



UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Operación de un sistema piloto de humedales construidos para la depuración de aguas servidas: Consideraciones de la actividad biológica en la eliminación de materia orgánica y nutrientes

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

DANIEL ANTONIO FUENZALIDA HINRICHS

Tutora: Dra. Gladys Vidal

Concepción, 2012

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCION	10
1.1. Aguas servidas	10
1.1.1. Características de las aguas servidas	10
1.1.2. Aguas servidas rurales y urbanas	12
1.1.3. Situación en Chile para sectores rurales y urbanos	13
1.2. Tratamiento de aguas servidas	14
1.2.1. Tipos de tratamientos convencionales	14
1.2.2. Tecnologías de tratamiento utilizadas en Chile	18
1.3. Humedales artificiales o humedales construidos	19
1.3.1. Tipos de humedales	19
1.3.2. Tipo de vegetación utilizada en humedales construidos	22
1.4. Hidrología e hidráulica en humedales	23
1.5. Asociaciones y procesos que ocurren en los humedales construidos	25
1.6. Eliminación de contaminantes en HSS	28
1.6.1. Sólidos suspendidos	28
1.6.2. Materia orgánica	29
1.6.3. Nitrógeno	33
1.6.4. Fósforo	35
1.7. Balances de masa en humedales construidos	36
2. METODOLOGIA	39
2.1. Evaluar la evolución de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratadas por un humedal construido de flujo subsuperficial.	39
2.1.1. Características de la planta piloto de humedales construidos.	39
2.1.2. Parámetros in-situ	42
2.1.3. Parámetros de laboratorio	42
2.1.4. Análisis estadístico	43
2.2. Evaluar la evolución de la actividad microbiológica del soporte granular del humedal artificial de flujo subsuperficial.	43
2.2.1. Actividad metanogénica	43
2.3. Estudiar la influencia de actividad microbiológica en la eficiencia de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratadas por un humedal construido de flujo subsuperficial.	45
2.3.1. Balance hídrico	45
2.3.2. Balances de masa	46
3. RESULTADOS	48
3.1. Caracterización fisicoquímica del influente	48
3.2. Comportamiento de la operación de los humedales	49
3.2.1. Parámetros in-situ	49
3.2.2. Eliminación de materia orgánica y sólidos	53
3.2.3. Eliminación de nutrientes	57

3.3. Actividad metanogénica de los humedales	64
3.4. Balances de masa en los humedales	67
3.4.1. Balance hídrico	67
3.4.2. Balances de masa	68
4. DISCUSION	71
4.1. Caracterización fisicoquímica del influente	71
4.2. Comportamiento de la operación de los humedales	71
4.3. Actividad metanogénica en los humedales	76
4.4. Balances de masa en los humedales	78
5. CONCLUSIONES	80
6. AGRADECIMIENTOS	81
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	82

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema sobre la distribución y saneamiento de la población en Chile. Datos obtenidos de SUBDERE (2009).	14
Figura 2: Tipos de humedales construidos. Adaptado de (Vymazal, 2008).....	20
Figura 3: Esquema de los tipos de humedales construido: a) FS, b) HSS y c) VSS. Adaptado de (Kadlec y Knight, 1996).	21
Figura 4: Interacciones que ocurren en un Humedal Construido. Adaptado de (Stottmeister y col., 2003).	26
Figura 5: Esquema general de un balance de masa un HSS.	36
Figura 6: Ubicación de la estación experimental en la PTAS de la comuna de Hualqui (36°59'26.93" latitud sur y 72°56'47.23" de Longitud oeste).	39
Figura 7: Punto de extracción, recorrido del influente y del efluente. Adaptado de (Rojas 2012).	40
Figura 8: Celdas en la Planta piloto de HSS. Celda 1 y 3 <i>Phragmites australis</i> ; Celda 2 y 4 <i>Schoenoplectus californicus</i>	41
Figura 9: Puntos de muestreo de parámetros in situ y actividad metanogénica. a) Diseño de celda para monitoreo, b) fotografía celda recién plantada.	44
Figura 10: Sistema para realizar el ensayo de actividad metanogénica. Extraído de (Hsieh, 2009).	45
Figura 11: Cambios de temperatura a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	50
Figura 12: Cambios en el pH a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	51
Figura 13: Cambios de los POR a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	52
Figura 14: Concentraciones de OD en las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	53

Figura 15: Concentración influente y eficiencias de eliminación de DBO ₅ . a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	54
Figura 16: Concentración influente y eficiencias de eliminación de DQO. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	55
Figura 17: Concentración influente y eficiencias de eliminación de SST. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	56
Figura 18: Concentración influente y eficiencias de eliminación de SSV. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	57
Figura 19: Concentración influente y eficiencias de eliminación de NT. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4.	58
Figura 20: Concentración influente y eficiencias de eliminación de NH ₄ ⁺ . a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	59
Figura 21: Concentración influente y eficiencias de eliminación de PT. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	61
Figura 22: Concentración influente y eficiencias de eliminación de PO ₄ ⁻³ . a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.	62

