomo y cadmio rebasando el límite que marca la legislación local (13.0 a 26.0mgL^{-1} para plomo y 2.4 a 3.5mgL^{-1} para cadmio). Por lo anterior, se desistió del uso de esta agua para el riego de hortalizas, pero se le destinó al riego de plantas ornamentales y forestales.

Por su parte, Liquidano (2008) presenta una evaluación de la mega-planta de tratamiento construida en el Municipio de Villa Canales en la cuenca del río Villalobos, para el tratamiento del agua residual municipal e industrial generada por la ciudad de Guatemala, Guatemala antes de su descarga al lago Amatitlán. El proceso consta de un tratamiento primario con rejillas para retener cuerpos extraños, un tratamiento secundario que consta de cinco lagunas, tres anaerobias al inicio y dos facultativas posteriormente, con un volumen conjunto de $67,291.56\text{m}^3$. El sistema recibe el aporte de $73\text{m}^3\text{s}^{-1}$, de los cuales $40.0\text{m}^3\text{s}^{-1}$ llegan a través del río Villalobos y $30.0\text{m}^3\text{s}^{-1}$ provenientes del Municipio de Villa Canales, con un tiempo de residencia hidráulico de 3 días. El tratamiento terciario se realiza en un sistema de biofiltros o humedales artificiales en cuatro módulos poblados con la especie *Typha* spp. recolectada en el lago de Amatitlán, donde se encuentran poblaciones silvestres de la especie. Los módulos tienen 226m de longitud y el agua circula a través de los cuatro módulos en serie, es decir, con un recorrido total de 904m. El promedio de la *DQO* en el influente fue de $332.43\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$, la salida de las lagunas anaerobias presentó una *DQO* promedio de $170.94\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$, el nivel de *DQO* promedio en el ingreso a los biofiltros fue de $166.67\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ (aclarando que en este punto ingresa un caudal de agua tratada proveniente de Villa Canales), la concentración de *DQO* en el efluente de la planta fue de $121.0\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$. La planta presenta una eficiencia global de 63% en la remoción de *DQO*, con un 27.4% de remoción por los biofiltros. Cabe señalar que la concentración de nitrógeno se incrementó de 24.39 a 27.91mg-NL^{-1} , el fosfato también tuvo un incremento de 11.94 a 16.98mg-PL^{-1} y la *DBO*₅ disminuyó de 156.0 a $56.81\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ entre el influente y el efluente de la planta.

2.6.5. Tratamiento de agua de escurrimiento de áreas agrícolas

Weaver y col. (2004) realizaron un experimento incubando muestras de suelo de 30g obtenidas de un humedal construido en la región del Delta del Río Misisipi, EEUU. Los suelos fueron tratados con $84\mu\text{gkg}^{-1}$ de atrazina, en un caso, y con $68\mu\text{gkg}^{-1}$ de fluometurón en el otro caso, ambos herbicidas sintetizados a partir de ^{14}C . La incubación se realizó al nivel de saturación (88%) en un caso y en condiciones de inundación en el otro (al suelo saturado al 88% se adicionó agua hasta rebasar con 1cm la superficie de la muestra). Bajo condiciones saturadas el fluometurón se transformó metabólicamente a desmetilfluometurón (DMF) con una vida media de 25 a 27 días, mientras que bajo condiciones de inundación la vida media del fluometurón fue de más de 175 días. La atrazina desapareció rápidamente, tanto en condiciones saturadas como inundadas, con una vida media aproximada de 23 días, aunque sólo 10% de la atrazina se mineralizó hasta CO_2 . Sólo un 9 a 12% de la atrazina se mineralizó, mientras que la mayor parte se incorporó al suelo. El estudio mostró el potencial para la disipación de estos herbicidas en los suelos del humedal y en particular el efecto diferencial de las condiciones de inundación sobre el destino de los mismos. El potencial redox de los suelos en el momento de la obtención de muestras fue menor en las áreas con suelos perturbados y con menor densidad de vegetación (+27 a +54mV),

comparado con el de las áreas más densamente pobladas de vegetación (+340 a +353mV); sin embargo, estas diferencias fueron disminuyendo con rapidez durante la incubación y después de dos semanas todas tenían potenciales redox menores de +100mV. El contenido de nitrógeno del suelo de las áreas perturbadas (0.35%) fue menor que el de las áreas pobladas de vegetación (0.51%).

La Oficina de Manejo del Agua del Sur de Florida (*South Florida Water Management District*) ha construido un gran sistema de humedales (*stormwater treatment areas, STA*) para reducir las concentraciones de fósforo total en las escorrentías de terrenos agrícolas antes de que éstas ingresen a los Everglades (Chimney y Pietro, 2006). Un elemento importante de la remoción de nutrientes y almacenamiento en estos sistemas es la incorporación de los nutrientes a las macrofitas acuáticas y la incorporación de la biomasa en los sedimentos. Sin embargo, la descomposición de esta biomasa vegetal hace que los nutrientes reingresen a la columna de agua, reduciendo la eficiencia del sistema de tratamiento (*STA*). Para evaluar el desempeño del *STA* realizaron experimentos durante el verano (julio a septiembre) y a largo plazo (12 meses, febrero a febrero), en los que midieron las tasas de descomposición y liberación de componentes químicos de las macrofitas acuáticas en un humedal construido en el sur de Florida. Los promedios de las constantes cinéticas de primer orden para la descomposición de la materia orgánica para las especies con que se trabajó fueron en orden decreciente: 0.0568d^{-1} para *Najas/Ceratophyllum*, 0.0508d^{-1} para *Pistia*, 0.0191d^{-1} para *Typha* en área sumergida y 0.0008d^{-1} para *Typha* en condiciones aireadas. Las tasas de descomposición fueron mayores durante el experimento de verano que durante el experimento de largo plazo, lo que sugiere un efecto de la temperatura. Las tasas de descomposición se correlacionaron negativamente con las relaciones molares C:N y C:P, y con el contenido de celulosa y lignina de los tejidos. Las mismas tasas se relacionaron positivamente con el contenido de N y P en los tejidos. Los nutrientes que ingresan al sistema son en gran parte incorporados a los tejidos vegetales, los cuales eventualmente se incorporan al suelo, descomponiéndose a tasas variables. Esto hace que buena parte de esos nutrientes permanezcan inmovilizados en los tejidos que van siendo degradados, de manera que las tasas de descomposición de la materia orgánica juegan un papel muy importante en el funcionamiento de estos hábitats acuáticos. Los procesos de degradación incluyen 1) fragmentación mecánica por el pastoreo animal, intemperismo y otros, 2) lixiviación y/o producción por autólisis de materia orgánica disuelta, y 3) digestión de materiales lábiles y recalcitrantes por bacterias y hongos.

Una descripción detallada del proyecto de restauración que se lleva a cabo para proteger la región de humedales del estado de Florida, Estados Unidos, conocida como Everglades, se puede encontrar en Chimney y Gofort (2006). El proyecto es coordinado y financiado por los gobiernos federal y estatal e incluye obras en las áreas de humedales utilizadas para reducir los nutrientes de escurrimientos de terrenos agrícolas, con una superficie de 18,000ha, como medida preventiva para evitar la entrada de dichos nutrientes a la zona de los Everglades. Una superficie de 1,544ha (*Everglades Nutrient Removal Project, ENRP*) se ha destinado como un humedal prototipo en el que el Distrito de Manejo de Agua del Sur de Florida realiza trabajos de investigación, con fines de generación de datos para el manejo a largo plazo de esa gran zona de humedales (Everglades).

El trabajo de Chimney y col. (2006) presenta los resultados de una serie de mediciones para obtener los perfiles de temperatura, oxígeno disuelto, *pH*, conductividad eléctrica y la radiación fotosintéticamente activa (RFA), en sitios característicos para los tres tipos de vegetación: Emergente, flotante y sumergida, y con base en un ciclo anual. Ellos estimaron la fuerza de estratificación termal (*strength of thermal stratification*) a partir de la resistencia termal relativa al mezclado. Midieron también la variación térmica diaria en la superficie y el fondo de un sitio con espejo de agua y la de un sitio cubierto de vegetación. Los sitios con espejo de agua fueron prácticamente isotermales, mientras que los sitios con

vegetación estuvieron siempre estratificados térmicamente. La temperatura máxima del agua superficial ($>35^{\circ}\text{C}$) ocurrió en sitios con vegetación sumergida donde gran parte de la energía luminosa absorbida por hojas y tallos, se refleja como calor. La concentración de oxígeno disuelto fue uniformemente baja ($<4\text{mgL}^{-1}$) en sitios con vegetación flotante y sumergida, lo cual se asoció con el sombreado, elevada demanda bioquímica de oxígeno y limitada reaireación en la superficie. En sitios con espejo de agua, el bajo nivel de oxígeno fue asociado a la elevada demanda de oxígeno disuelto de los sedimentos. Las mayores concentraciones de oxígeno fueron medidas en sitios con vegetación sumergida. El *pH* de la columna de agua no mostró estratificación y tuvo valores neutros en sitios con espejo de agua, con vegetación emergente y con vegetación flotante, mientras que fue marcadamente estratificado en sitios con vegetación sumergida, donde el estrato superficial mostró valores superiores a 9.0. Valores altos de oxígeno disuelto y de *pH* en el estrato superficial en sitios con vegetación sumergida correlacionaron consistentemente con alta intensidad fotosintética. La conductividad eléctrica se incrementó en el fondo de sitios con vegetación emergente y con vegetación sumergida, pero no en sitios con espejo de agua o con vegetación flotante. La radiación fotosintéticamente activa se redujo fuertemente en todos los sitios debido al sombreado y/o a la absorción por el carbono orgánico disuelto. El coeficiente de extinción lumínica fue marcadamente superior en sitios con algún tipo de vegetación que en sitios con espejo de agua. El pico de irradiancia cambió a mayor longitud de onda (538-643nm), mientras que las longitudes de onda cortas ($<400\text{nm}$) y larga ($>700\text{nm}$) fueron marcadamente atenuadas a 60cm de la superficie. El seguimiento a largo plazo en un sitio con vegetación mostró periodos de estratificación térmica inversa y anuló las variaciones diarias de temperatura cerca del fondo, en comparación a sitios con espejo de agua (sin vegetación acuática).

Navarrete y Oliva (2002) comentan que los humedales naturales, como los manglares, son importantes productores de material orgánico, cuyo detritus puede ingresar a las cadenas alimenticias del bentos de los sistemas costeros y su influencia puede alcanzar la línea costera y extenderse hasta las áreas de arrecifes. En un estudio realizado en un ecosistema costero encontraron que la materia orgánica producida se estimó en $2.61\text{Tonha}^{-1}\text{año}^{-1}$ de materia seca, correspondiendo el 99.83% a material proveniente de las hojas, 0.15% a flores y 0.01% a otros órganos de la planta. Éste es un nivel bajo de producción de biomasa comparado con otros sitios de México como en el Golfo de México donde se reportan $12.63\text{Tonha}^{-1}\text{año}^{-1}$ en Veracruz, $6.14\text{Tonha}^{-1}\text{año}^{-1}$ en Tabasco y $12.52\text{Tonha}^{-1}\text{año}^{-1}$ en Campeche, o también el de $11.0\text{Tonha}^{-1}\text{año}^{-1}$ en la costa del Océano Pacífico.

2.7. Reportes sobre tratamiento de agua residual en sistemas de humedales artificiales

La bibliografía especializada en tratamiento de agua residual (Henry y Heinke, 1999; Tchobanoglous y col. 1991; Winkler, 1998), proporciona valores promedio de contaminantes presentes en agua residual de diferentes orígenes, así como descripciones y ejemplos de los efectos nocivos que generan sobre los ecosistemas naturales y la salud humana.

En los sistemas de humedales construidos, como el caso que se trata en este trabajo de tesis, se encuentran presentes grupos de bacterias que representan diferentes ambientes o nichos ecológicos. La parte superior de la columna de agua presenta condiciones ambientales en las que predomina el metabolismo aerobio, ya sea autótrofo (por la presencia de iones amonio utilizado como fuente de energía y CO_2 disuelto procedente de la degradación de la sacarosa, como fuente de carbono inorgánico) o heterótrofo (que utiliza O_2 como aceptor de electrones y sacarosa como fuente de carbono y energía). De los procesos de oxidación que se realizan en presencia de oxígeno molecular, O_2 , se generan formas químicas que son utilizadas por grupos de bacterias que en condiciones anóxicas son capaces de utilizar nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y sulfatos (SO_4^{2-}) como aceptores de electrones en la degradación

heterotrófica de moléculas orgánicas. En humedales construidos maduros, es decir, que han permanecido en operación durante periodos prolongados, de uno a dos años o mayores (Caselles y col., 2007; Tanner y col., 2001), se presenta también el metabolismo anaerobio metanogénico, en el que el CO_2 o el ion acetato (CH_3COO^-) pueden ser los aceptores de electrones reduciendo el carbono del CO_2 a metano (CH_4) y los carbonos del acetato a metano y CO_2 (Brock y Madigan, 1993; Henry y Heinke, 1999; Mander y col., 2005, 2008a,b; Tchobanoglous y col., 2001; Winkler, 1998).

Los humedales construidos para el tratamiento de agua residual municipal tienen la característica de ser ambientes complejos, en los que tienen lugar procesos físico-químicos y microbiológicos que generan las condiciones necesarias para las transformaciones químicas de los contaminantes que se desea eliminar de la fase líquida. El oxígeno que ingresa a la columna de agua puede ser de origen atmosférico, mediante el proceso de difusión (leyes de Henry y Fick), pero también se tiene la generación de oxígeno a partir de la molécula de agua en el proceso de fotosíntesis y su posterior transporte hacia la rizosfera a través del tejido de aerénquima de la especie vegetal (Guido, 2006; Hirota y Tsuchiya, 2003; Mitsch y Gosselink, 2000; Reddy y col., 1989; Seyoum y Beutel, 2008; Vymazal, 2002, 2011; Vymazal y Kröpfelová, 2008). Los contaminantes aportan los sustratos orgánicos e inorgánicos sobre los que se sustenta la actividad de los diferentes grupos de bacterias que habitan en el sistema, como se menciona en los párrafos anteriores. Además, se presentan fenómenos de tipo físico-químico, principalmente la adsorción de contaminantes sobre las superficies de intercambio del lecho rocoso y de los materiales orgánicos particulados, con efectos notorios sobre todo en la retención de fósforo y de nitrógeno amoniacal (Busnardo y col., 1992; CAD, 2006; Chi y col., 2004; Hunter y col., 2001; Mantovi y col., 2003; Orduña, 2002; Orduña y col., 2002; Poach y col., 2004) incluyendo también la retención de contaminantes orgánicos de tipo hidrofílico e hidrofóbico (Park y col., 2008). El proceso de evapotranspiración desempeña un papel importante en la disminución del volumen de agua que sale del sistema (El Hamouri y col., 2007; Salzman y col., 2001).

Los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales, aprovechan las vías metabólicas conocidas en los microorganismos, para la degradación de los contaminantes orgánicos hasta su mineralización y también aprovechan las transformaciones químicas que los microorganismos pueden realizar sobre formas químicas de algunos nutrientes considerados como contaminantes por los efectos nocivos que pueden generar si se les conduce hasta cuerpos de agua naturales. En este conjunto se encuentran principalmente el nitrógeno y el fósforo, que son nutrientes limitantes del desarrollo de organismos fotosintéticos en cuerpos de agua naturales, como algas y plantas acuáticas superiores que, al crecer en exceso, aceleran la velocidad de acumulación de sedimentos, fenómeno conocido como eutrofización.

Los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales, son el resultado de la experiencia acumulada en la generación de condiciones adecuadas que favorezcan las vías metabólicas pertinentes para remover los contaminantes de cada tipo de agua residual en particular (Bartram y col. 2003; Bidwel, 1979; Brock y Madigan, 1993; Curtis y Barnes, 2000; Matheus y col., 2002; Tchobanoglous y col., 1991; Schlegel, 2000; Winkler, 1998).

Dentro del entorno del desarrollo sustentable, se ha comentado que el tratamiento de agua residual es una práctica que ayuda a hacer un uso más eficiente del recurso agua. El caso particular del sistema de humedales artificiales recobra interés por los bajos costos de operación y la menor dependencia del aporte externo de energía, comparado con sistemas de tipo más intensivo. Considerando también que la Organización de Naciones Unidas (ONU) ha establecido metas para aumentar la cobertura de los servicios de sanidad, reduciendo a la mitad el número de personas sin acceso a ellos (meta para el año 2015) y que en el año 2025 toda la población rural tenga acceso a servicios de sanidad (ONU, 2011),

este tipo de sistemas de tratamiento de agua residual pueden resultar de particular interés práctico, ya que las zonas rurales requieren un gran número de pequeñas plantas de tratamiento, por tener menor cobertura y donde la baja densidad de población podría hacer a estos sistemas más atractivos. El manejo de los residuos generados por el crecimiento vegetativo también puede facilitarse en esas zonas si se les aplica un tratamiento adecuado (reducción de tamaño) y se utilizan en el acolchado orgánico de cultivos agrícolas (Orduña, 1994). El manejo de sitios bajo saneamiento (USDA, 2011) puede ser un campo de aplicación de esta tecnología, siempre que el tipo de contaminantes en cada caso así lo permitan, ya que muchas de las veces estos sitios tienen problemas de contaminación de suelos y acuíferos al mismo tiempo.

Las experiencias reportadas en trabajos de investigación sobre el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, mencionan algunas de las ventajas y de las desventajas que presentan los sistemas de humedales artificiales. Algunas ventajas de su implementación provienen de sus relativamente bajos costos de construcción y operación, presentan la posibilidad de utilizar materiales pétreos o sustratos y especies vegetales oriundos de la región donde se construyen, evitando costos excesivos de transporte y potenciales daños ecológicos por la introducción de especies exóticas. Estos sistemas tienen cierta ventaja en cuanto a la factibilidad para la instalación de sistemas de control de parámetros, ya sean electrodos selectivos (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-}), *pH*, potencial redox, *DQO* en línea, *DBO₅*, análisis microbiológicos, entre otros, que proporcionen información que ayude al operador a mantener un mejor control de las condiciones del proceso de tratamiento. En el caso particular de este trabajo, se contó con un controlador de potencial redox con capacidad para ingresar las lecturas en una hoja de datos de Excel (Microsoft), con opción para enviarlas a un teléfono móvil y para operar una bomba auxiliar que dosifica el reactivo asignado, para mantener el parámetro dentro de los límites predeterminados, incluyendo un intervalo de histéresis.

Algunas desventajas del sistema de humedales con respecto a sistemas intensivos son la generación de mayores cantidades de residuos sólidos por la poda de la vegetación y el sustrato de desecho en el momento de la sustitución del material de empaque (biosólidos), el cual debe someterse a un tratamiento posterior de tipo biológico a alta temperatura (40°C o mayor), tratamiento alcalino, deshidratación o incorporación al suelo, para cumplir con la normativa aplicable (NOM-052-SEMARNAT-2006 y NOM-004-SEMARNAT-2002) y poder obtener la constancia de no peligrosidad correspondiente. Actualmente se está ensayando la técnica de resonancia magnética nuclear en una aplicación para dar seguimiento a la acumulación de partículas en el espacio poroso del sistema, con la finalidad de ayudar a programar las actividades de cambio de lecho (Morris y col., 2011). Otra desventaja del sistema es la mayor superficie de terreno necesaria por habitante servido, aunque este inconveniente puede ser minimizado en las zonas rurales donde la baja densidad de población, la mayor disponibilidad de terrenos (en algunos casos) y el relativamente menor valor por unidad de superficie, los puede convertir en una opción práctica (CAD, 2006; EPA, 1999; Tchobanoglous y col., 1991).

Algunos investigadores han evaluado sistemas de humedales artificiales a escala de laboratorio (Bolaños y col., 2008; Busnardo y col., 1992; Hubard y col., 2004; Hunter y col., 2001; Padrón, 2005; Rodríguez y Durán de Bazúa, 2006;), a escala piloto (Kemp y George, 1997) y en escala real (CAD, 2006; Huddleston y col., 2000; Mantovi y col., 2003; Poach y col., 2004) para el tratamiento de agua residual de origen industrial y municipal. En estos trabajos se evalúan diferentes condiciones de operación (TRH, régimen hidráulico, nivel de agua en el sistema, tipo de sustrato, profundidad del lecho, tipo de vegetación, configuraciones en serie y en paralelo, control de sedimentos, entre otros) y la eficiencia es evaluada en términos de varios parámetros de interés medioambiental, entre los que se mencionan:

DQO, COT, COD, DBO₅, DBO₇, NTK, NH₄⁺, NO₃⁻, SST, PT, OD, pOR, análisis microbiológicos: *NMP*, coliformes fecales, estreptococos fecales y conteo heterótrofo en placa.

En el apartado 2.4 se hace una descripción del sistema considerando el caudal que ingresa, las entradas de contaminantes y las transformaciones durante el proceso y finalmente las salidas. El funcionamiento físico, afectado principalmente por la temperatura, presión atmosférica, precipitación pluvial, y materiales de empaque en relación con el patrón de flujo del agua residual a lo largo del tratamiento (EPA, 1999; Tayade y col., 2005). La descripción de los procesos bioquímicos que tienen lugar dentro del sistema considera los hábitos de crecimiento microbiano y el factor de selección dado por el tiempo de residencia hidráulico. Estos factores en conjunto con las características del agua residual determinan los grupos de especies bacterianas que se pueden encontrar dentro de este tipo de sistemas de tratamiento de agua residual (Knapp y Graham, 2007). Los procesos bioquímicos que realiza la parte vegetal ejercen también un importante efecto sobre el ambiente que impera en la zona de la rizosfera y en los estratos inferiores de la columna de agua. Así mismo, tiene efecto directo sobre la composición del agua residual tratada que sale del sistema (Bidwel, 1979; Curtis y Barnes, 2000; Guido, 2006; Matheus y col., 2002; Payeras, 2008; Pinney y col., 2000; Plant Metabolic Network, 2011; Quintero y col., 2005; Rubilar y Balbontin, 2009). En el apartado 2.5 se comentan análisis de costos reportados, comparando el sistema de humedales artificiales con sistemas intensivos y con lagunas de oxidación, para el tratamiento de aguas residuales municipales, señalándose también algunos aspectos de compatibilidad con los ecosistemas naturales, así como con algunas actividades humanas, como las deportivas, las actividades lúdicas y su compatibilidad con actividades educativas (CAD, 2006; Cueto, 1993; Toet y col., 2005; Weil, 1998).

En el apartado 2.6 se comentan algunos reportes de investigación en los que se ha seguido con detalle la transformación y destino de algunos contaminantes nitrogenados, carbonados y microorganismos patógenos para el ser humano (García, 2002; Hirota y Tsuchiya, 2003; Kadlek y Knight, 1996; Mander y col. 2005, 2008b; Meuleman y col., 2003; Pinney y col., 2000; Reddy y col., 1989; Seyoum y Beutel, 2008). Se comentan los trabajos de Nádas y col. (2008) y Pinney y col. (2000), en los que se estudia la contribución de la fijación de CO₂ atmosférico por la fotosíntesis al incremento de las concentraciones de contaminantes carbonosos, en particular los no lábiles, en la corriente de agua residual tratada.

Karathanasis y col. (2003), evaluaron la eficiencia de remoción de carga orgánica y sólidos suspendidos totales (*SST*) en tres humedales artificiales con diferente tipo de vegetación (Tabla 2.9), que trata el agua residual de una zona habitacional en Kentucky, EEUU. También encontraron alta eficiencia de remoción de patógenos para cada uno de los sistemas, que es motivo de estudio de muchos trabajos de investigación sobre humedales construidos.

En uno de los trabajos de investigación consultados sobre humedales artificiales en los que se hicieron determinaciones del elemento potasio, Olguín y col. (2008), mostraron que hubo una alta eficiencia en la remoción de materia orgánica (medida como *DQO*), nitrógeno total Kjehldal (*NTK*) y sulfatos. Sin embargo, la concentración de potasio se mantuvo prácticamente sin cambio entre el influente y los efluentes de los humedales con *TRH* de 2.5 y 5.0 días para el control sin sembrar (*TRH* = 5 días) en los que se trataron las vinazas altamente diluidas provenientes de la destilación de etanol en la cuenca del río Papaloapan, México.

En el trabajo de Salzman y col. (2001), se hace un balance hídrico mediante un balance de energía para un sistema de lagunas de evaporación, que reciben la descarga de agua residual de una industria de fundición de aluminio. Al confrontar los datos reales con las estimaciones del modelo matemático,

llegan a la conclusión de que una parte del flujo que ingresa al sistema se está infiltrando hacia el subsuelo, poniendo en peligro la calidad del agua subterránea.

El trabajo de Lovera y col. (2006), reporta los resultados de la evaluación de un humedal artificial que procesa aguas residuales en una región minera en Perú, en la que la presencia de metales, Pb y Cd, en el efluente impiden su uso para el riego de hortalizas, por lo que se destina al cultivo de plantas ornamentales y forestales.

En el trabajo de Liquidano (2008), se reportan los resultados de la evaluación de un sistema de humedales construidos de gran tamaño, diseñado para tratar el agua de 942,348 habitantes de la ciudad de Guatemala. Es interesante señalar que en esta instalación se utilizó vegetación nativa del género *Typha* sp., recolectada en el lago Amatitlán, donde se descarga en última instancia el efluente tratado. La eficiencia de remoción de carga orgánica, medida como *DQO*, del sistema entero fue de 63%, aunque en las concentraciones de nitrógeno y fósforo se encontraron incrementos sensibles, posiblemente debidos a la saturación del sistema y al fenómeno de la evapotranspiración, haciendo más concentrada la solución a la salida del sistema.

Weaver y col. (2004), evaluaron la mineralización de dos herbicidas, atrazina y fluometurón, en sedimentos de un humedal natural que recibe agua de escurrimiento de terrenos agrícolas, mostrando que las condiciones variables de inundación y saturación del suelo que se presenta en los humedales, modifica la velocidad de degradación (expresada como vida media) de los herbicidas procedentes de las actividades agrícolas.

El trabajo de Chimney y Pietro (2002), muestra que la vegetación de los humedales es capaz de inmovilizar grandes cantidades de nitrógeno y potasio procedentes de las escorrentías generadas por la precipitación pluvial sobre las áreas agrícolas del sur de Florida.

Navarrete y Oliva (2002), realizaron estimaciones de los aportes de materiales carbonados al suelo y al agua de una zona de manglar, en la costa del Golfo de México, procedentes de tejidos de tallos, hojas y flores que al morir caen al suelo y sus componentes se mineralizan, reincorporándose a los respectivos ciclos biogeoquímicos o saliendo del sistema en formas gaseosa, particulada o disuelta.

La capacidad para remoción de carga orgánica en humedales artificiales puede ser aprovechada para evitar los efectos adversos sobre la vida silvestre cuando las aguas residuales tratadas se descargan dentro de cuerpos de agua naturales (Hemond y Fechner, 2000). El trabajo reportado por Hunter y col. (2001), no mostró diferencias estadísticamente significativas entre unidades a escala mesocosmos con vegetación y sin vegetación, para la remoción de carga orgánica. Ellos obtuvieron eficiencias de 67% para las unidades con planta y de 74% en las unidades sin planta, para la remoción de carga orgánica evaluada como carbono orgánico total (*COT*). En el trabajo de Jung y col. (2010), se reportaron las más elevadas eficiencias de remoción de carga orgánica cuando la relación C:N fue de 5:1. En el trabajo de Dusek y col. (2008) se reportó una eficiencia de 74% de remoción de carga orgánica en un humedal artificial sembrado con *Phragmites australis*, para el tratamiento de agua residual municipal de 150 personas equivalentes (PE).

La información contenida en esta revisión bibliográfica se menciona en los capítulos posteriores en forma de comparaciones metodológicas o utilizando los datos reportados como una referencia, en los casos en que se consideró pertinente.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Unidad experimental

Construcción de los biorreactores

La configuración de los biorreactores (se muestra en la Figura 3.1) consistió de un cilindro empacado con grava para soporte del desarrollo microbiano y del crecimiento vegetal. Un puerto de muestreo dio acceso a los instrumentos de medición en toda la profundidad de la columna de agua, el drenaje se colocó desde la parte inferior para tener un flujo descendente y el efluente captado en el fondo se condujo por gravedad hacia un depósito.

Las características de cada una de las partes del biorreactor mostradas en la Figura 3.1, se detallan a continuación:

1. Depósito del influente

Se utilizaron botellas de plástico de dos litros de capacidad para alimentar 463mL por día de agua residual sintética a cada biorreactor para un tiempo de residencia hidráulico de ocho días y 925mL por día para el tiempo de residencia hidráulico de cuatro días. Estos recipientes al igual que los conductos de alimentación se lavaron diariamente con agua de la red de suministro de agua potable para evitar el desarrollo de microorganismos que pudieran taponar el sistema de alimentación.

2. Bomba dosificadora

Mediante una bomba peristáltica de flujo ajustable marca Masterflex se realizó la dosificación semi-continua del influente en intervalos de 3 horas diarias. Los días no laborables la bomba se controló con un temporizador para 24/24 horas y se programaron dos pulsos de bombeo de 1.5h cada uno durante el día, para alimentar el volumen correspondiente de agua residual sintética.

3. Línea de alimentación

Se colocaron tubos de goma marca Tygon para conducir el agua residual sintética desde los depósitos de alimentación hasta las bombas, después desde las bombas hasta la parte superior de los biorreactores donde descargaban (Ver imágenes en el acervo fotográfico, Anexo C).

4. Biorreactor empacado

Consistió de un cilindro de plástico construido con tubo de 15.2cm (6") de diámetro y 40cm de altura, empacado con grava de tezontle graduada de 0.5cm de diámetro de partícula promedio (ver Tabla 3.1), para un volumen empacado $V = 7.3L$, hasta los 40cm. La porosidad promedio de este material es de 0.54 y el cilindro estuvo lleno de agua hasta 2cm debajo del borde, lo que dio un volumen efectivo de 3.7L.

Los volúmenes mencionados se calcularon a partir de las siguientes relaciones:

Cálculo del volumen total del biorreactor

$$V_T = \pi * r^2 * h \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

Cálculo del volumen efectivo (con $P=0.54$):

$$V_E = V_T * p \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

Cálculo del gasto (Q) para un tiempo de residencia hidráulico (θ) de 8 días:

$$\theta = \frac{V}{Q}$$

(Ecuación 3.3)

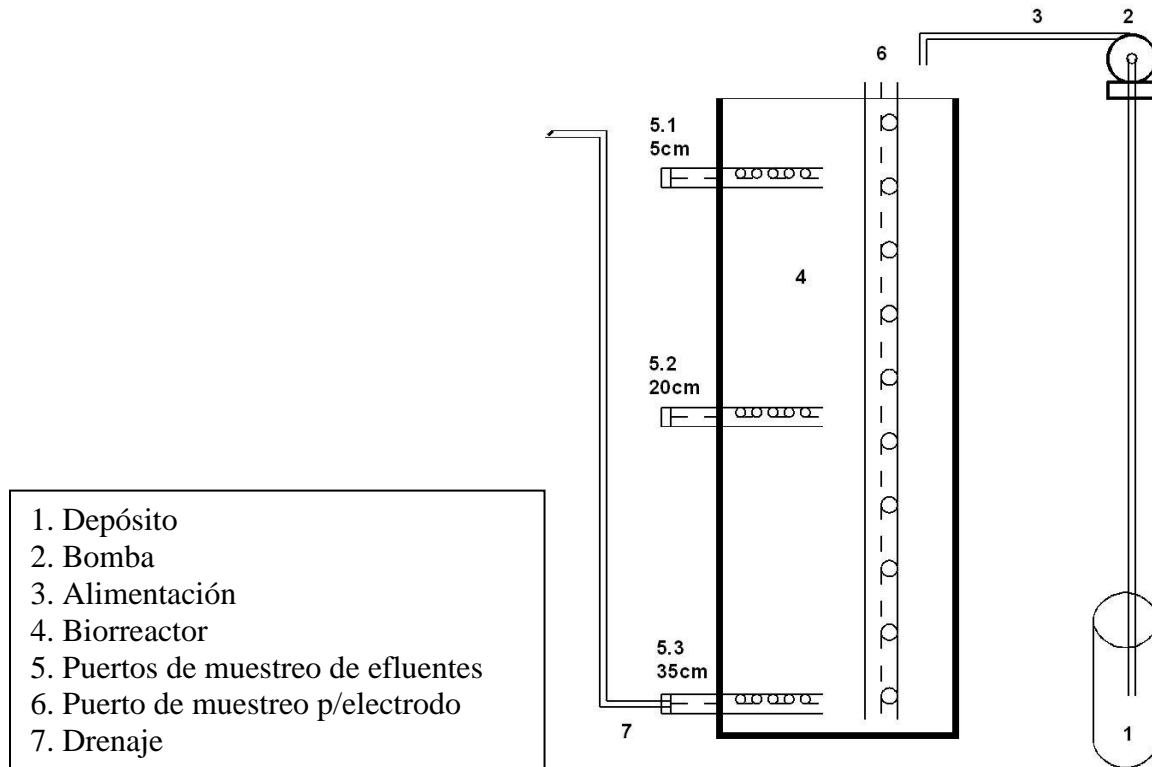


Figura 3.1. Configuración del biorreactor.

Tabla 3.1. Resultados de la prueba de porosidad del material de empaque de los biorreactores (tezontle $\text{Ø} = 5 \text{ mm}$).

	Volumen 1 (mL)	Volumen 2 (mL)	Volumen 3 (mL)
B. Escoria volcánica (Tezontle)	140	145	160
D. Agua (100 mL) + Tezontle	170	165	170
Porosidad			
$P = \frac{[100 - (D - B)]}{B}$	0.5	0.55	0.56
(Ecuación 3.4)			
Porosidad promedio		0.54	

5. Puertos de muestreo para efluentes

Se colocaron puertos de muestreo para obtención de muestras líquidas a los 5, 20 y 35cm debajo del borde superior del biorreactor. Estos puertos se construyeron con un tapón de hule horadado en el que se insertó un tubo de vidrio de 0.5cm de diámetro al que se conectó una manguera de hule de 10cm de longitud y 0.5cm de diámetro interior. El tubo de hule se mantuvo normalmente cerrado, excepto para el puerto de muestreo ubicado a 35cm de profundidad que se utilizó como drenaje del sistema. El puerto ubicado a 35cm de profundidad se conectó a un tubo de goma que descargaba el efluente en un depósito

de 10L de capacidad y se mantuvo el nivel del líquido dentro del biorreactor a 2cm por debajo del borde superior por efecto de sifón.

6. Puerto de muestreo para electrodos

Se colocó un tubo de polivinil cloruro (*PVC*) de 2.54cm (1.0”) de diámetro y 40cm de longitud desde el fondo del biorreactor hasta la superficie con todo su volumen interior lleno de agua para permitir la colocación de los electrodos de potencial de óxido-reducción. Este tubo tenía perforaciones de 0.63cm (0.25”) cada 3cm a lo largo de toda su longitud para permitir el libre flujo de agua en sentidos vertical y horizontal. Se colocó un tapón de *PVC* en el extremo superior para evitar la entrada de materiales extraños y el crecimiento de microorganismos ajenos al sistema.

7. Línea de drenaje

El drenaje se colocó desde el puerto de muestreo de efluente que se encontraba a 35cm debajo del borde superior y la descarga se colocó a 38cm sobre el nivel de la base, conectada a la boca de un recipiente de 10L de capacidad. De esta manera se mantuvo el nivel de líquido dentro del biorreactor a 2cm debajo del borde superior (ver el Anexo C. Acervo fotográfico).

Manejo de los biorreactores

Las columnas cilíndricas se empaclaron con grava de escoria volcánica (tezontle) graduada de 0.5cm de diámetro de partícula (volumen de trabajo: 3.7L). Los biorreactores se alimentaron diariamente con agua residual sintética preparada con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno y azufre, fosfato monobásico de potasio como fuente de fosfato y potasio, fosfato monobásico de sodio como fuente de fosfato y sacarosa como fuente de carbono y energía (Tabla 3.2). La Tabla 3.3 muestra los contenidos de nitrógeno, fósforo, potasio y *DQOs* teórica aplicados para cada uno de los biorreactores.

Tabla 3.2. Cantidades de reactivo utilizadas para la preparación del agua residual sintética y cantidad de nutrientes aportadas (gL^{-1}).

Reactivo	Concentración de reactivo (gL^{-1})	Concentración nutriente X (g-XL^{-1})	Concentración nutriente Y (g-YL^{-1})	Solución concentrada 100x (gL^{-1})
$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ (X=DQO)(Y=C)	0.0891 (C1)	0.099	0.0375	7.13
	0.0891 (C2)	0.099	0.0375	7.13
	0.264 (C3)	0.296	0.1112	26.42
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (X=N) (Y=S)	0.047 (N1)	0.010	0.0114	4.72
	0.1887 (N2)	0.0400	0.0458	18.87
Na_2SO_4 (X=S)	0.1525 (N1)	0.0344	N/A	15.25
KH_2PO_4 (X=K) (Y=P)	0.0174 (K1)	0.0040	0.0050	1.74
	0.1079 (K2)	0.0246	0.0310	10.93
NaH_2PO_4 (Y=P)	0.0800 (K1)	0.0	0.0206	8.00

N/A = no aplica para esta sustancia

El sulfato aplicado como sulfato de amonio en los tratamientos con dosis alta de nitrógeno fue compensado aplicando una cantidad equivalente de sulfato de sodio, a los tratamientos con la dosificación baja de nitrógeno.

Se utilizó iluminación artificial para el crecimiento de las plantas, para lo cual se instalaron 8 lámparas fluorescentes de 15W colocadas a 1.05m encima del borde de los biorreactores. Con un temporizador se ajustó un fotoperiodo de 16 horas de iluminación por 8 horas de oscuridad.

Tabla 3.3. Niveles de nitrógeno, fósforo, potasio y *DQO* teórica aplicados a cada uno de los biorreactores.

Tratamiento	Nitrógeno (g-NL ⁻¹)	Fósforo (g-PL ⁻¹)	Potasio (g-KL ⁻¹)	Etapa I		Etapa II		Etapa III	
				Sacarosa (DQO teórica)	TRH (d)	Sacarosa (DQO teórica)	TRH (d)	Sacarosa (DQO teórica)	TRH (d)
CnN2K2TRH2PL2	0.040	0.004	0.031	0.099	8	0.099	8	0.296	4
CnN2K1TRH2PL2	0.040	0.004	0.005	N/A	N/A	0.099	8	0.296	4
CnN1K2TRH2PL2	0.010	0.004	0.031	N/A	N/A	0.099	8	0.296	4
CnN1K1TRH2PL2	0.010	0.004	0.005	N/A	N/A	0.099	8	0.296	4
Control S/planta C1N1K1TRH2PL1	0.010	0.004	0.005	N/A	N/A	0.099	8	0.296	4
Control C/planta C0N0K0TRH2PL2	0.0	0.0	0.0	N/A	N/A	0.0	8	0.0	4
C1N2K2TRH2PL1	0.040	0.004	0.031	0.099	8				

Nota: Los niveles de carbono se muestran como Cn. En adelante se empleará la nomenclatura C1 para el nivel de sacarosa suministrado en la etapa 1 y en el control sin planta; C2 para el nivel de sacarosa suministrado en la etapa 2; C3 para el nivel de sacarosa suministrado en la etapa 3; y C0 para el control con planta, al que no se le suministró sacarosa.

En la etapa 1 sólo se operó un tratamiento con planta y un tratamiento sin planta, en los demás tratamientos se marcó con N/A (no aplica) ya que no estuvieron en operación.

3.1.1. Sistema de iluminación

Se utilizaron 8 lámparas marca General Electric, modelo F15T8/D de 15W, colocadas a 1.05m por encima del borde del cilindro de plástico. El espectro de emisión de este modelo de lámparas proporciona picos de mayor energía lumínica en los alrededores de 450 y 650 nm, que es la parte del espectro que mejor utilizan los vegetales para la fotosíntesis. El fotoperiodo manejado fue de 16 horas de iluminación por 8 horas de oscuridad, controlado con un temporizador de 24 x 0.5 horas.

3.1.2. Propagación del material vegetativo (*Phragmites australis*)

La propagación del *Phragmites australis* se realizó tomando material vegetativo de un pequeño estanque cercano al Laboratorio 301 del Conjunto E de la Facultad de Química (ver anexo fotográfico); los rizomas obtenidos se trasplantaron a cajas de PVC rellenas con tezontle granulado. A continuación se procedió a regar con agua del suministro público hasta obtener respuesta en crecimiento; y posteriormente se comenzó a aplicar la solución nutritiva (ver Tabla 3.4) dos veces a la semana para robustecer las plantas.

Tabla 3.4. Composición de la solución nutritiva empleada en la propagación de las plantas.

Sustancia	Concentración gL ⁻¹
Sulfato de amonio [(NH ₄) ₂ SO ₄]	2
Fosfato monobásico de potasio [KH ₂ PO ₄]	2
Sulfato de magnesio [MgSO ₄ .7H ₂ O]	0.2

3.2. Agua residual sintética

La solución que se alimentó a los biorreactores se preparó con agua de la red de suministro de agua potable adicionada con sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) como fuente de carbono, sulfato de amonio, (NH₄)₂SO₄,

como fuente de nitrógeno y sulfato (aceptor de electrones) y fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4), como fuente de potasio y fósforo. Además, se utilizó sulfato de sodio para homogeneizar las cantidades de sulfato entre los distintos niveles de nitrógeno y fosfato monobásico de sodio para homogeneizar las cantidades de fósforo entre los distintos niveles de potasio. Con estas sustancias se formuló el agua residual sintética con los niveles alto y bajo tomando como base los valores considerados intermedios, de acuerdo con lo publicado en el libro de Tchobanoglous y col. (1991): nitrógeno total (40mg-NL^{-1}), fósforo total (8mg-PL^{-1}), sulfatos ($30\text{mg-SO}_4\text{L}^{-1}$) y DQO total ($637\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), para un agua residual municipal cruda.

En lo que respecta a la relación N:P:K para la nutrición de la macrofitas, los niveles bajos de N y K se consideraron adecuados para la nutrición mínima de una planta, de manera que no sufriera deficiencia de estos nutrientes. Los niveles altos de estos mismos elementos son comparables a soluciones nutritivas de mantenimiento, como las empleadas en el cultivo hidropónico. El nivel de fósforo para la parte vegetal del sistema no se modificó con los tratamientos y se seleccionó de manera que se encontrara en cantidad suficiente para que el crecimiento vegetal y flora microbiana no se vieran afectados por la deficiencia de este elemento.

El nivel de fosfato no se modificó entre los tratamientos y en su dosificación se consideró que los microorganismos tuvieran este elemento (P) en cantidad suficiente para su crecimiento.

Como una consideración previa, se evitó que la formulación final del agua residual sintética tuviera una elevada concentración de iones disueltos, su composición tampoco contenía metales pesados potencialmente dañinos (mercurio, plata, cadmio, arsénico, etc.). De esta manera se evitaron posibles interferencias con el método de determinación de nitrógeno amoniacal y con los demás métodos de análisis que se emplearon.

Por otro lado, cabe comentar también, que en el caso de nitrógeno total, la normativa vigente (NOM-001-SEMARNAT-1996) establece como límites máximos permisibles para la descarga de agua residual a cuerpos de agua y bienes nacionales, 15mg-NL^{-1} para el promedio mensual y 25mg-NL^{-1} para el promedio diario, para su descarga en ríos para protección de la vida acuática. En el caso de descarga de aguas residuales municipales a humedales naturales, esta norma no establece límite para la concentración de nitrógeno total.

3.3. Condiciones de operación

Los biorreactores operaron manteniendo el tiempo de residencia hidráulico (TRH) en un nivel constante de 8 días. Las concentraciones de nitrógeno amoniacal (10 y 40mg-NtotalL^{-1}), potasio (5 y 31mg-KL^{-1}), y carbono medido como demanda química de oxígeno teórica (99 y $296\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$). El fósforo y azufre en la entrada fueron como se indica para la formulación del agua residual sintética (Tchobanoglous y col. 1991). El sistema de biorreactores se instaló en un laboratorio cerrado con objeto de minimizar las variaciones de temperatura y humedad relativa del aire ambiente. Como ya se mencionó, el fotoperiodo permaneció constante durante toda la experimentación mediante un temporizador que mantuvo la iluminación artificial encendida durante 16 horas al día y apagada para un periodo de oscuridad de 8 horas en cada 24 horas.

Serie de tiempo

Después de la construcción de los biorreactores se dio inicio a su operación (9 de marzo de 2009, correspondiente al día 1) como se indica en la Figura 3.2. El primer experimento realizado tuvo una duración de 259 días, el segundo experimento tuvo una duración de 169 días, del día 259 al día 428, y el tercer experimento tuvo una duración de 156 días, del día 428 al día 584 (Figura 3.2).

En el primer experimento los biorreactores se alimentaron con 0.07gL^{-1} de sacarosa (99mgL^{-1} de *DQO* teórica) y se determinaron demanda química de oxígeno, nitrógeno amoniacal y nitrógeno de nitratos en tres profundidades de la columna (5, 20 y 35cm). También se hicieron mediciones del potencial redox a 5cm de profundidad de la columna a intervalos de 60 segundos durante una semana. Para efectos del análisis de datos para potencial redox, se tomaron los valores promedio de las lecturas de cada hora para ajustarlas a 24 lecturas en 24 horas, es decir, se tomaron cinco valores para obtener los potenciales redox promedio de cada hora.

A partir del día 85 de operación de los biorreactores se inició la medición diaria de las temperaturas máxima, mínima y ambiente, durante los días hábiles.

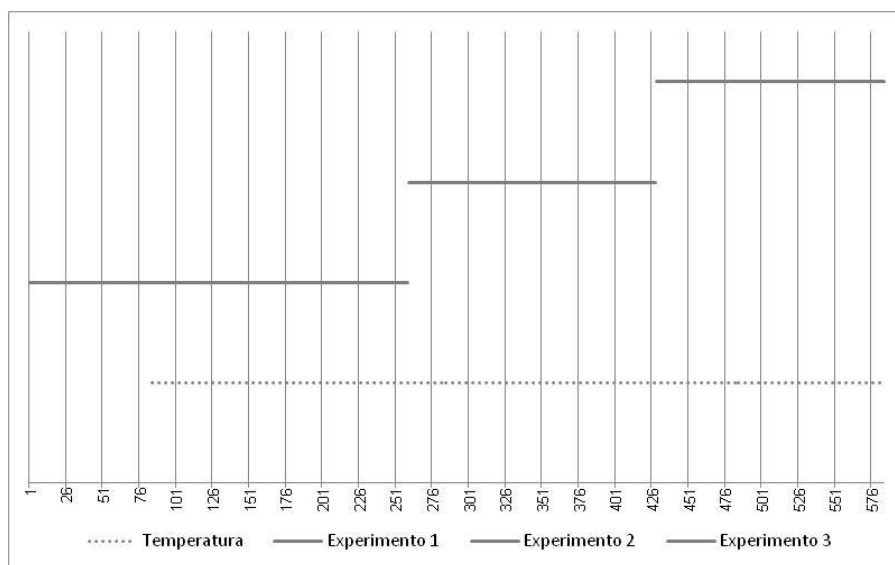


Figura 3.2. Serie de tiempo que muestra el tiempo de operación de los biorreactores y las tres etapas experimentales, 259, 169 y 156 días, descritas en el texto.

3.4. Comportamiento del sistema

Demanda química de oxígeno soluble

A lo largo del experimento se determinó la demanda química de oxígeno (*DQO*) en muestras de 2mL para los lotes de agua residual sintética entrante y efluente. Se empleó la técnica del dicromato de potasio en reflujo cerrado de acuerdo con los métodos estándar para el análisis de agua y agua residual de Estados Unidos (APHA, 1989) y la Norma para el análisis de agua NMX-AA-030-SCFI-2001. El resultado de esta determinación se empleó como variable de respuesta. Se consideró que el sistema había alcanzado condiciones de operación estables cuando la variación en la *DQO* de salida era de $\pm 10\%$ con respecto al promedio. La Tabla 3.5 indica las cargas orgánicas alimentadas a cada uno de los biorreactores.

Nitrógeno

Las concentraciones de nitrato, nitrito y amonio se evaluaron con técnicas analíticas para esos iones. El nitrógeno inorgánico en el influente y efluente se consideró como la suma de estas tres especies químicas. Para la determinación del nitrógeno amoniacal se utilizó la técnica del indofenol (APHA, 1989), nitrato por el método del ácido fenildisulfónico (APHA, 1989), nitrito por el método del ácido

sulfanílico (sulfanilamida) (APHA, 1989). En la Tabla 3.5 pueden verse las cargas de nitrógeno que se alimentaron a cada uno de los biorreactores.

Medición de potencial redox

La lectura y registro de los potenciales redox cada minuto durante una semana, se hizo con un controlador de POR Hanna modelo MV600. La medición del potencial redox instantáneo se realizó con un equipo marca Orion modelo 720A+ con un electrodo de gel (Ag/AgCl) marca Oakton modelo OKT35805-15 de doble junta. En cada caso los electrodos se calibraron con solución amortiguadora de pH7 saturada con quinhidrona (dando una lectura de +73.6mV a 25°C para un valor teórico de +86mV para el electrodo Ag/AgCl). El electrodo se colocó en el puerto de muestreo para electrodos a una profundidad de 5cm por debajo del nivel de líquido y se dejó durante 30 minutos aproximadamente, hasta que se estabilizó, para tomar la lectura.

Tabla 3.5. Carga orgánica, carga hidráulica y carga de nutrientes aplicados a los biorreactores en los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Carga orgánica		Carga hidráulica (m ³ m ⁻² d ⁻¹)	Carga de nitrógeno (g-Nm ⁻² d ⁻¹)	Carga de potasio (g-Km ⁻² d ⁻¹)
	(g-O ₂ m ⁻² d ⁻¹)	(g-Cm ⁻² d ⁻¹)			
Etapa I					
C1N2K2TRH2PL2	2.534	0.951	0.025	1.014	0.786
C1N2K1TRH2PL2	2.534	0.951	0.025	1.014	0.127
C1N1K2TRH2PL2	2.534	0.951	0.025	0.254	0.786
C1N1K1TRH2PL2	2.534	0.951	0.025	0.254	0.127
Control sin planta					
C1N1K1TRH2PL1	2.534	0.951	0.025	0.254	0.127
Control con planta					
C0N0K0TRH2PL2	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000
Etapa II					
C2N2K2TRH1PL2	2.534	0.951	0.025	1.014	0.786
C2N2K1TRH1PL2	2.534	0.951	0.025	1.014	0.127
C2N1K2TRH1PL2	2.534	0.951	0.025	0.254	0.786
C2N1K1TRH1PL2	2.534	0.951	0.025	0.254	0.127
Control sin planta					
C2N1K1TRH1PL2	2.534	0.951	0.025	0.254	0.127
Control con planta					
C0N0K0TRH1PL1	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000
Etapa III					
C3N2K2TRH1PL2	15.015	5.637	0.051	2.028	1.572
C3N2K1TRH1PL2	15.015	5.637	0.051	2.028	0.254
C3N1K2TRH1PL2	15.015	5.637	0.051	0.507	1.572
C3N1K1TRH1PL2	15.015	5.637	0.051	0.507	0.254
Control sin planta					
C3N1K1TRH1PL2	15.015	5.637	0.051	0.507	0.254
Control con planta					
C0N0K0TRH1PL1	0.000	0.000	0.051	0.000	0.000

Medición del pH

Las mediciones de *pH* se hicieron con un potenciómetro marca Orion modelo 720A+ y un electrodo de gel marca Oakton modelo WD-35801-00 de junta sencilla. El electrodo se calibró antes de cada medición y después de haber estado 30 minutos sumergido en la solución de *pH7*, en dos puntos utilizando soluciones amortiguadas de *pH7* y *pH4*.

Cinética de degradación de sacarosa

Incubación de las muestras. Cada semana, durante cuatro semanas, se extrajo una muestra de 150mL de efluente de cada biorreactor. En un frasco se vertieron 100mL para su incubación y los 50mL restantes se filtraron en un matraz Kitasato de 250mL con un crisol Goosch y un filtro Whatman (1.2 μ m), para hacer la determinación de la demanda química de oxígeno. A cada muestra de 100mL se le agregó sacarosa (2.5g*100mL⁻¹, agregando 10mL medidos con pipeta volumétrica de una solución concentrada de 250gL⁻¹ de sacarosa), se colocó sobre una mesa de laboratorio y se mantuvo en agitación intermitente permitiendo el intercambio gaseoso con la atmósfera. Al cabo de cuatro días se observó el desarrollo de microorganismos por lo que se procedió a la determinación de STT para estimar la cantidad de sacarosa consumida y utilizarla como indicador de la proliferación de microorganismos.

Determinación de sólidos. Las muestras incubadas se vertieron en charolas de aluminio secas a la estufa durante 12h a 103°C previamente pesado en una balanza analítica marca OHAUS (\pm 0.0002g). Las charolas se manipularon con pinzas de disección de acero inoxidable durante todo el proceso. Las charolas con la muestra se colocaron en una plancha de calentamiento para la evaporación total del agua. A continuación se secaron en la estufa durante 12h a 103°C y se colocaron en un desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Finalmente, se pesaron en una balanza analítica marca OHAUS (\pm 0.0002g). La diferencia entre la sacarosa aplicada y los sólidos recuperados en la charola se utilizó como resultado de esta prueba para el análisis de resultados. Se consideró que al utilizar 2.5g de sacarosa se reduce el error que se genera por los sólidos contenidos inicialmente en las muestras y que la diferencia es resultado de la sacarosa consumida por los microorganismos. Esta prueba se implementó debido a que en resultados anteriores no se detectó diferencia en sólidos totales (STT), de acuerdo con la metodología de los métodos estándar para el análisis de agua y agua residual de Estados Unidos (APHA, 1989).

Altura de planta y área foliar

Se realizaron mediciones de estas variables para determinar tasas de crecimiento. La altura de planta se expresó como la suma de las alturas de las plantas de un biorreactor ya que este valor expresa mejor la curva de crecimiento, en comparación con el promedio. El área foliar se determinó midiendo la longitud total y anchura a 3cm de la vaina de cada hoja, el producto de estos dos valores se multiplicó por un factor de 0.75 que es un valor característico para la determinación del área foliar de los cereales (Montgomery, 1911; Radford, 1967; Stickler y col., 1961). Al final del experimento se determinó el incremento de biomasa cosechando el follaje formado después de la poda al inicio del tratamiento. La cantidad de biomasa seca a 60°C se determinó para emplearla como indicador de la actividad fotosintética durante el periodo.

La determinación del área foliar es una variable de utilidad para estimar la intensidad de asimilación de carbono por las plantas y es un parámetro básico para hacer el análisis de crecimiento de los cultivos. Radford (1967) plantea que para aplicar las técnicas de análisis de crecimiento en estudios con plantas se requiere como mínimo una medida de la cantidad de material vegetal presente (peso seco), y una medida del sistema asimilatorio (área foliar) de las plantas, y a partir de estas medidas se pueden calcular diferentes parámetros de un análisis de crecimiento sencillo. Existe un número grande de técnicas, con diversos grados de automatización para la determinación del área foliar de cultivos y cubiertas de

vegetación natural en campo, mientras que, para obtener datos a nivel de laboratorio se cuenta con planímetros ópticos, pero se recurre a menudo a técnicas como las desarrolladas por Montgomery (1911), que encontró la relación largo de la hoja x máximo ancho de la hoja x 0.75 como un método preciso para determinar área foliar en maíz, y la cual ha sido ampliamente utilizada en este cultivo. Posteriormente Stickler y col. (1961), encontraron que la relación largo x máximo ancho x 0.747 es bastante precisa en la determinación del área foliar del sorgo granero independientemente de la variedad o híbrido estudiado. Igualmente, en la literatura se encuentran otras relaciones que pueden ser utilizadas en la estimación del área foliar de diversas especies. Otro método, de tipo destructivo, consiste en digitalizar la imagen de una hoja en un archivo de imagen en blanco y negro y después utilizar un programa de procesamiento digital de imágenes, como el desarrollado por la Universidad de Sheffield en Inglaterra, específicamente para determinar la superficie seleccionada de la imagen (disponible en la red: <http://www.shef.ac.uk/~nuocpe/ucpe/leafarea.html>). El método no destructivo consiste en medir algunas dimensiones de la hoja con una cinta métrica, como el largo y el ancho, y después multiplicar largo por ancho por un factor, el cual es específico para distintos grupos de plantas. En el presente trabajo se empleó el método no destructivo, utilizando un valor de 0.75, que es característico para la mayoría de los pastos, como ya se mencionó.

Para que la información obtenida de los trabajos de investigación pueda ser empleada como criterio para el diseño de sistemas de tratamiento, es necesario expresarla en unidades que puedan ser manejadas en los modelos o fórmulas particulares. En el caso de la cobertura vegetal se emplea el índice de área foliar, que es una forma de expresar la superficie fotosintética expuesta por la vegetación por cada unidad de superficie de terreno. De esta manera se puede utilizar la información para estimar cantidades de bióxido de carbono fijado por unidad de superficie por día para un ecosistema, población o comunidad vegetal en particular, según el enfoque del estudio. En el caso de humedales artificiales puede utilizarse para estimar cantidades de contaminantes degradados o removidos por unidad de superficie de área foliar y por unidad de superficie de terreno o de humedal. El índice de área foliar se calculó dividiendo el área foliar de un reactor entre la superficie de su base (0.073m²).

Se utilizaron modelos para estimar la altura de planta y área foliar en función del tiempo. En particular, se utilizaron los modelos cinéticos de primer y segundo órdenes (Henry y Heinke, 2000), como se muestra en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Modelos cinéticos de primer y segundo orden Henry y Heinke (2000).

Orden	Ecuación de velocidad	Ecuación integrada	Gráfica lineal	Pendiente	Ordenada al origen
1	$\frac{dAF}{dt} = kAF$	$\ln \frac{AF}{AF_0} = -kt$	$\ln AF \text{ vs } t$	-k	$\ln AF_0$
2	$\frac{dAF}{dt} = kAF^2$	$\frac{1}{AF} - \frac{1}{AF_0} = kt$	$\frac{1}{AF} \text{ vs } t$	k	$\frac{1}{AF_0}$

3.5. Diseño experimental

3.5.1. Tratamientos

Con el objetivo de confrontar la hipótesis y cubrir los objetivos planteados, se realizó una serie de experimentos. Para ello se consideró someter a evaluación los siguientes factores: Nitrógeno entrante, potasio entrante, sacarosa entrante. La presencia o no de la macrofita sólo se evaluó a nivel de un control sin planta más nutrientes y un control con planta y sin nutrientes.

3.5.2. Niveles de los factores

La combinación de dos factores, nitrógeno y potasio, con dos niveles cada uno genera un total de 4 tratamientos. Los valores para los niveles alto y bajo de los dos factores bajo evaluación se muestran en la Tabla 3.7. (Montgomery, 1997). A continuación, se analizaron los datos obtenidos de este arreglo mediante un análisis de varianza de dos vías. Cabe aclarar que no se habla propiamente de un diseño experimental, ya que el experimento no se realizó con repeticiones. Esta herramienta permite detectar efectos de los factores principales y de sus interacciones con los resultados obtenidos de aplicar los tratamientos para el nivel alto de cada factor y el tratamiento con la combinación alta de todos los factores.

Tabla 3.7. Combinaciones de tratamientos resultantes de aplicar el modelo estadístico $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \epsilon$.

TRATAMIENTO	C (mgO ₂ L ⁻¹)	NIVELES DE LOS FACTORES			
		N	K	TRH	PL
CnN1K1TRH2PL2	(99) y (296)	(-)	(-)	(8d) y (4d)	(+)
CnN1K2TRH2PL2	(99) y (296)	(-)	(+)	(8d) y (4d)	(+)
CnN2K1TRH2PL2	(99) y (296)	(+)	(-)	(8d) y (4d)	(+)
CnN2K2TRH2PL2	(99) y (296)	(+)	(+)	(8d) y (4d)	(+)

PL= planta; C= sacarosa; N= nitrógeno; K=potasio; TRH= tiempo de residencia hidráulico

Para confrontar la hipótesis planteada al inicio, se consideró el modelo $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \epsilon$. En este modelo se tienen dos factores con dos niveles cada uno, lo que da un total de 4 tratamientos, como lo muestra la Tabla 3.7 (Montgomery, 1997).

3.5.3. Variables de respuesta

Las variables de respuesta se midieron durante las 6 últimas semanas de cada etapa, cuando el sistema se había estabilizado bajo las condiciones de operación ($DQO \pm 10\%$) mencionadas antes. Las variables con que se evaluó la respuesta del sistema fueron: remoción de *DQOs* (%); remoción de nitrógeno amoniacal (%); conversión de nitrógeno amoniacal a nitratos (%); formación de biomasa vegetal (gm⁻²). Durante el periodo de toma de datos se determinó también el potencial redox a 5cm de profundidad en un biorreactor con planta y en uno sin planta. Las lecturas se registraron cada 60 segundos. Con ello se buscó determinar si existe correlación entre este potencial redox y las condiciones de operación dadas, así como determinar sus variaciones durante el día (con fotosíntesis) y la noche (sin fotosíntesis). También se registraron las concentraciones de nitrato, nitrito y amonio en el biorreactor empleando métodos espectrofotométricos (método del ácido fenildisulfónico para nitratos (APHA, 1989), método del ácido sulfanílico (sulfanilamida) para nitritos (APHA, 1989), y método del azul de indofenol para amonio (APHA, 1989). Los niveles de estos iones se registraron cada semana a 35cm de profundidad (efluente) durante cada etapa experimental.

3.6. Análisis del sistema

Los datos obtenidos experimentalmente se utilizaron para analizar el sistema y hacer algunas predicciones de interés para el diseño de reactores del tipo de los humedales construidos para el tratamiento de agua residual.

Es posible definir un sistema constituido por elementos de diferentes clases mediante un sistema de ecuaciones diferenciales (Bertalanffy, 1976). Denotando por Q_i alguna magnitud de elementos p_i ($i=1,2,\dots,n$), como *DQOs* efluente o nitrógeno efluente, para un número finito de elementos y, en el caso más sencillo, las ecuaciones tienen la forma:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dQ_n}{dt} &= f_n(Q_1, Q_2, \dots, Q_n) \\ \frac{dQ_2}{dt} &= f_2(Q_1, Q_2, \dots, Q_n) \\ \frac{dQ_1}{dt} &= f_1(Q_1, Q_2, \dots, Q_n) \end{aligned} \right\} \quad (3.5)$$

De esta manera, el cambio de cualquier magnitud Q_i es función de todas las Q , de Q_1 a Q_n ; a la inversa, el cambio de cualquier Q_i acarrea cambio en todas las demás magnitudes y en el sistema en conjunto.

Un sistema puede ser definido como un complejo de elementos interactuantes, en el que los elementos p , están en relaciones R , de manera que el comportamiento de un elemento p en R es diferente de su comportamiento en otra relación R' . Si los comportamientos en R y R' no difieren, entonces no hay interacción, y los elementos se comportan independientemente con respecto a las relaciones R y R' .

Un sistema con una sola clase se puede definir como:

$$\frac{dQ}{dt} = f(Q) \quad (3.6)$$

Su desarrollo en serie de Taylor sería de la siguiente forma:

$$\frac{dQ}{dt} = a_1Q + a_{11}Q^2 + \dots \quad (3.7)$$

Ahora tomando el primer término de la serie:

$$\frac{dQ}{dt} = a_1Q$$

Resolviendo el primer término de la serie por integración se obtiene la ecuación exponencial, llamada también ley del crecimiento exponencial:

$$Q = Q_0 e^{a_1 t} \quad (3.8)$$

donde Q_0 significa el número de elementos cuando $t=0$.

Si en la ecuación 3.7 se mantiene el segundo término y se integra entre $t=0$ y t , se obtiene una ecuación que da una curva sigmoide que alcanza un valor límite, conocida como curva logística, que se aplica en la descripción de reacciones autocatalíticas, en las que un producto formado, cataliza su propia producción.

Otra ecuación de interés para el presente trabajo es la ecuación alométrica, en la que determinada característica Q_1 puede ser expresada como función de otra característica Q_2 . En biología se aplica a la morfogénesis, cuando la longitud o la masa de un órgano, Q_1 , es función alométrica del tamaño de otro órgano o la longitud o la masa totales del organismo en cuestión. El planteamiento del modelo sería como sigue:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dQ_1}{dt} &= a_1 Q_1 \\ \frac{dQ_2}{dt} &= a_2 Q_2 \end{aligned} \right\} \quad (3.9)$$

Integrando ambas ecuaciones con respecto al tiempo se obtiene:

$$\begin{aligned} Q_1 &= C_1 e^{a_1 t} \\ Q_2 &= C_2 e^{a_2 t} \end{aligned}$$

Resolviendo ambas ecuaciones para t , se llega a la expresión 3.10:

$$t = \frac{\ln Q_1 - \ln C_1}{a_1} = \frac{\ln Q_2 - \ln C_2}{a_2}$$

$$Q_1 = b Q_2^\alpha \quad (3.10)$$

Para esta expresión los valores de a y de b tienen los siguientes valores:

$$\alpha = \frac{a_1}{a_2}, \quad b = \frac{C_1}{C_2^\alpha}$$

La ecuación alométrica también supone que el crecimiento de los órganos en cuestión es exponencial (Bertalanffy, 1976).

3.7. Evaporación y evapotranspiración

La evaporación y evapotranspiración de agua en los ecosistemas acuáticos, son fenómenos que consumen agua y la envían a la atmósfera en forma de vapor. La cantidad de agua evaporada de un cuerpo natural está en función de la presión de vapor, la temperatura del agua, el contenido de humedad del aire, la temperatura del aire y de la superficie del cuerpo de agua, en principio. Por otra parte, la evapotranspiración es un fenómeno en el cual una masa de plantas que crece en el cuerpo de agua natural o en un sistema de humedal y que su estructura aérea cubre toda la superficie sobre la que se desarrolla, extrae agua a través de sus raíces y la conduce a través de su sistema vascular (xilema) hasta la superficie de las hojas, donde unas estructuras anatómicas, con el nombre botánico de estomas, la liberan en forma de vapor hacia la atmósfera.

Como se menciona en el capítulo 2, Salzman (2001), reporta el empleo de un balance de energía para el cálculo de la evaporación en dos estanques de almacenamiento de agua residual de una planta de fundición de aluminio. Para ello utiliza la ecuación para balance de energía, citada antes como ecuación 2.1.

El cálculo de la evapotranspiración puede realizarse mediante varios métodos diferentes. La capacidad del sistema para extraer agua es una función del cultivo (especie de planta), del clima y de la latitud donde se encuentra instalado, de manera que para hacer un cálculo con fines de diseño debe realizarse el balance hídrico mediante un método apropiado como los siguientes: Thornthwaite, Hargreaves, Hamon, y FAO56-PM (Alkaeed y col., 2006).

Durante 86 días de la primera etapa experimental y 145 días de la tercera etapa experimental se midieron la evaporación y la evapotranspiración en los seis biorreactores que se operaron durante 584 días. La evaporación se midió en el reactor sin planta y la evapotranspiración se midió en los cuatro biorreactores con planta que se trataron con agua residual sintética (es decir, exceptuando el control con planta).

La medición se realizó de manera diaria. Por un lado se registró el volumen de agua aplicada (925mLd^{-1} y 463mLd^{-1} para los TRH de 4 y 8 días respectivamente), y por otro se midió el volumen drenado. El volumen drenado se midió tomando las lecturas de altura inicial y altura final de agua dentro del recipiente de efluente respectivo (evaporación y evapotranspiración), cuya forma era cilíndrica y su radio conocido.

3.8. Análisis estadístico

Se utilizó el análisis de varianza de dos vías ($\alpha=0.05$) para los datos obtenidos de los experimentos (sin repeticiones como se indicó antes), complementados con gráficos de cajas y gráficos de interacciones.

También se utilizó la prueba T-Student en comparaciones de promedios para probar la hipótesis de que provienen de poblaciones distintas ($\mu_1 \neq \mu_2$).

Se utilizó el coeficiente de correlación para evaluar el grado de asociación entre los valores observados y los valores estimados para altura de planta y área foliar.

Se utilizaron herramientas de estadística descriptiva para calcular medidas de tendencia central (promedio, moda) y medidas de dispersión (desviación estándar).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Etapas experimentales

Se presentan los resultados obtenidos en tres etapas experimentales con duración de 259, 169 y 156 días, para un tiempo total de 584 días de experimentación. Se hace también un análisis de la información, de tipo estadístico en algunos casos y de tipo gráfico en otros. Al final del capítulo y en el capítulo siguiente se hace una discusión sobre los planteamientos de interés de esta investigación que llevaron a obtener conclusiones de acuerdo con la hipótesis y los objetivos, así como de otras hipótesis de interés que surgieron durante el ejercicio de investigación de laboratorio que se realizó (Bunge, 1958; de Gortari, 1970; Hessen, 1982). Esas hipótesis generadas dan pauta para plantear nuevos proyectos de investigación, sobre aspectos particulares del conocimiento de los procesos biológicos y físico-químicos, que se llevan a cabo en los sistemas de humedales artificiales utilizados para el tratamiento del agua residual doméstica. Este nuevo conocimiento deberá ser de utilidad para desarrollar mecanismos de control automatizados y procedimientos de determinación de los parámetros que permitan al operador del sistema tener un mejor control y generar una salida de agua que tenga las mejores características para su descarga o reutilización.

Los resultados pueden asociarse con cada una de las variables que se determinaron y midieron en las unidades experimentales construidas y manejadas de acuerdo con lo descrito en el capítulo anterior. Las variables son las siguientes:

- Demanda química de oxígeno en influente y efluente (DQO_i y DQO_e)
- Nitrógeno amoniacal en influente y efluente
- Nitrógeno de nitratos en influente y efluente
- Nitrógeno de nitritos influente y efluente
- pH en influente y efluente
- Evaporación y evapotranspiración (balance hídrico)
- Temperatura ambiente
- Altura de planta y área foliar
- Potencial de óxido-reducción en un biorreactor con planta y uno sin planta, registrados cada sesenta minutos en un intervalo de 24 horas
- Potencial de óxido-reducción en diferentes profundidades del lecho del biorreactor
- Actividad microbiana

Durante la primera etapa experimental se operaron cuatro biorreactores, dos de ellos con planta (*Phragmites australis*) y dos sin sembrar. Los niveles de nutrientes fueron los correspondientes a N2K2 (Tabla 3.2), con tiempo de residencia hidráulico de 8 días y carga orgánica de $2.534\text{gO}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ($DQO_T=99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$). Estas condiciones se mantuvieron durante 259 días, a lo largo de los cuales se realizaron análisis y observaciones, cuyos resultados se comentan más adelante. La segunda etapa experimental se realizó con seis biorreactores o columnas, cuatro de ellas con las combinaciones de nitrógeno y potasio correspondientes a un modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$, con plantas, un biorreactor más se operó con la especie vegetal y sin la adición de nutrientes ni carga orgánica, como

control para obtener valores de referencia sobre la DQO de fondo aportada por la planta, un biorreactor adicional se operó sin planta y con los niveles bajos de nitrógeno y potasio más la carga orgánica correspondiente, que en esta etapa experimental fue de $2.534\text{gO}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ($DQO_T=99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$), con un tiempo de residencia hidráulico de 8 días. La tercera etapa experimental se realizó con los mismos seis biorreactores, con el modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$ para los nutrientes nitrógeno y potasio, más los dos controles, uno con planta y uno sin planta, el tiempo de residencia hidráulico se ajustó a 4 días y la carga orgánica aplicada fue de $15.015\text{gO}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ ($DQO_T=264\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$).

4.2. Condiciones de operación y condiciones ambientales

Las condiciones de operación que se controlaron en la experimentación fueron la composición de la solución de alimentación (agua residual sintética, ARS), el tiempo de residencia hidráulico (TRH), la iluminación, el volumen de trabajo de los biorreactores y la temperatura ambiente. Además se hizo el seguimiento de algunas variables ambientales para considerarlas en la discusión de resultados: temperaturas máxima, mínima y promedio durante los días hábiles, evaporación y evapotranspiración.

Solución de alimentación (Agua residual sintética)

La solución de alimentación de los reactores se preparó, de acuerdo con lo mencionado en el capítulo anterior, con agua para consumo humano tomada de la red pública de suministro. La solución consistió de sacarosa como fuente de materia orgánica de fácil degradación, sulfato de amonio como fuente de nitrógeno en forma amoniacal, y fosfato monobásico de potasio como fuente de potasio. Además, se utilizó sulfato de sodio para igualar las concentraciones de sulfato entre los niveles bajo y alto de nitrógeno ($N1=10\text{mg-NL}^{-1}$ y $N2=40\text{mg-NL}^{-1}$). Del mismo modo, para igualar la concentración de fosfato entre los niveles bajo y alto de potasio ($K1=31\text{mg-KL}^{-1}$ y $K2=5\text{mg-KL}^{-1}$), se adicionó el fosfato monobásico de sodio correspondiente, al tratamiento K1. Las concentraciones de reactivos empleadas y sus correspondientes concentraciones de nutrientes se presentaron en las Tablas 3.2 y 3.3.

Se prepararon seis soluciones de alimentación diferentes, una para cada biorreactor, dando las combinaciones que se presentan en la Tabla 4.1. Se aplicaron dos niveles de materia orgánica con dos concentraciones de demanda química de oxígeno teórica (DQO_T): $C1=C2=99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$, $C3=264\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$. El nitrógeno se aplicó en dos concentraciones $N1=10\text{mg-NL}^{-1}$ y $N2=40\text{mg-NL}^{-1}$. El potasio se aplicó también en dos niveles, $K1=5\text{mg-KL}^{-1}$ y $K2=31\text{mg-KL}^{-1}$. Se utilizaron dos tiempos de residencia hidráulico, $TRH1=4$ días y $TRH2=8$ días. Se manejaron cinco biorreactores con planta, PL2, y un biorreactor sin planta, PL1.

Tabla 4.1. Combinaciones de nutrientes para el agua residual sintética alimentada a los seis biorreactores que se mantuvieron en operación.

Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
C1N2K2TRH2PL2	C2N2K2TRH2PL2	C3N2K2TRH1PL2
C1N2K2TRH2PL1	C2N2K1TRH2PL2	C3N2K1TRH1PL2
	C2N1K2TRH2PL2	C3N1K2TRH1PL2
	C2N1K1TRH2PL2	C3N1K1TRH1PL2
	C2N1K1TRH2PL1	C3N1K1TRH1PL1
	C0N0K0TRH2PL2	C0N0K0TRH1PL2

Tiempo de residencia hidráulico (TRH) y volumen de trabajo

Los tiempos de residencia hidráulicos se manejaron aplicando los volúmenes de agua residual sintética correspondientes al volumen de trabajo del reactor, que en los seis biorreactores fue de 3.7L,

considerando que el volumen total fue de 7.3L y la porosidad del empaque de tezontle fue 0.54. Así, para el TRH1, de cuatro días, se aplicaron 0.925Ld^{-1} , mientras que para el TRH2 se suministraron 0.463Ld^{-1} de agua residual sintética, respectivamente.

Illuminación

Los biorreactores se manejaron dentro de las instalaciones del laboratorio bajo iluminación artificial. Para ello se utilizaron 8 lámparas marca General Electric, modelo F15T8/D de 15W. Se utilizó un fotoperíodo de 16 horas de iluminación por 8 horas de oscuridad, encendiendo las luces a las 6:00 horas y apagando a las 22:00 horas, utilizando un temporizador. Las intensidades lumínicas medidas fueron de 4350, 2050 y 930Lux a 20, 50 y 105cm de distancia a la lámpara respectivamente. Cabe aclarar que la distancia de 105cm corresponde a la distancia entre la lámpara y el borde superior de la columna de plástico del biorreactor. A pesar de que la intensidad lumínica fue muy baja, cercana al punto de compensación, las plantas se adaptaron a esas condiciones y mostraron un crecimiento razonablemente rápido.

Temperatura ambiente

Después del día 85 de haber iniciado la experimentación, se tomaron las lecturas de temperatura mínima, ambiente y máxima. Con estos datos se calcularon los promedios y se elaboró un gráfico (Figura 4.1). Los datos en resumen se muestran en la Tabla 4.2.

Durante el tiempo de experimentación no se registraron temperaturas extremas demasiado altas o demasiado bajas. La temperatura promedio, 20.5°C se considera propicia para el crecimiento de plantas y los extremos alto (27.8°C) y bajo (12.2°C) no representaron ningún riesgo para el bienestar de las mismas. Debido a que la especie es un vegetal adaptado a clima templado, que crece todo el año, se considera que las variaciones en el ritmo de crecimiento que pudieron presentarse corresponden a la estacionalidad natural.

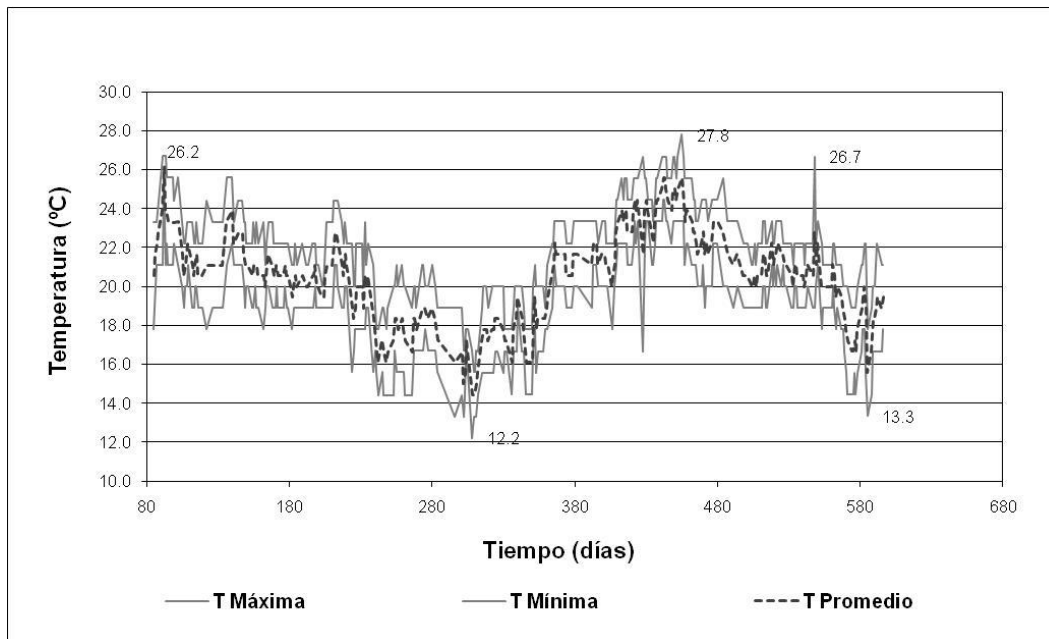


Figura 4.1. Gráfico de temperaturas, máxima, mínima y promedio diario registradas durante las tres etapas experimentales.