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros típicos encontrados en las aguas servidas sin tratar en zonas urbanas y rurales.....	12
Tabla 2: Tecnologías de tratamiento y eficiencias de eliminación	17
Tabla 3: Eficiencias de eliminación de los distintos tipos de humedales construidos	22
Tabla 4: Algunos de los procesos que ocurren en humedales construidos. Adaptada de (Faulwetter y col., 2009).....	27
Tabla 5: Procesos que ocurren en la degradación anaerobia	31
Tabla 6: Parámetros hidráulicos de operación.....	41
Tabla 7: Caracterización fisicoquímica del influente	48
Tabla 8: Concentraciones de los efluentes de las celdas de HSS	63
Tabla 9: Resultados ensayo actividad metanogénica	66
Tabla 10: Balance hídrico en cada una de las celdas	68
Tabla 11: Tiempos de retención hidráulico en las distintas estaciones	68
Tabla 12: Balances de masa para las celdas plantadas con <i>Phragmites australis</i>	69
Tabla 13: Balances de masa para las celdas plantadas con <i>Schoenoplectus californicus</i> ...	70

ABREVIACIONES

APR	Programa de Agua Potable Rural	
CHS	Carga hidráulica superficial	
DBO ₅	Demanda Bioquímica de Oxígeno a los 5 días	(mg/L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mg/L)
FS	Humedal de Flujo Horizontal Superficial	
HSS	Humedal de Flujo Horizontal Subsuperficial	
VSS	Humedal de Flujo Vertical Subsuperficial	
N ₂	Nitrógeno gas	(mg/L)
NH ₄ ⁺	Amonio	(mg/L)
N-NH ₄ ⁺	Nitrógeno del Amonio	(mg/L)
N-NO ₃ ⁻	Nitrógeno del Nitrato	(mg/L)
NO ₃ ⁻	Nitrato	(mg/L)
NT	Nitrógeno total	(mg/L)
OD	Oxígeno Disuelto	(mg/L)
PO ₄ ⁻³	Fosfato	(mg/L)
POR	Potencial Oxido-Reducción	(mV)
P-PO ₄ ⁻³	Fósforo del fosfato	(mg/L)
PT	Fósforo Total	(mg/L)
PTAS	Planta de Tratamiento de Aguas Servidas	
SST	Sólidos Suspendidos Totales	(mg/L)
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	(mg/L)
TRH	Tiempo de retención hidráulico	(d)

RESUMEN

Una problemática ambiental para núcleos rurales es que solo el 8% trata sus aguas servidas. La implementación de humedales construidos puede solucionar esta problemática, los cuales pueden clasificarse en tres tipos: a) Flujo superficial (HS); b) Flujo horizontal subsuperficial (HSS); c) Flujo vertical subsuperficial (VSS).

Los HSS con grava como medio de soporte poseen eficiencias de eliminación de 75-95% para DBO₅, 30-60% para NT y 10% para PT.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la evolución de la actividad microbiológica en el soporte granular de un HSS, y ver si ésta influyó en la eliminación de la materia orgánica y nitrógeno del efluente tratado de aguas servidas.

Para esto se utilizó una planta piloto de HSS construida en la PTAS de Hualqui, con 4 celdas en paralelo de 4,5 m² de área y grava como medio de soporte. Dos celdas fueron plantadas con *Phragmites australis* y las otras dos con *Schoenoplectus californicus*, monitoreándolas por 420 días.

Se observó, para las cuatro celdas, un aumento de las eficiencias de eliminación de materia orgánica (DQO) de 30 a 70% y sólidos (SST) de 70 a 95%. A su vez, balances de masa indicaron que cerca de un 35% de nitrógeno (NT) y 10% de fósforo (PT) fue eliminado por las celdas durante los primeros 420 días de operación.

Las bacterias metanogénicas, en condiciones ideales, degradarían más del 60% de la materia orgánica (DQO) alimentada, mostrando las mayores actividades específicas de la biomasa (> 20 mL CH₄/g SSV·día) en las zonas de entrada y media, con una producción cercana a 10 L CH₄/celda·día.

Finalmente, las celdas de HSS plantadas con *Phragmites australis* y las celdas con *Schoenoplectus californicus* presentan eficiencias de eliminación similares luego de 420 días de operación, tanto para la eliminación de materia orgánica como para sólidos y nutrientes.

ABSTRACT

An environmental problem for rural communities is that only 8% of their wastewaters get treated. Implementation of constructed wetlands can solve this problem, which can be classified into three types: a) Free water surface (FWS), b) Horizontal subsurface flow (HSSF), c) Vertical subsurface flow (VSSF).

The HSSF, with gravel as a means of support, have removal efficiencies of 75-95% for BOD₅, 30-60% for TN and 10% for TP.

The aim of this study was to evaluate the evolution of microbiological activity in the granular support of a HSSF, and see if it influenced the removal of organic matter and nitrogen from treated sewage effluent.

For this we used a pilot plant of HSSF constructed in Hualqui's sewage treatment plant, with 4 cells in parallel with an area of 4.5 m² and gravel as support medium. Two cells were planted with *Phragmites australis* and the other two with *Schoenoplectus californicus*, analyzing them for 420 days.

It was observed, for the four cells, that the removal efficiencies increase from 30 to 70% for organic matter (COD) and 70 to 95% for solids (TSS). In turn, mass balances indicated that about 35% nitrogen (NT) and 10% phosphorus (TP) was eliminated by the cells during the first 420 days of operation.

Methanogenic bacteria, in ideal conditions, degrade more than 60% of organic matter (COD) fed, showing the largest biomass specific activities (> 20 mL CH₄/g VSS·day) in entry and middle zones, with production up to 10 L CH₄/cell·day.

Finally, the HSSF cells planted with *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* show similar efficiencies after 420 days of operation, for the removal of organic matter, solids and nutrients.