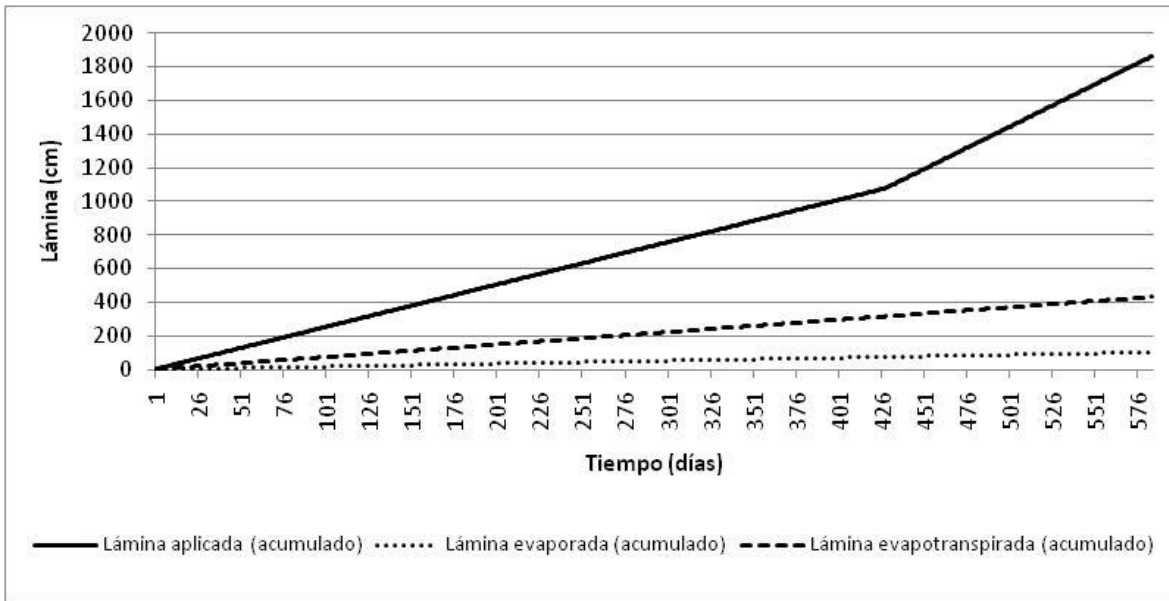


Figura 4.2. Balance hídrico del sistema.

Evaporación y evapotranspiración. Balance hídrico.

Teniendo en consideración que la evapotranspiración puede significar un volumen importante de agua extraída del sistema por la planta con respecto a la evaporación por sí sola, se realizaron mediciones de estas dos variables y se elaboró un balance hídrico para el tiempo que duró la experimentación. El gráfico de la Figura 4.2 muestra las láminas acumuladas correspondientes a los volúmenes aplicado, evaporado y evapotranspirado en el sistema.

Durante los 584 días de operación de los biorreactores, cada uno recibió una lámina total de 1863.6cm, de los cuales 101.9cm se perdieron por evaporación en el reactor sin planta y 431.3cm se perdieron por evapotranspiración en los biorreactores con planta, en promedio, como muestra la Tabla 4.3.

Tabla 4.2. Promedios de temperaturas máxima, mínima y media (°C) registradas a lo largo de las tres etapas experimentales.

	Temperatura máxima	Temperatura mínima	Temperatura media	Temperatura ambiente
Promedio	22.2 (27.8; junio 2010)	18.8 (12.2; enero 2010)	20.5	20.4
Desviación estándar	2.4	2.5	2.4	2.3

Temperatura media. resulta de dividir entre dos la suma de las temperaturas máxima y mínima diaria

Tabla 4.3. Resumen de los datos del balance hídrico para los biorreactores con planta, evapotranspiración, y sin planta, evaporación. Se presentan los valores totales (acumulado) y entre paréntesis los promedios diarios.

	Etapa 1 (259 días)	Etapa 2 (169 días)	Etapa 3 (156 días)
Lámina aplicada (cm)	652.271 (2.518 cmd ⁻¹)	1077.884 (2.518cmd ⁻¹)	1863.631 (5.037 cmd ⁻¹)
Lámina evaporada (cm)	45.196 (0.175 cmd ⁻¹)	74.686 (0.175cmd ⁻¹)	101.908 (0.175cmd ⁻¹)
Lámina evapotranspirada (cm)	191.271 (0.739 cmd ⁻¹)	316.078 (0.739 cmd ⁻¹)	431.284 (0.739cmd ⁻¹)

4.3. Determinaciones electroquímicas y alcalinidad

Durante la operación de los biorreactores se realizaron determinaciones de *pH*, potencial redox, conductividad eléctrica y alcalinidad, con el objetivo de caracterizar las condiciones que imperaron en la columna de agua dentro de los biorreactores.

Valores de pH

Se midieron los valores de *pH* de los efluentes de los seis biorreactores con el fin de verificar que estuvieran operando cerca de la neutralidad, nivel en que se favorecen las funciones fisiológicas de la mayoría de las especies microbianas y vegetales.

La Figura 4.3 muestra los valores de *pH* encontrados en los efluentes de los biorreactores en las tres etapas de operación. En general, el *pH* se encontró cerca de 7.0 en los biorreactores que se trataron con el nivel bajo de nitrógeno. Los reactores que recibieron el nivel alto de nitrógeno mostraron un descenso del *pH* alcanzando un mínimo de 5.63 en el efluente del biorreactor C2N2K2TRH2PL2 en la segunda etapa experimental. El reactor C2N2K1TRH2PL2 mostró el siguiente valor más bajo de *pH* con 6.25. Los demás biorreactores mantuvieron valores de *pH* superiores a 6.5, alcanzando un máximo de 7.17, por lo que se consideró que operaron en condiciones de neutralidad.

En la zona de la rizosfera de las plantas se presenta un mecanismo que regula el *pH* de la solución del suelo en respuesta a la fuente de nitrógeno disponible. Cuando el *pH* se acidifica, las raíces de la planta consumen el nitrógeno en forma de nitrato que esté disponible, liberando iones OH⁻, con lo que el *pH* tiende a elevarse. Por el contrario, si el *pH* es alcalino, las raíces de la planta consumen el nitrógeno en forma amoniacal que esté disponible, liberando iones H⁺ al medio, generando un descenso en el valor de *pH*.

Debido a que la fuente de nitrógeno que se suministró fue amonio (NH₄⁺) y la generación microbiológica de nitratos se vio limitada por las condiciones de operación (tiempo de residencia hidráulico prolongado, *pH* menor de 7.5), los tratamientos con nivel alto de nitrógeno mostraron una baja sensible en el valor de *pH*.

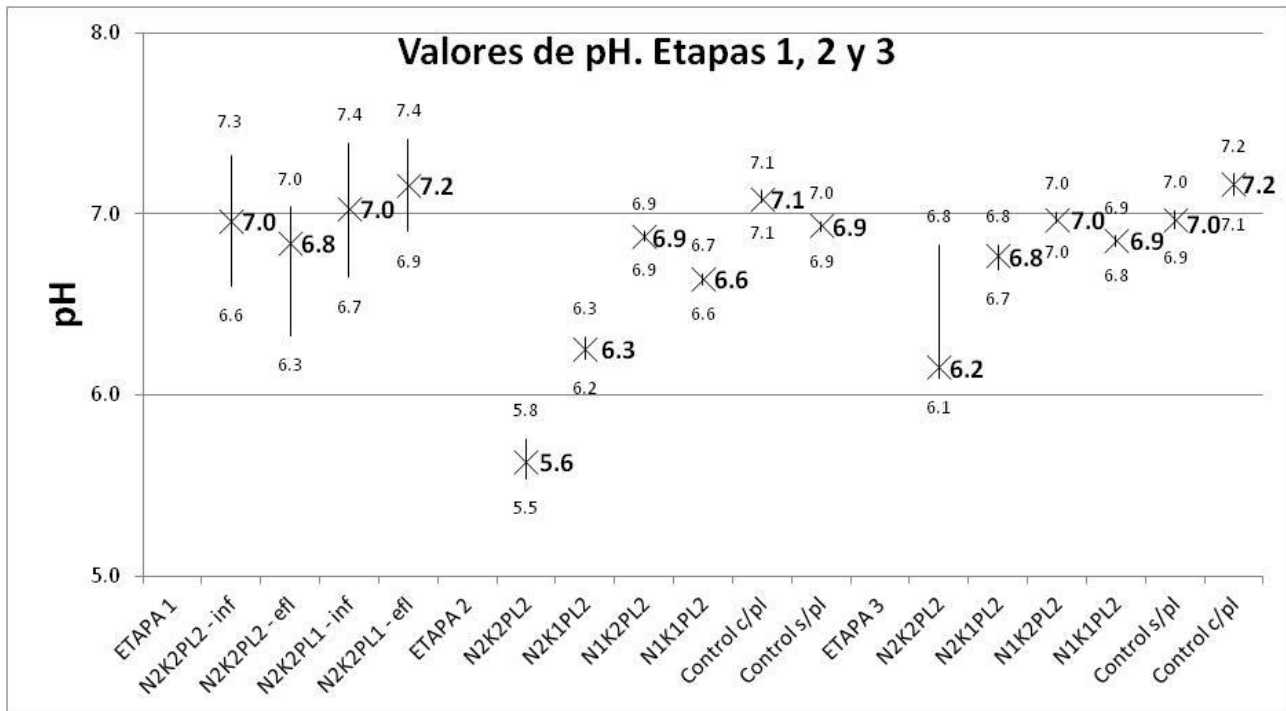


Figura 4.3. Valores de pH para los efluentes de los seis biorreactores en las tres etapas experimentales.

Potenciales redox (E_H)

Se realizaron mediciones de potencial redox en forma puntual y en forma continua en reactores con planta y en reactores sin planta. Durante la primera etapa experimental se colocó un electrodo en el puerto de muestreo para electrodos a una profundidad de 5cm dentro de la columna de agua en un biorreactor con planta y se registraron las lecturas de potencial redox durante cinco días completos a intervalos de 60 segundos. Lo mismo se hizo en un biorreactor sin planta.

Las lecturas mostraron un incremento diurno del potencial redox, con valores más bajos y más estables durante la noche (Figura 4.4).

En el biorreactor con planta se presentó un valor más frecuente de $-6.67mV$ (moda) durante la noche, entre las 23 y las 6 horas del día. Después de las 6 horas el valor del potencial redox comenzó a incrementarse, coincidiendo con el encendido automático de la iluminación, hasta un valor de $+80.0mV$. A partir de las 13 horas el potencial redox volvió a incrementarse hasta un máximo de $+93.3mV$, coincidiendo con las horas más calurosas del día, volviendo a descender a partir de las 15 horas de manera gradual, alcanzando el valor basal de $-6.67mV$ a las 24 horas.

Como se muestra en el gráfico de la Figura 4.4, el incremento en el valor de potencial redox que se da durante las primeras horas a partir del encendido de la iluminación artificial, está relacionado con el inicio del proceso fotosintético y la consiguiente generación y transporte de oxígeno, vía el tejido de aerénquima, hacia la zona de la rizosfera en el biorreactor con planta. El siguiente máximo, que se presenta a partir de las 14:00 horas, parece estar relacionado con el incremento de la temperatura ambiente, como lo sugieren las lecturas de potencial redox en el biorreactor sin planta, cuya lectura máxima también se presenta a las 14:00 horas.

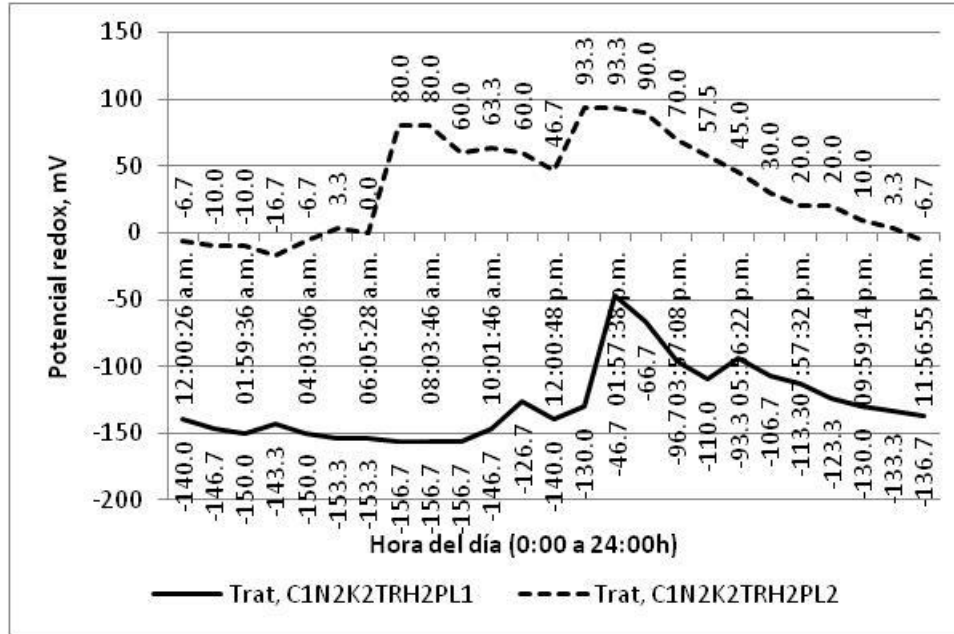


Figura 4.4. Promedios de potenciales redox de cinco días de medición de manera continua en un biorreactor con planta y en uno sin planta.

El biorreactor sin planta presentó un valor más frecuente (moda) de -156.67mV entre la 1:00 y las 10:00 horas. A partir de entonces, el potencial redox se fue incrementando hasta alcanzar un máximo de -46.7mV a las 14:00 horas, coincidiendo con las horas de mayor temperatura. A partir de esa hora el potencial redox fue decreciendo hasta alcanzar nuevamente su valor más frecuente o moda, a las 1:00 horas.

Posteriormente, durante la tercera etapa experimental se realizó una serie de mediciones puntuales del potencial redox en los puertos de muestreo de 5 y 35cm en dos biorreactores, uno con planta y el otro sin planta. En el biorreactor con planta se encontró una diferencia de 162.7mV entre el puerto de muestreo de 5cm y el de 35cm, con un valor máximo de $+58.9\text{mV}$ en la parte más superficial de la columna. Por otra parte, en el biorreactor sin planta se encontró una diferencia de 17.7mV entre el puerto de muestreo de 5cm y el de 35cm, con un valor máximo de -154.6mV en la parte más superficial de la columna.

Estas lecturas mostraron que la actividad biológica de la planta contribuye a mantener condiciones más oxidantes en toda la columna, lo cual favorece la actividad de los microorganismos heterótrofos que utilizan vías metabólicas aerobias para la oxidación de carbohidratos y otros compuestos orgánicos de fácil degradación, en la eliminación de carga orgánica proveniente del agua residual sintética alimentada al sistema y de los exudados de las plantas y la fauna microbiana. Estas condiciones también favorecen el metabolismo autótrofo de las bacterias nitrificantes. En el trabajo reportado por Dusek y col. (2008), se menciona que las lecturas de potencial redox estaban dentro del rango de -400mV a $+800\text{mV}$ entre las profundidades de 0.2 y 0.5m en un humedal construido en la República Checa para el tratamiento de agua residual doméstica proveniente de un hospital, utilizando la especie vegetal *Phragmites australis*, bajo condiciones de luz directa del sol.

Conductividad eléctrica

Se realizaron mediciones de la conductividad eléctrica en los influentes y efluentes de los seis biorreactores. Además, se calculó la concentración molar y la fuerza iónica de las soluciones de

alimentación (agua residual sintética). Los valores de las mediciones y los cálculos mencionados se presentan en el Anexo A, Tabla A.34. Se puede comentar que las soluciones con mayor concentración molar y mayor fuerza iónica fueron la N1K1 y la N1K2, mientras que las soluciones de menor concentración molar y menor fuerza iónica fueron la N2K1 y la N2K2. Las soluciones de alimentación con mayor concentración molar y mayor fuerza iónica dieron lecturas menores de conductividad eléctrica ($CE=783\mu\text{Scm}^{-1}$), y las soluciones de alimentación con menor concentración molar y menor fuerza iónica dieron lecturas mayores de conductividad eléctrica ($CE=838\mu\text{Scm}^{-1}$). Para explicar este comportamiento, se consultó el trabajo de investigación de Vassilev y Russev (1981), en el cual concluyen que la actividad iónica y la conductividad eléctrica de soluciones salinas decrecen al aumentar la concentración de sacarosa.

La conductividad eléctrica de los efluentes no mostró el mismo comportamiento. Aunque cabría esperar un incremento de la conductividad, debida a la concentración de las sales dentro del sistema a consecuencia de la evaporación y evapotranspiración, así como la disminución de la concentración de sacarosa por el consumo de ésta por los microorganismos y plantas dentro del sistema, no en todos los casos fue así.

Alcalinidad

Las relaciones estequiométricas para los procesos biológicos de nitrificación, nitrificación-desnitrificación y oxidación anaerobia de amonio (*annamox*) reportadas por Paredes y col. (2007), son las siguientes:

- Nitrificación: $\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{NO}_3^- + 2\text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$
- Nitrificación-desnitrificación: $4\text{NH}_4^+ + 8\text{O}_2 + 5\text{C} + 4\text{HCO}_3^- \rightarrow 2\text{N}_2 + 9\text{CO}_2 + 10\text{H}_2\text{O}$
- “*Annamox*”: $\text{NH}_4^+ + 1.32\text{NO}_2^- + 0.066\text{HCO}_3^- \rightarrow 1.02\text{N}_2 + 0.26\text{NO}_3^- + 0.66\text{CO}_{0.5}\text{N}_{0.15} + 2.03\text{H}_2\text{O}$

En un trabajo de laboratorio, Liao y col. (2008) encontraron que la máxima actividad del proceso “*annamox*” se daba cuando la concentración de ion bicarbonato era entre 1.0 y 1.5 gL^{-1} en el influente (agua residual sintética), en un reactor secuencial por lotes (*SBR*), manteniendo el *pH* entre 7.5 y 8.3 y la temperatura en 35°C. El nitrógeno se suministró en forma de cloruro de amonio ($\text{NH}_4\text{Cl}=0.268\text{gL}^{-1}$) y nitrito de sodio ($\text{NaNO}_2=0.345\text{gL}^{-1}$).

En el trabajo reportado por Belser (1984), el cultivo de *Nitrosomonas europaea* utilizó 0.0863 μmol de bicarbonato por cada μmol de amonio oxidado; la especie *Nitrospira sp.*, por otro lado, utilizó 0.0868 μmol de bicarbonato por cada μmol de amonio oxidado. En el siguiente paso, el cultivo de *Nitrobacter sp.*, utilizó 0.0236 μmol de bicarbonato por cada μmol de nitrito oxidado.

Haciendo la suposición de que todo el nitrógeno aplicado se consumió por cada una de las tres vías metabólicas mencionadas antes, el consumo de ion bicarbonato habría sido de 20 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (327.8 $\mu\text{molHCO}_3^- \text{L}^{-1}$) y 80 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (1311 $\mu\text{molHCO}_3^- \text{L}^{-1}$) para los niveles de nitrógeno N1 (10 mg-NL^{-1} ó 713.78 $\mu\text{mol-NL}^{-1}$) y N2 (40 mg-NL^{-1} ó 2855.10 $\mu\text{mol-NL}^{-1}$), respectivamente, por la vía de la nitrificación. Para la vía nitrificación-desnitrificación, el consumo de ion bicarbonato habría sido de 10 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (163.88 $\mu\text{molHCO}_3^- \text{L}^{-1}$) y 40 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (655.53 $\mu\text{molHCO}_3^- \text{L}^{-1}$) para los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente. Por la vía de oxidación anaerobia de amonio (*annamox*) el consumo de ion bicarbonato habría sido de 0.66 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (10.82 $\mu\text{molHCO}_3^- \text{L}^{-1}$) y 2.64 $\text{mg-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$ (43.27 $\mu\text{mol-HCO}_3^- \text{L}^{-1}$) para los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente.

De acuerdo con los datos de la Tabla A.33, la alcalinidad determinada experimentalmente, expresada como ion bicarbonato presente en la solución aplicada, fue suficiente para satisfacer los requerimientos estequiométricos en cada uno de los casos, como se presenta en la Tabla 4.4.

Teniendo en consideración que el agua de suministro de la red de agua potable con la que se preparó la solución de alimentación contiene un máximo de alcalinidad de $300\text{mgCaCO}_3\text{L}^{-1}$ ($6.0\text{mmol-HCO}_3^-\text{L}^{-1}$ o 6.0meqL^{-1}), puede apreciarse que aportó la alcalinidad necesaria para la nitrificación en los niveles N1 y N2, respectivamente. Así mismo, aportó la alcalinidad necesaria para el proceso nitrificación-desnitrificación en los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente. Y también suministró la alcalinidad necesaria para el proceso de oxidación anaerobia del amonio (*annamox*) en los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente.

Por otro lado, puede compararse el valor reportado por Belser (1984), para la vía de la nitrificación, que es de $0.1104\mu\text{mol-HCO}_3^-$ por cada $1\mu\text{mol-NH}_4^+$. Los requerimientos de bicarbonato serían entonces de 61.16 y $244.55\mu\text{mol-HCO}_3^-\text{L}^{-1}$ para los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente. En este caso el aporte de alcalinidad por el agua de suministro también sería suficiente para los niveles de nitrógeno N1 y N2, respectivamente.

Tabla 4.4. Alcalinidad determinada en los efluentes de seis biorreactores a los 584 días de operación del sistema.

Tratamiento	Alcalinidad meqL ⁻¹ (pH _{final} =4.5)	*Bicarbonato (mmolHCO ₃ ⁻ L ⁻¹)	pH inicial
N2K2TRH1PL2	0.80±0.07 (39.870)	0.80	6.15±0.06
N2K1TRH1PL2	1.61±0.04 (80.573)	1.61	6.77±0.07
N1K2TRH1PL2	1.71±0.02 (85.411)	1.71	6.97±0.03
N1K1TRH1PL2	1.46±0.04 (72.900)	1.46	6.85±0.03
N1K1TRH1PL1	1.61±0.01 (80.740)	1.61	6.97±0.04
Control s/planta			
N0K0TRH1PL2	0.87±0.01 (43.706)	0.87	7.17±0.05
Control c/planta			

* La alcalinidad expresada como ion bicarbonato (HCO₃⁻)

Nota: Los valores entre paréntesis en mgCaCO₃L⁻¹

De acuerdo con el análisis realizado acerca del requerimiento de alcalinidad para los procesos de eliminación de nitrógeno, puede comentarse que el sistema no se vio limitado en el aporte de iones bicarbonato. Los datos de la Tabla 4.4 muestran que los efluentes de los biorreactores aún contenían alcalinidad residual, lo cual concuerda con el cálculo teórico comentado arriba.

4.4. Remoción de la carga orgánica

El principal objetivo en este trabajo fue evaluar la eficiencia del sistema de humedal artificial en la remoción de contaminación orgánica en función de la adición de nutrientes, nitrógeno y potasio, que mejorando la nutrición de la parte vegetal, pudiera proporcionar mejores condiciones para la degradación biológica de los contaminantes. Para eso se establecieron y se operaron seis biorreactores a

escala de laboratorio. Cuatro reactores con planta se utilizaron para aplicar dos niveles de nitrógeno y dos niveles de potasio en la solución de alimentación (agua residual sintética); otro reactor se alimentó con los niveles bajos de nitrógeno y potasio pero sin vegetación, para comparar su eficiencia con el reactor correspondiente manejado con vegetación; un reactor más se manejó con vegetación y se alimentó con agua de la red de suministro de agua potable, pero sin nutrientes y sin contaminación orgánica (sacarosa). Este último tratamiento proporcionó información sobre la cantidad de materia orgánica que la parte vegetal pone en solución, como una contaminación orgánica de fondo que el sistema genera.

La Tabla 4.5 muestra los valores de *DQOs* obtenidos en los efluentes de los biorreactores durante las tres etapas de experimentación. En la primera etapa la *DQOs* en el efluente resultó relativamente alta, tanto en los reactores sin planta ($53.92 \pm 29.95 \text{mgO}_2\text{L}^{-1}$) como en los reactores con planta ($38.15 \pm 7.69 \text{mgO}_2\text{L}^{-1}$). En la segunda etapa experimental los valores de *DQOs* efluente disminuyeron con respecto a la etapa anterior. Durante la tercera etapa experimental se obtuvieron los valores más bajos para esta variable. Esto se puede asociar en principio, con el crecimiento de la vegetación en el sistema (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Demanda química de oxígeno efluente para cada biorreactor en las tres etapas de experimentación ($\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$).

Biorreactor	Etapas 1	Etapas 2	Etapas 3
N2K2PL2	38.15 ± 7.69	36.062 ± 13.906	8.058 ± 1.299
N2K1PL2	N/A	27.961 ± 16.739	22.336 ± 1.919
N1K2PL2	N/A	10.943 ± 7.591	26.803 ± 2.865
N1K1PL2	N/A	23.248 ± 6.987	10.161 ± 1.299
N1K1PL1	N/A	22.748 ± 21.120	26.277 ± 2.017
N2K2PL1	53.92 ± 29.95	N/A	N/A
N0K0PL2	N/A	10.991 ± 16.272	1.226 ± 0.876

N/A, no aplica. En la etapa 1 sólo se aplicó un nivel de nitrógeno y uno de potasio
 \pm desviación estándar (DE)

Durante la segunda etapa experimental se encontró que el promedio de *DQOs* efluente entre los biorreactores tratados con el nivel de nitrógeno alto fue significativamente mayor ($p=0.0360$) que en los biorreactores con nivel bajo ($\alpha=0.05$). Para los niveles de potasio y para las interacciones no se detectó diferencia significativa.

En la tercera etapa experimental se obtuvieron los valores más confiables (menor desviación estándar) para concluir acerca de la hipótesis planteada. En esa etapa, los biorreactores que mostraron mayor eficiencia fueron el N2K2 y el N1K1. Este comportamiento se asoció con las relaciones N:K en cada caso. Los tratamientos con las mayores eficiencias, N2K2 y N1K1, tuvieron las relaciones 1:0.775 y 1:0.5 respectivamente, mientras que los tratamientos con menor eficiencia, N2K1 y N1K2, tuvieron las relaciones N:K 1:0.125 y 1:3.1, respectivamente. Esto indicó que un balance más homogéneo de estos nutrientes proporciona mejores condiciones para la degradación de la materia orgánica en el sistema. Esto se pudo relacionar también con el desarrollo de la parte vegetal, ya que la biomasa cosechada para el tratamiento N2K2 (133.5g) fue la mayor, seguida por la cantidad de biomasa cosechada en el tratamiento N1K1 (35.7g), como se comenta en el apartado A.3.2 (nitrógeno amoniacal).

Cuando se compararon los promedios de *DQOs* para los biorreactores N1K1 con planta y sin planta, se observó que existe diferencia significativa entre ambos tratamientos ($p= 3.8327 \times 10^{-7}$). La mayor

eficiencia observada en el reactor con vegetación para esta combinación de nutrientes estaría relacionada con la presencia de la planta.

Por otro lado, se observó también que el reactor control con planta, que no recibió aporte de nutrientes, generó una concentración de $1.2\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como *DQOs* a la salida del sistema. Esta cantidad de materia oxidable se atribuye a la emisión de exudados por los tejidos subterráneos de las plantas, lo que sería la *DQOs* de fondo del sistema, cuando no está siendo alimentado con una corriente de agua contaminada.

4.5. Remoción de nitrógeno

El segundo contaminante del medio acuático que se siguió en este trabajo fue el nitrógeno, por su interés ambiental. Este elemento se alimentó en forma amoniacal (NH_4^+) en dos niveles ($\text{N1}=10\text{mg-NL}^{-1}$ y $\text{N2}=40\text{mg-NL}^{-1}$) en el agua residual sintética.

La eficiencia de remoción de nitrógeno disminuyó a medida que avanzó la experimentación. Durante la primera etapa experimental la eficiencia de los biorreactores con planta fue de 97.7%, durante la segunda etapa, la eficiencia promedio de los cuatro tratamientos con planta y nutrientes fue de 68.55% y, durante la tercera etapa, la eficiencia promedio llegó a 55.28%. Parte de la eficiencia del sistema se asoció con la actividad microbiana, por la vía nitrificación-desnitrificación y a la asimilación de una parte de este nutriente. Otra parte se debe a la extracción y asimilación por parte de la planta, aunque la remoción de nitrógeno por esta vía puede no ser representativa en comparación con los procesos microbiológicos, como se comenta en el apartado 4.8, más adelante. Se supone que el material de empaque de los biorreactores tiene cierta capacidad de retención de cationes, la cual se ve incrementada a medida que se acumulan sólidos producidos por la actividad microbiológica; sin embargo, la capacidad de intercambio de cationes es limitada y llegó a saturarse hacia el final de la experimentación. Cabe mencionar que la retención de los iones amonio establecería un equilibrio dinámico, reteniendo los cationes pero manteniéndolos disponibles para su utilización por la población bacteriana y por las raíces de la planta. Este equilibrio evita la saturación temprana del sistema, pero debido a que la concentración de nitrógeno aplicada es elevada, el sistema termina por saturarse con este catión, propiciando que el efluente arrastre consigo la mayor parte del nitrógeno disuelto dentro del sistema. Los datos muestran también que el carbono disponible estaba prácticamente agotado en la tercera etapa experimental, por el valor de *DQOs* medido en el efluente. Esta condición limitó el proceso de reducción biológica del nitrógeno a partir de nitratos, lo cual fue un factor más que contribuyó a bajar la eficiencia de remoción de nitrógeno en la tercera etapa experimental.

En la Tabla A.1 puede verse que los efluentes de los dos tratamientos de la primera etapa experimental cumplirían con la concentración de nitrógeno que marca la NOM-001-SEMARNAT-1996 para descarga de agua residual sin tratamiento en ríos para la conservación de la vida acuática, que es de 15mg-NL^{-1} para el promedio mensual y 25mg-NL^{-1} para el promedio diario. Los datos para la segunda etapa experimental (Tabla 4.6) muestran que uno de los efluentes, el del biorreactor N2K1PL2 ya no estaría cumpliendo con la NOM mencionada ya que la concentración de nitrógeno de 20.32mg-NL^{-1} se da de manera sostenida y rebasaría el valor promedio mensual. Hacia la tercera etapa experimental ya serían dos los biorreactores que estarían incumpliendo con la NOM mencionada, el biorreactor N2K2PL2 y el N2K1PL2, con 22.05 y 21.89mg-NL^{-1} en el efluente respectivamente. Cabe hacer la observación de que las soluciones de alimentación con el nivel bajo de nitrógeno cumplen con los límites establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996 para nitrógeno, aún sin haberse sometido al proceso de tratamiento biológico.

Durante las etapas experimentales 2 y 3, los biorreactores que mostraron las mayores eficiencias para remoción de nitrógeno fueron los que se alimentaron con el nivel bajo de nitrógeno. Esto indicaría que aunque el nitrógeno removido, en términos de masa, haya sido mayor en los tratamientos con el nivel alto de nitrógeno, los tratamientos que recibieron el nivel bajo fueron capaces de entregar un efluente de mejor calidad.

En las Tablas 4.6 y A.1 puede verse que la nitrificación biológica estuvo presente al inicio de la experimentación y parte del nitrógeno de salida en la primera etapa experimental se obtuvo en forma de nitratos. En la segunda etapa experimental la nitrificación se restringió a las partes media y alta de los reactores, como puede verse en los datos de las Tablas A.17, A.18, A.19 y A.20. El nitrógeno de nitratos prácticamente desapareció de los efluentes de los biorreactores hacia la tercera etapa experimental, como puede verse en las Tablas A.29, A.30 y A.31.

Como se ha mencionado antes, la nitrificación requiere de algunas condiciones que no estuvieron presentes en los biorreactores manejados en este trabajo. Aunque la alcalinidad presente fue suficiente estequiométricamente para cubrir los requerimientos del proceso, de acuerdo con los niveles de nitrógeno suministrado, otros factores limitaron la nitrificación. El *pH* óptimo para el proceso está entre 7.5 y 8.5, mientras que la solución suministrada tenía *pH* de 7.0 y la actividad microbológica y vegetal causó un descenso en el valor de este parámetro. Otro factor adverso para el proceso fue el tiempo de residencia hidráulico, que en este trabajo fue más prolongado de lo necesario para las especies bacterianas nitrificantes.

Tabla 4.6. Concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitratos y nitritos en los efluentes de los biorreactores. Eficiencia de remoción de nitrógeno (fracción) en función de las concentraciones de entrada y salida del sistema.

Trat	ETAPA 2					ETAPA 3				
	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Total	Ef.	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Total	Ef.
N2K2PL2	10.04 (±0.29)	0	0	10.04	0.749	22.05 (±7.46)	0	0	22.05	0.449
N2K1PL2	20.08 (±6.96)	0	0.24	20.32	0.492	21.89 (±11.0)	0	0.03	21.92	0.452
N1K2PL2	3.48 (±2.14)	0	0	3.48	0.652	4.15 (±3.27)	0	0	4.15	0.585
N1K1PL2	0.37 (±0.17)	1.14	0	1.51	0.849	2.75 (±1.23)	0	0	2.75	0.725
N1K1PL1	3.48 (±2.14)	0	0	3.48	0.652	2.52 (±4.10)	0	0	2.52	0.748
NOK0PL2	0	1.14	0	1.14	N/A	0.10 (±0.22)	0.1	0	0.11	N/A

N/A= no aplica, en el reactor control con planta no se aplicó nitrógeno

Los valores entre paréntesis muestran la desviación estándar

Ef= eficiencia (fracción)

4.6. Las relaciones C:N en la respuesta del sistema a la carga orgánica aplicada

La relación carbono:nitrógeno que en circunstancias específicas puede tener influencia sobre la mayor o menor tasa de degradación por la actividad microbiana, parece no haber sido un factor limitante en la degradación de la carga orgánica bajo las condiciones en las que se manejaron los biorreactores (Tabla

4.7). Como se comenta adelante, la relación N:K y el rendimiento de biomasa del sistema fueron los factores que en mayor medida afectaron la eficiencia de remoción de materia orgánica, así como también afectaron la eficiencia de remoción de nitrógeno.

4.7. Las relaciones N:K en la respuesta del sistema a la carga orgánica aplicada

La remoción de carga orgánica y de nitrógeno que realiza el sistema en estudio se lleva a cabo principalmente por procesos biológicos que realizan los microorganismos y las plantas. Por ello se trata de proporcionar las condiciones ideales para que estos organismos puedan remover los materiales contaminantes de la manera más eficiente posible. La carga orgánica suministrada en forma de sacarosa (C₁₂H₂₂O₁₁) es utilizada en su mayoría en el metabolismo energético de las bacterias heterótrofas, una parte en los procesos de nitrificación y también hay un consumo de esta sustancia por la planta, que bajo estas condiciones puede disminuir su dependencia del carbono fijado mediante fotosíntesis para sus procesos anabólicos.

En los resultados del presente trabajo se observó que bajo algunas condiciones de balance de nutrientes es posible obtener mayores eficiencias de degradación de la materia orgánica y de remoción de nitrógeno, como puede verse en la Tabla 4.8.

Tabla 4.7. Datos de la *DQOs* de los efluentes indicando la relación carbono:nitrógeno (en masa), así como la fracción removida del sistema, en la tercera etapa experimental.

Tratamiento	Promedio (mgO ₂ L ⁻¹) ±DE	Relación C:N		Fracción removida
		Masa	Molar	
C3N2K2TRH1PL2	8.058 (±1.299)	2.8:1	3.27:1	0.973
C3N2K1TRH1PL2	22.336 (±1.919)	2.8:1	3.27:1	0.925
C3N1K2TRH1PL2	26.803 (±2.865)	11.1:1	25.94:1	0.910
C3N1K1TRH1PL2	10.161 (±1.299)	11.1:1	25.94:1	0.966
Control s/pl (C3N2K1TRH1PL1)	26.277 (±2.017)	11.1:1	25.94:1	0.911
Control c/pl (C0N0K0TRH1PL2)	1.226 (±0.876)	N/A	N/A	N/A
Influyente	296.0 (±3.978)	N/A	N/A	N/A

Los resultados para la tercera etapa experimental sobre remoción de carga orgánica medida como *DQOs* mostraron que las relaciones N:K intermedias (1:0.500 y 1:0.775) fueron las más eficientes, mientras que las relaciones N:K extremas (1:0.125 y 1:3.1) mostraron menores eficiencias en remoción de materia orgánica carbonosa. El mismo comportamiento se observó en la remoción de nitrógeno durante la segunda etapa experimental. En estos casos, las eficiencias de remoción de contaminantes más elevadas, estuvieron relacionadas con el mayor crecimiento vegetal como lo muestran las biomásas determinadas para cada uno de los reactores (Tabla 4.8).

Durante la tercera etapa experimental la eficiencia de remoción de nitrógeno para los biorreactores que se trataron con el nivel alto de nitrógeno, N2K1 y N2K2, disminuyó con respecto a la segunda etapa experimental, como puede verse en la Tabla 4.8. Esta menor capacidad para remover nitrógeno

amoniaco se atribuyó a que los sitios de intercambio disponibles para la adsorción de los iones amonio quedaron saturados, pero también a que el proceso biológico de nitrificación-desnitrificación dejó de funcionar por la elevada carga orgánica y el limitado aporte de oxígeno, que era consumido por microorganismos heterótrofos, sin poder suministrar oxígeno al proceso de nitrificación. Además, como se mencionó anteriormente, el *pH* era más bajo del óptimo y el tiempo de residencia hidráulico era más prolongado de lo que el proceso de nitrificación requiere.

Tabla 4.8. Concentraciones de carga orgánica como *DQO* en entrada y salida durante la etapa 3 y concentraciones de nitrógeno en entrada y salida durante las etapas 2 y 3.

Tratamiento	Relación N:K y biomasa (g)	<i>DQO</i> - entrada (mg-O ₂ L ⁻¹)	<i>DQO</i> - salida (mgO ₂ L ⁻¹) Etapa 3	N-entrada (mg-NL ⁻¹)	N-salida (mg-NL ⁻¹) Etapa 2	N-salida (mg-NL ⁻¹) Etapa 3
C3N2K2TRH1PL2	1:0.775 (133.5)	296	8.058±1.299 (0.973)	40	9.84 (0.754)	22.05±7.46 (0.4488)
C3N2K1TRH1PL2	1:3.100 (20.6)	296	22.336±1.919 (0.925)	40	20.32 (0.498)	21.89±11.00 (0.4528)
C3N1K2TRH1PL2	1:0.125 (2.3)	296	26.803±2.865 (0.910)	10	3.48 (0.652)	4.15±3.27 (0.5850)
C3N1K1TRH1PL2	1:0.500 (35.7)	296	10.161±1.299 (0.966)	10	1.51 (0.849)	2.75±1.23 (0.7250)
C3N1K1TRH1PL1	1:0.500	296	26.277±2.017 (0.911)	10	3.48 (0.652)	2.52±4.10 (0.7480)
C0N0K0TRH1PL2	N/A	0	1.226±0.876	0	1.14	0.10±0.22

Los valores entre paréntesis corresponden a biomasa vegetal para la primera columna y eficiencia expresada como fracción en las columnas tercera, quinta y sexta

4.8. Los flujos de nitrógeno propuestos en el sistema

Las técnicas de laboratorio empleadas en este trabajo, permiten identificar algunas de las vías metabólicas por las que se transforma el nitrógeno suministrado en forma amoniaco (NH_4^+) dentro del sistema de humedales para el tratamiento de agua residual con materia carbonosa y nitrogenada. La formación de nitritos y nitratos, principalmente durante las dos primeras etapas de experimentación, indica que la vía de oxidación de amonio por bacterias autótrofas estaba presente dentro del sistema. Las bajas concentraciones de nitratos en los efluentes durante las dos primeras etapas experimentales y su desaparición en la tercera etapa, indican que había un proceso de desnitrificación, ya que el sistema podría suministrar materiales carbonosos para llevar a cabo la reducción biológica, como lo indican los valores de *DQO* remanente en los efluentes. Sin embargo, otra vía que posiblemente estaba activa era la asimilación reductiva hacia la biomasa bacteriana. Por su parte, la vegetación presente en los biorreactores tenía la capacidad de absorber el nitrógeno suministrado en forma amoniaco, pero también era capaz de tomarlo en forma de nitratos. De cualquier manera se considera que la cantidad de nitrógeno tomado por la vegetación sería baja, comparada con la cantidad que puede ser procesada por la biomasa bacteriana mediante la vía nitrificación-desnitrificación.