1 INTRODUCCION

1.1 Aguas servidas

Cada comunidad produce desechos líquidos y sólidos, además de emisiones gaseosas. La fracción líquida, es decir, el agua residual, es esencialmente la utilizada por la comunidad para diversas actividades y que luego es vertida acarreado diversos materiales producto de los desechos (Metcalf y Eddy, 1995). Estas aguas residuales están constituidas por una mezcla de aguas domésticas o aguas servidas, industriales, de infiltración y pluviales (García y Corzo, 2008). Dentro de esta clasificación se encuentran las aguas servidas urbanas y rurales, donde el primer grupo posee características diversas debido a los distintos orígenes de los que puede provenir, ya sea de núcleos con una mayor densidad poblacional o de sitios con presencia de actividades industriales que generen una mayor cantidad de residuos (Kestler, 2004). La aguas servidas rurales en cambio, son generalmente de composiciones similares en las diversas comunidades, debido a que son generadas por actividades básicas y comunes como la disposición de desechos caseros, humanos, animales, entre otros (Ramalho, 1996).

1.1.1 Características de las aguas servidas

Las características de las aguas servidas se pueden clasificar en físicas, químicas y biológicas, así como sus contaminantes. Dentro de las características físicas se encuentra presencia de sólidos, los cuales se pueden agrupar en tres subgrupos que son los sólidos sedimentables, sólidos suspendidos y sólidos disueltos. También se puede distinguir la temperatura, la que puede determinar la solubilidad de diversos gases como el oxígeno y también ejercer efecto en las reacciones químicas y biológicas que pueden ocurrir (Metcalf y Eddy, 1995). Otras características son la turbidez y el color, los cuales pueden afectar en el traspaso de luz a través de la capa de agua, afectando el desarrollo de organismos fotosintéticos (Ramalho, 1996).

Las características químicas se agrupan en constituyentes inorgánicos y orgánicos. Dentro de los constituyentes inorgánicos encontramos principalmente: a) el pH que normalmente se sitúa entre 6,5 y 8,5; b) los cloruros que influyen en el reuso del agua ya

que los métodos convencionales no los eliminan; c) la alcalinidad que permite resistir los cambios bruscos de pH, donde estas aguas son normalmente alcalinas; d) el nitrógeno inorgánico que se presenta principalmente en sus formas amoniacal, ion amonio, nitrito y nitrato; e) el fósforo que es una fuente esencial para el crecimiento de algas y microorganismos; f) y el Oxígeno Disuelto (OD), el cual es elemental para la respiración y el desarrollo de formas de vidas aeróbicas en el agua servida (Ramalho, 1996). Por otra parte, los constituyentes orgánicos se encuentran en la materia orgánica presente en las aguas servidas, la cual está constituida principalmente por proteínas (40 a 60 %), carbohidratos (25 a 50 %) y aceite y grasas (8 a 12 %), donde se encuentra tanto el carbono orgánico como el nitrógeno orgánico (Metcalf y Eddy, 1995).

Las características biológicas de las aguas servidas son de gran importancia, ya que se asocian principalmente a la presencia de microorganismos que pueden causar enfermedades a humanos y animales. Los microorganismos presentes en las aguas servidas pueden ser bacterias, protozoos, virus, helmintos, rotíferos, algas, entre otros, siendo las bacterias, las que se encuentran en mayor abundancia (Oakley, 2005). Estos microorganismos pueden dividirse tanto en bacterias parásitas o patógenas (proviene de desechos humanos y animales), las cuales pueden producir enfermedades (cólera, fiebre tifoidea, enfermedades entéricas); y bacterias saprófitas (heterótrofas aerobias, heterótrofas anaerobias, nitrificantes, desnitrificantes, entre otras), las cuales son importantes porque degradan la materia orgánica a sus componentes esenciales, cumpliendo un papel esencial en el ciclo del carbono y del nitrógeno (Metcalf y Eddy, 1995) . Dentro de este ámbito, algunos tipos de familias bacterianas pueden ser utilizadas como indicadores, donde por ejemplo, el grupo de los coliformes es utilizado para identificar la calidad y presencia de patógenos en las aguas servidas, aun cuando este grupo no sea patógeno en sí (Mendonça, 2000). Los coliformes son un grupo de bacterias que se encuentran presentes en el suelo, plantas, humanos y animales. Se estima que una persona elimina entre 1×10^{11} – 4×10^{11} coliformes por gramo de heces (Crites y Tchobanoglous, 2000). Su clasificación se divide en coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) (Mendonça, 2000). Los CF son un subgrupo de los CT, y se diferencian de éstos debido a su tolerancia para desarrollarse a temperaturas elevadas como 44,5°C, permitiéndoles estar mejor adaptados a la vida en el interior del intestino de animales y humanos. Más de un 90% de los CF corresponden a

Escherichia coli, formando parte del 40% del peso húmedo de las heces (Metcalf y Eddy, 1995).

1.1.2 Aguas servidas rurales y urbanas

Se pueden establecer diferencias en las concentraciones de los constituyentes de las aguas servidas entre las poblaciones urbanas y las rurales, debido a que presentan diferencias como la densidad poblacional, las diversas actividades que se ejercen, y los sistemas de recolección que se tienen en dichos núcleos (Ramalho, 1998). De este modo existen núcleos poblacionales donde las cargas orgánicas y de nutrientes pueden alcanzar valores elevados (> 400 mg/L para DBO₅ y > 90 mg/L para NT), como también zonas de baja carga orgánica, nutrientes y otros parámetros (Vera, 2012).

Las características fisicoquímicas de las aguas servidas urbanas y rurales se observan en la Tabla 1 con las concentraciones de sus diversos componentes, en donde se aprecia la diferencia de concentraciones tanto de nutrientes como materia orgánica.

Tabla 1: Parámetros típicos encontrados en las aguas servidas sin tratar en zonas urbanas y rurales.

Parámetro	Tipo de asentamiento	
	Urbano	Rural
DBO ₅	110 - 804	200 - 470
DQO	210 - 1616	600 - 1569
NT	20 - 84	35 - 100
NH ₄ ⁺	12 - 50	6 - 66,3
NO ₃ ⁻	0,5	< 1
PT	4 - 23	11 - 35
PO ₄ ⁻³	3 - 14	6 - 30
SST	120 - 450	-
SSV	95 - 315	-
Coliformes fecales	1·10 ³ - 1,8·10 ⁸	1·10 ⁶ - 1·10 ¹⁰

Vera (2012), Concentraciones expresadas en mg/L, excepto los coliformes fecales en NMP/100 mL, NMP: Número Más Probable

1.1.3 Situación en Chile para sectores rurales y urbanos

Se considera sector rural al asentamiento humano concentrado o disperso que posee 1.000 o menos habitantes, o entre, 1.001 y 2.000 habitantes con menos del 50% de su población económicamente activa dedicada a actividades secundarias y/o terciarias (INE, 2002).

Los volúmenes de producción de aguas servidas varían a su vez entre la población urbana y rural dependiendo de la disposición de agua potable y su uso. En núcleos urbanos, se estima que la utilización de agua es de 180 L/hab·día, donde el coeficiente de retorno (0,8-0,9), definido como la proporción de agua utilizada que es eliminada como agua servida, indica que cada persona produce un volumen de alrededor de 150 L/hab·día de aguas servidas (García y Corzo, 2008). En el ámbito rural, se estima que la utilización de agua es de 150L/hab·día, lo que de acuerdo al coeficiente de retorno (0,8-0,9), indica que la producción de aguas servidas en sectores rurales es de alrededor de 130 L/hab·día (SUBDERE, 2009).

Para el año 2011, el sector urbano, correspondiente al 87,8% de los habitantes, dispone de agua potable en un 99,8% de los hogares, mientras que la cobertura urbana de alcantarillado alcanzaba el 96,1%, presentando un tratamiento del 86,9% de sus aguas servidas. Sin embargo, en los sectores rurales, correspondientes al 12,2% de los habitantes, la disposición de agua potable alcanza un 71% de los hogares, donde solo el 18,5 % dispone de sistemas de alcantarillado y solo un 8,8% recibe tratamiento de sus aguas servidas, es decir, cerca de 2 millones de personas no disponen de tratamiento de aguas servidas (CASEN, 2009; SISS, 2011).