Si se considera que el tejido vegetal puede contener 0.5% de nitrógeno (Bidwel, 1979), las cantidades de nitrógeno acumuladas en la biomasa cosechada serían de 66.8, 10.3, 1.2 y 17.85mg-N para los tratamientos N2K2, N2K1, N1K2 y N1K1, respectivamente, mientras que las cantidades diarias que ingresaron al sistema durante la tercera etapa experimental fueron 36.8 y 9.2mg-N para los niveles alto (N2) y bajo (N1) respectivamente y la mitad de estas cantidades ingresaba al sistema durante las etapas uno y dos.

4.9. El potencial redox y las especies químicas encontradas en el sistema

Los potenciales redox medidos en los diferentes reactores mostraron que dentro de las columnas con planta prevalecían condiciones oxidantes (+93.3mV) a ligeramente reductoras (-103.8mV), y en las columnas sin planta también condiciones oxidantes (-6.7mV) a ligeramente reductoras (-172.3mV), como se puede ver en la Figura 4.4 y Tablas A.2 y A.3.

Aunque la mayoría de las reacciones biológicas no se llevan a cabo en el medio extracelular, los valores mencionados pueden servir como una referencia sobre las condiciones en que estuvieron inmersos los organismos dentro del sistema. La Tabla A.24, muestra algunos valores de potencial redox para reacciones de importancia biológica. Pueden mencionarse como ejemplos, que la reacción del nitrato como aceptor de electrones tiene un potencial redox de +420mV; cuando el sulfato actúa como aceptor de electrones, la reacción tiene un potencial redox de +480mV; cuando es el oxígeno el aceptor de electrones, la reacción tiene un potencial redox de +815mV. Por otro lado, cuando el hidrógeno actúa como aceptor de electrones, que es una reacción importante para las bacterias anaerobias, la reacción tiene un potencial redox de -421mV. Las células bacterianas y las células vegetales tienen mecanismos bioquímicos para generar zonas dentro de vesículas o en los alrededores de los sitios activos de las enzimas con condiciones propicias para cada una de las reacciones que se requieren en su metabolismo, de modo que las reacciones mencionadas antes pueden llevarse a cabo aunque el potencial redox del medio exterior no sea el mismo que la reacción genera.

4.10. La actividad microbiológica en el sistema

Los mecanismos de remoción de materia orgánica carbonosa y de compuestos nitrogenados contenidos en el agua residual sintética son principalmente de tipo microbiológico, como se ha mencionado antes. Durante la segunda etapa experimental se realizó un experimento en el que se trató de evaluar la magnitud relativa de la actividad microbiológica dentro de los seis biorreactores. El experimento consistió en añadir 2.5g de sacarosa a cada una de seis muestras de 100mL de efluente e incubarlas a temperatura ambiente durante cuatro días. Enseguida se procedió a secar las muestras en charolas de aluminio a 103°C durante 24h. Posteriormente, se pesaron las charolas con residuo y se restó la masa inicial de la charola. Los resultados obtenidos se pueden ver en la Tabla A.21.

Los datos muestran que el mayor consumo de sacarosa se dio en los reactores con niveles altos de nitrógeno (N2) al consumirse 0.275g de sacarosa, mientras que en los tres reactores con el nivel bajo de nitrógeno (N1) el consumo por muestra fue de 0.040g de sacarosa. En el reactor control con planta (C0N0K0) el consumo de sacarosa fue de 0.030g. Como se comenta en el apartado A.2.5 (resultados para degradación de sacarosa), se realizó un análisis de varianza de dos vías para las cuatro muestras del experimento con modelo estadístico $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \varepsilon$ (Tabla A.22), encontrándose que hay diferencia significativa para el factor nitrógeno ($p=0.0002$) pero no para el factor potasio ($p=0.7181$) ni para la interacción ($p=0.4643$), con significancia de $\alpha=0.05$. Por otro lado, se compararon estadísticamente los promedios para los dos biorreactores control, encontrándose que no son estadísticamente diferentes ($p=0.5166$).

Se consideró que los resultados de este experimento muestran que hay un efecto importante del nitrógeno remanente en los efluentes de los biorreactores con el nivel alto de nitrógeno sobre el desarrollo de los microorganismos, en presencia de una fuente de carbono. Sin embargo, no se considera que reflejen la diferencia relativa de poblaciones de microorganismos entre las diferentes muestras, por lo que los resultados no fueron de utilidad en este aspecto.

Considerando, sin embargo, que la alimentación de sacarosa a los biorreactores durante la segunda etapa experimental fue de 0.1237g por día ($0.0334\text{gL}^{-1}\text{d}^{-1}$) y la eficiencia de remoción de materia orgánica

carbonosa, medida como *DQOs* (Tabla A.12), se calculó que las muestras de efluente con nivel alto de nitrógeno (niveles alto y bajo de potasio), consumieron 136.13 y 121.34 veces más sacarosa, respectivamente, que las columnas correspondientes al tratamiento. Por su parte, las muestras incubadas de los biorreactores que se trataron con el nivel bajo de nitrógeno (niveles alto y bajo de potasio) consumieron 9.62 y 19.52 veces más sacarosa que los biorreactores donde se tomaron las muestras (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Sacarosa consumida por muestras de efluente comparado con la sacarosa consumida por los biorreactores. Basado en datos de las Tablas A.12 y A.21.

Tratamiento	(1) Sacarosa consumida por muestras de efluente (gL ⁻¹ d ⁻¹)	(2) Sacarosa consumida por los biorreactores (gL ⁻¹ d ⁻¹)	Relación (1) / (2)	Concentración inicial de nitrógeno amoniacal (mg-NL ⁻¹)
C2N2K2TRH2PL2	0.6750±0.45	0.00496	136.13	10.04±0.29
C2N2K1TRH2PL2	0.7125±0.23	0.00587	121.34	20.08±6.96
C2N1K2TRH2PL2	0.0750±0.10	0.00779	9.62	3.48±2.14
C2N1K1TRH2PL2	0.1250±0.11	0.00640	19.52	0.37±0.17
C2N1K1TRH2PL1 Control sin planta	0.2000±0.29	0.00664	30.10	3.48±2.14
CONOK0TRH2PL2 Control con planta	0.0750±0.06	N/A		0

Sin embargo, en las aguas residuales municipales no se encuentra disponible una cantidad tan grande de materia orgánica carbonosa, ni tampoco es tan fácilmente asimilada por los microorganismos, como sucede con las muestras incubadas para este experimento.

Los resultados reflejaron que el nitrógeno suplementado, tiene un efecto muy importante promoviendo la degradación de la materia orgánica carbonosa dentro del sistema por la población microbiana residente.

4.11. La parte vegetal en el sistema

Crecimiento y rendimiento de biomasa vegetal

Al inicio de la experimentación se realizaron mediciones de altura de planta y área foliar. Con estos datos, se calculó la constante de proporcionalidad para un modelo exponencial. Debido a que la biomasa es una variable que sólo se puede medir de forma destructiva, se utilizó la constante de la ecuación de la variable altura de planta para calcular la biomasa inicial y para estimar las biomásas en las etapas intermedias (Tabla 4.10). El modelo exponencial proporcionó un buen ajuste ($R^2=0.9948$ para altura de planta y $R^2=0.9907$ para área foliar) para los datos obtenidos en este experimento.

Crecimiento vegetal en relación con la remoción de contaminación orgánica

Los resultados obtenidos en las determinaciones de demanda química de oxígeno en los efluentes de los biorreactores para la tercera etapa experimental se pueden relacionar con el rendimiento de biomasa vegetal (Tabla 4.10), ya que las mayores eficiencias se corresponden con los mayores rendimientos de biomasa ($R^2=-0.7924$).

También puede apreciarse en la Figura 4.5 que las mayores eficiencias para los cinco biorreactores considerados, se obtuvieron en la tercera etapa experimental. Se obtuvieron eficiencias intermedias en la segunda etapa y las menores eficiencias se obtuvieron en la primera etapa experimental.

Tabla 4.10. Biomasa vegetal estimada para cada etapa experimental utilizando el modelo exponencial de crecimiento para altura de planta ($Biomasa = Biomasa(0) \cdot \exp^{(0.0083 \cdot t)}$).

Tiempo	Biomasa estimada y final por tratamiento (g)			
	N2K2	N2K1	N1K2	N1K1
Inicial	1.061	0.164	0.018	0.284
Etapa 1 (259 días)	9.056	1.397	0.156	2.422
Etapa 2 (428 días)	36.692	5.662	0.632	9.812
Etapa 3 (584 días)	133.500	20.600	2.300	35.700
DQOs efluente (mgO_2L^{-1}). Etapa 3 (584 días)	8.1 (0.977)	22.3 (0.936)	26.8 (0.923)	10.2 (0.971)
Nitrógeno efluente ($mg-NL^{-1}$). Etapa 2 (428 días)	9.84 (0.754)	20.08 (0.498)	3.48 (0.652)	0.37 (0.849)

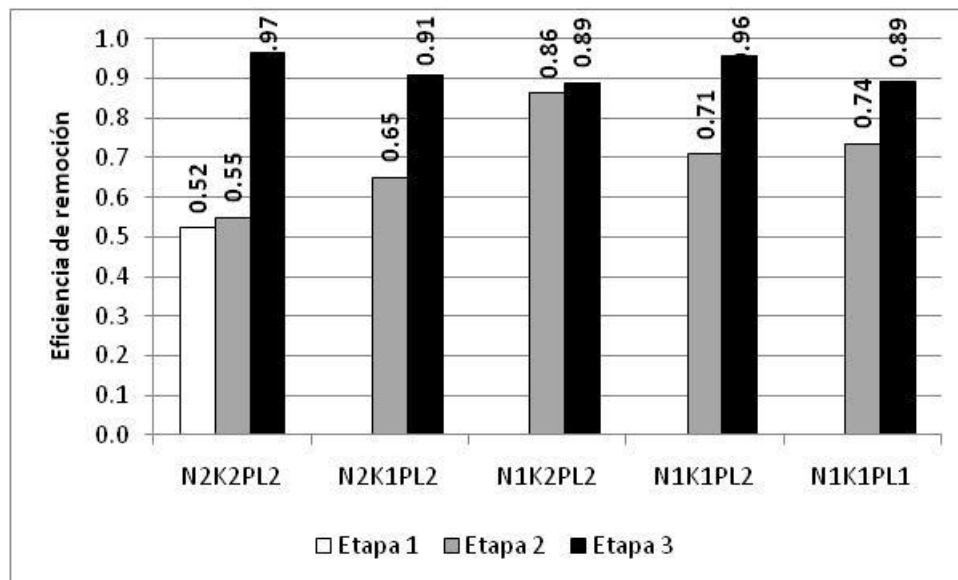


Figura 4.5. Eficiencias de remoción de contaminación orgánica, $(1 - (DQOs/DQO_T))$ durante las tres etapas experimentales.

Crecimiento vegetal en relación con la remoción de nitrógeno

La remoción de nitrógeno por los biorreactores durante la segunda etapa experimental se pudo correlacionar con el crecimiento de biomasa vegetal, obteniéndose mayores eficiencias de remoción para este contaminante en los biorreactores con mayor rendimiento de biomasa. Sin embargo, en este caso, el coeficiente de correlación obtenido tuvo un valor muy bajo ($R^2=0.3982$) debido a que el mayor rendimiento de biomasa no se correspondió con la mayor eficiencia de remoción de nitrógeno y tampoco el rendimiento menor de biomasa se correspondió con la menor eficiencia de remoción.

La vegetación del sistema en relación con el potencial redox

Las determinaciones de potencial redox realizadas en dos biorreactores, uno con planta y el otro sin planta, como se muestran en la Figura 4.4, muestran que la actividad biológica de la planta ayudó a

mantener condiciones más oxidantes en la parte superficial del biorreactor (moda=-6.67mV), además de que durante la parte del día en que se mantuvo la iluminación del sistema el potencial redox se incrementó hasta un máximo de +93.3mV. En el biorreactor sin planta, el potencial redox se mantuvo más bajo (moda=-156.67mV), alcanzando un máximo de -46.7mV durante las horas más cálidas del día, bajo iluminación artificial.

4.12. Discusión general

El presente trabajo reporta los resultados experimentales obtenidos en el tratamiento de agua residual sintética a la que se añadieron componentes en solución de los grupos químicos representativos de un agua residual municipal promedio. Las concentraciones de estos contaminantes fueron revisadas para que también estuvieran dentro de los intervalos habituales de agua residual de origen doméstico. La carga orgánica se adicionó en forma de sacarosa, un disacárido de fácil digestión para la mayoría de los microorganismos heterótrofos que habitan en los sistemas de tratamiento de agua residual y que se adicionó en forma de solución, que se alimentó como la fuente de carbono orgánico disuelto (*COD*). También se agregaron nutrientes de importancia medioambiental que se encuentran restringidos por la normativa mexicana, en particular el nitrógeno y el fósforo.

En el trabajo realizado se midió la evaporación en biorreactores sin planta y la evapotranspiración en biorreactores con planta bajo las mismas condiciones de temperatura y humedad del aire, encontrando que la evapotranspiración puede ser hasta cuatro veces mayor que la evaporación. Los procesos de evaporación y evapotranspiración del agua en los humedales artificiales han sido abordados en numerosas investigaciones (El Hamouri y col., 2007; Salzman y col., 2001) y se ha encontrado que contribuyen de manera significativa en el abatimiento del volumen de agua entre el influente y el efluente. A su vez, el proceso de evapotranspiración es un fenómeno ampliamente estudiado en el ámbito de los ecosistemas naturales y agrícolas (Alkaeed y col., 2006).

Aspectos como la superficie de terreno necesaria y el análisis de costos no se desarrollaron en este trabajo. Esto debido a que se trabajó en condiciones de laboratorio donde las condiciones de iluminación y las restricciones del espacio para el crecimiento vegetal hacen que la tasa fotosintética y la tasa de fijación de CO_2 por unidad de superficie sean menores a las que se presentan bajo condiciones de intemperie, donde la intensidad lumínica puede alcanzar 150000 Lux, mientras el trabajo se realizó con una intensidad lumínica máxima de 4350 Lux.

En el presente trabajo se construyeron biorreactores de flujo vertical pero no se intercalaron pasos de flujo horizontal y el flujo vertical fue en un solo paso. El trabajo de El Hamouri y col. (2007), ilustra el uso de un sistema de humedales en combinación con un sistema intensivo de tratamiento previo, un biorreactor anaerobio, en el tratamiento de agua residual municipal. Ellos utilizaron la llamada configuración francesa o híbrida, en la que las celdas de tratamiento alternan flujo subsuperficial horizontal con flujo vertical, lo que incrementa la eficiencia de remoción de nitrógeno. Cabe hacer la observación sobre la eficiencia de remoción de materia orgánica, medida como *DQOs*, obtenida en el reporte mencionado, que fue de 80.5% en promedio (partiendo de un nivel inicial de $220\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), mientras que en el presente trabajo, la eficiencia promedio fue de 94.4% (partiendo de un nivel inicial de $296\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$) para el mismo parámetro. También resulta interesante observar que las eficiencias de remoción de nitrógeno total y nitrógeno amoniacal fueron de 9.5 y 8.5% respectivamente, mientras que en el presente trabajo se obtuvieron mayores eficiencias en remoción de nitrógeno, aunque se observó un sensible descenso en la eficiencia hacia la tercera etapa experimental (ver Tabla 4.6), que se atribuyó a la saturación de sitios de intercambio, particularmente para el ion amonio (NH_4^+), asociado con el tiempo de operación del sistema al aproximarse a la madurez (Tanner y col., 2001).

En este trabajo se estimó también que las cantidades de nitrógeno acumuladas en la biomasa cosechada fueron de 66.8, 10.3, 1.2 y 17.9mg-N para los biorreactores N2K2, N2K1, N1K2 y N1K1 respectivamente, mientras que durante la tercera etapa experimental ingresaban al sistema 36.8 y 9.2mg-N por día para los niveles alto (N2) y bajo (N1) de nitrógeno respectivamente. Una observación similar se hizo en el trabajo de Chi y col. (2004), en el que se comenta que la especie vegetal utilizada en el sistema de humedales, *Eichornia crassipes*, realizó una mínima parte de la remoción total de contaminantes.

En la presente investigación se midieron valores de potencial redox de +93.3 y -6.7mV para los puertos de muestreo de 5 y 35cm, respectivamente. Por su parte, Park y col. (2008), determinaron las cantidades de contaminantes hidrofílicos e hidrofóbicos retenidos dentro de un sistema de humedales artificiales utilizado para el pulimiento del efluente de una planta de tratamiento de agua residual, utilizando resinas sintéticas, lo cual no se realizó en el presente trabajo, pero se comenta que la adsorción es uno de los mecanismos que intervinieron en la remoción de los contaminantes. Estos autores encontraron potenciales redox de +480, +186 y +570mV en el influente de una celda con *Typha* y una celda con *Achorus*, respectivamente. Es importante tener en consideración que la mayor intensidad lumínica que reciben las plantas expuestas a la iluminación directa del sol ayuda a intensificar la fotosíntesis y contribuye a mantener condiciones más oxidantes en la zona de la rizosfera, por el mayor aporte de oxígeno y de materiales energéticos (reducidos) como ATP, NADPH, NADH, carbohidratos, entre otros, en comparación con plantas creciendo bajo iluminación artificial únicamente.

A lo largo de la presente investigación se realizaron mediciones de los potenciales redox en los puertos de muestreo de 5 y 35cm de profundidad. En lecturas puntuales se encontró una diferencia de 162.7mV entre los puertos de muestreo de 5 y 35 cm de profundidad, con un valor máximo de +58.9mV en el puerto de 5cm, para el biorreactor con planta. También se realizaron lecturas continuas en las que se registraron los valores de potencial redox a intervalos de 1 minuto, encontrándose que en el lapso de pocas horas (2 horas), el potencial redox puede cambiar en 80.0mV por efecto de la actividad biológica de la planta, en particular la fotosíntesis y transporte de oxígeno, como puede verse en la Figura 4.4. Con respecto al valor de este parámetro Dusek y col. (2008) reportan potenciales redox mayores a 0.2m de profundidad que a 0.5m de profundidad en la columna de agua de un humedal sembrado con *Phragmites australis*, lo cual coincide con lo reportado en esta tesis.

A partir de los resultados generados en la presente investigación se estimaron balances de materia para carbono y nitrógeno (Anexo B), los cuales indican que en los tratamientos con relaciones N:K de 1:0.5 y 1:0.775, el 97.0% del carbono suministrado fue removido por procesos de respiración, metanogénesis y acumulación; mientras que para los tratamientos con relaciones N:K de 1:0.125 y 1:3.1, el 91.8% del carbono suministrado fue removido por procesos de respiración, metanogénesis y acumulación, y 58.8% del nitrógeno fue removido por procesos de desnitrificación biológica y acumulación. Por su parte, en el trabajo reportado por Mander y col. (2008a), se encuentran datos detallados de balances de nitrógeno y carbono en un humedal artificial que trata agua residual doméstica en Kodijärve, Estonia. También se menciona que un proceso de desnitrificación de mayor calidad genera una mayor proporción de nitrógeno gaseoso (N_2), que es un gas inocuo con respecto al incremento del efecto invernadero y en menor proporción genera óxido nitroso (N_2O), un gas con mayor potencial de efecto invernadero.

Durante esta investigación se encontraron evidencias de que la actividad fotosintética de la parte vegetal está relacionada con la presencia de aceptores de electrones (NO_2^- , NO_3^- y SO_4^{2-}) mismos que intervienen en la degradación de materia carbonosa en la región anaerobia del sistema, que en el presente caso se trató de la parte inferior de las columnas empacadas del biorreactor, como se comenta en el apartado 4.3 (Determinaciones electroquímicas y alcalinidad). A este respecto, los trabajos de

Gosselink (2000), Reddy y col. (1989) y Vymazal (2007), comentan la zonificación de los procesos aerobios anóxicos y anaerobios dentro de un humedal artificial, en relación con la actividad fotosintética de la parte vegetal y la presencia de aceptores de electrones, en la degradación de la materia orgánica que ingresa al sistema.

Los modelos de humedales artificiales que se describen en el presente trabajo, mostraron una elevada capacidad para la remoción de carga orgánica. Esta capacidad estuvo asociada con la actividad de las comunidades microbianas alojadas dentro del espacio poroso del material empacado (escoria volcánica), con la consiguiente producción de un efluente con la calidad suficiente para ser descargada en cuerpos de agua naturales, debido a que su tasa de consumo de oxígeno había disminuido, como lo indica el bajo valor de $DQOs$ obtenido en los efluentes, con $16.85 \text{ mg-O}_2\text{L}^{-1}$ en promedio, con una eficiencia de 94.4%, también promedio. La mayor eficiencia en remoción de carga orgánica (97.3%) fue obtenida en el tratamiento N2K2, cuya relación C:N fue de 2.8:1.0, aunque no se obtuvo diferencia estadística ($p=0.1947$) con respecto a la relación C:N de 11.1:1.0, la otra relación C:N evaluada.

En la operación de los biorreactores se utilizó un material de empaque con estructura cristalina (escoria volcánica), lo cual lo hace un material casi inerte químicamente, por lo que las especies químicas como el amonio, con una carga positiva, no pueden quedar adsorbidas como sucede en los materiales arcillosos (Orduña y col., 2002). El sistema mostró también una elevada capacidad para la remoción de amonio, con 69.0% de eficiencia en promedio. Los efluentes de los biorreactores que recibieron la dosis alta de nitrógeno (40mg-NL^{-1}), no cumplieron con el límite máximo permitido por la legislación mexicana para la protección de la vida acuática, mientras que los efluentes de los biorreactores que recibieron la dosis baja de nitrógeno (10mg-NL^{-1}), sí llegan a cumplir los límites establecidos. Con respecto a este parámetro de operación (nitrógeno), los reportes de Chimney y Pietro (2006); Chimney y col. (2006), Kadlek (1997) y Tchobanoglous y col. (1991) comentan que los valores obtenidos en el contenido de nitrógeno de los efluentes de humedales artificiales pueden ayudar a disminuir los procesos de eutrofización. El trabajo de Kemp y George (1997) mostró una eficiencia de 52.4% en el abatimiento de nitrógeno amoniacal en un humedal artificial a escala piloto para el tratamiento de agua residual municipal. El trabajo de Meuleman y col. (2003), consistió en cuatro unidades de 0.25 ha y mostró un abatimiento de nitrógeno amoniacal del 30% compartimentalizado en asimilación y cosecha de la planta (15%), nitrificación-desnitrificación (8%) y nitrógeno acumulado en sedimentos y materia orgánica (7%). Los resultados de Albuquerque y col. (2008), para un humedal construido a escala de invernadero, mostró que la capacidad de estos sistemas para remover nitrógeno de nitratos (90% o $3.0\text{mg-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$) se consideró buena, pero tuvo una limitada capacidad para remover nitrógeno amoniacal (62% o $1.1\text{g-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$). El trabajo de Paredes y col. (2007) menciona que un tiempo de residencia hidráulico más prolongado (mayor TRH y tiempo de retención celular (TRC) hasta que el TRH se hace igual al TRC), baja concentración de oxígeno (0.5 a $2.0\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), la presencia de HNO_2 y un pH menor de 6.5 fueron factores que limitaron el proceso microbiológico de nitrificación. Los trabajos de Rodríguez y Durán de Bazúa, (2006) y Busnardo y col. (1992), mostraron altos niveles de eficiencia de remoción de nitrógeno total, 77.5 y 96.0%, respectivamente. El proceso de oxidación de amonio dentro de los sistemas de humedales artificiales ha sido estudiado detalladamente en los trabajos de Tietz y col. (2007) y Tao y Wang (2009), quienes diseñaron sistemas en los que la oxidación anaerobia de amonio (annamox, como se le conoce también), junto con la desnitrificación en humedales artificiales de flujo subsuperficial, tuvieron la capacidad para remover $2.4\text{g-Nm}^{-3}\text{d}^{-1}$. Reddy y col. (1989), midieron los flujos máximos de nitrógeno gaseoso (N_2) generados por un humedal artificial a escala de laboratorio, obteniendo valores de 102, 113 y $122\text{mg-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$ para *Juncus effusus*, *Oryza sativa* y *Pontederia cordata*, respectivamente. El trabajo de Dusek y col. (2008) mostró una eficiencia de 62.6% (24.5mg-NL^{-1} a la entrada y 10.3mg-NL^{-1} a la salida del sistema) para la remoción del nitrógeno total.

Los datos generados en el presente trabajo sugieren que el proceso de nitrificación-desnitrificación estuvo restringido en los sentidos temporal y espacial, aunque la elevada capacidad para remover nitrógeno del sistema sugiere que el proceso estuvo activo. La condición más restrictiva para este proceso microbiológico fue el *pH*, que se mantuvo en valores inferiores al óptimo que es de 7.5 a 8.5, mientras que el tiempo de residencia hidráulico y la alcalinidad presente en el sistema pudieron ser factores que favorecieron el proceso. El aporte de oxígeno por la parte vegetal del sistema a la parte alta de la columna, así como condiciones anóxicas-anaerobias en las partes media y baja, también fueron factores que favorecieron la permanencia de este proceso. Resultados similares han sido reportados por Baker (1998), Ingersoll y Baker (1998), Knapp y Graham (2007) y Mander y col. (2003, 2005, 2008a, 2008b).

La actividad microbiológica estuvo sustentada principalmente por el aporte de sacarosa y por intermediarios metabólicos generados por microorganismos y plantas, como fuentes de energía para los microorganismos heterótrofos y, en una menor medida, por el dióxido de carbono y nitrógeno amoniacal como fuentes de carbono y energía, respectivamente.

El suministro de potasio no mostró tener un efecto significativo sobre la capacidad del sistema para eliminar nitrógeno o carga orgánica, aunque se considera que fue importante en su contribución al significativo crecimiento vegetal observado en el biorreactor N2K2.

En el presente trabajo, realizado bajo condiciones de laboratorio, se consideró que las cargas orgánicas soportadas por el sistema serían menores en comparación con un sistema del mismo tipo manejado bajo condiciones naturales o a la intemperie, donde la intensidad lumínica puede llegar a ser 30 veces mayor (5000 Lux bajo iluminación artificial, contra 150000 Lux bajo irradiación solar directa) y se puede generar un mayor crecimiento vegetal. También se observó que la máxima carga orgánica soportada por el sistema fue de $15.0\text{g-O}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ con eficiencia de remoción de carga orgánica (como *DQOs*) de 94.4%.

En el trabajo que se describe en esta tesis se observó que se mantuvieron valores mayores de potencial redox durante el día y la noche por efecto de la actividad biológica de las plantas, favoreciendo los procesos de oxidación. También se observó un gradiente de potencial redox entre las fracciones superior e inferior de la columna de agua, permitiendo la exposición de los contaminantes a condiciones aerobias, anóxicas y anaerobias, acelerando así su degradación. Cuanto mayor fue la concentración de sacarosa dentro del sistema (material carbonoso de fácil degradación), el valor del potencial redox se hizo más bajo. De acuerdo con el reporte de Dusek y col. (2008), los valores del potencial redox se vieron afectados por la actividad fotosintética de la parte vegetal del sistema, observándose mayores potenciales redox (E_H) mientras la fotosíntesis estaba activa, durante el día, así como un pronunciado gradiente de potencial redox favorecido también por la actividad de las plantas.

La hipótesis planteada para este estudio menciona que un mejor balance de macronutrientes para las plantas (mediante el suministro de nitrógeno, fósforo y potasio de acuerdo con la demanda fisiológica) incrementaría la producción de biomasa vegetal y de área foliar, de manera que este mayor desarrollo se podría traducir en un mayor suministro de oxígeno molecular (O_2) a la zona de la rizosfera, donde los microorganismos a su vez, serían capaces de transformar mayores cantidades de materia orgánica por las vías metabólicas aerobias y anóxicas, principalmente. Esto no se pudo corroborar totalmente. Los resultados indican que la mayor producción de biomasa vegetal se dio en los biorreactores N2K2 (133.5 g) y N1K1 (35.7 g) y que estuvo relacionada con su mayor eficiencia, 97.3 y 96.6% de remoción de materia orgánica respectivamente, comparada con la biomasa vegetal generada por los biorreactores N2K1 (20.6 g) y N1K2 (2.3 g) cuyas eficiencias fueron menores, 92.5 y 91.0%, respectivamente. La biomasa vegetal generada en el biorreactor control sin planta fue de 24.0 g, sin la adición de nutrientes

(N y K) y sin suministro de materia carbonosa. Como se mencionó antes, las relaciones N:K de 1:0.5 y de 1:0.775 generaron más biomasa vegetal y también mostraron mayor eficiencia para la remoción de carga orgánica, comparado con las relaciones N:K de 1:0.125 y 1:3.1 que generaron menor cantidad de biomasa vegetal y tuvieron menor eficiencia de remoción de carga orgánica.

También como producto de este trabajo de investigación se obtuvo la publicación del artículo titulado "Nitrogen and potassium variation on contaminant removal for a vertical subsurface flow lab scale constructed wetland" en la revista Bioresource Technology (La cita completa: Orduña, BMA., Vaca MM., Escalante EJA., Durán, DC. 2011. Nitrogen and potassium variation on contaminant removal for a vertical subsurface flow lab scale constructed wetland. Biores. Technol. 102(17):7745-7754)

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo con la hipótesis de investigación planteada: "Mejorar la nutrición vegetal con nitrógeno y potasio incrementa la eficiencia de remoción de materia orgánica carbonosa y nitrogenada en un humedal artificial alimentado con agua residual sintética", así como con el objetivo general propuesto para corroborarla: "Investigar el efecto del control de los niveles de dos nutrientes, nitrógeno y potasio, sobre la eficiencia de un humedal artificial a escala de laboratorio en la remoción de contaminantes de agua residual sintética" y con los objetivos particulares, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

La relación nitrógeno:potasio en el influente fue el factor más importante para mejorar la eficiencia de remoción de materia orgánica carbonosa, con valores de 0.5 a 0.775 para las eficiencias más elevadas.

Los niveles de nitrógeno evaluados, 2.028 y 0.507g-Nm⁻²d⁻¹, no mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la eficiencia del sistema para remover la carga orgánica carbonosa aplicada.

Los niveles de potasio evaluados, 0.254 y 1.572g-Km⁻²d⁻¹, mostraron tener un efecto positivo en el nivel bajo de nitrógeno, pero en el nivel alto generaron un abatimiento de la eficiencia de remoción de materia orgánica del sistema.

La presencia de la macrofita en el sistema sí mostró tener efecto sobre el abatimiento de la contaminación orgánica carbonosa, atribuida al aporte de oxígeno incrementado por la actividad biológica de la especie vegetal, como lo sugieren los mayores potenciales redox medidos en la rizosfera de los sistemas con vegetación, en comparación con los potenciales redox medidos en los sistemas sin planta.

Las concentraciones de amonio decrecieron en todos los biorreactores por efecto de su absorción y transformación por la comunidad microbiana del sistema, considerándose que la concentración de esta especie química fue uniforme en toda la profundidad de la columna de agua.

Las condiciones en que se operaron los biorreactores no fueron las ideales para mantener en actividad el proceso de nitrificación biológica, aunque sí estuvo activo de manera intermitente; esto en el aspecto temporal. Por otra parte, el proceso de nitrificación fue limitado en la parte baja del biorreactor, donde predomina un ambiente anaerobio, mostrando mayor actividad hacia las partes intermedia y superior (20cm superiores de la columna); esto en el aspecto espacial.

Se demostró que la macrofita contribuye a mantener potenciales redox más elevados en la zona de la rizosfera durante los periodos de tiempo en que la fotosíntesis está activa.

El menor tiempo de residencia hidráulico (4 días) se reflejó en una mayor eficiencia de remoción de contaminantes del sistema. Sin embargo, no se considera un patrón de comportamiento ya que con tiempos de residencia hidráulicos más breves, la eficiencia de remoción de contaminantes disminuyó, como se menciona en la revisión bibliográfica y en la discusión de resultados.

5.2. Hipótesis surgidas durante la investigación

Como uno de los productos de la investigación realizada, surgen nuevas hipótesis que dentro del ámbito del problema planteado, deben ser sometidas a confrontación experimental, bibliográfica, modelación teórica y otras técnicas de análisis, en estudios futuros. Se plantean las siguientes sentencias como nuevas hipótesis de investigación:

El área foliar y el rendimiento de biomasa vegetal se correlacionan con la capacidad del sistema para remover carga orgánica.

La recirculación de una fracción del efluente incrementa la eficiencia del sistema en términos de remoción de carga orgánica.

La intensidad lumínica es un factor que incide sobre el funcionamiento del sistema en términos de la eficiencia de remoción de carga orgánica.

Las variables ambientales como intensidad luminosa y superficie fotosintéticamente activa, tienen efecto sobre el potencial redox de la zona radicular bajo condiciones de saturación y modifican la capacidad del sistema de humedales para remover contaminantes del agua residual.

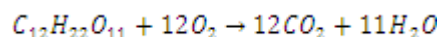
La generación de coeficientes cinéticos y estequiométricos bajo las condiciones en que se manejan los diferentes diseños de humedales artificiales contribuye a mejorar las aportaciones de quienes realizan investigación bibliográfica y a quienes desarrollan ecuaciones de diseño y modelos matemáticos. Por ejemplo, el trabajo de Artan y col. (2004) presenta un diagrama de flujo para el diseño de sistemas de tratamiento de agua residual en el que se utilizan coeficientes como tasa máxima de desarrollo autotrófico, coeficiente de media saturación para nitrificación, tasa heterotrófica de decaimiento endógeno, tasa autotrófica de decaimiento endógeno, coeficiente de crecimiento heterotrófico, coeficiente de crecimiento autotrófico, velocidad de desactivación catalítica del lecho, entre otros coeficientes de interés para el diseño de humedales artificiales para el tratamiento de agua residual municipal.

Para el tratamiento de agua residual con un contenido especialmente alto de contaminantes biodegradables es posible estabilizar el sistema reciclando una fracción del efluente para diluir la corriente de entrada al sistema, sin causar estrés a la vegetación de un humedal artificial.

ANEXO A. RESULTADOS EXPERIMENTALES

A.1. Resultados. Primera etapa experimental. 259 días de operación del sistema

Los valores teóricos para la demanda química de oxígeno se calcularon con la relación estequiométrica siguiente para la oxidación de sacarosa:



La demanda química de oxígeno por el nitrógeno que se aplicó en forma amoniacal, no se contabilizó en la demanda química total de oxígeno a la entrada porque esta forma química no se oxida bajo las condiciones de digestión de la técnica de DQO, con dicromato de potasio en medio ácido (ácido sulfúrico). Por otro lado, los tiempos de residencia hidráulico se consideran prolongados, por lo que no habría una transformación microbiana importante a nitratos (Paredes y col., 2007).

A.1.1. Remoción de materia orgánica

En un primer experimento se aplicaron los niveles altos de nitrógeno (40mg-NL^{-1}) y de potasio (31mg-NL^{-1}) obteniéndose una remoción de 61.5% en el tratamiento con planta y de 45.5% en el tratamiento sin planta, sin encontrarse diferencia significativa entre ambos tratamientos (Tabla A.1).

Las eficiencias de remoción de material carbonoso fueron bajas, por ello las concentraciones, expresadas como *DQOs*, fueron aún relativamente elevadas, tanto en los biorreactores con planta como en los que no tuvieron planta.

Tabla A.1. Demanda química de oxígeno soluble y niveles de nitrógeno para biorreactores con planta y sin planta a los 259 días de operación.

Tratamiento	<i>DQOs</i> entrante $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$	<i>DQOs</i> saliente $\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$	NH_4^+ entrante mgNL^{-1}	NH_4^+ 5cm mgNL^{-1}	NH_4^+ 20cm mgNL^{-1}	NH_4^+ saliente mgNL^{-1}	NO_3^- entrante mgNL^{-1}	NO_3^- 5cm mgNL^{-1}	NO_3^- 20cm mgNL^{-1}	NO_3^- saliente mgNL^{-1}
Con planta	99.0	38.15 ± 7.69 (61.5%)	40	8.93 ± 1.03	8.27 ± 0.74	8.10 ± 0.86 (79.7%)	0	16.06 ± 15.23	10.84 ± 8.85	5.11 ± 0.25
Sin planta	99.0	53.92 ± 29.95 (45.5%)	40	8.42	9.25 ± 0.61	9.99 ± 1.70 (75.0%)	0	1.11	7.72 ± 8.35	2.68 ± 0.74

Nota: \pm Desviación estándar. La prueba t-Student para $H_0: \mu_1 = \mu_2$ con $\alpha = 0.05$ arroja un valor $p = 0.4268$, es decir, se acepta H_0 , para *DQOs*; un valor $p = 0.1514$, es decir, se acepta H_0 para nitrógeno amoniacal en el puerto 20cm; un valor $p = 0.1609$, es decir, se acepta H_0 , para nitrógeno amoniacal en el puerto 35cm; un valor $p = 0.6799$, es decir, se acepta H_0 , para nitrógeno de nitratos en el puerto 20cm; un valor $p = 0.0057$, es decir, se rechaza H_0 para nitrógeno de nitratos en el puerto 35cm.

A.1.2. Resultados para remoción de nitrógeno: Nitrógeno amoniacal

La concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente de los tratamientos con planta fue menor que para el tratamiento sin planta (ver Tabla A.1). Esto se debe a dos procesos identificados en el sistema: uno es la extracción de nitrógeno amoniacal por la planta; y el segundo es la nitrificación

microbiológica. En los tratamientos sin planta el nitrógeno amoniacal es removido por asimilación por la biomasa microbiana, la oxidación a nitritos y nitratos y posterior desnitrificación por reducción a óxido nitroso y nitrógeno gaseoso; mientras que en los tratamientos con planta se presentan la asimilación a la biomasa microbiana, la nitrificación-desnitrificación y la extracción por el vegetal simultáneamente. Se considera que no hay salida de nitrógeno amoniacal en forma gaseosa (NH_3) porque a $pH7$ la mayor proporción permanece en forma de ion amonio (NH_4^+).

Con respecto a este parámetro, las eficiencias de remoción fueron elevadas, 79.7% para los biorreactores con planta y 75.0% para los biorreactores sin planta. Además es importante señalar que en los dos casos la concentración de nitrógeno amoniacal fue menor de 10mg-NL^{-1} , estos niveles son suficientes para cumplir con la NOM-001-1996-SEMARNAT sobre límites máximos permisibles de contaminantes para las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, misma que indica valores para nitrógeno total de 15 y 25mg-NL^{-1} promedio mensual y diario respectivamente, para descarga en ríos cuyas aguas se destinan a la protección de la vida acuática; 15 y 25mg-NL^{-1} para embalses naturales y artificiales cuyas aguas se destinan al uso público urbano; y 15 y 25mg-NL^{-1} para descarga en aguas costeras que alimenten estuarios.