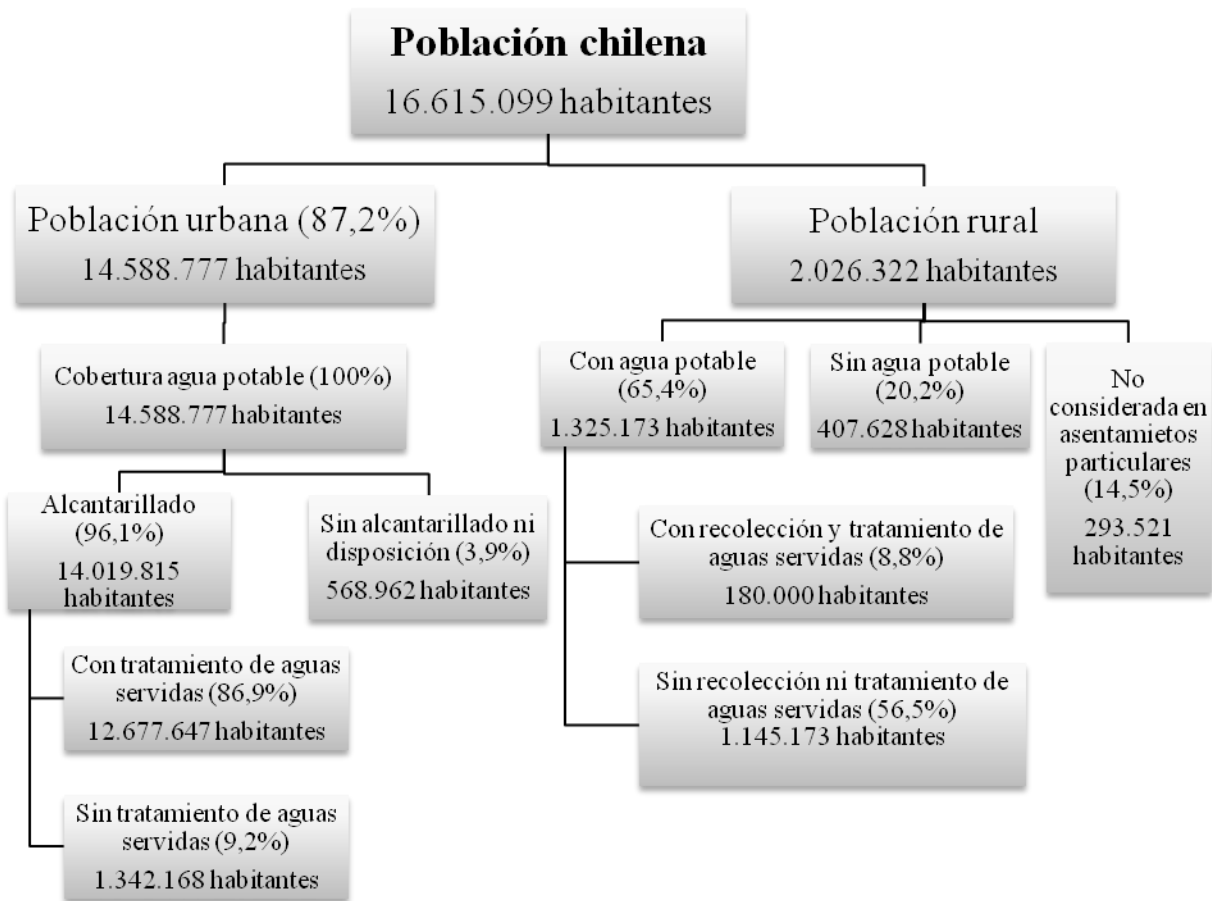


Figura 1: Esquema sobre la distribución y saneamiento de la población en Chile. Datos obtenidos de SUBDERE (2009).

1.2 Tratamiento de aguas servidas

1.2.1 Tipos de tratamientos convencionales

Dentro de las diversas tecnologías convencionales para el tratamiento de las aguas servidas en Chile, se encuentran principalmente:

- a) Lodos activados: Tratamiento biológico de cultivo suspendido que utiliza microorganismos para eliminar principalmente los sólidos suspendidos y la materia orgánica. En este proceso, el crecimiento de los microorganismos convierte la materia orgánica en nuevo material celular, formando flóculos que son susceptibles a precipitar en el fondo del tanque, dejando un efluente relativamente clarificado y

prácticamente libre de materia orgánica y sólidos (Metcalf y Eddy, 1995). En el proceso de lodos activos básico se identifican cuatro partes principales): a) tanque de aireación (reactor biológico), b) tanque de sedimentación (sedimentador o clarificador secundario), c) recirculación de lodo, y d) remoción de lodo de desecho o purga (Von Sperling, 2007).

Estos reactores biológicos son diseñados y operados sobre tres principios (Vera, 2012): a) tiempo en que permanece el agua servida, representada por el parámetro operativo Tiempo de Retención Hidráulico (TRH), b) cantidad y tiempo en que la biomasa es mantenida en el sistema, siendo la cantidad, representada por el parámetro operativo concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor (MLVSS) “Mixed Liquor Volatile Suspended Solids”, y el tiempo, por el parámetro operativo, edad del lodo, y c) cantidad de materia orgánica aplicada al sistema, representada por los parámetros operativos, carga orgánica volumétrica y relación Alimento – Microorganismos (A/M). Variaciones en los parámetros operativos diferencian una modalidad de otra.

Este tipo de tratamiento puede tener distintas configuraciones como lo son: I) Aireación convencional, donde son utilizados difusores de aire con TRH de 6-8 horas, con una edad del lodo de 4-15 días, y con una relación A/M de 0,2-0,9 kg DBO₅/kg MLVSS·día; II) Aireación extendida, donde el tanque es aireado mecánicamente con TRH de 12-36 horas, con una edad del lodo de 20-60 días, y con una relación A/M de 0,05-0,2 permitiendo que ocurra la fase endógena y se generen menores cantidades de lodo; III) Reactores secuenciales batch, donde los procesos de aireación, decantación y clarificado ocurren en el mismo tanque en períodos secuenciales de llenado y vaciado de éste con TRH de 4-12 horas, con una edad del lodo de 10-40 días, y con una relación A/M de 0,05-0,2; IV) Zanjias oxidativas, donde los tanques son canales circulares por donde circulan los aireadores permitiendo una aireación completa del licor y pudiendo utilizarse para procesos de nitrificación, desnitrificación y eliminación biológica de fosforo (NESC, 2003; Vera, 2012).

b) Lagunas: Son estanques artificiales excavados en el terreno e impermeables que cumplen como función principal degradar la materia orgánica de las aguas servidas.

Dentro de esta tecnología se encuentran: a) lagunas aireadas, donde la aireación cumple la función de mezclar y administrar el oxígeno necesario para la degradación de la materia orgánica, permitiendo aumentar la carga orgánica y acortando los TRH a algunos días (2-4 días); b) Lagunas de estabilización o facultativas, donde los TRH son largos (hasta 20 días) y debido a que no existe ni mezcla ni oxigenación, los procesos de degradación de materia orgánica son lentos, prefiriéndose el uso de lagunas en serie para aumentar el flujo y poder aumentar las cargas orgánicas (Sanchez, 2005; Vera, 2012).

c) Sistemas de medio fijo: El proceso en medios fijos es aquel en el cual se tiene un medio de soporte sólido, que permite que sobre éste se desarrolle un medio microbiano que consume el material orgánico cuando está en contacto con las aguas servidas. El tratamiento de estas aguas se puede efectuar en reactores de película biológica, poniendo en contacto dichas aguas con una población microbiana en forma de una película biológica adherida a la superficie de un medio sólido de soporte. En cualquier superficie en contacto con microorganismos donde se tengan los nutrientes necesarios, se desarrolla una capa biológicamente activa y en consecuencia, las películas biológicas adheridas constituyen una característica de todo tipo de reactor biológico (Metcalf y Eddy, 1995).

d) Lombrifiltro: En este tipo de sistemas las aguas servidas percolan a través de un medio filtrante, donde existe una población lombrices. La materia orgánica que queda retenida en el medio filtrante es removida por dicha población además de microorganismos adheridos al medio, utilizándola como fuente de alimento y energía. Las lombrices luego de digerir la materia orgánica producen a través de sus deyecciones el denominado humus de lombriz, que puede ser utilizado como abono orgánico para el suelo. Esta tecnología posee el beneficio de no generar lodos, sino que en su lugar se obtiene el humus (Salazar, 2005).

e) Emisarios submarinos: Este tipo de tecnología utiliza la descarga de las aguas servidas a los cuerpos marítimos a través de tuberías que están situadas o instaladas en el fondo marino. Estos sistemas de tratamiento cuentan con tres fases principales:

a) un tratamiento físico, donde son eliminadas las partículas sedimentables y ocurre un acondicionamiento de las partículas a degradar mediante un disminución del tamaño de los sólidos suspendidos gruesos y el aumento de oxígeno disuelto por aireación (Leppe y González, 1996); b) una etapa de transporte y tratamiento biológico, donde las aguas son transportadas hasta un punto del océano donde se den las condiciones óptimas de dilución y donde, debido al alto tiempo de residencia dentro de los tubos de descarga, la flora bacteriana disminuye su metabolismo (estado de dormancia), lo que facilita su abatimiento en el impacto con el medio marino (Padilla y Mondaca, 1995); c) y por último una etapa de tratamiento submarino, donde ocurre la reducción de la contaminación orgánica y bacteriológica debido a la acción de procesos físicos y biológicos como la temperatura, pH, radiación UV, osmosis, salinidad, algas bactericidas, entre otros. En este tipo de sistemas se suele mencionar un “área de tratamiento natural” donde ocurren los procesos antes señalados, la que normalmente se define como un área circular de 600 m de radio desde el punto de descarga y desde el fondo marino hasta la superficie (Leppe y González, 1996).

Las diferentes eficiencias de eliminación de las diversas tecnologías de tratamiento de aguas servidas se observan en la Tabla 2:

Tabla 2: Tecnologías de tratamiento y eficiencias de eliminación

Tecnología de tratamiento	Eficiencia de eliminación (%)					Referencia
	Sólidos suspendidos	DBO ₅	NT	PT	Coliformes	
Laguna facultativa	-	70-85	30-50	20-60	60-99	Von Sperling, 1996
Lodo activado convencional	80-90	85-93	30-40	30-45	60-90	Von Sperling, 1996
Lodo activado aireación extendida	80-90	93-98	15-30	10-20	65-90	Von Sperling, 1996
Lodo activado RSB	80-90	85-95	30-40	30-45	60-90	Von Sperling, 1996
Sistema de medio	85-95	85-93	30-40	30-45	60-90	Silva y col., 2008

fijo (Biodiscos)						
Emisario submarino	99	-	100	95	100	Leppe y González, 1996

1.2.2 Tecnologías de tratamiento utilizadas en Chile

El tratamiento convencional de las aguas servidas en Chile, para zonas urbanas, se divide principalmente en tecnologías de lodos activados, lagunas aireadas, lombrifiltros y sistemas de medio fijo. Dentro de estas tecnologías, el tratamiento por lodos activados es el más común, utilizándose en un 61% de las plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS) en sus diferentes variaciones de configuración (aireación extendida, convencional, zanjas oxidativas y secuenciales batch). En segundo lugar, un 23 % de las PTAS utiliza lagunas, donde un 75% de ellas son aireadas y un 25% son de estabilización o facultativas. Luego en un menor porcentaje se encuentran el uso de sistemas de medio fijo con un 4,2%, los lombrifiltros con un 3,9% y los emisarios submarinos con un 8,1% (Barañaño y Tapia, 2004).

En sectores rurales, como se indica en la Figura 3, el tratamiento de las aguas servidas difiere de los sectores urbanos, ya que solo para un 18,5% de los hogares cuenta con red de alcantarillado. El resto de la hogares rurales lo realiza por diversas tecnologías, donde un 47,5% utiliza conexión a fosa séptica, un 9,3% utiliza letrina sanitaria conectada a pozo, un 21,9% utiliza cajón conectado a pozo negro, un 0,2% utiliza cajón conectado a acequia o canal, un 0,1% utiliza cajón conectado a otros sistemas y un 2,6% no utiliza ningún tipo sistema de disposición (CASEN, 2009).

De acuerdo a estas estadísticas se hace necesaria la implementación de tecnologías adecuadas y que económicamente sean rentables en los sectores rurales, donde las tecnologías convencionales no pueden ser aplicadas debido a problemas de financiamiento, falta de personal capacitado, entre otros (García, 2004; Pastor, 2004). Dentro de este ámbito es donde aparecen las tecnologías de tratamiento no convencionales, las cuales atienden este tipo de problemáticas debido a su bajo costo de implementación, los gastos casi nulos de energía eléctrica, su fácil integración con el medio ambiente y el no requerir de personal capacitado para su monitoreo, pudiendo ser utilizadas para corregir la problemática ambiental de disposición y tratamiento de las aguas servidas (Fahd y col., 2007).

1.3 Humedales artificiales o humedales construidos

Los humedales han sido definidos desde hace más de tres décadas como los “riñones del planeta” debido a su condición natural de transformar y almacenar la materia orgánica y los nutrientes del agua, siendo uno de los ecosistemas más importantes en el planeta (Brix, 1994).