A.1.3. Resultados para nitrógeno de nitratos

A los 259 días de aplicación de tratamientos, con una DQO teórica (DQO_T) de $99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ y TRH de 8 días, los biorreactores con planta mostraron concentraciones más elevadas de nitratos (5.11mg-NL^{-1}), que los tratamientos sin planta, los cuales mostraron concentraciones de 2.68mg-NL^{-1} (ver Tabla A.1).

La presencia de nitrato en los biorreactores (Tabla A.1), indica la presencia de bacterias nitrificantes, mismas que al ser autótrofas están utilizando el amonio como fuente de energía o poder reductor y el bióxido de carbono (CO_2) como fuente de carbono (Brock y Madigan, 1993; Knap y Graham, 2007; Rodríguez y Durán de Bazúa, 2006; Schlegel, 2000; Tietz y col., 2007). El oxígeno atmosférico sumado al oxígeno aportado por el metabolismo vegetal (fotosíntesis y transporte de gases a través del aerénquima) estaría aportando oxígeno suficiente para la oxidación del amonio y materia orgánica, ya que la demanda química de oxígeno disminuye en un 61.5% dentro del sistema (Kemp y George, 1997).

También puede verse que la concentración de nitrato en el efluente del biorreactor con planta es menor que en la parte alta, esto indica que en la parte baja se presenta desnitrificación. Este es un proceso microbiológico que consume materia orgánica como fuente de energía y estructuras carbonosas, y utiliza al nitrato como receptor de electrones, reduciéndolo a amonio en algunos casos y a óxido nitroso y nitrógeno molecular en otros. Estas vías metabólicas consumen materia orgánica oxidándola hasta CO_2 , lo cual explica en parte el consumo de materia orgánica en el biorreactor con planta. El biorreactor sin planta presenta nitrificación sensiblemente menor y aunque se puede suponer también que estaban funcionando las vías reductoras de nitratos mencionadas antes, este proceso (nitrificación) no aportaría mayor consumo de material orgánico, sino que el consumo encontrado (45.5%) se explicaría principalmente por el metabolismo aerobio sustentado por el oxígeno atmosférico y mecanismos metabólicos anaerobios.

A.1.4. Determinaciones electroquímicas

Mediciones de pH

El potencial hidrógeno se midió en los influentes y efluentes de los cuatro reactores en operación. Su valor en el influente debe ser cercano a la neutralidad para mantener condiciones estables para las plantas y microorganismos del sistema, además de ser un indicador de que las condiciones de operación

están dentro de los límites de sobrevivencia de estos organismos. Durante esta primera etapa de operación, los valores de pH del influente se mantuvieron dentro de 6.8 ± 0.3 unidades de pH ($pH = -\log[H^+]$), de manera que la alimentación cumplió con los requisitos necesarios respecto a este parámetro (Ver Figura A.1). Los valores de pH de los efluentes, por su parte, mostraron valores de pH también dentro del rango de 6.8 ± 0.3 unidades de pH , indicando que la operación del sistema se mantuvo dentro de los límites óptimos para este parámetro. Cabe recordar que valores bajos de pH pueden poner en solución iones metálicos que potencialmente alcanzarían niveles tóxicos para las plantas y microorganismos (Fe, Cu, Al, entre otros), mientras que valores elevados de pH , pueden causar la precipitación de nutrientes importantes como el fósforo, causando una deficiencia para plantas y microorganismos, además el amonio (NH_4^+ , $pK_a=9.25$) suministrado se encontraría en forma de amoniaco (NH_3) que es una forma tóxica para las plantas y los microorganismos.

Mediciones de potencial redox

Se realizaron series de lecturas en intervalos de 1min durante las 24 horas del día y durante una semana para un reactor con planta y uno sin planta. En la Tabla A.2 se muestran los valores promedio de potencial redox para cada hora del día durante los cinco días de la semana. En la Figura A.2 se presentan esos mismos valores en forma gráfica. Puede observarse que la línea punteada correspondiente al reactor con planta muestra una línea de base (moda = $-6.67mV$) desde las 22:00h hasta las 6:05h durante la noche. Después de encenderse la iluminación artificial, a las 6:00h comienza a incrementarse el valor del potencial redox hasta $80.0mV$ a las 7:00h, en las siguientes cinco horas hay un descenso más o menos uniforme hasta $+46.7mV$, luego hay un nuevo ascenso que alcanza su máximo en los $+93.3mV$ a las 13:00 horas correspondiéndose con las horas de mayor temperatura, a partir de las 14:30 horas el valor de potencial redox desciende progresivamente hasta las 22:00h en que vuelve a alcanzar su nivel de base de $-6.67mV$. Este comportamiento general, concuerda con las mediciones de oxígeno disuelto realizadas por Seyoum y Beutel, 2008, para la especie *Scirpus* spp. En la línea continua de la Figura A.2 se grafican los valores de potencial redox para el reactor sin planta el cual muestra una línea de base (moda= $-156.67mV$) que se mantiene desde las 0:00h hasta las 13:00h cuando se comienza a incrementar el valor de potencial redox hasta alcanzar un máximo de $-46.3mV$ a las 14:00h, a partir de entonces se da un descenso gradual hasta alcanzar de nuevo la línea de base a las 24:00h.

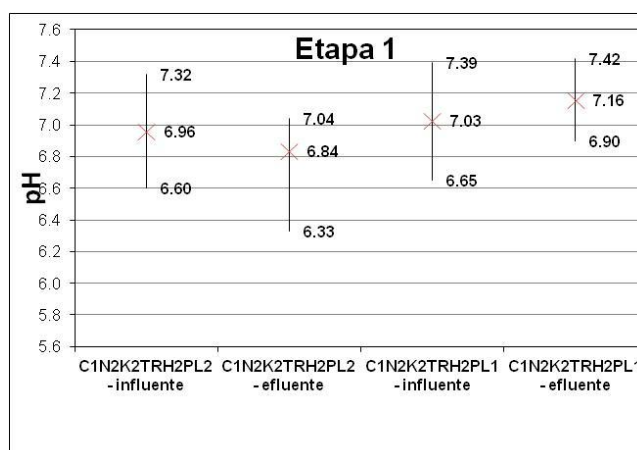


Figura A.1. Gráfico de valores de pH medidos en los efluentes de los cuatro biorreactores en operación durante la primera etapa de experimentación. Se muestran valores extremos y promedio del tratamiento y su influente (ARS).

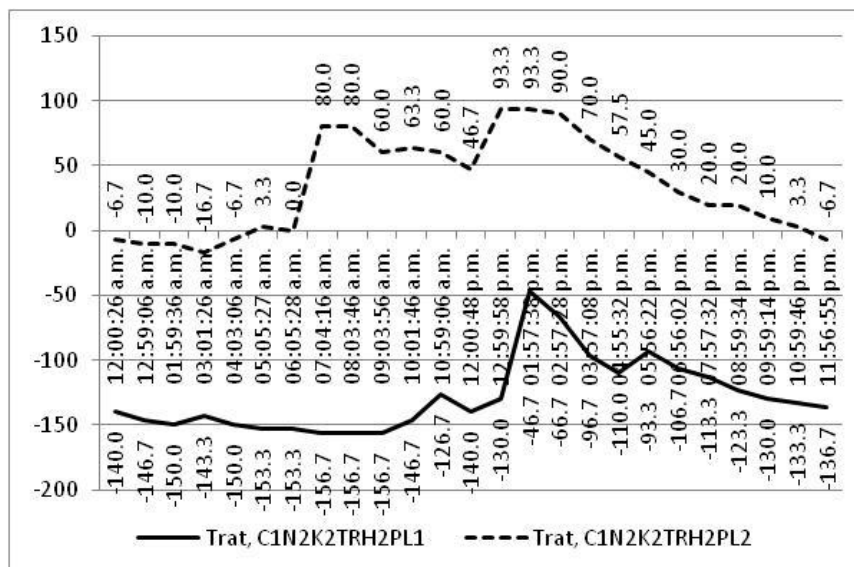


Figura A.2. Potenciales redox promedio de una semana registrados en un biorreactor con planta y un biorreactor sin planta a intervalos de una hora, durante 24 horas. Los valores fueron corregidos para el electrodo Ag/AgCl utilizado en las mediciones sumando 200mV a la lectura del potenciómetro.

Tabla A.2. Valores de potencial redox promedio de una semana registrados cada hora durante 24 horas.

Hora	Tratamiento sin planta C1N1K1TRH2PL1		Tratamiento con planta C1N2K2TRH2PL2	
	POR (mV)	Desviación estándar	POR (mV)	Desviación estándar
0:00:26	-140.0	26.5	-6.7	25.2
0:59:06	-146.7	15.3	-10.0	20.0
1:59:36	-150.0	10.0	-10.0	20.0
3:01:26	-143.3	15.3	-16.7	30.6
4:03:06	-150.0	10.0	-6.7	15.3
5:05:27	-153.3	5.8	3.3	51.3
6:05:28	-153.3	5.8	0.0	70.0
7:04:16	-156.7	5.8	80.0	14.1
8:03:46	-156.7	5.8	80.0	14.1
9:03:56	-156.7	5.8	60.0	10.0
10:01:46	-146.7	11.5	63.3	23.1
10:59:06	-126.7	28.9	60.0	18.3
12:00:48	-140.0	26.5	46.7	15.3
12:59:58	-130.0	36.1	93.3	41.6
13:57:38	-46.7	75.7	93.3	51.3
14:57:28	-66.7	23.1	90.0	42.4
15:57:08	-96.7	5.8	70.0	31.6
16:55:32	-110.0	28.3	57.5	27.5
17:56:22	-93.3	66.6	45.0	35.1
18:56:02	-106.7	61.1	30.0	36.1
19:57:32	-113.3	56.9	20.0	36.1
20:59:34	-123.3	47.3	20.0	36.1
21:59:14	-130.0	43.6	10.0	36.1
22:59:46	-133.3	37.9	3.3	25.2
23:56:55	-136.7	32.1	-6.7	25.2

También se realizaron mediciones puntuales del potencial redox en dos biorreactores, uno con planta y otro sin planta. Como se puede ver en la Tabla A.3, el biorreactor con planta tuvo una diferencia de 162.7mV entre el puerto de 5cm y el de 35cm, con un valor positivo de +58.9mV en la parte más superficial de la columna. Mientras tanto, el biorreactor sin planta tuvo en promedio una diferencia de 17.7mV entre el puerto de 5cm y el de 35cm, con un valor negativo de -154.6mV en la parte más superficial de la columna y el valor más bajo en la parte baja de la columna. Con estas lecturas se muestra que la actividad biológica de la planta contribuye a mantener condiciones más oxidantes en toda la columna, lo cual favorece la actividad de los microorganismos heterótrofos que utilizan vías metabólicas aerobias y anóxicas para la oxidación de carbohidratos y otros compuestos orgánicos de fácil digestión, en la eliminación de carga orgánica proveniente del agua residual sintética alimentada al sistema y de los exudados de las plantas y la fauna microbiana. En el trabajo reportado por Dusek y col. (2008), se menciona que las lecturas de potencial redox estaban dentro del rango de -400mV a +800mV entre las profundidades de 0.2 y 0.5m en un humedal construido en la República Checa para el tratamiento de efluentes de agua residual doméstica provenientes de un hospital, utilizando la especie vegetal *Phragmites australis*, bajo condiciones de luz directa del sol.

Tabla A.3. Lecturas puntuales del potencial redox realizadas en dos biorreactores, uno con planta y otro sin planta, en los puertos de muestreo a 5cm y 35cm de profundidad de la columna.

Biorreactor	Potencial redox (mV)	
	5cm	35cm
Con planta (N2K2)	+58.9	-103.8
Sin planta (N1K1)	-154.6	-172.3

A.1.5. Resultados para evaporación y evapotranspiración

Se midió la evaporación de agua en la columna sin planta y la evapotranspiración en cuatro columnas con planta. La evaporación promedio fue de $0.175\text{cm}^3\text{d}^{-1}$, y la evapotranspiración fue de $0.739\text{cm}^3\text{d}^{-1}$ (Tabla A.4 y Figura A.3). Considerando un área transversal de la columna de 182.4cm^2 y que el volumen aplicado fue de 463mLd^{-1} durante las etapas experimentales uno y dos, el volumen evaporado corresponde al 6.93% ($31.92\text{cm}^3\text{d}^{-1}$) y el volumen evapotranspirado fue el 29.32% ($134.79\text{cm}^3\text{d}^{-1}$). En la tercera etapa experimental, el volumen evaporado correspondió al 5.47% ($31.92\text{cm}^3\text{d}^{-1}$) y el volumen evapotranspirado fue el 23.14% ($134.79\text{cm}^3\text{d}^{-1}$).

Bajo condiciones de laboratorio, los datos muestran que las plantas de cada biorreactor son capaces de extraer $134.79\text{cm}^3\text{d}^{-1}$, es decir, 4.22 veces más agua que la evaporación solamente. Esta capacidad incrementada de extraer agua del suelo y liberarla en forma de vapor hacia la atmósfera es impulsada por un mecanismo complejo de vacíos a lo largo de los tejidos de xilema, generados en última instancia por el mecanismo de apertura-cierre de los estomas. Los estomas son pequeñas estructuras celulares localizadas en la superficie de la hoja, que tienen la capacidad de moverse para abrir o cerrar un minúsculo hueco conectado al tejido vascular, o xilema, que transporta agua en sentido vertical. Este mecanismo de apertura-cierre estomatal permite además que haya intercambio de gases y vapor hacia la atmósfera, permitiendo la salida de O_2 y la entrada de CO_2 . También de esta manera, es un mecanismo de control de la turgencia de los tejidos de la planta. Permaneciendo cerrados los estomas cuando la temperatura es alta y la humedad relativa del aire es baja, la planta evita la pérdida de turgencia, o marchitez de sus tejidos. El sistema de vacíos parciales, mencionado arriba, a lo largo de los capilares o xilema, impulsa la columna de agua (discontinua) desde las raíces de la planta hacia el tallo y finalmente

alcanza la superficie de las hojas, donde es liberada en forma de vapor a través de los estomas (Bidwel, 1979; Nabors, 2006).

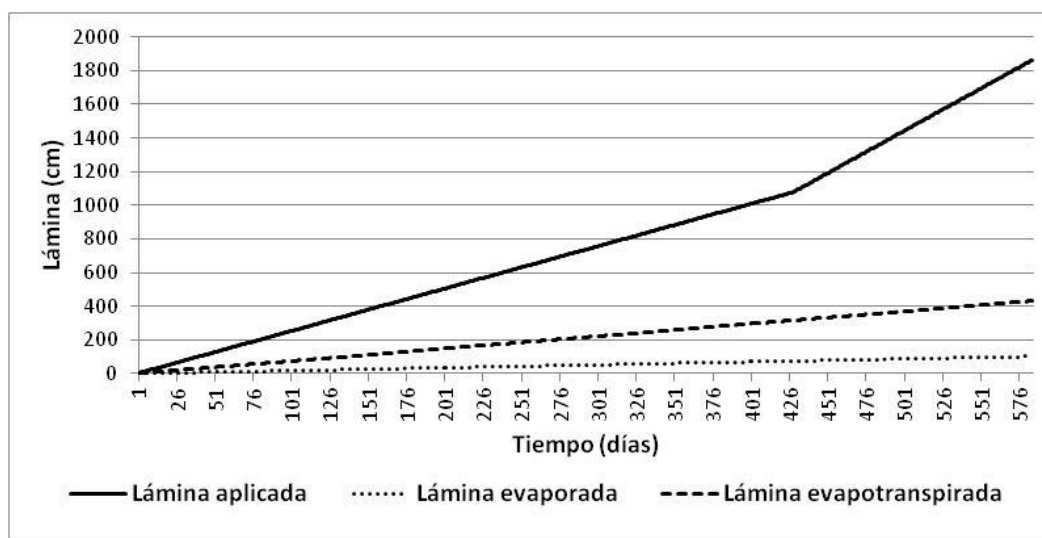


Figura A.3. Balance hídrico del sistema durante la duración de la experimentación. Se muestran los valores en lámina acumulada (cm). Los balances parciales para cada etapa se expresan numéricamente en la Tabla 4.3. La cantidad de agua evaporada se midió en el reactor sin planta y la cantidad de agua evapotranspirada es el promedio de cuatro columnas con planta.

La capacidad incrementada para evaporar agua en un sistema de humedales construidos, constituye una de sus ventajas al disminuir el volumen de agua residual en una proporción considerable, como se ha demostrado en este ejercicio. La capacidad del sistema para extraer agua es una función del cultivo (especie de planta), del clima y de la latitud donde se encuentra instalado, de manera que para hacer un cálculo con fines de diseño debe realizarse el balance hídrico mediante un método apropiado como los siguientes: Thornthwaite, Hargreaves, Hamon y FAO56-PM (Alkaeed y col. 2006).

Tabla A.4. Balances parciales de agua para las tres etapas experimentales. Entre paréntesis se muestra la lámina (aplicada, evaporada y evapotranspirada) en cm por día.

	Etapa 1 (259 días)	Etapa 2 (169 días)	Etapa 3 (156 días)
Lámina aplicada (cm)	652.271 (2.518 cmd^{-1})	1077.884 (2.518 cmd^{-1})	1863.631 (5.037 cmd^{-1})
Lámina evaporada (cm)	45.196 (0.175 cmd^{-1})	74.686 (0.175 cmd^{-1})	101.908 (0.175 cmd^{-1})
Lámina evapotranspirada (cm)	191.271 (0.739 cmd^{-1})	316.078 (0.739 cmd^{-1})	431.284 (0.739 cmd^{-1})

A.1.6. Temperaturas

La temperatura ambiente se midió diariamente con un termómetro de máximas y mínimas (Marca Taylor, de columna de mercurio), a partir del día 80 de operación de los reactores hasta el final de la experimentación. La temperatura promedio fue de 20.5°C, con una máxima extrema de 27.8°C y mínima extrema de 12.2°C. Como puede apreciarse en la Tabla A.5 y en la Figura A.4 las variaciones fueron

muy estrechas, de manera que se consideró que las condiciones respecto a esta variable ambiental se mantuvieron estables.

Tabla A.5. Resumen de datos representativos sobre el comportamiento de las temperaturas en el área donde se establecieron los biorreactores durante la experimentación.

	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Temperatura Promedio	Temperatura Ambiente
Promedio	22.2 (27.8; junio 2010)	18.8 (12.2; enero 2010)	20.5	20.4
D.E.	2.4	2.5	2.4	2.3
I.C. ($\alpha=0.05$)	0.30	0.30	0.30	0.30

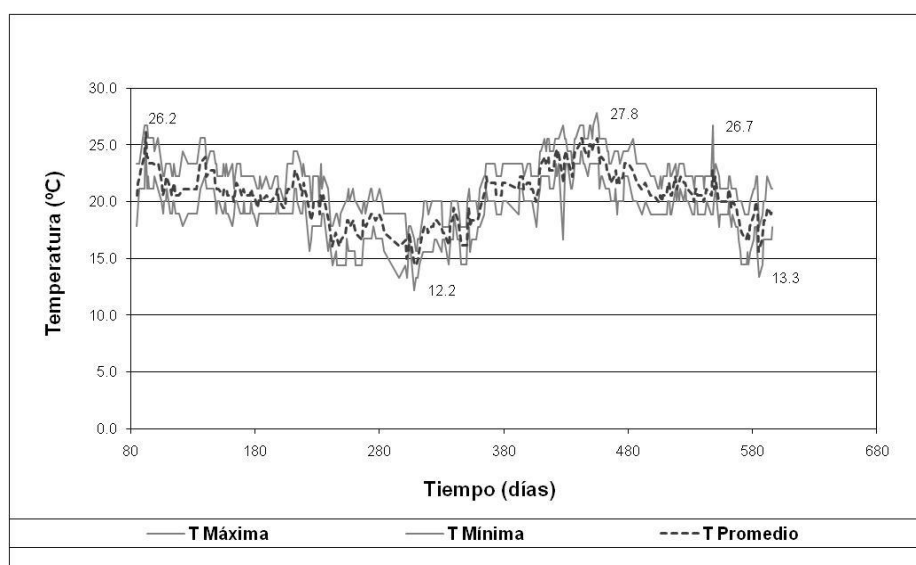


Figura A.4. Temperaturas máxima, mínima y promedio diario (Día 1: 09-marzo-2009, día 596: 26-octubre-2010)

A.1.7. Resultados para altura de planta y área foliar

Durante los primeros 94 días de operación de los biorreactores se hizo un seguimiento del crecimiento de las plantas midiendo área foliar y altura de planta. Al graficar el área foliar acumulada y la altura de planta acumulada, es decir, el área foliar total de dos biorreactores y la suma de las alturas de las plantas, se observó que se ajustan a un modelo de primer orden (Ecuación A.1), como se muestra en las gráficas de las Figuras A.5 y A.6 y en las Tablas A.6 y A.9.

$$AP_t = AP_0 e^{kt} \quad (\text{ecuación A.1})$$

Donde

AP_t = altura de planta al tiempo t

AP_0 = altura de planta inicial

k= constante cinética

t= tiempo para la proyección (d^{-1})

Tabla A.6. Modelo de primer orden para la variable altura de planta.

Modelo	Ecuación integrada	Constante cinética (k)	Coefficiente de correlación (R ²)
r=k(AP)	kt= ln([AP ₀]/[AP])	ln[AP] vs. t	0.9948

Para el modelo de segundo orden (Ecuación A.2) se calculó el valor de la constante cinética, k, tomando el inverso de la altura de planta y luego estimando la pendiente de la línea por mínimos cuadrados como puede verse en la Tabla A.8 y en el gráfico de la Figura A.5 (Henry y Heinke, 2000).

$$AP_t = \frac{1}{k * t} + \frac{1}{AP_0} \quad (\text{ecuación A.2})$$

Tabla A.7. Valores del incremento en altura de planta, estimación de la constante cinética k, y valores estimados con un modelo de primer orden.

Tiempo (días)	Incremento en altura de planta (cm)	Ln (incremento en altura de planta)	Altura estimada
1	82.50	4.4128	83.1698
8	90.50	4.5054	88.0132
14	96.00	4.5644	92.3885
22	105.00	4.6540	98.5624
36	118.50	4.7749	110.3762
42	125.00	4.8283	115.8632
50	129.50	4.8637	123.6059
64	140.50	4.9452	138.4214
78	154.50	5.0402	155.0126
85	170.50	5.1387	164.0397
94	184.50	5.2177	176.4226
		k=0.008086	R ² =0.9948

Tabla A.8. Valores del incremento en altura de planta, estimación de la constante cinética k, y valores estimados con un modelo de segundo orden.

Tiempo (días)	Incremento en altura de planta (cm)	1/(incremento en altura de planta)	Altura estimada
1	82.50	0.01212	82.9545
8	90.50	0.0111	86.2818
14	96.00	0.0104	89.3538
22	105.00	0.0095	93.8069
36	118.50	0.0084	102.7702
42	125.00	0.0080	107.1583
50	129.50	0.0077	113.6272
64	140.50	0.0071	127.0491
78	154.50	0.0065	144.0666
85	170.50	0.0059	154.4077
94	184.50	0.0054	170.1064
		k=-6.64121E-05	R ² =0.9896

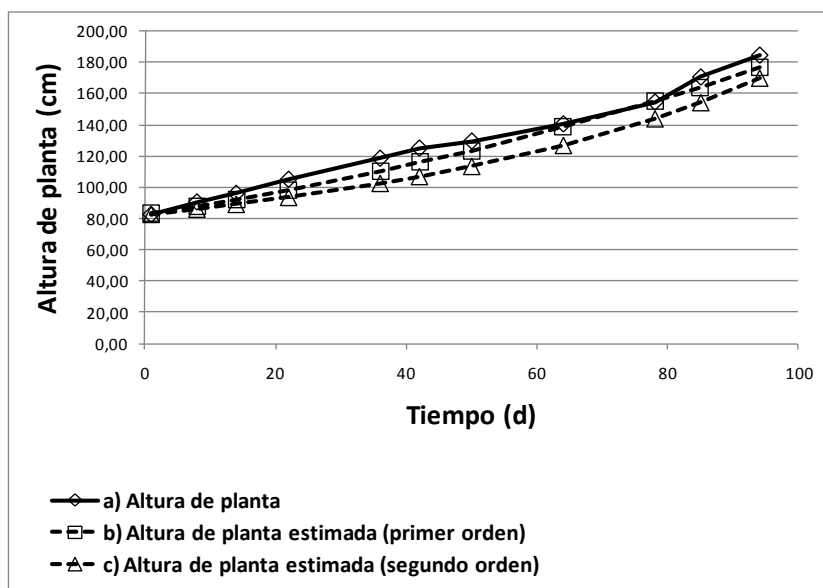


Figura A.5. Incremento en altura de planta en función del tiempo. Suma de altura de planta de dos biorreactores que recibieron el mismo tratamiento durante los primeros 94 días de crecimiento.

Para la variable área foliar también se utilizó el modelo de primer orden (Ecuación A.3) para ajustar los datos. El valor de la constante cinética, k, se calculó tomando el logaritmo natural de las áreas foliares y ajustando estos valores a una línea por mínimos cuadrados (ver Tablas A.9 y A.10). El valor de la pendiente de esa línea corresponde al valor de k, la constante cinética.

$$AF_t = AF_0 e^{kt} \quad (\text{ecuación A.3})$$

Donde

AF_t = área foliar al tiempo t

AF_0 = área foliar inicial

k= constante cinética

t= tiempo para la proyección (d^{-1})

En el modelo de segundo orden para área foliar (Ecuación A.4) se tomó el inverso de las áreas foliares medidas, después estos valores se ajustaron a una línea por mínimos cuadrados. El valor de la pendiente de esa línea corresponde con el valor de la constante cinética k (ver Tabla A.11 y la Figura A.6).

$$AF_t = \frac{1}{k * t} + \frac{1}{AF_0} \quad (\text{ecuación A.4})$$

Tabla A.9. Modelo de primer orden para la estimación del incremento del área foliar.

Modelo	Ecuación integrada	Constante cinética (k)	Coefficiente de correlación (R^2)
$r=k(AF)$	$kt= \ln([AF_0]/[AF])$	$\ln[AF]$ vs. t	0.9907

Tabla A.10. Valores del incremento en área foliar, estimación de la constante cinética k, y valores estimados con un modelo de primer orden.

Tiempo (días)	Incremento en área foliar (cm ²)	Índice de área foliar (m ² _{AF} /m ² _{terreno})	Ln(incremento en área foliar)	Área foliar estimada
1	720.53	0.99	6.5800	728.0408
8	857.59	1.18	6.7541	782.8547
14	997.61	1.37	6.9054	833.1111
22	1059.83	1.45	6.9659	905.1739
36	1164.53	1.60	7.0601	1046.6052
42	1207.69	2.81	7.0965	1113.7935
50	1296.23	1.78	7.1672	1210.1348
64	1423.58	1.95	7.2609	1399.2156
78	1842.00	2.52	7.5186	1617.8398
85	1879.35	2.58	7.5387	1739.6462
94	2124.00	2.91	7.6611	1909.8253
			k=0.010371	R ² =0.9907

Tabla A.11. Valores del incremento en área foliar, estimación de la constante cinética k, y valores estimados con un modelo de segundo orden.

Tiempo (días)	Incremento en área foliar (cm ²)	1/(incremento en área foliar)	Área foliar estimada
1	720.53	0.001388	724.9102
8	857.59	0.001166	757.1288
14	997.61	0.001002	787.1145
22	1059.83	0.000944	830.9960
36	1164.53	0.000859	920.8347
42	1207.69	0.000828	965.5723
50	1296.23	0.000772	1032.4528
64	1423.58	0.000703	1174.8627
78	1842.00	0.000543	1362.8448
85	1879.35	0.000532	1481.3558
94	2124.00	0.000471	1667.8251
		k=-8.38627E-06	R ² =0.9891

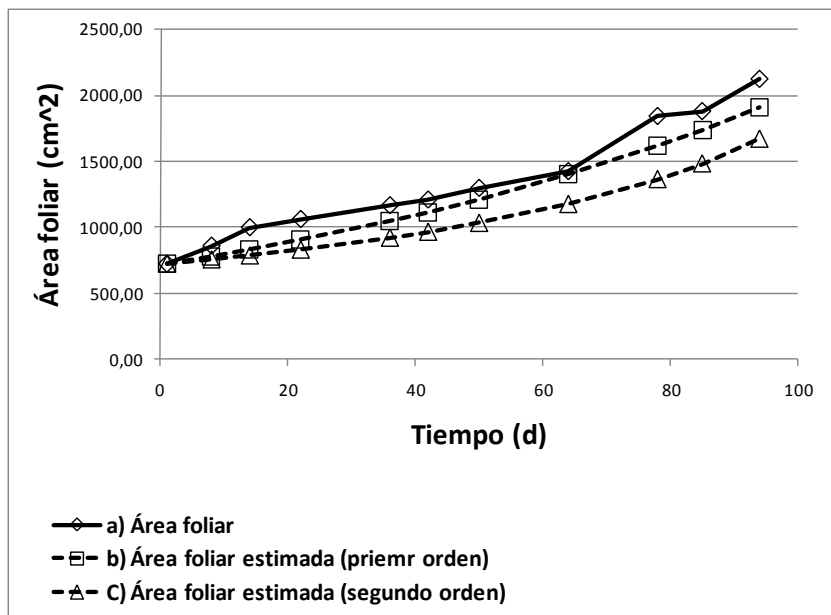


Figura A.6. Incremento de área foliar en función del tiempo. Suma de las áreas foliares de dos biorreactores que recibían el mismo tratamiento durante los primeros 94 días de crecimiento.

A.2. Resultados. Segunda etapa experimental. 428 días de operación del sistema

A.2.1. Demanda química de oxígeno

En un segundo experimento se aplicaron cuatro tratamientos en cuatro columnas empacadas y con vegetación (*Phragmites australis*) durante 169 días. En esta ocasión se aplicó una *DQO* teórica de $99.0\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ y el tiempo de residencia hidráulico se mantuvo en 8 días, dando una carga orgánica de $2.53\text{gO}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$. Se variaron los niveles de nitrógeno (40 y 10mg-NL^{-1} para el nivel alto y bajo respectivamente) y de potasio (31 y 5mg-KL^{-1} para el nivel alto y bajo respectivamente). Con los dos factores que se variaron en esta ocasión, se hizo un análisis de varianza de dos vías ($\alpha=0.05$) para evaluar el efecto del factor individual y el efecto de la interacción de los dos factores. También se establecieron dos controles, uno fue una columna sin vegetación tratada con sacarosa y los niveles bajos de nitrógeno y potasio. El otro fue una columna con planta y sin adición de sacarosa, nitrógeno ni potasio, con la finalidad de obtener un valor de *DQOs* de fondo en el que toda la demanda química de oxígeno medida en el efluente fuera originada por los exudados y la descomposición de tejidos de la misma vegetación.

Los resultados se presentan en la Tabla A.12 y en las Figuras A.7, A.8 y A.9. El análisis de varianza (Tabla A.13) indica que existe diferencia significativa ($\alpha=0.05$) para los valores de *DQOs* debida al factor nitrógeno ($p= 0.0360$), pero no se encontró diferencia significativa para el factor potasio ($p= 0.7426$) ni para la interacción ($p= 0.1306$), con el mismo nivel de significancia. Los niveles de nitrógeno alto mostraron un valor más elevado en la *DQOs* efluente comparados con el nivel bajo de este mismo nutriente (Figura A.8), siendo esta diferencia estadísticamente significativa, como ya se mencionó.

Tabla A.12. Resultados de la determinación de la demanda química de oxígeno soluble en agua residual sintética y en el efluente de los biorreactores a los 428 días de operación del sistema.

Tratamiento	Demanda química de oxígeno soluble ($\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$)	Fracción removida de la <i>DQOs</i> aplicada
Influente	99.00 ± 15.61	N/A
C2N2K2TRH2PL2	36.06 ± 13.91	0.6358
C2N2K1TRH2PL2	27.96 ± 16.74	0.7179
C2N1K2TRH2PL2	10.94 ± 7.59	0.8895
C2N1K1TRH2PL2	23.25 ± 6.99	0.7652
C2N1K1TRH2PL1 Control S/pl	22.75 ± 21.12	0.7702
C0N0K0TRH2PL2	10.99 ± 16.27	N/A
Control C/pl		

Nota: C1= sacarosa 80mgDQOsL^{-1} ; N2= nitrógeno nivel alto 40mg-NL^{-1} ; N1= nitrógeno nivel bajo 10mg-NL^{-1} ; K2= potasio nivel alto, 30mg-KL^{-1} ; K1= potasio nivel bajo 5mg-KL^{-1} ; TRH1= tiempo de residencia hidráulica 8 días; PL2= con planta.

Tabla A.13. Análisis de varianza para valores de $DQOs$ obtenidos a los 428 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa (99mgL^{-1} como DQO teórica) a los biorreactores empacados modelo de humedales artificiales.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor observado de F	F tabulada	Prob > F
X1. Nitrógeno	821.5182	1	821.5182	5.7043	4.75	0.035964
X2. Potasio	16.3413	1	16.3413	0.11347	4.75	0.74257
X1 X2	384.4302	1	384.4302	2.6694	4.75	0.13057
Error	1584.1779	11	144.0162			
Total	2710.6897	14				

Valor de F tabulada para el factor X1, con a-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 12); para el factor X2, con b-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 12); interacción X1X2 con (a-1)(b-1) grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 12). Se rechaza H_0 si $F_o > F_{\text{tabulada}}$, (Montgomery, 1997, p.53, 188)

En el nivel bajo de nitrógeno, el incremento de potasio de entrada genera un decremento en el valor de $DQOs$ efluente, como se puede observar en el gráfico de la Figura A.8, aunque esta interacción no es estadísticamente significativa ($p = 0.7426$). Para el nivel alto de nitrógeno, el aumento de potasio en el influente ocasionó, por el contrario, un aumento en el valor de $DQOs$ efluente, condición que sería desventajosa desde el punto de vista de la eficiencia del sistema. Como complemento, al observar el gráfico de interacciones de la Figura A.9b, se puede notar que para los dos niveles de potasio (X2) el incremento de nitrógeno entrante genera un aumento en el valor de $DQOs$ medida en el efluente. Esto, como lo indica el análisis de varianza, lleva a que el factor nitrógeno es el que predomina en la eficiencia del sistema para la remoción de $DQOs$.

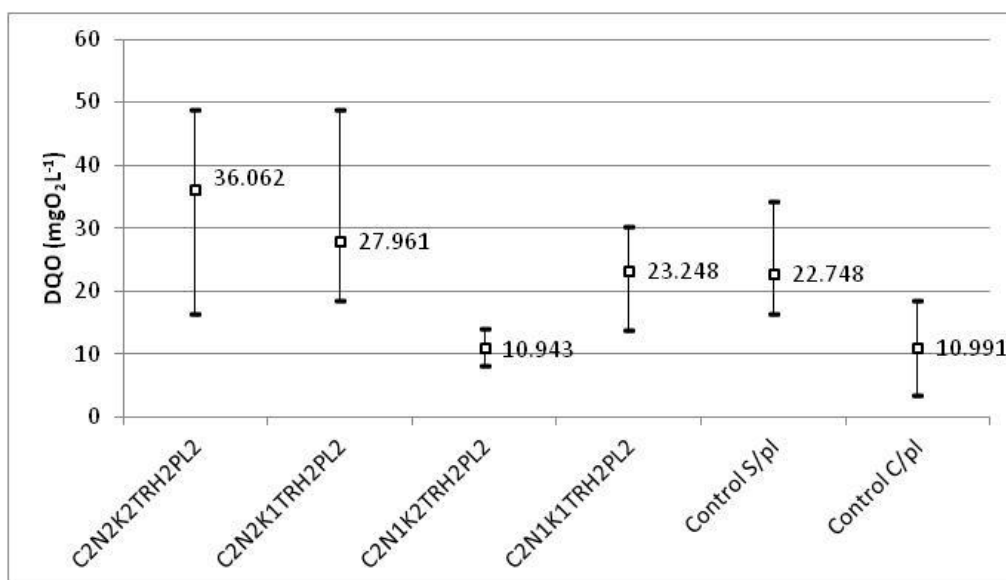


Figura A.7. Demanda química de oxígeno soluble a los 428 días de operación del sistema, 169 días de aplicación de tratamientos con nivel bajo de sacarosa (99mgL^{-1} como DQO teórica).

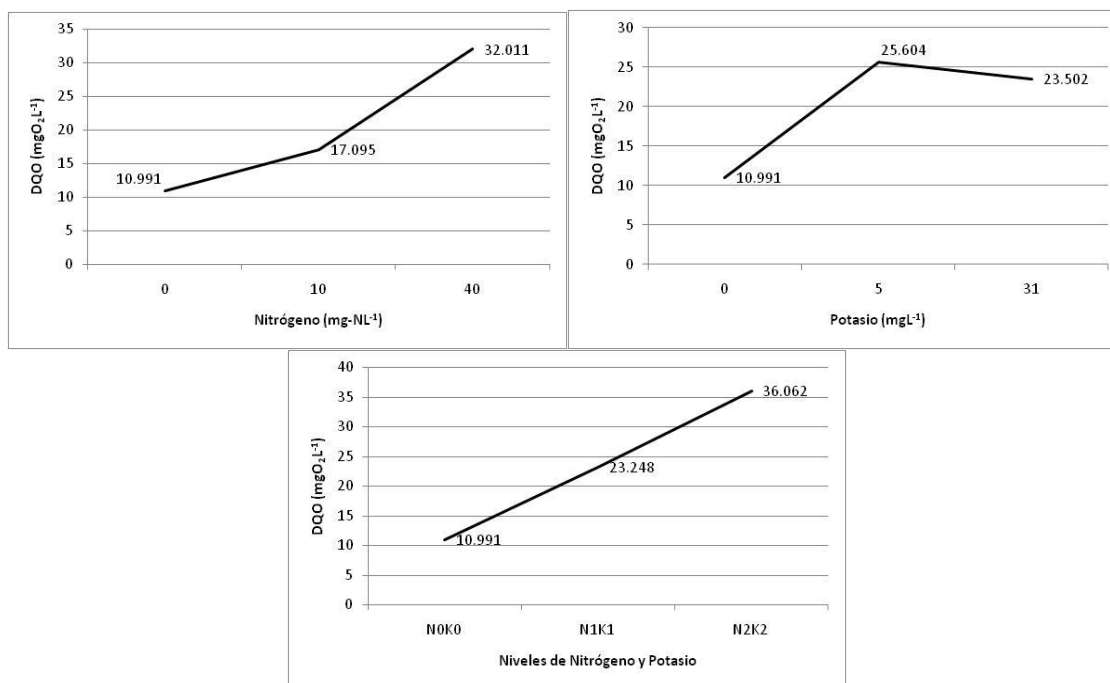


Figura A.8. Niveles de demanda química de oxígeno obtenida en los efluentes de los biorreactores tratados con 0, 10 y 40mg-NL⁻¹ y con 0, 5 y 31mg-KL⁻¹.

El tratamiento control sin planta (niveles bajos de nutrientes nitrógeno y potasio) mostró una eficiencia inferior (77.0%) a la eficiencia mostrada por los tratamientos con planta y nivel de nitrógeno bajo (82.7%), y mayor que la eficiencia mostrada por el tratamiento con planta y nivel alto de nitrógeno (67.7%) (Tabla A.12).

Los valores de *DQOs* obtenidos para los controles con planta (10.99mgO₂L⁻¹) y sin planta (22.75mgO₂L⁻¹) se analizaron estadísticamente utilizando una prueba t-Student con significancia de $\alpha=0.05$. La conclusión de la prueba indica que no hay diferencia estadística entre ambos resultados obteniéndose un valor de $p=0.5586$.