Los humedales construidos (HC) son sistemas de depuración compuestos por lagunas o canales poco profundos (menos de 1 metro de alto), con plantas propias de zonas húmedas, que poseen tuberías de entrada del influente, impermeabilización, y estructuras de salida de efluente regulables para controlar el nivel de agua (Kadlec y Knight, 1996). En dichos humedales, la presencia de microorganismos y la acción de la vegetación, junto a procesos fisicoquímicos, permiten depurar el agua, eliminando grandes cantidades de materia orgánica, sólidos, nitrógeno, fósforo y en algunos casos productos químicos tóxicos (Lahora, 2003). Estos sistemas presentan ventajas debido a sus altos niveles de eficiencia en el tratamiento, el bajo costo de operación e instalación además de ser sencillos de operar y el bajo consumo de energía (García y Corzo, 2008).

Este tipo de sistemas se utilizan con éxito para la depuración de diversos tipos de aguas residuales, entre las cuales se pueden incluir las aguas servidas, aguas residuales industriales, aguas residuales de la agricultura, entre otras (Vymazal, 2009).

1.3.1 Tipos de humedales

Los humedales artificiales se clasifican en dos categorías principales de acuerdo al nivel del agua, aún cuando existen subcategorías, las cuales se denominan de acuerdo a la forma de aplicación del agua influente (Kadlec y Knight, 1996).

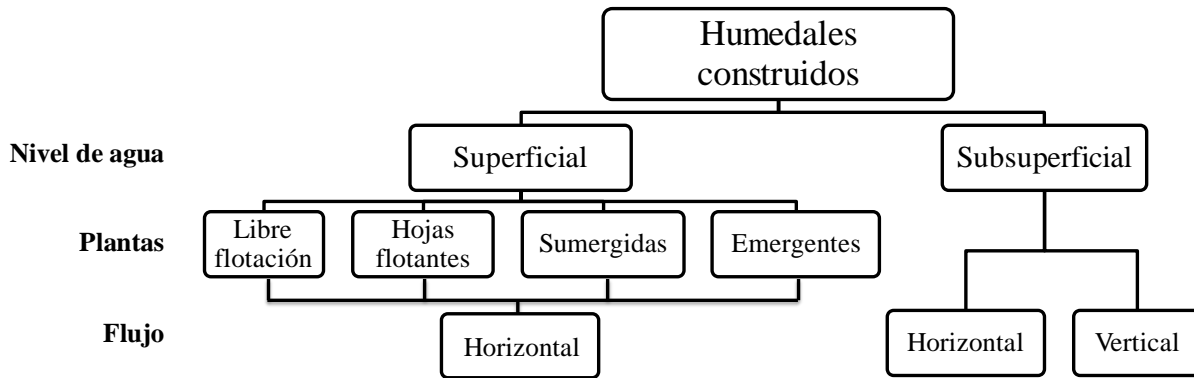


Figura 2: Tipos de humedales construidos. Adaptado de Vymazal (2008).

I) Humedal Construido de Flujo Superficial (HS), que son similares a los humedales naturales, donde el agua está en contacto con el medio ambiente y circula de forma horizontal presentando vegetación de libre flotación, de hojas flotantes, sumergida y emergente (Vymazal 2008). Este tipo de humedales poseen alturas de 0,2-1,2 m de profundidad y se asemejan prácticamente a los lagunares, por lo que su uso en depuración de aguas servidas no es muy común (García, 2004).

II) Humedal Construido de Flujo Subsuperficial (FSS), donde el agua circula por debajo de la capa de soporte (medio común grava) y tiene contacto con las raíces y rizomas de las plantas. La profundidad suele variar entre 0,3 y 0,9 m. Dentro de este grupo existen dos tipos, los Humedales de Flujo Horizontal Subsuperficial (HSS) y los Humedales de Flujo Vertical Subsuperficial (VSS) (García, 2004).

- Humedal Construido de Flujo Horizontal Subsuperficial (HSS): En estos sistemas el agua circula de forma horizontal a través del medio de soporte, las raíces de las plantas y los rizomas. El agua no está en contacto con la atmósfera y trabajan prácticamente inundados con el agua a 0,05-0,1 m de la superficie (García y Corzo, 2008).
- Humedal Construido de Flujo Vertical Subsuperficial (VSS): Este tipo de humedales es especial para favorecer el proceso de nitrificación (Cooper, 2005). Normalmente estos procesos se acoplan con los flujos horizontales para así generar de mejor manera los procesos de nitrificación y desnitrificación, consiguiendo

finalmente eliminar nitrógeno molecular (Vymazal, 2005). La circulación del agua en este sistema ocurre de forma vertical, donde el agua es vertida a pulsos, permitiendo que el medio granular no esté siempre inundado (Kadlec y Knight, 1996).