También se puede resaltar que el tratamiento con planta y con el nivel alto de potasio y bajo de nitrógeno mostró la mayor eficiencia al remover 89.0% de la *DQO_T* aplicada, llevándola de 99.0 a 10.94mg-O₂L⁻¹. Esto se aprecia en el gráfico de interacciones (Figura A.9b) en la línea de X1 (nitrógeno) que desciende sensiblemente al pasar del nivel 1 al nivel 2 de X2 (potasio). Este aspecto se comentará también al analizar los efectos de las relaciones N:K sobre la remoción de *DQO* en los humedales artificiales, más adelante en este capítulo.

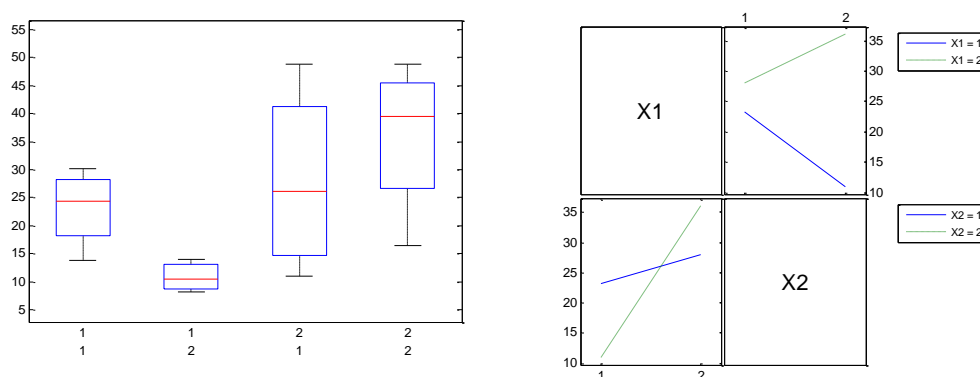


Figura A.9. Gráfica de cajas (a) y gráfica de interacciones (b) para $DQOs$ efluente a los 169 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa ($99\text{mg}DQOL^{-1}$).

A.2.2. Nitrógeno amoniacal

Las principales vías por las que el nitrógeno amoniacal se elimina de los sistemas de tratamiento biológico para aguas residuales domésticas es la oxidación a nitratos o nitrificación (nitritación y nitrificación), y su posterior reducción anóxica para formar nitrógeno gaseoso (N_2). Los humedales construidos tienen también una parte vegetal que utiliza nitrógeno para la síntesis de sus estructuras mecánicas (paredes celulares) y fisiológicas (proteínas y enzimas) y aunque no realizan una extracción intensiva, las plantas pueden acumular gran cantidad de nitrógeno a lo largo del tiempo, que puede ser removido por la cosecha de la biomasa acumulada. Además, la actividad fotosintética de estos organismos libera oxígeno, parte del cual se transporta a través del tejido de aerénquima de las plantas acuáticas hacia la zona de la rizosfera, donde proveen a los tejidos subterráneos de este aceptor de electrones para que puedan, mediante la respiración, generar la energía necesaria para realizar las funciones metabólicas esenciales. Los procesos biológicos mencionados pueden explicar la disminución en las concentraciones de nitrógeno amoniacal observadas en los biorreactores (Tabla A.14).

Tabla A.14. Concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente a los 428 días de operación de los biorreactores (169 días de aplicación de tratamientos) y fracción de nitrógeno presente con respecto a la concentración aplicada en forma de agua residual sintética.

Tratamiento	Concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente (mg-NL^{-1})	Fracción de nitrógeno remanente (N)	Masa de nitrógeno removida ($\text{g-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$)	Eficiencia de remoción de nitrógeno (N)
C2N2K2TRH2PL2	10.04 ± 0.29	0.25	3.047	0.75
C2N2K1TRH2PL2	20.08 ± 6.96	0.50	6.094	0.50
C2N1K2TRH2PL2	3.48 ± 2.14	0.35	1.056	0.65
C2N1K1TRH2PL2	0.37 ± 0.17	0.04	0.112	0.96
C2N1K1TRH2PL1	3.48 ± 2.14	0.35	1.056	0.65
Control S/pl				
C0N0K0TRH2PL2	0	N/A	N/A	N/A
Control C/pl				

Nota: En el tratamiento C2N1K1TRH2PL2 se restó 1.14mg-NL^{-1} que se detectó en el efluente en forma de nitrógeno de nitratos al total aplicado, antes de calcular la fracción removida en forma de nitrógeno amoniacal efluente.

El análisis de varianza (Tabla A.15) muestra que el factor nitrógeno mostró tener efecto significativo sobre la concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente, mientras que el factor potasio y la interacción no mostraron efecto significativo (con $\alpha=0.05$). Es de esperarse que un suministro más elevado de nitrógeno amoniacal generará un efluente más concentrado en esta especie química, sin embargo, puede verse que el porcentaje de nitrógeno amoniacal detectado en el efluente con respecto al total aplicado representa remociones de 75 y 50% en los tratamientos que recibieron las dosis altas, de manera que en términos de masa éstos fueron los que removieron más nitrógeno. De esta manera, el incremento de la concentración de nitrógeno amoniacal en el agua residual que entra al sistema tendrá un efecto favorable sobre la cantidad removida de este elemento, pero generará un producto (agua residual tratada) que posiblemente no cumplirá con los estándares marcados por la normativa ambiental vigente.

En el nivel bajo de nitrógeno el incremento de la concentración de potasio generó una concentración mayor de nitrógeno amoniacal en el efluente, mientras que para el nivel de nitrógeno alto el incremento de la concentración de potasio ocasionó una sensible baja en la concentración de nitrógeno amoniacal efluente (20.08 a 10.04mg-NL⁻¹), como puede verse en el gráfico de interacciones de la Figura A.10b.

Los valores de nitrógeno amoniacal obtenidos para los controles con planta (0mg-NL⁻¹) y sin planta (3.49mg-NL⁻¹) se analizaron estadísticamente utilizando una prueba t-Student con significancia de 5%. El valor de $p=0.1482$ de la prueba lleva a la conclusión de que no hay diferencia estadística entre ambos resultados.

Tabla A.15. Análisis de varianza ($\alpha=0.05$) para los datos de concentración de nitrógeno amoniacal efluente a los 428 días de operación del sistema (156 días de aplicación de tratamientos).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor calculado de F	F tabulada	Prob>F
X1. Nitrógeno	345.0564	1	345.0564	25.9851	7.71	0.0069945
X2. Potasio	23.9432	1	23.9432	1.8031	7.71	0.25048
X1 X2	86.4623	1	86.4613	6.5111	7.71	0.063192
Error	53.1161	4	13.279			
Total	508.577	7				

Valor de F tabulada para el factor X1, con a-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 4); para el factor X2, con b-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 4); interacción X1X2 con (a-1)(b-1) grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 4). Se rechaza Ho si $F_o > F_{\text{tabulada}}$, (Montgomery, 1997, p.53, 188)

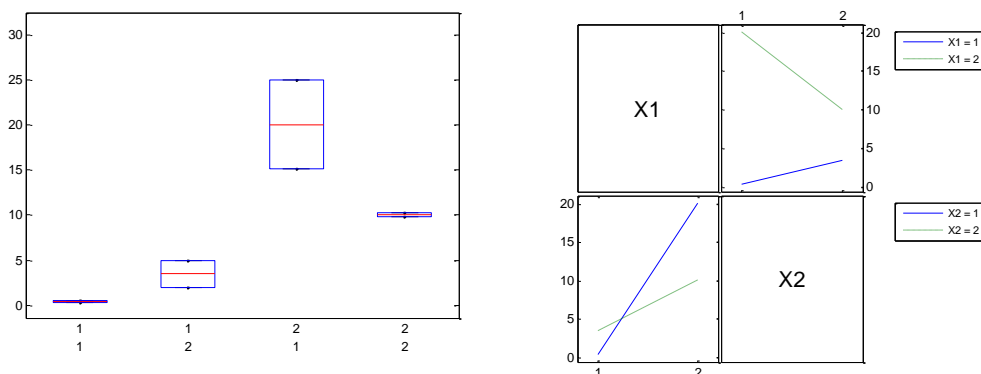


Figura A.10. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para concentración nitrógeno amoniacal en el efluente a los 428 días de operación (159 días de aplicación de tratamientos), (X1= nitrógeno; X2= potasio).

Se determinó la concentración de nitrógeno amoniacal a tres profundidades de columna en dos biorreactores (Tabla A.16), uno alimentado con la dosis baja de nitrógeno (N1) y el otro con la dosis alta (N2). En el biorreactor alimentado con la dosis elevada de nitrógeno se observa que desde la concentración aplicada, 40mg-NL^{-1} , se presenta una disminución de la concentración (14.75mg-NL^{-1}), atribuida en primera instancia, al efecto de dilución. En el puerto de muestreo situado 20cm debajo de la superficie del biorreactor, la concentración de nitrógeno amoniacal muestra un ligero aumento (15.16mg-NL^{-1}) y finalmente, hacia la parte inferior de la columna, la concentración disminuye hasta 10.04mg-NL^{-1} . El hecho de que las concentraciones fueron semejantes en toda la columna sugiere que el movimiento de esta especie química es principalmente por difusión y que los procesos microbiológicos que lo consumen están presentes en todo el volumen empacado, o bien, que las velocidades de consumo no superan a las velocidades de difusión.

Tabla A.16. Concentración de nitrógeno amoniacal en dos biorreactores medidas a los 428 días de operación (169 días de aplicación de tratamientos) a tres profundidades en la columna.

Tratamiento	Profundidad	Concentración de nitrógeno amoniacal (mg-NL^{-1})
C1N2K2TRH2PL2	5	14.75
	20	15.16
	35	10.04
C1N1K1TRH2PL1 Control sin planta	5	1.89
	20	1.97
	35	3.48

El biorreactor control sin planta muestra un comportamiento semejante. Este biorreactor recibió la concentración baja de nitrógeno (10mg-NL^{-1}), por lo que debido al consumo por la especie vegetal y la actividad microbiana generaron un decremento hasta 1.89mg-NL^{-1} en los primeros 5cm desde la superficie del biorreactor, a 1.97mg-NL^{-1} en los 20cm superiores de la columna y hasta 3.48mg-NL^{-1} a los 35cm de profundidad, en el efluente.

A.2.3. Nitrógeno de nitratos

A los 428 días de operación, 169 días de aplicación de tratamientos con nivel bajo de sacarosa ($99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica), las concentraciones de nitratos en el efluente disminuyeron en todos los biorreactores. Como puede verse en la Tabla A.17, solamente los biorreactores C2N1K1TRH2PL2 y C0N0K0TRH2PL2 tuvieron concentraciones de nitratos mayores de cero en el efluente, esto es, 1.14mg-NL^{-1} en ambos casos.

Tabla A.17. Valores de nitrógeno de nitratos en el efluente de los biorreactores a los 428 días de operación, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica).

Tratamiento	Concentración de nitrógeno de nitratos en el efluente (mg-NL^{-1})
C1N2K2TRH2PL2	0
C1N2K1TRH2PL2	0
C1N1K2TRH2PL2	0
C1N1K1TRH2PL2	1.14
C1N1K1TRH2PL1 Control S/pl	0
C0N0K0TRH2PL1	1.14
Control C/pl	

Con respecto a los valores obtenidos de la determinación del nitrógeno de nitratos (Tabla A.17), puede verse que sólo dos columnas mostraron nitrificación, esto sucedió en la columna con planta y con los niveles bajos de nutrientes (C2N1K1TRH2PL2) y en la columna control con planta, en ambos casos con un valor de 1.14mg-NL^{-1} . Las otras columnas pueden haber presentado nitrificación pero el nitrato generado se consumió por desnitrificación, por asimilación hacia la biomasa microbiana, por reducción microbiana a amonio o por asimilación hacia el tejido vegetal antes de alcanzar la parte baja del biorreactor.

Para esta variable no se realizó el análisis de varianza pero se muestran un gráfico de cajas (Figura A.11a) y el gráfico de interacciones (Figura A.11b). En este caso solamente se detectó el ion nitrato en el efluente del biorreactor con el nivel bajo de nitrógeno y el nivel alto de potasio (C2N1K2TRH2PL2) y en el efluente del biorreactor control con planta con el mismo nivel de 1.14mg-NL^{-1} , al que no se suministró nitrógeno. Sin embargo, es de suponerse que el proceso de nitrificación estaba activo en todas las columnas, debido a que se encontraron niveles incluso elevados de nitratos (28.41mg-NL^{-1} en el caso del tratamiento C2N2K1TRH2PL2) en el puerto de 20cm de profundidad, como puede verse en la Tabla A.18. Este comportamiento sugiere que la vía de la nitrificación no siempre estaba activa, que se llegó a acumular una gran cantidad de nitratos en la columna y que las condiciones reductoras en la parte baja no permitían la permanencia de este ion en forma oxidada. A diferencia del nitrógeno amoniacal que se encontraba uniformemente distribuido, el ion nitrato tuvo una distribución más restringida a las zonas en que se encontraba un ambiente más oxidante.

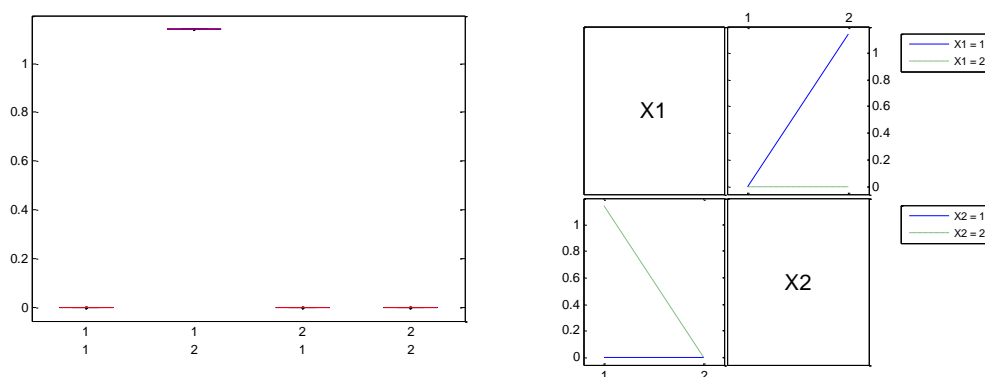


Figura A.11. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para los valores de nitrógeno de nitratos en el efluente a los 428 días de operación de los biorreactores, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ como DQO teórica).

Tabla A.18. Concentración de nitrógeno de nitratos en muestras tomadas en los puertos de muestreo a profundidades de 20 y 35cm desde el borde.

Tratamiento	Concentración de nitratos (mg-NL^{-1})	
	20	35
C2N2K2TRH2PL2	11.36	0
C2N2K1TRH2PL2	28.41	0
C2N1K2TRH2PL2	0	0
C2N1K1TRH2PL2	0	0
C2N1K1TRH2PL1 Control sin planta	5.68	0
C0N0K0TRH2PL2 Control con planta	1.14	0

Los resultados para nitrógeno de nitratos en los biorreactores control con planta (1.14mg-NL^{-1}) y control sin planta (0mg-NL^{-1}) se compararon por medio de una prueba t-Student en la que se rechaza H_0 , la hipótesis nula de igualdad de promedios, obteniéndose un valor $p=7.7 \times 10^{-7}$. En estos dos biorreactores también se observó que el ion nitrato estuvo presente en la parte media del biorreactor, pero no se detectó en el efluente, lo cual sugiere que esta especie química se reduce antes de alcanzar la parte baja del biorreactor, es decir, es consumida por los microorganismos desnitrificantes, reducido a nitrógeno amoniacal, asimilado por los microorganismos o asimilado por la planta.

A.2.4. Nitrógeno de nitritos

El ion nitrito es una especie química que resulta de la primera etapa de la vía metabólica nitrificante, en la que bacterias del género *Nitrobacter* utilizan el amonio como fuente de energía por sus enlaces con el hidrógeno, al CO_2 como fuente de carbono para abastecer la síntesis de biomoléculas y el oxígeno como aceptor de electrones.

Se detectaron nitritos en cinco de los seis biorreactores. El nitrito se distribuyó preferentemente hacia la parte superior de la columna (Tabla A.19) y en concentraciones que no alcanzaron 0.5mg-NL^{-1} . El nitrito, al ser una especie química intermedia entre el amonio y el nitrato en la vía de la nitrificación, no tiende a acumularse en el sistema sino que es inmediatamente consumido por bacterias de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*, que son las que poseen las enzimas responsables de la oxidación final

del nitrito a nitrato. Es importante observar que este proceso autótrofo no consume materia orgánica reducida, es decir, no contribuye a aumentar la eficiencia del sistema en la remoción de la carga orgánica, sino que interviene solamente en la transformación del amonio a nitrato consumiendo CO_2 disuelto, mismo que en este caso proviene principalmente de la oxidación heterótrofa de los compuestos carbonáceos en condiciones aerobias, anóxicas y anaerobias.

Tabla A.19. Valores de concentración de nitritos (NO_2^-) en los puertos de muestreo de 5, 20 y 35cm por debajo del borde del biorreactor a los 428 días de operación, 169 días de operación con el nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica).

Tratamiento	Concentración de nitrógeno de nitritos (mg-NL^{-1})		
	5cm	20cm	35cm
C2N2K2TRH2PL2	0.48	0.09	0
C2N2K1TRH2PL2	0.24	0.24	0.24
C2N1K2TRH2PL2	0.03	0.04	0
C2N1K1TRH2PL2	0.03	0.03	0
C2N1K1TRH2PL1			0
Control S/pl	0.03	0.03	
C0N0K0TRH2PL2			0
Control C/pl	0	0	

Por último, la Tabla A.20 presenta un resumen de los datos obtenidos de la determinación de las especies químicas nitrogenadas nitritos, nitratos y amonio, encontrados en los efluentes de cada una de las columnas. Es interesante observar que el biorreactor C2N2K2TRH2PL2 es capaz de consumir 30.16mg-N ($1.0189\text{mg-NL}^{-1}\text{d}^{-1}$) por cada litro de influente conteniendo 40mg-N . De acuerdo con lo estipulado en la NOM-001-SEMARNAT-1996 este efluente (9.84mg-NL^{-1}) puede cumplir con el límite máximo de nitrógeno para su descarga en cuerpos de agua para conservación de la vida acuática, que es de 15mg-NL^{-1} para el promedio mensual y 25mg-NL^{-1} en promedio diario. Otro tratamiento que sobresale por su elevada eficiencia es el C2N1K1TRH2PL2 que remueve 8.49mg-N ($0.2868\text{mg-NL}^{-1}\text{d}^{-1}$) de los 10mg-NL^{-1} aplicados, esto significa una eficiencia de 84.9%, además de que genera un efluente con un nivel de nitrógeno que permite su descarga en cuerpos de agua naturales sin que esto represente un riesgo para su deterioro o eutrofización. En los dos casos mencionados la relación N:K fue 1:0.775 y 1:0.5 respectivamente, y puede verse que si esta relación disminuye, como en el tratamiento N2K1 (1:0.125) o aumenta N1:K2 (1:3.1), la eficiencia del sistema disminuye. Este aspecto se discute más adelante de forma particular en un apartado de este mismo capítulo. Para el tratamiento C2N1K2TRH2PL2 la remoción de nitrógeno fue de $0.2203\text{mg-NL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y para el tratamiento C2N1K1TRH2PL2 la remoción fue de $0.2868\text{mg-NL}^{-1}\text{d}^{-1}$.

Tabla A.20. Resultados de la determinación de nitrógeno en el efluente de los biorreactores a los 169 días de aplicación del nivel bajo de sacarosa ($99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ como *DQO* teórica) y 428 días de operación del sistema.

Tratamientos	Nitrógeno amoniacal en el efluente (mg-NL^{-1})	Nitrógeno de nitritos en el efluente (mg-NL^{-1})	Nitrógeno de nitratos en el efluente (mg-NL^{-1})	Masa de nitrógeno removida (mg-NL^{-1})	Fracción removida de nitrógeno aplicado	N-removido ($\text{g-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$)
C2N2K2TRH2PL2	9.84	0	0	30.16	0.754	9.153
C2N2K1TRH2PL2	20.08	0.24	0	19.92	0.498	6.045
C2N1K2TRH2PL2	3.48	0	0	6.52	0.652	1.979
C2N1K1TRH2PL2	0.37	0	1.14	8.49	0.849	2.577
C2N1K1TRH2PL1	3.48	0	0	6.52	0.652	1.979
Control S/pl						
C0N0K0TRH2PL2	0	0	1.14	-1.14	N/A	
Control C/pl						

A.2.5. Resultados para degradación de sacarosa

La sacarosa consumida en muestras de 100mL de efluente, adicionadas con 2.5g de sacarosa, incubadas durante cuatro días a temperatura ambiente se utilizó como un indicador de la actividad microbiana diferencial en cada uno de los biorreactores (Tabla A.21).

Los datos obtenidos para los primeros cuatro tratamientos se analizaron utilizando el análisis de varianza de dos vías para detectar efectos generados por la aplicación de nitrógeno y potasio en dos niveles cada uno y también para identificar si hubo efecto por la interacción entre ambos factores. El resultado del análisis de varianza que se muestra en la Tabla A.22, indica que se presenta un efecto significativo para los niveles de nitrógeno (factor X1 con significancia $\alpha=0.05$), pero no hay efecto significativo para los niveles de potasio y tampoco para la interacción de ambos factores.

Los valores mostrados en la Tabla A.21 son el resultado de pesar los sólidos remanentes después de la evaporación de las muestras de 100mL de efluente incubadas durante cuatro días a temperatura ambiente, y adicionadas con 2.5g de sacarosa. Se utilizaron estos valores y no las diferencias con los 2.5g de sacarosa adicionada porque los sólidos contenidos en el efluente podían incrementar la masa de los sólidos por encima de este valor.

Tabla A.21. Muestra los valores de sacarosa no consumida expresados en gramos para las muestras de cada uno de los efluentes incubadas y adicionadas con sacarosa (masa inicial: 2.5g).

Tratamiento	Sacarosa no consumida
C2N2K2TRH2PL2	2.23±0.05
C2N2K1TRH2PL2	2.22±0.11
C2N1K2TRH2PL2	2.47±0.04
C2N1K1TRH2PL2	2.45±0.04
C2N1K1TRH2PL1 Control sin planta	2.42±0.09
C0N0K0TRH2PL2	2.47±0.01
Control con planta	

Como puede verse en el gráfico de cajas (Figura A.12a) y en el gráfico de interacciones (Figura A.12b) el efecto dominante, estadísticamente significativo ($\alpha=0.05$), se da entre los niveles alto y bajo de nitrógeno, mientras que la variación en los niveles de potasio generó sólo diferencias marginales, que no fueron estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$), en la cantidad de sólidos consumidos.

Tabla A.22. Análisis de varianza para los valores de consumo de sacarosa (sacarosa no consumida) en muestras de 100mL adicionadas con 2.5g de sacarosa e incubadas durante 4 días a temperatura ambiente.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F observada	F tabulada	Prob > F
X1. Nitrógeno	0.15042	1	0.15042	50.4996	5.32	0.00019259
X2. Potasio	0.00081667	1	0.00081667	0.27418	5.32	0.6167
X1 X2	1.6667e-005	1	1.6667e-005	0.0055955	5.32	0.94246
Error	0.02085	7	0.0029786			
Total	0.17362	10				

Valor de F tabulada para el factor X1, con a-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 8); para el factor X2, con b-1 grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 8); interacción X1X2 con (a-1)(b-1) grados de libertad en el numerador, ab(n-1) grados de libertad en el denominador (F0.05, 1, 8). Se rechaza H_0 si $F_o > F_{\text{tabulada}}$, (Montgomery, p.53, 188)

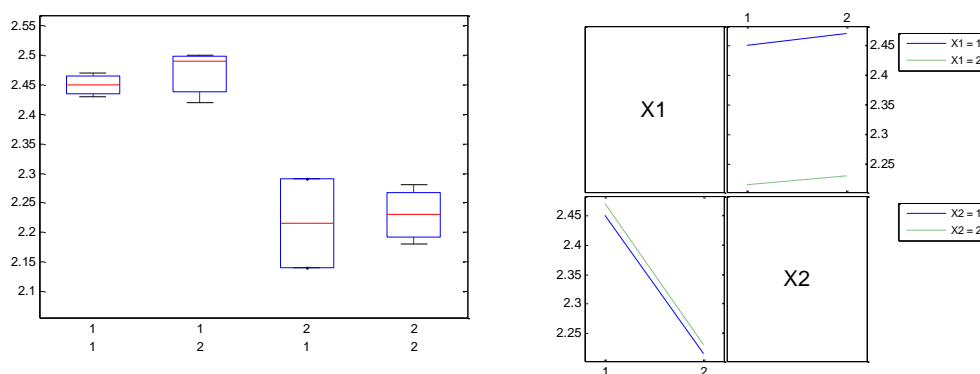


Figura A.12. Gráfico de cajas (a) y gráfico de interacciones (b) para los valores de consumo de sacarosa a los 428 días de operación de los biorreactores, 169 días de aplicación del nivel bajo de carga orgánica ($99\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ como DQO teórica).

En este caso, los valores más elevados indican que hubo menor consumo de sacarosa, es decir, menor actividad microbológica, como se aprecia claramente en el gráfico de cajas de la Figura A.12a, donde el nivel bajo de nitrógeno muestra menor actividad microbológica.

Los valores obtenidos para los controles no fueron estadísticamente diferentes, con una significancia de $\alpha=0.05$ utilizando una prueba t-Student, se obtuvo un valor de $p=0.5166$. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos para los tratamientos con nivel bajo de nitrógeno, ya que a ningún control se le aplicó el nivel alto de algún nutriente (nitrógeno o potasio).

Además se midió el potencial redox a las muestras en incubación para relacionar el decremento de sólidos totales con el consumo de la sacarosa hacia CO₂, ya que se planteó también la posibilidad de que estuviera funcionando la vía metabólica para producción de ácido láctico, el cual estaría presente en los sólidos restantes de las muestras evaporadas y no se estaría contabilizando como sacarosa consumida (Tablas A.23 y A.24).

Tabla A.23. Potencial redox medido en las muestras de 100mL efluente adicionadas con 2.5g de sacarosa tras cuatro días de incubación a temperatura ambiente (Corregidos para el electrodo Ag/AgCl, sumando 200mV a la lectura del potenciómetro).

Tratamiento	Potencial redox (mV)
C2N2K2TRH2PL2	-213.4
C2N2K1TRH2PL2	-236.9
C2N1K2TRH2PL2	+133.1
C2N1K1TRH2PL2	+140.8
C2N1K1TRH2PL1 Control S/pl	-121.8
C0N0K0TRH2PL2	+114.2
Control C/pl	

Tabla A.24. Potenciales redox para reacciones de interés microbiológico (Matheus y col., 2002).

Reacción	Potencial (V)
$2 e^{-} + 2 H^{+} \rightarrow 1/2 H_2$	-0.421
$NADP^{+} + H^{+} + 2e^{-} \rightarrow NADPH$	-0.320
$NAD^{+} + H^{+} + 2e^{-} \rightarrow NADH$	-0.315
$S + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow SH_2$	-0.230
$FAD^{+} + 2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow FADH_2$ (cuando es coenzima libre)	-0.219
$Piruvato^{-} + 2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow lactato^{-}$	-0.185
$Oxalacetato^{-} + 2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow malato^{-}$	-0.166
$FAD^{+} + 2H^{+} + 2e^{-} \rightarrow FADH_2$ (cuando es en flavoproteínas)	0.0
$O_2 + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow H_2O_2$	+0.295
$NO_3^{-} + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow NO_2^{-} + H_2 O$	+0.420
$SO_4^{2-} + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow SO_3^{2-}$	+0.480
$1/2O_2 + 2e^{-} + 2H^{+} \rightarrow H_2O$	+0.815
$K^{+} + e^{-} \rightarrow K$	-2.931 (298K; pH=0)
$Cu^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Cu$	+0.342 (298K; pH=0)
$Zn^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Zn$	-0.762 (298K; pH=0)

El potencial estándar de reducción (E_0') para la reacción $Piruvato + 2H^{+} + 2e^{-} \leftrightarrow Lactato^{-}$ es de -0.185V, una reacción endergónica que libera nicotinamida-adenina-dinucleótido (NAD⁺) oxidado para que se pueda reiniciar el ciclo glicolítico en condiciones anaerobias en presencia de glucosa.

Se sugiere que la población microbiana crece predominantemente en forma suspendida y los relativamente grandes macroporos del tezontle funcionan como remansos, donde la velocidad de flujo del agua se aminora, permitiendo que crezcan dentro de ellas las poblaciones de microorganismos en forma suspendida. Por lo anterior se considera importante calcular la velocidad que alcanza el agua dentro del sistema al momento de diseñar un sistema de tratamiento de humedales artificiales. En el

trabajo experimental realizado se calculó una velocidad máxima de $2.5184 \times 10^{-4} \text{ cms}^{-1}$, cuando el tiempo de residencia hidráulico fue de 4 días.

A.2.6. Resultados para *pH*

En los biorreactores con planta se observó que el valor de *pH* se mantuvo sin cambio apreciable entre el influente y el efluente (Tabla A.25). Para los tratamientos con planta, sin embargo, sí se observó que el *pH* disminuyó en 0.4 unidades en promedio, desde valores cercanos a la neutralidad, 6.87, hasta valores de 5.66. Como se puede apreciar en la Figura A.13, los efluentes de los dos reactores que se alimentaron con el nivel alto de nitrógeno mostraron valores de *pH* inferiores a 6.3, lo cual se tiene como un comportamiento normal debido a que la fuente de nitrógeno utilizada (sulfato de amonio) contiene el ion amonio (NH_4^+), el cual al ser tomado por las raíces de la planta es incorporado al α -cetoglutarato, liberándose dos iones H^+ al medio, provocando la disminución del valor de *pH*. Esta baja en el valor de *pH* se vio acentuada en el reactor con el tratamiento N2K2 (*pH*=5.66) debido al mayor crecimiento vegetal, como lo demuestran los datos de biomasa generada que se muestran en la Tabla 4.10, y su consecuente mayor demanda por el ion amonio (NH_4^+).

En general puede decirse que estos valores son propicios para el desarrollo de la vegetación y de los microorganismos de interés para la purificación del agua residual, sin embargo, se ha reportado en la literatura que la nitrificación se ve favorecida a niveles de *pH* de 7.5 a 8.0, además de que es un proceso que libera protones (H^+) al medio volviéndolo más ácido (Paredes y col. 2007).

Debido a que el agua residual sintética empleada así como los efluentes obtenidos tenían fuerzas iónicas bajas o muy bajas, que podían interferir con las lecturas de tipo electroquímico, como el *pH* y el potencial redox, se realizó la determinación de la conductividad eléctrica (Tabla A.34) en los efluentes de los biorreactores así como en el puerto de muestreo de 5cm de profundidad y en las soluciones de agua residual sintética alimentadas a cada uno de los biorreactores.

Tabla A.25. Valores de *pH* registrados en las seis columnas a lo largo de 169 días.

Tratamiento	<i>pH</i>	Desviación estándar
C2N2K2TRH2PL2	5.66	0.09
C2N2K1TRH2PL2	6.27	0.05
C2N1K2TRH2PL2	6.87	0.02
C2N1K1TRH2PL2	6.64	0.03
C2N1K1TRH2PL1	6.93	0.03
Control sin planta		
C0N0K0TRH2PL2	7.09	0.03
Control con planta		

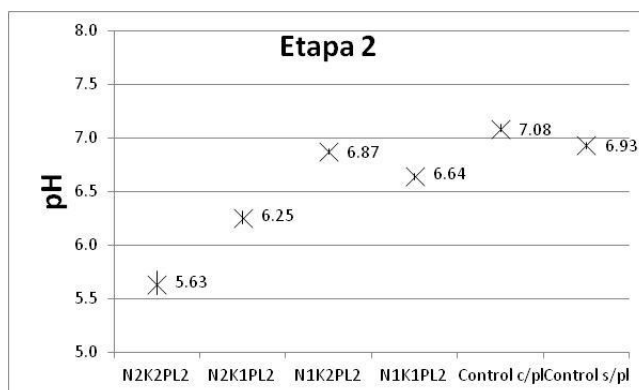


Figura A.13. Valores de pH medidos en los efluentes de cuatro biorreactores, a los 428 días de operación.

A.3. Resultados. Tercera etapa experimental. 584 días de operación del sistema

A.3.1. Remoción de carga orgánica

En la tercera etapa experimental con una duración de 156 días se aplicó una carga orgánica de $15.02\text{g-O}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$ alimentando agua residual sintética con DQO_T de $296\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$ y tiempo de residencia hidráulico de 4 días. Se aplicaron dos niveles de nitrógeno (10 y 40mg-NL^{-1}) y dos niveles de potasio (5 y 31mg-KL^{-1}) para un modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$. Además, se operaron dos biorreactores control, uno con planta y sin la adición de carga orgánica ni de nutrientes y el otro sin planta con la adición de carga orgánica y niveles bajos para nitrógeno y potasio.

Tabla A.26. Demanda química de oxígeno soluble en el efluente de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental.

Tratamiento	Relaciones N:K	Promedio ($\text{mgO}_2\text{L}^{-1}$) \pm DE	Fracción removida
C3N2K2TRH1PL2	1:0.775	8.058 ± 1.299	0.973
C3N2K1TRH1PL2	1:3.100	22.336 ± 1.919	0.925
C3N1K2TRH1PL2	1:0.125	26.803 ± 2.865	0.910
C3N1K1TRH1PL2	1:0.500	10.161 ± 1.299	0.966
C3N1K1TRH1PL1	1:0.500	26.277 ± 2.017	0.911
Control s/pl			
C0N0K0TRH1PL2	N/A	1.226 ± 0.876	N/A
Control c/pl			
Influente	N/A	296.0 ± 3.978	N/A

N/A= no aplica para este tratamiento.

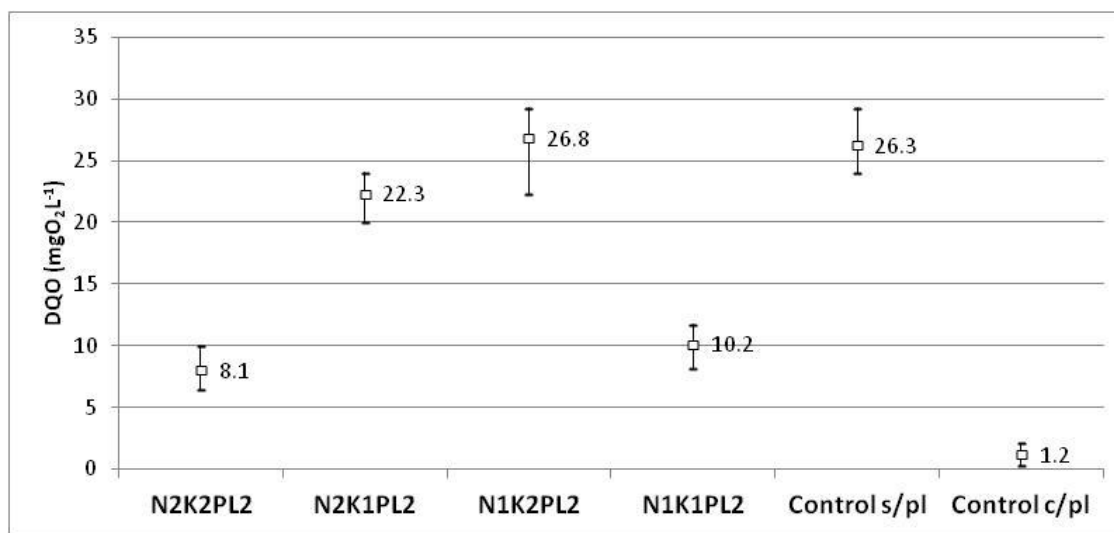


Figura A.14. Gráfico que muestra los valores de concentración de $DQOs$ de los efluentes de los biorreactores con su respectiva desviación estándar.

La mayor remoción de materia orgánica se observó en el tratamiento N2K2, con una eficiencia de 97.3%, mientras que la remoción más baja fue para el tratamiento N1K2, con 91.0% de eficiencia (Figura A.14 y Tabla A.26). Se realizó un análisis de varianza de dos vías ($\alpha=0.05$) para evaluar el experimento con el modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$, sin encontrar significancia para el factor

nitrógeno ($p=0.1947$), pero sí para el factor potasio ($p=0.0017$). Al comparar la eficiencia de remoción de materia orgánica en los tratamientos con el nivel alto de nitrógeno (94.9% , $13.04\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), con la eficiencia alcanzada por los tratamientos con el nivel bajo (93.8% , $18.48\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), se observó una eficiencia ligeramente mayor para el nivel alto de nitrógeno. Por otra parte, al comparar la eficiencia de remoción de materia orgánica por los tratamientos con el nivel alto de potasio (94.2% , $17.43\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), con la eficiencia alcanzada por los tratamientos con el nivel bajo de este nutriente (94.6% , $12.20\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$), se observó una eficiencia ligeramente mayor para el nivel bajo de potasio. Los resultados obtenidos sugieren que cuando las proporciones N:K fueron 1:0.500 y 1:0.775 las eficiencias de remoción de materia orgánica fueron mayores, comparadas con las eficiencias observadas para las proporciones N:K 1:0.125 o 1:3.100, como se puede observar en el gráfico “d” de la Figura A.15. Se realizó una comparación por medio de la prueba t-Student ($\alpha=0.05$), de los promedios del grupo N:K 1:0.500 y N:K 1:0.775 contra los promedios del grupo N:K 1:0.125 y N:K 1:3.100, dando una diferencia estadísticamente significativa ($p=6.7429 \times 10^{-11}$).

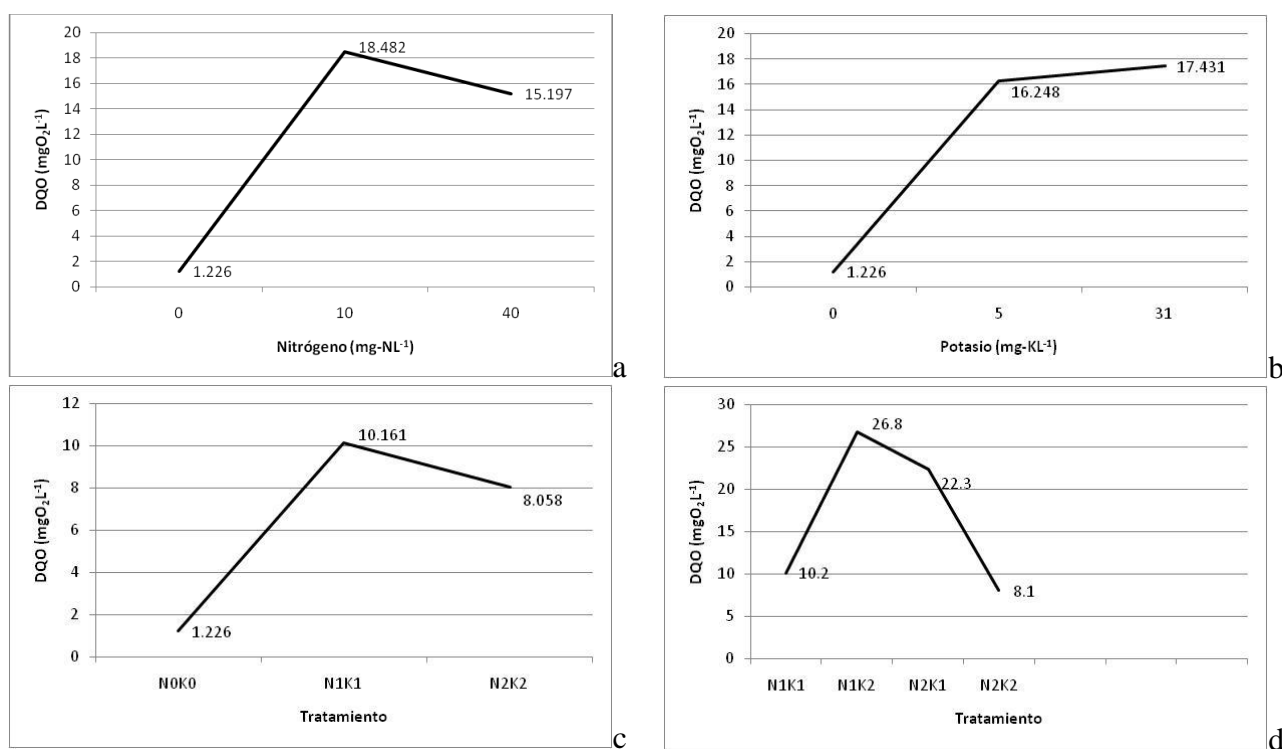


Figura A.15. *DQOs* en los efluentes de los biorreactores; a) en función de la dosis de nitrógeno alimentado; b) en función de la dosis de potasio alimentado; c) para los tratamientos N0K0, N1K1 y N2K2; d) para los tratamientos del experimento con el modelo estadístico $y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\varepsilon$.

Al comparar las eficiencias de remoción de materia orgánica para los tratamientos del nivel bajo de nitrógeno, con planta y sin planta (N1K1PL2 y N1K1PL1), por medio de la prueba t-Student ($\alpha=0.05$), se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p= 3.8327 \times 10^{-7}$). Dado que los valores de concentración de *DQOs* fueron claramente distantes, $10.16\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ y $26.28\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$, respectivamente, puede decirse que la actividad de la parte vegetal del sistema tiene un efecto benéfico al incrementar la eficiencia de remoción de materia orgánica. El tratamiento N1K1 sin planta (91.1%) mostró también menor eficiencia en la remoción de materia orgánica que los tratamientos N2K2PL2 (97.3%) y

N2K1PL2 (92.5%), mientras que únicamente el tratamiento N1K2PL2 (91.0%) fue menos eficiente para remover materia orgánica del sistema.

La hipótesis plantea que una mejor nutrición de la parte vegetal del sistema (nitrógeno, fósforo y potasio) se va a traducir en un mayor rendimiento de biomasa y área foliar (m^2 de área foliar por m^2 de superficie de terreno), que a su vez se traducirá en mayor eficiencia para la remoción de la materia orgánica carbonácea suministrada. El mayor desarrollo de la parte vegetal tendría entonces mayor capacidad de transporte de oxígeno hacia la rizosfera, producto de la fotosíntesis, abasteciendo a los microorganismos heterótrofos (por las vías aerobias y anóxicas) del oxígeno necesario para su crecimiento y para la transformación de los compuestos carbonosos, que ingresan al sistema como contaminantes.

La producción incrementada de biomasa vegetal, al consumir mayores cantidades de nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio), contribuye también al abatimiento de sus concentraciones en el agua residual que entra al sistema. La mayor biomasa vegetal promueve también la actividad de los microorganismos heterótrofos, favoreciendo los procesos oxidativos como la nitrificación y la generación de sulfatos, aumentando la disponibilidad de aceptores de electrones (NO_3^- y SO_4^{2-}), contribuyendo a la oxidación de materia orgánica bajo condiciones anóxicas. La mayor degradación de materia orgánica ($g-DQO m^{-2} d^{-1}$) así como la absorción (por microorganismos) y consumo (por la parte vegetal) de nitrógeno aumentan la eficiencia del sistema, de acuerdo con lo planteado en la hipótesis de trabajo.

La biomasa vegetal se determinó al final de la experimentación, por ser una determinación destructiva. Las biomásas fueron 133.5, 20.6, 2.3 y 35.7g para los biorreactores N2K2, N2K1, N1K2 y N1K1 respectivamente. Estos resultados muestran que el mayor nivel de nitrógeno entrante se tradujo en una mayor generación de biomasa vegetal, aunque no se encontró diferencia significativa ($p=0.4280$), y el nivel alto de potasio aumentó el efecto con el nivel alto de nitrógeno. Los dos niveles de potasio no mostraron diferencia significativa para la formación de biomasa vegetal ($p=0.6083$).

Ahora puede hacerse la observación de que los tratamientos con mayor rendimiento de biomasa vegetal, N2K2 (N:K=0.775) y N1K1 (N:K=0.500), fueron también los más eficientes en la remoción de materia orgánica carbonosa (97.0%), mientras que los tratamientos con menor rendimiento de biomasa vegetal, N2K1 (N:K=3.100) y N1K2 (0.125), fueron menos eficientes en la remoción de materia orgánica carbonosa (91.8%). Como se mencionó antes, las eficiencias de remoción para estos dos grupos de tratamientos fue estadísticamente significativa.

A lo largo de las tres etapas experimentales se observó que los valores obtenidos para la demanda química de oxígeno en los efluentes de las columnas fueron decreciendo hasta alcanzar valores de $10.99 mg-O_2 L^{-1}$ en el tratamiento C3N2K2TRH1PL2. Los valores promedio de *DQO* para todos los reactores en cada una de las etapas experimentales fueron de $48.2 mg-O_2 L^{-1}$ ($DE= 23.067 mg-O_2 L^{-1}$) para la etapa 1, de $25.5 mg-O_2 L^{-1}$ ($DE= 13.914 mg-O_2 L^{-1}$) para la etapa 2 y de $16.8 mg-O_2 L^{-1}$ ($DE= 8.326 mg-O_2 L^{-1}$) para la etapa 3. La explicación de este comportamiento se buscó en el error experimental, para lo cual se procedió a hacer una revisión de las varianzas de los datos en las tres etapas, pero no se descartó revisar otra posibilidad que es explicar el descenso de los valores de *DQO* como resultado del crecimiento de la planta. Para evaluar esta posibilidad se contó con los datos de área foliar y altura de planta. El modelo de primer orden aplicado a los datos de crecimiento de las plantas durante la primera etapa experimental, se utilizó para hacer predicciones más prolongadas hasta cubrir el periodo completo de las tres etapas experimentales y comparar los valores teóricos con los datos experimentales (Tabla 4.10).

Los datos de la Tabla 4.10 confirman que el mayor rendimiento de biomasa vegetal se traduce en mayor eficiencia de remoción de la carga orgánica.

A.3.2. Nitrógeno amoniacal

El análisis de los datos de remoción de nitrógeno amoniacal tendría que realizarse desde dos enfoques importantes. Uno es revisando los niveles de eficiencia de remoción y el otro comparando las concentraciones de salida con los valores máximos permitidos por la normatividad mexicana aplicable.

En esta tercera etapa experimental las eficiencias de remoción de nitrógeno amoniacal fueron notablemente más bajas con respecto a lo observado durante la primera etapa. Las eficiencias estuvieron dentro del rango 44.9 a 72.5% para los tratamientos N2K2 y N1K1 respectivamente, mientras que en la primera etapa experimental las eficiencias fueron de 79.7 y 75.0% para los biorreactores con planta y sin planta respectivamente (Tabla A.27 y Figura A.16). Se puede recordar que la carga orgánica fue $15.015\text{g-O}_2\text{m}^{-2}\text{d}^{-1}$, con tiempo de residencia hidráulica de 4 días y DQO_T de $296\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$. En la primera etapa se aplicó la concentración elevada de nitrógeno (40mg-NL^{-1}) para los biorreactores con planta y sin planta. También se puede recordar ahora que las concentraciones de nitrógeno amoniacal efluente en la etapa 1 fueron de 8.10 y 9.99mg-NL^{-1} para los biorreactores con planta y sin planta respectivamente.

Tabla A.27. Nitrógeno amoniacal en el efluente de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental.

Tratamiento	Promedio (\pm DE)	Fracción removida
C3N2K2TRH1PL2	22.05 (\pm 7.46)	0.4488
C3N2K1TRH1PL2	21.89 (\pm 11.00)	0.4528
C3N1K2TRH1PL2	4.15 (\pm 3.27)	0.5850
C3N1K1TRH1PL2	2.75 (\pm 1.23)	0.7250
C3N1K1TRH1PL1	2.52	0.7480
Control s/pl	(\pm 4.10)	
C0N0K0TRH1PL2	0.10	N/A
Control c/pl	(\pm 0.22)	

N/A= no se remueve nitrógeno en este tratamiento

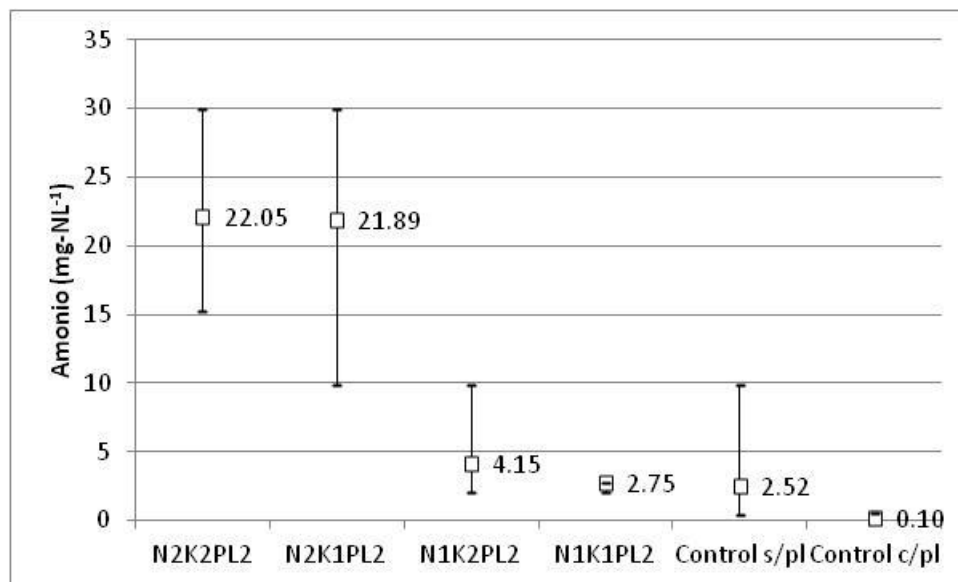


Figura A.16. Gráfico que muestra las concentraciones de nitrógeno amoniacal para los seis biorreactores en la tercera etapa experimental.

Tabla A.28. Análisis de varianza para los datos de nitrógeno amoniacal efluente para la tercera etapa experimental.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F observada	Significancia (p)
X1 (potasio)	3.02	1	3.02	0.06	0.8036
X2 (nitrógeno)	1714.03	1	1714.03	36.3	0
X1*X2	1.9	1	1.9	0.04	0.8434
Error	755.5	16	47.22		
Total	2474.45	19			

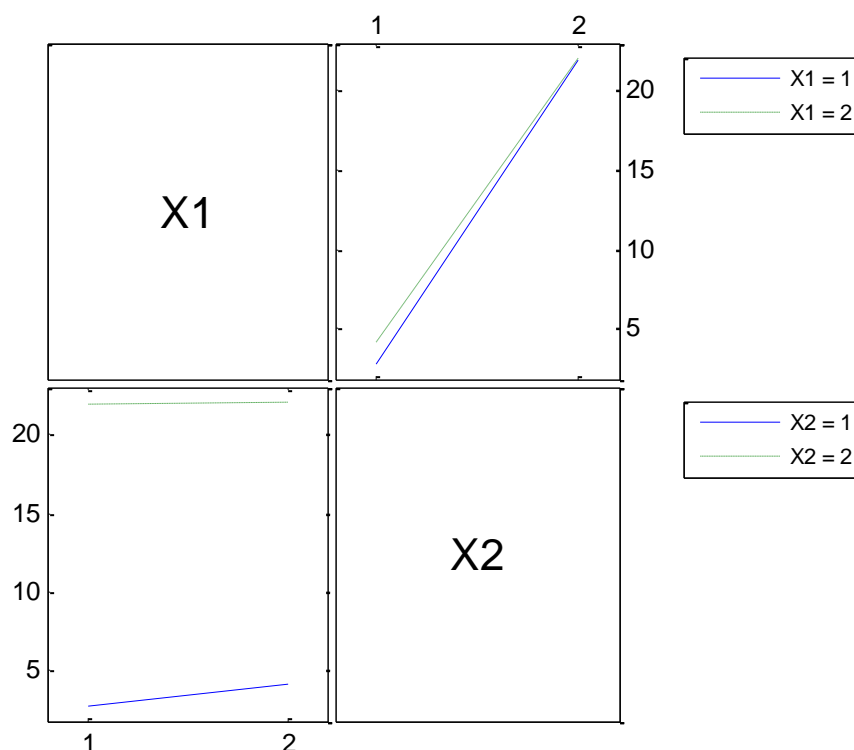


Figura A.17. Gráfico de interacciones para los datos de nitrógeno amoniacal efluente analizado bajo el modelo estadístico $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \varepsilon$, para la tercera etapa experimental.

Con respecto a los niveles de eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal en la tercera etapa experimental, se observó un efecto notable entre la eficiencia alcanzada por el nivel alto (45.1%) y el nivel bajo (65.5%), encontrándose que la diferencia fue estadísticamente significativa (para un valor de $\alpha = 0.05$ se obtuvo $p = 0$). Para el factor potasio no se encontró diferencia significativa ($p = 0.8036$) para las eficiencias de remoción de nitrógeno amoniacal. Tampoco se encontró efecto para la interacción de los dos factores evaluados ($p = 0.8434$), como puede verse en la Tabla A.28 y en la Figura A.17.

El otro enfoque del análisis de estos resultados tiene que ver con las concentraciones de nitrógeno amoniacal que se obtiene en el efluente, en comparación con los límites establecidos por la normatividad vigente, en este caso la NOM-001-1996-SEMARNAT sobre límites máximos permisibles de contaminantes para las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, misma que indica valores para nitrógeno total de 15 y 25mg-NL⁻¹ promedio mensual y diario respectivamente, para descarga en ríos cuyas aguas se destinan a la protección de la vida acuática; 15 y 25mg-NL⁻¹ para embalses naturales y artificiales cuyas aguas se destinan al uso público urbano; 15 y 25mg-NL⁻¹ para descarga en aguas costeras que alimenten estuarios. Con este enfoque, los efluentes de los tratamientos con el nivel bajo de nitrógeno y los controles, cumplieron todos con lo estipulado en esta norma al ser menores de 15mg-NL⁻¹. Sin embargo, los efluentes de los tratamientos con el nivel alto de nitrógeno no pueden cumplir con el promedio mensual en ningún caso (Tabla A.27). Cabe aclarar que la NOM-002-1996-SEMARNAT sobre límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal contempla los parámetros: grasas y aceites, sólidos sedimentables, concentraciones de metales (As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Zn) y cianuro,

pero no contempla nitrógeno. Por su parte la NOM-003-1997-SEMARNAT sobre límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reutilicen en servicios al público, contempla los parámetros: coliformes fecales, huevos de helminto, grasas y aceites, demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) y sólidos suspendidos totales, pero no contempla el parámetro nitrógeno en ninguna de sus formas.

Como se mencionó antes, los resultados para biomasa vegetal fueron 133.5, 20.6, 2.3 y 35.7g para los biorreactores N2K2, N2K1, N1K2 y N1K1 respectivamente. La biomasa final en el biorreactor control con planta, sin adición de nutrientes (N0K0PL2) fue de 24g. Al proceder nuevamente de la manera en que se hizo con los datos para remoción de materia orgánica carbonácea, puede notarse que el mayor rendimiento de biomasa estuvo relacionado con una mayor eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal. Los tratamientos N2K2 (N:K= 1:0.775) y N1K1 (N:K= 1:0.500) mostraron una eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal de 58.7%, mientras que los tratamientos N2K1 (N:K= 1:0.125) y N1K2 (N:K= 1:3.1) mostraron una eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal de 51.9%. Se realizó una prueba t-Student ($\alpha= 0.05$) para comparar los promedios de estos dos grupos de datos, obteniéndose la conclusión de que no hay diferencia estadística ($p= 0.9076$).

A.3.3. Nitrógeno de nitratos

Las determinaciones de nitratos en los efluentes de los seis biorreactores se presentan en las Tablas A.29 y A.30. Se pudo observar que la nitrificación prácticamente desapareció de los efluentes (Tabla A.29) con excepción del biorreactor N0K0PL2, en el que se encontró una concentración muy baja (0.1mg-NL^{-1}) de esta forma química del nitrógeno, mientras que en las muestras tomadas en otros puntos de la columna se detectaron niveles bajos de nitratos (0.2mg-NL^{-1}) en el puerto de 5cm de profundidad de los reactores N1K1PL2 y N2K1PL2. En los reactores N2K2PL2 y N0K0PL2 (control con planta) se determinaron concentraciones mayores de nitrato (1.1mg-NL^{-1}) en los puertos de muestreo de 5cm y para el reactor N0K0PL2 se encontró una concentración igual en el puerto de muestreo de 20cm de profundidad, como puede verse en la Tabla A.30. La baja actividad nitrificante puede verse también en los datos de las Tablas A.19, A.20 y A.31, donde se presentan los resultados de las determinaciones de nitritos (NO_2^-). En ellas puede verse que solo el efluente del reactor N2K1PL2 presentó nitritos en una concentración sumamente baja (0.03mg-NL^{-1}).

Tabla A.29. Nitrógeno de nitratos (mg-NL^{-1}) en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $240\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.

Tratamiento	Nitrógeno de nitratos promedio (mg-NL^{-1})
N2K2PL2	0.0±0
N2K1PL2	0.0±0
N1K2PL2	0.0±0
N1K1PL2	0.0±0
N1K1PL1	0.0±0
Control s/pl	0.0±0
N0K0PL2	0.1±0.1
Control c/pl	0.1±0.1

Las condiciones para la nitrificación se fueron haciendo inadecuadas a lo largo de las etapas de experimentación debido a que no se proporcionó una fuente de carbono inorgánico en forma de bicarbonato (HCO_3^-) para los microorganismos autótrofos que lo utilizan, *Nitrosomonas* sp y *Nitrobacter* sp., aunque tal vez este factor no haya sido limitante, según el análisis que se presentó en la

sección 4.3. Tampoco se realizó un control del pH de la solución, observándose que en los tratamientos con la dosis elevada de nitrógeno el valor de pH bajó paulatinamente hasta 6.2 en el biorreactor N2K2PL2 al final de la experimentación, cuando se sabe que el pH óptimo para este proceso es entre 7.5 y 8.5. Los tiempos de residencia hidráulicos fueron más prolongados que los niveles óptimos y las cargas orgánicas elevadas generaron potenciales redox más bien bajos (menores de +150mV) donde no se favorece la oxidación del amonio o el nitrito (Paredes y col., 2007).

Tabla A.30. Nitrógeno de nitratos (mg-NL^{-1}) en los tres puertos de muestreo de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $296\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.

Tratamiento	Nitrógeno de nitratos promedio (mg-NL^{-1})		
	5cm	20cm	35cm
C3N2K2TRH1PL2	1.1	0.0	0.0
C3N2K1TRH1PL2	0.2	0.0	0.0
C3N1K2TRH1PL2	0.0	0.0	0.0
C3N1K1TRH1PL2	0.2	0.0	0.0
C3N1K1TRH1PL1	0.0	0.0	0.0
Control s/pl			
C0N0K0TRH1PL2	1.1	1.1	0.0
Control c/pl			

En el aspecto temporal, la actividad nitrificante fue desapareciendo gradualmente desde la primera etapa experimental hasta casi desaparecer al final de la tercera etapa. También desde el punto de vista espacial, puede comentarse que al inicio de la experimentación, se encontraron nitratos en los efluentes de los biorreactores en concentraciones elevadas, de acuerdo con lo esperado para este proceso (Orduña y col., 2002), mientras que hacia el final de la experimentación, los nitratos prácticamente desaparecieron de los efluentes y únicamente se encontraron en las partes altas de las columnas, en los puertos de 5cm y 20cm, donde las condiciones son más oxidantes que hacia la parte inferior, donde el ambiente se hace reductor (Tabla A.23).

Tabla A.31. Nitrógeno de nitritos (mg-NL^{-1}) en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación del sistema, 159 días de tratamiento con $296\text{mg-O}_2\text{L}^{-1}$ en la alimentación.

Tratamiento	24/06/2010
C3N2K2TRH1PL2	0.00
C3N2K1TRH1PL2	0.03
C3N1K2TRH1PL2	0.00
C3N1K1TRH1PL2	0.00
C3N1K1TRH1PL1 (Control s/pl)	0.00
C0N0K0TRH1PL2(Control c/pl)	0.00

A.3.4. Resultados para pH

Los valores de pH medidos para los efluentes de los biorreactores en la tercera etapa de la experimentación, mostraron nuevamente tendencias a la neutralidad, como se muestra en la Tabla A.32 y en la Figura A.18. También, de acuerdo a lo esperado, los valores más bajos para este parámetro se observaron en los reactores que recibieron el tratamiento con el nivel alto de nitrógeno que, como se ha mencionado anteriormente, genera una mayor liberación de iones H^+ al medio circundante a la zona

radicular, ya que la planta, al tomar el ion amonio para incorporarlo a la molécula de α -cetoglutarato, libera dos iones H^+ , mismos que se liberan a la rizosfera y contribuyen a bajar el valor de pH .

Tabla A.32. Valores de pH medidos en los efluentes de los seis biorreactores durante la tercera etapa experimental con una duración de 159 días.

Tratamiento	pH promedio
N2K2PL2	6.15 (± 0.06)
N2K1PL2	6.77 (± 0.07)
N1K2PL2	6.97 (± 0.03)
N1K1PL2	6.85 (± 0.03)
Control s/pl	6.97 (± 0.04)
Control c/pl	7.17 (± 0.05)

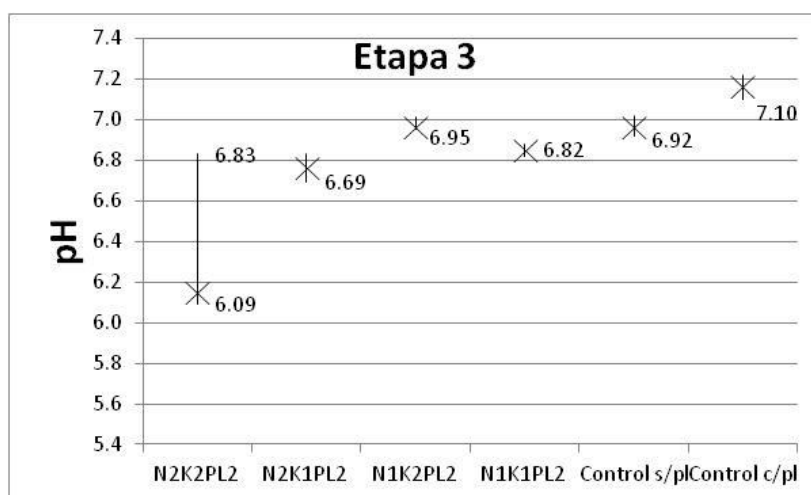


Figura A.18. Valores de pH medidos en los efluentes de los biorreactores a los 584 días de operación.

En esta ocasión, sólo el biorreactor control con planta mostró un valor de pH superior al neutro ($pH=7.17$), lo cual indica que la ausencia del ion amonio en la solución de alimentación ayuda a mantener niveles de pH más cercanos al neutro. En este punto también es importante recordar que conforme el valor de pH se va haciendo más bajo, la planta va a incrementar su absorción de nitrógeno en forma de ion nitrato, siempre y cuando esté disponible en el medio, liberando entonces iones hidroxilo (OH^-), que a su vez contribuirán a aumentar el valor de pH , haciendo de esta manera un control del pH del medio circundante (Bidwel, 1979, Nabors, 2006).

Tabla A.33. Acidez y alcalinidad para los efluentes de seis biorreactores a los 584 días de operación del sistema.

Tratamiento	Alcalinidad meqL ⁻¹ (<i>pH</i> _{final} =4.5)	*Acidez meqL ⁻¹ (<i>pH</i> _{final} =8.3)	<i>pH</i> inicial
N2K2TRH1PL2	0.80±0.07 (39.870)	2.33 (116.606)	6.15 (±0.06)
N2K1TRH1PL2	1.61±0.04 (80.573)	2.00 (100.091)	6.77 (±0.07)
N1K2TRH1PL2	1.71±0.02 (85.411)	1.06 (53.048)	6.97 (±0.03)
N1K1TRH1PL2	1.46±0.04 (72.900)	1.33 (66.561)	6.85 (±0.03)
N1K1TRH1PL1	1.61±0.01 (80.740)	1.19 (59.554)	6.97 (±0.04)
Control s/planta	0.87±0.01 (43.706)	0.39 (19.518)	7.17 (±0.05)
N0K0TRH1PL2			
Control c/planta			

* Se realizó una sola determinación de la acidez, por ello no se proporciona la desviación estándar

Nota: Los valores entre paréntesis en mgCaCO₃L⁻¹.

A.3.5. Resultados para acidez y alcalinidad

Los límites permisibles para alcalinidad en agua están establecidos únicamente para el agua potable, que para nuestro país están regulados por la NOM-127-SSA1-1994, aunque no está contenido este parámetro. La normativa del Ente Regulador de Servicios Sanitarios (ENRESS), de la República Argentina, sin embargo, establece un rango permisible de 30 < alcalinidad > 200mgCaCO₃L⁻¹ para el agua destinada al abasto público.

Para la normativa mexicana (NOM-042-SSA1-1993. Bienes y servicios. Hielo potable y hielo purificado. Especificaciones sanitarias), se establece un límite de 300mgCaCO₃L⁻¹ en alcalinidad para hielo preparado con agua potable destinado al consumo humano. En las dos normativas revisadas los valores obtenidos caen dentro de los límites establecidos (Tabla A.33). Como se mencionó antes, la reducción biológica de nitrógeno es un proceso que consume iones bicarbonato (HCO₃⁻) por ser una vía autotrófica. La alcalinidad del efluente determinada en el laboratorio (Tabla A.33), indica que se tiene alcalinidad residual. Como se comentó en el apartado 4.3, puede decirse que la alcalinidad no fue un factor limitante para la nitrificación biológica dentro de los biorreactores.

A.3.6. Resultados para conductividad eléctrica

Los valores de conductividad medidos están dentro del rango para soluciones diluidas, para aguas salobres y en el rango bajo para aguas residuales (Tchobanoglous y col., 1991), como puede verse en los datos de la Tabla A.34.

Las lecturas de conductividad eléctrica muestran que las mayores concentraciones molares no estuvieron asociadas con mayor conductividad, como cabría esperar. Esto, de acuerdo con el reporte de Vassilev y Russev (1981), se debe a la presencia de sacarosa en la solución.

Tabla A.34. Valores de la conductividad eléctrica en $\mu\text{S}/\text{cm}$ medidos en el influente y en los puertos de muestreo de 5cm y 35cm (efluente).

Muestra	Conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)			Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Concentración Milimolar	Fuerza iónica de la solución (mol)
	Influente	Efluente	Puerto de muestreo 5cm			
N0K0PL2	432	531	N/D	20.4	0	0
N1K1PL1	781	746	740	20.2	2.223424	0.00325767
N1K1PL2	778	882	835	20.0	2.223424	0.00325767
N1K2PL2	790	791	773	20.2	2.223433	0.00325767
N2K1PL2	828	816	823	20.1	2.220785	0.00325239
N2K2PL2	848	1165	1075	20.5	2.220794	0.00325239

Fuerza iónica calculada con $I = 1/2 \sum_{i=1}^n [i] z_i^2$; el contenido de sacarosa no se contabilizó para la concentración ni para el cálculo de la fuerza iónica.

N/D= no se determinó

ANEXO B. BALANCES DE MATERIA PARA NITRÓGENO Y CARBONO

Balance de materia para nitrógeno

Tabla B.1. Consideraciones para el balance de materia de nitrógeno.

Parámetros	Etapas experimentales 1, 2 y 3
Reactor	Condiciones de operación de los biorreactores en cada etapa experimental
Duración (días)	Duración de la etapa experimental
Carga hidráulica ($m^3 m^{-2} d^{-1}$)	Carga hidráulica aplicada
Carga-N ($g-N m^{-2} d^{-1}$)	Carga de nitrógeno aplicado en el agua residual sintética
Evapotranspiración (cm)	Agua que sale del biorreactor en forma de vapor a través de los estomas de las hojas de las plantas
Biomasa (g)	Peso seco de los tejidos vegetales cosechados, secos a la estufa (103°C) durante 24h
Evapotranspiración - EVPT ($m^3 m^{-2} d^{-1}$)	$EVPT = (Evapotranspiración / 100 \text{ cm}) * (\text{Área del cilindro} / \text{Área del cilindro})$
N_{in} ($g-N m^{-2} d^{-1}$)	Nitrógeno que ingresa al biorreactor en el ARS
N_{Planta} ($g-N m^{-2} d^{-1}$)	$N_{Planta} = (Biomasa * 0.0005) / (\text{Área del cilindro} * \text{Duración de la etapa})$
$N_{Efluente}$ ($g-N m^{-2} d^{-1}$)	$N_{Efluente} = N_{Efl. Medido} * (Carga hidráulica / EVPT)$
Desnitrificación + Acumulación ($g-N m^{-2} d^{-1}$)	$Desnitrificación + Acumulación = N_{in} - (N_{Planta} + N_{Efluente})$
N_{Sale}	$N_{Sale} = N_{Planta} + N_{Efluente} + (Desnitrificación + Acumulación)$

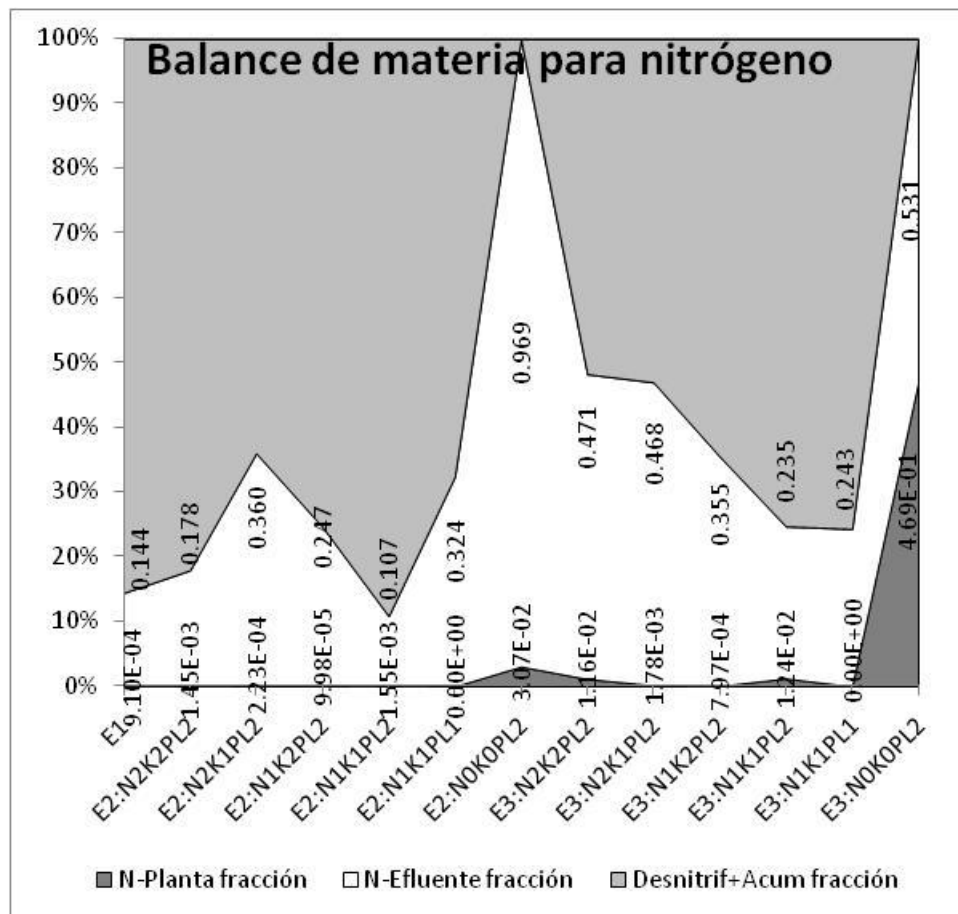


Figura B1. Balance de materia para nitrógeno.

Balance de materia para nitrógeno

Tabla B.2. Balance de materia para nitrógeno.

Etapa/Trat	N_in	N_Sale				N_Sale		
	N_in	N_Planta	N_Efluente	Desnitrif. +	N_Sale	N_Planta	N_Efluente	Desnitrif. +
	gNm ⁻² d ⁻¹	gNm ⁻² d ⁻¹	gNm ⁻² d ⁻¹	gNm ⁻² d ⁻¹	gNm ⁻² d ⁻¹	fracción	fracción	fracción
E1	1.01417269	0.00092277	0.14555147	0.86769845	1.01417269	9.10E-04	0.14351744	0.85557268
E2:N2K2PL2	1.01417269	0.00146879	0.18041195	0.83229196	1.01417269	1.45E-03	0.17789075	0.82066098
E2:N2K1PL2	1.01417269	0.00022658	0.36513653	0.64880959	1.01417269	2.23E-04	0.36003388	0.63974271
E2:N1K2PL2	0.25354317	2.5302E-05	0.06253322	0.19098465	0.25354317	9.98E-05	0.24663738	0.75326283
E2:N1K1PL2	0.25354317	0.00039282	0.02713367	0.22601668	0.25354317	1.55E-03	0.10701794	0.89143272
E2:N1K1PL1	0.25354317	0	0.08216042	0.17138275	0.25354317	0.00E+00	0.32404905	0.67595095
E2:N0K0PL2	0	0.00064876	0.02048502	0	0.02113378	3.07E-02	0.96930227	0
E3:N2K2PL2	2.02834539	0.0234567	0.95528614	1.04960255	2.02834539	1.16E-02	0.47096818	0.51746737
E3:N2K1PL2	2.02834539	0.00361954	0.94965407	1.07507178	2.02834539	1.78E-03	0.4681915	0.53002402
E3:N1K2PL2	0.50708635	0.00040412	0.17979308	0.32688914	0.50708635	7.97E-04	0.35456108	0.64464197
E3:N1K1PL2	0.50708635	0.00627269	0.11914	0.38167366	0.50708635	1.24E-02	0.23495011	0.75267982
E3:N1K1PL1	0.50708635	0	0.12338836	0.38369799	0.50708635	0.00E+00	0.2433281	0.7566719
E3:N0K0PL2	0	0.00421693	0.0047656	0	0.00898253	4.69E-01	0.53054069	0

Balance de materia para carbono

Tabla B.3. Consideraciones para el balance de materia de carbono.

Parámetros	Etapas experimentales 1, 2 y 3
Reactor	Condiciones de operación de los biorreactores en cada etapa experimental
Duración (días)	Duración de la etapa experimental
Carga hidráulica ($m^3 m^{-2} d^{-1}$)	Carga hidráulica aplicada
Carga de C ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	Carga de carbono aplicado en el agua residual sintética
Evapotranspiración (cmd^{-1})	Agua que sale del biorreactor en forma de vapor a través de los estomas de las hojas de las plantas
Biomasa (g)	Peso seco de los tejidos vegetales cosechados, secos a la estufa (103°C) durante 24h
EVPT ($m^3 m^{-2} d^{-1}$)	$EVPT = (Evapotranspiración / 100 cm) * (Área del cilindro / Área del cilindro)$
C _{in} ARS ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	Carbono que ingresa al biorreactor en el agua residual sintética
C _{in} Planta ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	${}^1C_{in} Planta = 1.226 * 0.375281 * (Carga\ hidráulica - EVPT)$
C _{in} ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	$C_{in} = C_{in} ARS + C_{in} Planta$
C _{Sale} Efluente Respiración + Metanogénesis ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	${}^2C_{Sale} Efluente = C_{in} ARS * (1 - Eficiencia) * (Carga\ hidráulica - EVPT)$ $C_{Sale} Respiración + Metanogénesis + Acumulación = C_{in} - C_{Sale} Efluente$
C _{Sale} ($g-Cm^{-2} d^{-1}$)	$C_{Sale} = C_{Sale} Efluente + C_{Sale} Respiración + Metanogénesis + Acumulación$

1. $1.226 mgO_2 L^{-1}$, es la concentración basal de DQO medida en el efluente del biorreactor control con planta; 0.375281, factor calculado como $X = (Carga_C) / (DQO * CargaHidráulica)$, con unidades $g-C * L * mgO_2^{-1} * m^{-3}$
2. La eficiencia expresada en fracción

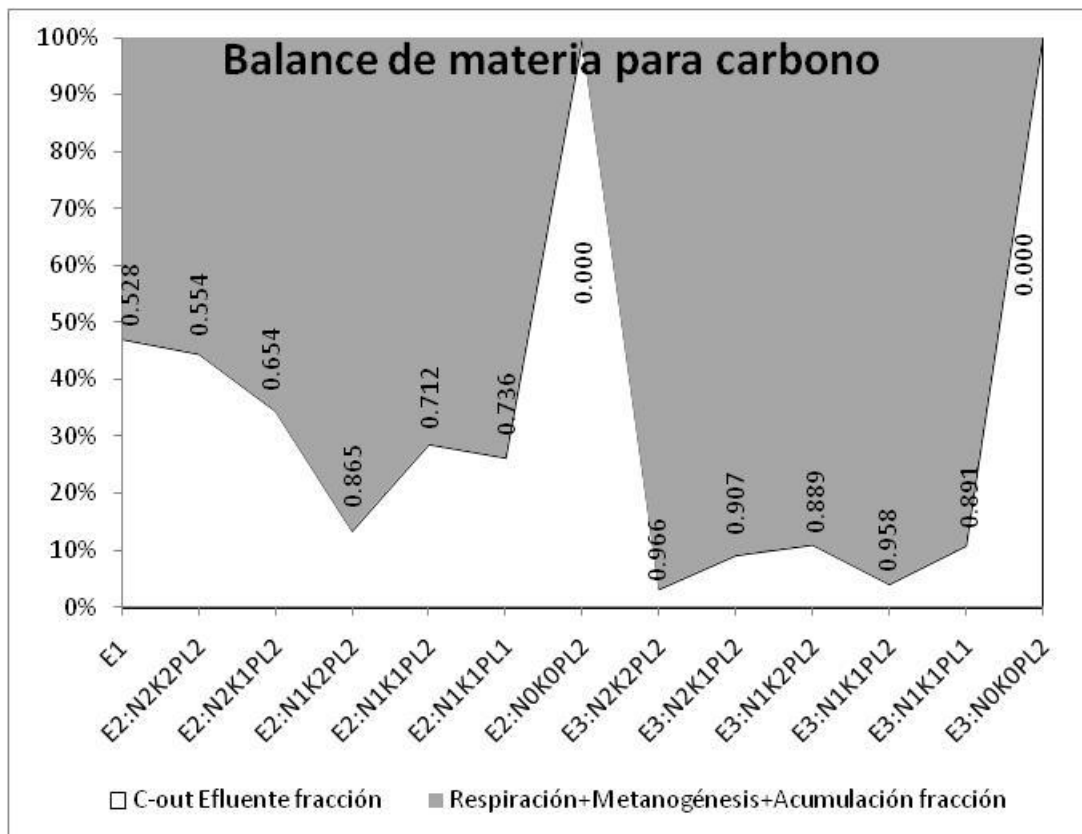


Figura B.2. Balance de materia para carbono.

Balance de materia para carbono

Tabla B.4. Balance de materia para carbono.

Etapa/Trat	C_in			C_Sale			C_Sale		
	C_in ARS	C_in Planta	C_in	C_Sale Efluente	Respiración+ Metanogén.+ Acumulación	C_out	C_Sale Efluente	Respiración+ Metanogén.+ Acumulación	C_Sale
	gCm ⁻² d ⁻¹	gCm ⁻² d ⁻¹	gCm ⁻² d ⁻¹	gCm ⁻² d ⁻¹	gCm ⁻² d ⁻¹	gCm ⁻² d ⁻¹	fracción	fracción	fracción
E1	0.76119999	0.00826758	0.76946757	0.36324096	0.40622662	0.76946757	0.47206792	0.52793208	1
E2:N2K2PL2	0.76119999	0.00826758	0.76946757	0.3432214	0.42624618	0.76946757	0.4460505	0.5539495	1
E2:N2K1PL2	0.76119999	0.00826758	0.76946757	0.26618796	0.50327961	0.76946757	0.34593785	0.65406215	1
E2:N1K2PL2	0.76119999	0.00826758	0.76946757	0.1042046	0.66526297	0.76946757	0.13542429	0.86457571	1
E2:N1K1PL2	0.76119999	0.00826758	0.76946757	0.22135328	0.54811429	0.76946757	0.28767071	0.71232929	1
E2:N1K1PL1	0.76119999	0	0.76119999	0.2009568	0.56024319	0.76119999	0.264	0.736	1
E2:N0K0PL2	0	0.00826758	0.00826758	0.00826758	0	0.00826758	1	0	1
E3:N2K2PL2	4.56719994	0.01993297	4.58713291	0.15432149	4.43281142	4.58713291	0.03364225	0.96635775	1
E3:N2K1PL2	4.56719994	0.01993297	4.58713291	0.42606988	4.16106302	4.58713291	0.0928837	0.9071163	1
E3:N1K2PL2	4.56719994	0.01993297	4.58713291	0.5110198	4.0761131	4.58713291	0.11140288	0.88859712	1
E3:N1K1PL2	4.56719994	0.01993297	4.58713291	0.19405613	4.39307678	4.58713291	0.04230445	0.95769555	1
E3:N1K1PL1	4.56719994	0	4.56719994	0.50010839	4.06709155	4.56719994	0.1095	0.8905	1
E3:N0K0PL2	0	0.01993297	0.01993297	0.01993297	0	0.01993297	1	0	1

ANEXO C. ACERVO FOTOGRÁFICO

Biorreactores

El diseño de los biorreactores que se presentó en el apartado 3.1 del capítulo de metodologías se siguió para la construcción de seis biorreactores, de los cuales cinco se sembraron con la especie vegetal *Phragmites australis*, para lo cual se tomó material vegetativo de un pequeño humedal situado en la parte posterior del laboratorio 301 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM.



Figura C.1. Área de trabajo: 1) Mesa de trabajo soportando los biorreactores y en la parte superior el sistema de iluminación artificial; 2) Colocación de un termómetro de máxima y mínima para el registro diario de temperaturas; 3) Puerto de muestreo para electrodos en la parte superior y puerto de muestreo de efluente a 5cm, por un costado; 4) Puerto de muestreo para electrodos mostrando el nivel de agua, también puede verse el lecho de escoria volcánica (tezontle) con una granulometría de 0.5cm y porosidad de 0.54.



Figura C.2. Propagación del material vegetativo de *Phragmites australis* y acondicionamiento de los biorreactores en el área de trabajo: 1) Humedal del que se extrajeron los propágulos para colocarse en los biorreactores, ubicado en el conjunto E de la facultad de Química; 2) Colocación de los propágulos en los biorreactores empacados y sistema de iluminación con temporizador para su encendido y apagado automático; 3) Puertos de muestreo de efluente y puerto para electrodos y drenaje con sifón en las columnas empacadas; 4) Columnas empacadas, bomba peristáltica y depósitos de agua residual sintética de alimentación.



Figura C.3. Las imágenes muestran la instalación del equipo mV600, controlador del potencial de óxido-reducción para la medición y registro de las lecturas. 1) Electrodo de potencial de óxido reducción en el puerto de muestreo para electrodos; 2) Biorreactores, PC y controlador mV600; 3) Ubicación del electrodo de potencial de óxido reducción en el puerto de muestreo a 5cm de profundidad; 4) Carátula del controlador de potencial de óxido-reducción Hanna mV600.



Figura C.4. Colocación de los electrodos para determinar potencial redox en la columna de agua.

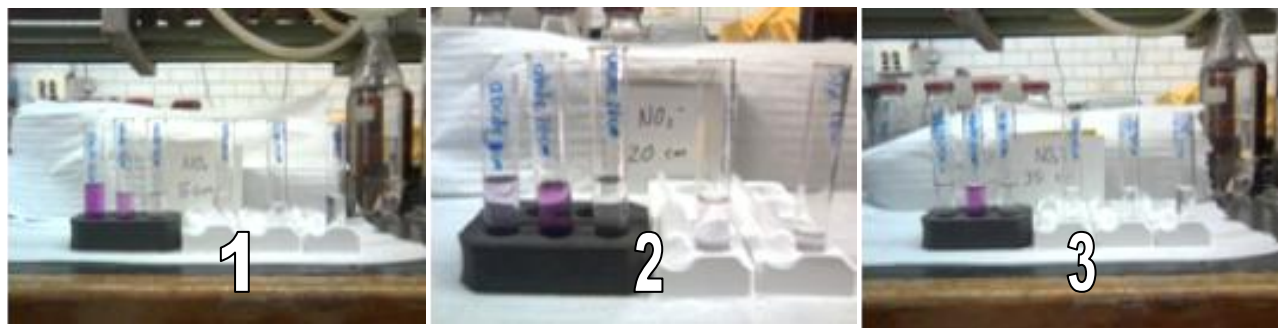


Figura C.5. Análisis de muestras de nitritos en los puertos de muestreo para efluentes de 1) 5cm; 2) 20cm; 3) 35cm.



Figura C.6. Medición del potencial redox en el puerto de 35cm de profundidad de la columna.

Estos biorreactores se operaron durante la fase experimental que comprendió un periodo de 584 días durante el que se realizaron tres etapas experimentales modificando las condiciones de operación y la composición del agua residual sintética, de manera que se pudieran generar los datos necesarios para confrontar la hipótesis planteada.

Como se ha mencionado en el capítulo de metodologías, se realizaron determinaciones de demanda química de oxígeno soluble, nitrógeno (amoniacal, nitratos y nitritos), consumos de sacarosa, *pH* y potencial de óxido-reducción, además se hizo un seguimiento de la altura de planta y área foliar, también de las temperaturas ambiente (máxima, mínima y promedio), de la evaporación y evapotranspiración.

ANEXO D. MANEJO DE LOS RESIDUOS DE ANÁLISIS

Demanda química de oxígeno

1. Tratamiento de residuos. La siguiente tabla muestra las cantidades de reactivos que se necesitaron para el tratamiento de los residuos que se generaron al gastarse el total de las soluciones preparadas.

Solución	Cantidad para 1L	Cantidad para 400 mL
Ácido clorhídrico 2N (16.6mLHCl + 983.4 mL Agua destilada)	20 mL	8 mL
Sulfato ferroso amoniacal	20 g	8 g
Hidróxido de sodio 8N (320 gNaOH + Agua destilada)	600 mL	240 mL
Hidróxido de sodio (hasta alcanzar pH=9.5)	Variable	Variable
Ácido sulfúrico concentrado (hasta alcanzar pH=7 en la fase líquida)	Variable	Variable

2. Cantidades de reactivos necesarios para la primera etapa experimental. La siguiente tabla muestra el total de reactivos que se emplearon durante la experimentación, es decir, los reactivos gastados en los análisis.

Reactivo	Cantidad utilizada
Agua destilada *	25L
Ácido sulfúrico concentrado (H ₂ SO ₄)	300 mL + 16.7 mL = 316.7 mL
Dicromato de potasio (K ₂ Cr ₂ O ₇)	1.0216 g
Sulfato mercuríco (HgSO ₄)	3.33 g
Sulfato de plata (Ag SO ₄)	3.036 g
Hidrógenoftalato de potasio. Patrón primario (C ₈ H ₅ CO ₄ K)	0.136 g
Sulfato ferroso amoniacal (Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ 6H ₂ O	20 g

* El agua destilada se emplea en mayor cantidad debido a que una parte se utiliza para enjuagar los tubos de reacción y los materiales de vidrio y envases para la preparación y almacenamiento de las soluciones.

Los análisis de nitrógeno se realizaron con reactivos preparados de la marca HAGEN y los residuos se desecharon en el drenaje sanitario del Laboratorio.

ANEXO E. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aerénquima. El aerénquima es un tejido vegetal parenquimático con grandes espacios intercelulares llenos de aire, presentando sus células constituyentes por finas membranas no suberificadas; en unos casos es un tejido primario y en otros, producto del felógeno o de un meristema parecido. Es propio de plantas acuáticas sumergidas o de las palustres que se desarrollan en medios pobres en oxígeno. Se distinguen dos tipos: *Aerénquima esponjoso*: formado por una serie más o menos grande de estratos unicelulares, concéntricos, enlazados entre sí por las prolongaciones de células que van de estrato a estrato, entre los cuales se almacena el aire; es muy blando y blanquecino, propio de raíces y partes inferiores de tallos de plantas palustres; *Aerénquima lameloso*: formado por células dispuestas irregularmente, pero dejando grandes espacios entre ellas, limitados por una única capa de células, siendo propio de plantas acuáticas (<http://es.wikipedia.org/wiki/Aer%C3%A9nquima>).

Afluente. Corriente líquida secundaria que se incorpora a una corriente primaria.

Aguas residuales. Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Aguas residuales domésticas. Las provenientes del uso particular de las personas y del hogar (NOM-002-SEMARNAT-1996).

Aguas residuales de proceso. Las resultantes de la producción de un bien o servicio comercializable (NOM-002-SEMARNAT-1996).

Annnox. Palabra acuñada en inglés de los términos anaerobic ammonium oxidation que indican el proceso de oxidación de amonio que se realiza bajo condiciones "anaerobias" en presencia de nitritos.

ARN-F específico. Los bacteriófagos (fagos) son virus que sólo utilizan bacterias como hospedadores para la replicación. Los colifagos utilizan *E. coli* y otras especies emparentadas próximamente con ella como hospedadores y, por lo tanto, pueden ser liberados por estos hospedadores bacterianos a las heces humanas y de otros animales de sangre caliente. Los colifagos que se utilizan en la evaluación de la calidad del agua se dividen en dos grupos principales: colifagos somáticos y colifagos de ARN F-específicos (específicos para *E. Coli* F+). Una de las diferencias entre ambos grupos es la vía de infección (Fuente (consultada el 4 de mayo de 2011): http://www.bvsde.paho.org/cd-gdwq/docs_microbiologicos/Indicadores%20PDF/Colifagos.pdf).

Carga contaminante. Cantidad de contaminante expresada en unidades de masa por unidad de tiempo, aportada en una descarga de aguas residuales (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Citosol. El medio intracelular está formado por una solución líquida denominada hialoplasma o citosol. Los orgánulos están contenidos en una matriz citoplasmática. Es un material acuoso que es una solución o suspensión de biomoléculas vitales celulares. Muchos procesos bioquímicos, incluyendo la glucólisis, ocurren en el citosol. En una célula eucariota, puede ocupar entre un 50% a un 80% del volumen de la célula. Está compuesto aproximadamente de un 70% de agua mientras que el resto de sus componentes

son moléculas que forman una disolución coloidal. Estas moléculas suelen ser macromoléculas. Los cambios en la forma del citosol se deben a las necesidades temporales de la célula con respecto al metabolismo, y juega un importante papel en la locomoción celular (<http://es.wikipedia.org/wiki/Citoplasma>).

Condiciones particulares de descarga. El conjunto de parámetros físicos, químicos y biológicos y de sus niveles máximos permitidos en las descargas de agua residual, determinados por la Comisión Nacional del Agua para el responsable o grupo de responsables de la descarga o para un cuerpo receptor específico, con el fin de preservar y controlar la calidad de las aguas conforme a la Ley de Aguas Nacionales y su Reglamento (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Contaminantes. Son aquellos parámetros o compuestos que, en determinadas concentraciones, pueden producir efectos negativos en la salud humana y en el medio ambiente, dañar la infraestructura hidráulica o inhibir los procesos de tratamiento de las aguas residuales (NOM-002-SEMARNAT-1996).

Contaminantes básicos. Son aquellos compuestos y parámetros que se presentan en las descargas de aguas residuales y que pueden ser removidos o estabilizados mediante tratamientos convencionales. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana (la NOM-001-SEMARNAT-1996) sólo se consideran los siguientes: grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), nitrógeno total (la suma de las concentraciones de nitrógeno Kjeldhal, de nitritos y de nitratos, expresadas como mg-NL^{-1}), fósforo total, temperatura y pH (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Contaminantes patógenos y parasitarios. Son aquellos microorganismos, quistes y huevos de parásitos que pueden estar presentes en las aguas residuales y que representan un riesgo a la salud humana, flora o fauna. En lo que corresponde a esta Norma Oficial Mexicana (NOM-001-SEMARNAT-1996) sólo se consideran los coliformes fecales y los huevos de helminto (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Cuerpo receptor. Son las corrientes, depósitos naturales de agua, cauces, zonas marinas o bienes nacionales donde se descargan aguas residuales, así como los terrenos en donde se infiltran o inyectan dichas aguas cuando puedan contaminar el suelo o los acuíferos (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Descarga. Acción de verter, infiltrar, depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando este es un bien del dominio público de la Nación (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Descarga. Acción de verter aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal (NOM-002-SEMARNAT-1996).

Embalse artificial. Vaso de formación artificial que se origina por la construcción de un bordo o cortina y que es alimentado por uno o varios ríos o agua subterránea o pluvial (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Embalse natural. Vaso de formación natural que es alimentado por uno o varios ríos o agua subterránea o pluvial (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Estomas. Los estomas son pequeñas estructuras celulares localizadas en la superficie de la hoja, que tienen la capacidad de moverse para abrir o cerrar un minúsculo hueco conectado al tejido vascular, o xilema, que transporta agua en sentido vertical. Este mecanismo de apertura-cierre estomatal permite además que haya intercambio de gases y vapor hacia la atmósfera, permitiendo la salida de O_2 y la entrada de CO_2 . También de esta manera, es un mecanismo de control de la turgencia de los tejidos de la planta.

Fotosíntesis C3. La vía metabólica por la que los vegetales fijan CO₂ a partir de la condensación de ribulosa-1,5-bisfosfato con el CO₂ y su reducción ($2ATP$ y $2NADPH$ por mol de CO₂) a gliceraldehído-3-fosfato, una molécula con tres átomos de carbono (Nabors, 2006).

Fotosíntesis C4. En esta vía metabólica, los vegetales fijan CO₂ en las células del mesófilo a partir de la condensación de fosfoenolpiruvato con el CO₂ para formar oxaloacetato y a continuación malato. El malato se transporta a las células envolventes del haz en donde se libera CO₂ y piruvato. Ahí el CO₂ entra al ciclo de Calvin y el piruvato se transporta a las células del mesófilo donde es transformado en fosfoenolpiruvato con inversión de energía, un mol de ATP por mol de piruvato (Nabors, 2006).

Humedal. Un humedal es una zona de tierras, generalmente planas, en la que la superficie se inunda permanente o intermitentemente. Al cubrirse regularmente de agua, el suelo se satura, quedando desprovisto de oxígeno y dando lugar a un ecosistema híbrido entre los puramente acuáticos y los terrestres.

La categoría biológica de humedal comprende zonas de propiedades geológicas diversas: ciénagas, esteros, marismas, pantanos, turberas, así como las zonas de costa marítima que presentan anegación periódica por el régimen de mareas (manglares).

Definición de "humedal" según el Convenio de Ramsar:

"Un humedal es una zona de la superficie terrestre que está temporal ó permanentemente inundada, regulada por factores climáticos y en constante interrelación con los seres vivos que la habitan".

Según el artículo 1 del párrafo 1, se consideran humedales:

"Las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros".

Así mismo, contenido en el artículo 2 del párrafo 1, se estipula que:

"Podrán comprender sus zonas ribereñas o costeras adyacentes, así como las islas o extensiones de agua marina de una profundidad superior a los seis metros en marea baja, cuando se encuentren dentro del humedal".

El Día Mundial de los Humedales se celebra cada 2 de febrero desde que en 1971 se llevara a cabo la Convención de Ramsar (Referencia al sitio web: <http://es.wikipedia.org/wiki/Humedal>).

Humedales naturales. Las zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, sujetas o no a la influencia de mareas, como pantanos, ciénagas y marismas cuyos límites los constituyen el tipo de vegetación hidrófila de presencia permanente o estacional; las áreas donde el suelo es predominantemente hídrico; y las áreas lacustres o de suelos permanentemente húmedos originados por la descarga natural de acuíferos (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Límite máximo permisible. Valor o rango asignado a un parámetro, el cual no debe ser excedido en la descarga de aguas residuales (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Macrofita. Las plantas acuáticas o macrofitas (también llamadas plantas hidrofíticas o macrofitas o plantas hidrofílicas o higrofitas) son plantas adaptadas a los medios muy húmedos o acuáticos tales como lagos, estanques, charcos, estuarios, pantanos, orillas de los ríos, deltas o lagunas marinas. Estas plantas pueden encontrarse tanto entre las algas como entre los vegetales vasculares: briófitos,

pteropsidas y angiospermas (familia de las Monocotiledóneas y de las Dicotiledóneas). Su adaptación al medio acuático es variable. Se pueden encontrar diferentes grupos de plantas: unas totalmente sumergidas, otras, las más numerosas, parcialmente sumergidas o con hojas flotantes.

Generalmente están arraigadas en el cieno que se forma en el fondo de las aguas en las que viven, algunas son libres (caso excepcional en el mundo vegetal) derivando entre dos aguas y flotando en la superficie. Estas especies están, generalmente, adaptadas al modo de vida acuático tanto en su parte vegetativa como reproductiva. (Referencia al sitio web: http://es.wikipedia.org/wiki/Planta_acu%C3%A1tica)

Palustre. adj. Pertenciente o relativo a una laguna o a un pantano. (Diccionario de la Lengua Española. Real Academia Española de la Lengua. Dirección web: http://buscon.rae.es/draeI/SrvltConsulta?TIPO_BUS=3&LEMA=palustre)

Parámetro. Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad física, química y biológica del agua (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Promedio diario. Es el valor que resulta del análisis de una muestra compuesta. En el caso del parámetro grasas y aceites, es el promedio ponderado en función del caudal, y la media geométrica para los coliformes fecales, de los valores que resulten de los análisis de cada una de las muestras simples tomadas para formar la muestra compuesta. Las unidades de *pH* no deberán estar fuera del rango permisible, en ninguna de las muestras simples (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Propágulo. Órgano o tejido vegetal vivo, empleado para la multiplicación vegetativa de una planta.

Riego no restringido. La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas en forma limitada como forrajes, granos, frutas, legumbres y verduras (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Riego restringido. La utilización del agua residual destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas, excepto legumbres y verduras que se consumen crudas (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Ripario. Definición Se refiere a todo lo que está a la orilla de un río, quebrada, o masa de agua. Generalmente se dice de ecosistemas, hábitats, plantas, animales o comunidades humanas que se ubican, frecuentan, crecen o viven en las márgenes de los ríos; también son denominadas ripícolas. Ripario es sinónimo de ribereño, aunque este último término muchas veces se refiere, además, a la ribera de los ríos, es decir, incluyen la tierra adyacente a la orilla. (Diccionario enciclopédico dominicano de medio ambiente - <http://www.dominicanaonline.org/DiccionarioMedioAmbiente/es/definicionVer.asp?id=702>).

Tratamiento convencional. Son los procesos de tratamiento mediante los cuales se remueven o estabilizan los contaminantes básicos presentes en las aguas residuales (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Uso en riego agrícola. La utilización del agua destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas y su preparación para la primera enajenación, siempre que los productos no hayan sido objeto de transformación industrial (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Uso público urbano. La utilización de agua nacional para centros de población o asentamientos humanos, destinada para el uso y consumo humano, previa potabilización (NOM-001-SEMARNAT-1996).

BIBLIOGRAFÍA

- Alkaeed, O., Flores C. Jinno K., Tsutsumi A. 2006. Comparison of several reference evapotranspiration methods for Itoshima Peninsula area, Fukuoka, Japan. *Memoirs of the Faculty of Engineering, Kyushu University*. 66(1):1-14.
- APHA. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. American Water Works Association. Water Environment Federation. 20a edición. Washington, DC. EEUU.
- Artan, N., Derin, O., and Choi, E. 2004. Appropriate design of activated sludge systems for nitrogen removal from high strength wastewaters. *J. Environ. Sci. Health* 39(7):1013-1924.
- Bartram, J., Cotruvo, J., Exner, M., Fricker, C., Glasmacher A. (eds.). 2003. Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. Serie OMS Emerging Issues in Water and Infectious Disease. IWA Publishing. Londres, Reino Unido.
- Belser, L.W. 1984. Bicarbonate uptake by nitrifiers: effects of growth rate, pH, substrate concentration, and metabolic inhibitors. *App. Environ. Microbiology*. 48(6):1100-1104.
- Bertalanffy, L. von. 1976. Teoría general de los sistemas. Fundamentos, desarrollo, aplicaciones. Fondo de Cultura Económica. México, DF. México.
- Bidwel, R.G.S. 1979. Fisiología vegetal. 1a edición en español. AGT Editor SA. México, D.F. México.
- Bolaños, B.V.S., Casas, Z.J.C., Aguirre, R.N.J. 2008. Análisis comparativo para la remoción de un contaminante orgánico por las macrofitas *Pistia stratiotes* y *Egeria densa* en un sistema "batch". *Gestión y Ambiente*. 11(2):39-48.
- Bunge, M. 1958. La ciencia, su método y su filosofía. Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.
- Busnardo, M.J., Gersberg, R.M., Langis, R., Sinicrope, T.L., Zedler, J.B. 1992. Nitrogen and phosphorus removal by wetland mesocosms subjected to different hydroperiods. *Ecol. Eng.* 1(4):287-307.
- Brock, T.D., Madigan, M.T. 1993. Microbiología. 6a edición. Prentice-Hall Hispanoamericana SA. México, D.F. México.
- CAD. 2006. Biofiltro: Una opción sostenible para el tratamiento de aguas residuales en pequeñas localidades. Abril 2006. Cooperación Austriaca para el Desarrollo; Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE; Direktion für Entwicklung und Zusammenarbeit, DEZA), Water and Sanitation Program; Universidad Nacional de Ingeniería. Nicaragua.
- Caselles, O.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.
- Chi, Y.L., Chun, C.L., Fang Y.L., Szu, K.T., Chiu, J.L. 2004. Performance of subsurface flow constructed wetland taking pretreated swine effluent under heavy loads. *Biores. Tech.* 92:173-179.
- Chimney, M.J., Goforth, G., 2006. History and description of the Everglades Nutrient Removal Project, a subtropical constructed wetland in South Florida (USA). *Ecol. Eng.* 27:268-278.
- Chimney, M.J., Pietro, K.C. 2006. Decomposition of macrophyte litter in a subtropical constructed wetland in south Florida (USA). *Ecol. Eng.* 27: 301-321.

- Chimney, M.J., Wenkert, L., Pietro, K.C., 2006. Patterns of vertical stratification in a subtropical constructed wetland in South Florida (USA). *Ecol. Eng.* 27:322–330.
- Cueto, A.J., 1993. Development of criteria for the design and construction of engineered aquatic treatment units in Texas. En *Constructed wetlands for water quality and improvement*. G.A. Moshiri, ed. Cap. 9. CRC Press, Boca Raton, FL. EEUU. Consulta red internet el 24 de octubre de 2007: <http://www.hawaii.edu/abrp/Technologies/constru.html>.
- Curtis, H., Barnes, N.S. 2000. *Biología*. Editorial Médica Panamericana. 6ª edición. Madrid, España.
- de Gortari, E. 1970. *El Método Dialéctico*. Ed Grijalbo. México, DF. México.
- Dusek, J., Picek, T., Cízková, 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.
- El Hamouri, B., Nazih, J., Lahjouj, J. 2007. Subsurface-horizontal flow constructed wetland for sewage treatment under Moroccan climate conditions. *Desalination*. 215: 153–158.
- EPA. 1999. *Constructed wetlands treatment of municipal watewaters*. United States Environmental Protection Agency. EPA/625/R-99/010, 1999. Cincinnati, Ohio. EEUU.
- Gaitán Z.N.A. 2006. Evaluación toxicológica de composta producida con residuos vegetales de humedales artificiales y lodos primarios a escala de laboratorio. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental -Sustancias y Residuos Peligrosos- Facultad de Química. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM. México, DF, México.
- García, G.M. 2002. Importancia de la rizosfera de los macrófitos acuáticos sobre la eliminación de bacterias y nutrientes en un sistema experimental de tratamiento de aguas residuales. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad de León. León, España.
- Guido, Z.A. 2006. Estudio de los potenciales de óxido-reducción en reactores biológicos que simulan un humedal artificial. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. México.
- Hemond, H.F., Fechner, E.J., 2000. *Chemical Fate and Transport in the Environment*, second ed. Academic Press, USA. Washington, DC. EEUU.
- Henry, G.H., Heinke, G.W. 1999. *Ingeniería Ambiental*. 2ª edición. Prentice-Hall. México, DF. México.
- Hessen, J. 1982. *Teoría del conocimiento*. Espasa-Calpe Mexicana SA. Decimosexta edición. México, DF. México.
- Hicks B. B. 1972. Some evaluations of drag and bulk transfer coefficients over water bodies of different sizes. *Bound-Layer Meteorol.* 3:201–213.
- Hirota, M., Tsuchiya, T. 2003. Indirect method to estimate convective gas flow through culms of a *Phragmites australis* stand. *Limnol.* 4:149–153.
- Hubbard, R. K., Gascho, G. J., Newton, G. L. 2004. Use of floating vegetation to remove nutrients from swine lagoon wastewater. *Trans. ASAE.* 47(6):1963-1972.
- Huddleston, G.M., Gillespie, W.B., Rodgers, J.H. 2000. Using constructed wetlands to treat biochemical oxygen demand and ammonia associated with a refinery effluent. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 45(2):188-193.
- Hunter, R.G., Combs, D. L., George, D. B. 2001. Nitrogen, phosphorous, and organic carbon removal in simulated wetland treatment systems. *J. Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 41(3):274-281.
- Jung, Z.Y., Liu, B., Guang, Z.W., Ouyang, Y., Qing, A.S., 2010. Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands in responding to variation in influent C/N ratios of simulated urban sewage. *Biores. Technol.* 101:1693–1700.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L. 1996. Treatment wetlands. Book review. *Ecol. Eng.* 8:173-175.
- Kadlec, R.H. 1997. An autotrophic wetland phosphorus model. *Ecol. Eng.* 8:145-172.

- Kadlec, R.H., Tanner, C.C., Hally, V.M, Gibbs, M.M. 2005. Nitrogen spiraling in subsurface-flow constructed wetlands: Implications for treatment response. *Ecol. Eng.* 25:365-381.
- Kadlec, R.H. 2006a. Free surface wetlands for phosphorus removal: The position of the Everglades Nutrient Removal Project. *Ecol. Eng.* 27:361-379.
- Kadlec, R.H. 2006b. Water temperature and evapotranspiration in surface flow wetlands in hot arid climate. *Ecol. Eng.* 26:328-340.
- Kaisa, A.R., Kløve, B. 2008. Hydraulics and flow modelling of water treatment wetlands constructed on peatlands in Northern Finland. *Wat. Res.* 42:3826-3836.
- Karathanasis, A.D., Potter, C.L., Coyne, M.S. 2003. Vegetation effects on fecal bacteria, BOD, and suspended solid removal in constructed wetlands treating domestic wastewater. *Ecol. Eng.* 20:157-169.
- Kemp, M.C., George, D.B. 1997. Subsurface flow constructed wetlands treating municipal wastewater for nitrogen transformation and removal. *Water Environ. Res.* 69(7):1254-1262.
- Knapp, C.W., Graham, D.W. 2007. Nitrite-oxidizing bacteria guild ecology associated with nitrification failure in a continuous-flow reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62:195-201.
- LIAO Dexiang, LI Xiaoming., YANG Qi., ZENG Guangming., GUO Liang., YUE Xiu. 2007. Effect of inorganic carbon on anaerobic ammonium oxidation enriched in sequencing batch reactor. *J. Environ. Sci.* 20(2008):940-944.
- LGEEPA. 2011. Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente. Última reforma publicada en el DOF el 30 de agosto de 2011. México, DF. México.
- Liquidano, I.I.A. 2008. Determinación de la eficiencia de la megaplanta de biofiltros de Villa Canales en la reducción de demanda química y bioquímica de oxígeno y en la remoción de nutrientes de aguas residuales que se vierten en el lago de Amatitlán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Lovera, D.D., Quipuzco, L.U., Laureano, G.V., Becerra, C.M., Valencia, N.D.P. 2006. Adaptación de un sistema de tratamiento de aguas residuales en la comunidad urbana de Lacabamba, región Ancash, Perú, usando tecnologías de humedales artificiales. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG.* 9(18):32-43.
- Mander, Ü., Kuusemets, V., Lõhmus, K., Muring, T., Teiter, S., Augustin, J. 2003. Nitrous oxide, dinitrogen and methane emission in a subsurface flow constructed wetland. *Wat. Sci. and Tech.* 48(5):135-142.
- Mander, Ü., Lohmus, K., Teiter, S., Nurk, K., Muring, T., Augustin, J. 2005. Gaseous fluxes from subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment. *J. Environ. Sci. Health.* A40:6-7.
- Mander, Ü., Lohmus, K., Teiter, S., Muring, T., Nurk, K., Augustin, J. 2008a. Gaseous fluxes in the nitrogen and carbon budgets of subsurface flow constructed wetlands. *Sci. of the Tot. Environ.* 404:343-353.
- Mander, Ü., Lohmus, K., Teiter, S., Uri, V., Augustin, J. 2008b. Gaseous nitrogen and carbon fluxes in riparian alder stands. *Bor. Environ. Res.* 13: 231-241.
- Mantovi, P., Marmioli, M., Maestri, E., Tagliavini, S., Piccinini, S, Marmioli, N. 2003. Application of a horizontal subsurface flow constructed wetland on treatment of dairy parlor wastewater. *Biores. Technol.* 88(2):85-94.
- Meuleman, A.F.M., van Logtestijn, R., Rijs, G.B.J., Verhoeven, J.T.A. 2003. Water and mass budgets of a vertical-flow constructed wetland used for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 20:31-44.
- Matheus, C.K., Van Holde, K.E., Ahern, K.G. 2002. *Bioquímica*. Pearson Educación S.A. Madrid, España.

- Mitsch, W.J., Gosselink, J.G. 2000. Wetlands. 3 edición.: Wiley. 920 p. ISBN 0-471-29232-X. Nueva York, NJ. US.
- Montgomery, E.G. 1911. Correlation studies of corn. Nebraska Agr. Esp. Sta. 24th Ann. Rpt. Nebraska, EEUU.
- Montgomery, D.C. 1997. Design and analysis of experiments. 4a edición. John Wiley & Sons, Nueva York, NJ. EEUU.
- Morris, R.H., Newton, M.I., Bencsik, M., Knowles, P.R., Davies, P.A., Griffin, P. 2011. Long term monitoring of constructed wetlands using an NMR sensor. Analyst Royal Society of Chemistry 2011(136):1733-1737.
- Nabors, M.W. 2006. Introducción a la botánica. Pearson Educación SA. Madrid, España.
- Nádas, E., Balogh, Á., Kiss, F., Szente, K., Nagy, Z., Martínez, C.R., Tuba, Z. 2008. Role of fructose-1,6-bisphosphatase, fructose phosphotransferase, and phosphofructokinase in saccharide metabolism of four C3 grassland species under elevated CO₂. Photosynthetica. 46(2):255–261.
- Navarrete, A.J., Oliva, R.J.J. 2002. Litter production of *Rizophora mangle* at Bacalar Chico, southern Quintana Roo, Mexico. Universidad y Ciencia, (18)036:79-86.
- NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. México, DF. México.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Publicada en el DOF: 6 de enero de 1997. México, DF. México.
- NOM-002-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Publicada en el DOF: 3 de junio de 1998. México, DF. México.
- NOM-003-SEMARNAT-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Publicada en el DOF: 21 de septiembre de 1998. México, DF. México.
- NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Publicada en el DOF: 15 de agosto de 2003. México, DF. México.
- NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano - límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. México, DF. México.
- NOM-042-SSA1-1993. Bienes y servicios. Hielo potable y hielo purificado. Especificaciones sanitarias. Publicada en el DOF: 17 de marzo de 1995. México, DF. México.
- Olguín, E.J., Sánchez, G.G., González, P.R.E., López, V.M. 2008. Constructed wetland mesocosmos for the treatment of diluted sugarcane molasses stillage from ethanol production using *Pontederia sagitata*. Wat. Res. 42: 3659–3666.
- ONU. 2011. División para el Desarrollo Sustentable. Consulta en la red, 11 de marzo de 2011: http://www.un.org/esa/dsd/index.shtml?utm_source=OldRedirect&utm_medium=redirect&utm_content=dsd&utm_campaign=OldRedirect.
- Orduña, B.M.A. 1994. Evaluación del uso de acolchado orgánico y aplicación de estiércol en el cultivo de maíz (*Zea mays*) en Chapingo, Méx. Tesis de Licenciatura. Chapingo, México. México.
- Orduña, B.M.A. 2002. Migración de compuestos nitrogenados de lodos de desecho de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales de Ciudad Universitaria en columnas de suelo. Tesis de Maestría en Ingeniería (Ambiental). UNAM. México D.F. México.
- Orduña, B.M.A., Silva M.A.E., Martínez, P.P. 2002. Migración de compuestos nitrogenados de lodos del tratamiento de aguas residuales aplicados en columnas de suelo. Biblioteca Virtual de

- Desarrollo Sostenible y Salud Ambiental. Consulta en la red, 11 de marzo de 2011: www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico13/126.pdf.
- Padrón, L.R.M. 2005. Depuración de aguas residuales domésticas a través de humedales artificiales de flujo vertical en zonas trópico-húmedas. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco. México.
- Paredes, D., Kusch, P., Mbwette, T. S. A., Stange, F., Müller, R.A., Köser, H. 2007. New Aspects of Microbial Nitrogen Transformations in the Context of Wastewater Treatment – A Review. *Eng. Life Sci.* 7(1):13–25.
- Park, N., Joon, H.K., Jaeweon, Ch. 2008. Organic matter, anion, and metal wastewater treatment in Damyang surface-flow constructed wetlands in Korea. *Ecol. Eng.* 32:68–71.
- Payaras, A. 2008. Fosfito potásico. Consulta en la red el 16 de junio de 2010: <http://www.bonsaimenorca.com/index.php/2008022750/Fosfito-Potasico.html>.
- Pinney, M.L., Westerhoff, P.K., Baker, L. 2000. Transformations in dissolved organic carbon through constructed wetlands. *Wat. Res.* 34(6):1897–1911.
- Plant Metabolic Network. PMN. 2011. Consulta en la red, 11 de marzo de 2011: <http://www.plantcyc.org/>.
- Poach, M.E., Hunt, P.G., Reddy, G.B., Stone, K.C., Johnson, M.H., Grubbs, A. 2004. Swine wastewater treatment by marsh–pond–marsh constructed wetlands under varying nitrogen loads. *Ecol. Eng.* 23(3):165-175.
- Quintero, G., Higuera, A., Isea, D., Vargas, L., Blanco, E., Delgado, J. 2005. Efecto del uso de agua residual tratada y soluciones nutritivas sobre el contenido de nutrientes en frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp cultivado en hidroponia. *Ciencia.* 13(3):386-401. Consulta en la red, 23 de octubre de 2007: <http://www2.bvs.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-20762005000300012&lng=es&nrm=iso>
- Radford, P. J. 1967. Growth analysis formulae. Their use and abuse. *Crop Sci.* 7:171-175.
- Reddy, K.R., Patrick, W.H., Lindau, C.W. 1989. Nitrification-denitrification at the plant root-sediment interface in wetlands. *Limnol. Oceanogr.* 34(6):1004-1013.
- Rodríguez, M.J., Durán-de-Bazúa, C. 2006. Remoción de nitrógeno en un sistema de aguas residuales usando humedales artificiales de flujo vertical a escala de banco. *Tecnol. Ciencia Ed.* 21(1):25-33.
- Rubilar, J.O., Balbontin, L.A. 2009. BIOREND-FOSFITO su química y bioquímica. *Biagro.* 1(1):1-3.
- Salzman, S.A., Allinson, G., Stagnitti, F., Coates, M., Hill, R.J. 2001. Performance of constructed evaporation ponds for disposal of smelter wastewater: a case study at Portland Aluminum, Victoria, Australia. *Wat. Res.* 35(9):2121–2128.
- Schlegel, H.G. 2000. Microbiología general. 7a edición. Editorial Omega. Barcelona, España.
- Seyoum, G.Y., Beutel, M.W. 2008. Nitrate removal and DO levels in batch wetland mesocosms: Cattail (*Typha* spp.) versus bulrush (*Scirpus* spp.). *Ecol. Eng.* 34:1–6.
- Stickler, F.C., Wearden, S., Pauli, A.W. 1961. Leaf area determination in grain sorghum. *Agr. J.* 53:187-188.
- Tanner, C.C., Sukias, J.P.S., Upsdell, M.P. 2001. Organic matter accumulation during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Water Res.* 32(10):3046-3054.
- Tayade, S.T., Ojha, A.R., Kumar, R., Singh, R.N. 2005. Feasibility Study of Constructed Wetland for Treatment of Municipal Wastewater. National Environmental Engineering Research Institute (NEERI), Mumbai Zonal Laboratory. India.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D. 1991. Wastewater Engineering. Treatment and reuse. MacGraw-Hill. International Editions. Singapore.

- Tietz, A., Hornek, R., Langergraber, G., Kreuzinger, N., Haberl, R. 2007. Diversity of ammonia oxidising bacteria in a vertical flow constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 56(3):241-261.
- Toet, S., Bouwman, M., Cevaal, A., Verhoeven, J.T. 2005. Nutrient removal through autumn harvest of *Phragmites australis* and *Typha latifolia* shoots in relation to nutrient loading in a wetland system used for polishing sewage treatment plant effluent. *J. Environ. Sci. Health. A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 40(6-7):1133-1156.
- UniProt Consortium. 2011. Consulta en la red, 27 de abril de 2011: <http://www.uniprot.org/>.
- USDA. 2011. El Consejo para el Desarrollo Sustentable del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, USDA, Consulta en la red, 11 de marzo de 2011: http://www.csrees.usda.gov/nea/nre/in_focus/susdev_if_council.html.
- Weaver, M.A., Zablotowicz, R.M., Locke, M.A. 2004. Laboratory assessment of atrazine and fluometuron degradation in soil from a constructed wetland. *Chemosphere.* 57: 853–862.
- Weil, C. 1998. University of Guelph, Canada. Municipal wastewater treated in wetlands (Guelph, October, 1998). Consulta en la red, el 25 de marzo de 2011: http://www.uoguelph.ca/research/news/articles/1998/municipal_wastewater_treated.shtml
- Winkler, M.A. 1998. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Editorial Limusa. México, DF. México.
- Vassilev, L., Russev, G. 1981. Ion activity decrease in the presence of sucrose. *Biochim. et Biophys. Acta.* 675:214-216.
- Vymazal, J. 2002. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. *Ecol. Eng.* 18:633-646.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. 2008. Removal of organics in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: A review of the field experience. *Sci. Total Environ.* 18:1-12.
- Vymazal, J. 2011. Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience. *Environ. Sci. Technol.* 45:61-69.