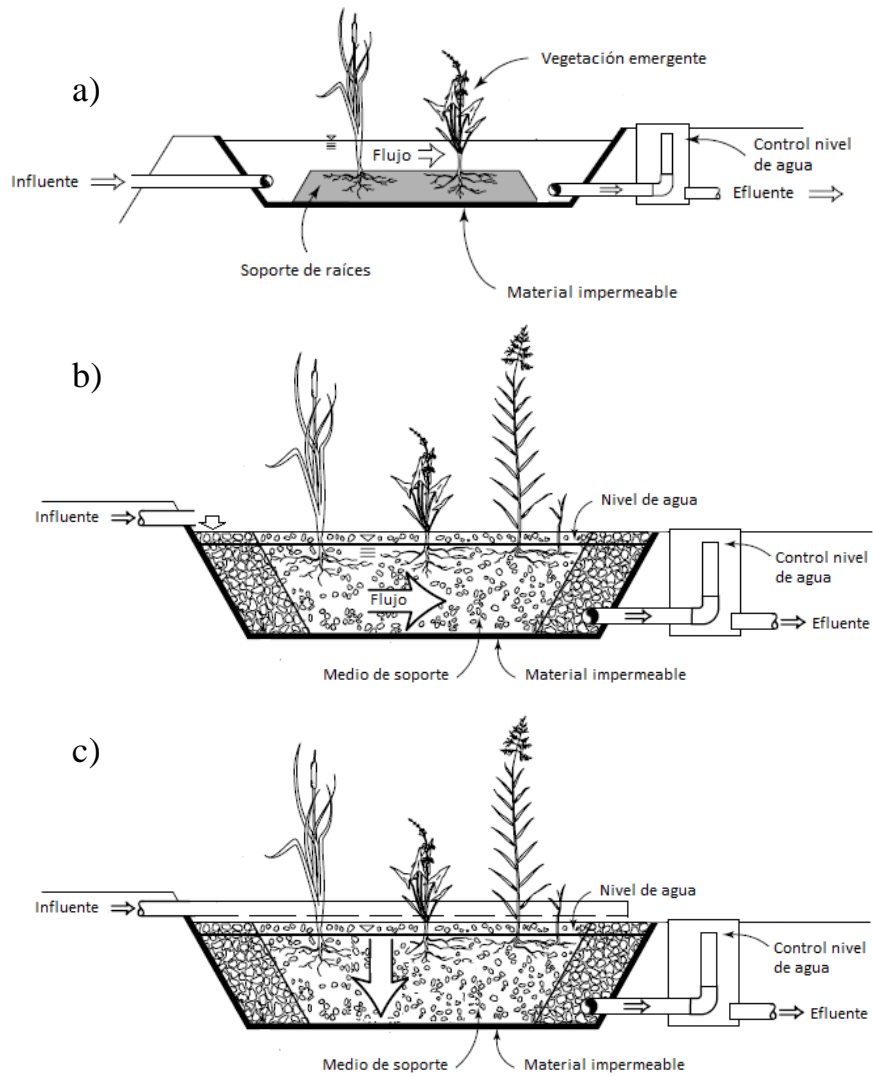


Figura 3: Esquema de los tipos de humedales construidos: a) FS, b) HSS y c) VSS. Adaptado de (Kadlec y Knight, 1996).

Tabla 3: Eficiencias de eliminación de los distintos tipos de humedales construidos

Tipo de humedal construido	Eficiencias					
	DBO ₅		N		P	
	(%)	mg/L	(%)	mg/L	(%)	mg/L
Flujo Horizontal Superficial (HS)	54 - 88	5 - 50	30 - 60	10 - 40	10 - 50	0,5 - 11
Flujo Horizontal Subsuperficial (HSS)	75 - 95	6 - 60	30 - 60	10-80	10 - 60	2 - 12
Flujo Vertical Subsuperficial (HV)	30 - 95	5 - 100	35 - 55	35 - 75	10 - 60	4.- 12

O'Hogain, 2004; Vera, 2012; Vymazal, 2005.

1.3.2 Tipo de vegetación utilizada en humedales construidos

En general, el funcionamiento de los sistemas de FS no se ve afectado mayormente por el tipo se especie vegetal utilizada. Sin embargo, en sistemas de FSS existe una disparidad de resultados tanto en la sobrevivencia de las especies, como en las eficiencias de eliminación de los humedales, lo que se atribuye a las diferencias de adaptación de las plantas, las capacidades de oxigenación de sus raíces y el desarrollo de la rizósfera (Bécares, 2004).

En los FSS la vegetación normalmente utilizada son macrófitas emergentes típicas de zonas húmedas como: *Phragmites spp.*, *Typha spp.*, *Schoenoplectus spp.* y *Carex spp.* (Kadlec y Knight, 1996). Estas especies poseen diversas características que les permiten ser utilizadas en este tipo de sistemas, las que se definen a continuación:

- *Phragmites australis*: planta perenne que pertenece a la familia de las *Poaceae*. Crece en lugares húmedos con hasta 0,6 m inundados. Puede desarrollarse en suelos con pH entre 3,7-9,0, a temperaturas óptimas entre 12-33 °C y tolera altas niveles de salinidad (hasta 20 ppt). Se propaga mediante rizomas rápidamente hasta 10 m/año, creando condiciones de monocultivo. Se ubica en todo el mundo y sus tallos alcanzan alturas de casi 5 m en su etapa madura (Borin, 2003; USDA, 2012; Wallace y Knight, 2006).

- *Typha latifolia*: planta perenne que pertenece a la familia de las *Typhaceae*, que puede crecer hasta con 0,6 m inundada por agua. Puede estar presente en HS y FSS, y es capaz de desarrollarse en suelos con pH entre 5,5-7,5, a temperaturas óptimas entre 10-30 °C. Tolera bajos niveles de salinidad (< 5 ppt) y se propaga mediante rizomas con una tasa de 0,3 m/año. Se ubica a lo largo de norteamérica y sus tallos alcanzan alturas de hasta 3 m en su etapa madura (Borin, 2003; USDA, 2012; Wallace y Knight, 2006).
- *Schoenoplectus californicus*: pertenece a la familia de las *Cyperaceae*, que puede crecer hasta con 0,6 m inundada. Crece en suelos con pH entre 5 y 9, a temperaturas óptimas entre 16-27 °C. Tolera niveles de salinidad leves (< 5 ppt) y se propaga mediante rizomas con una tasa de propagación rápida (0,3 m/año). Puede ser encontrada en todo el continente americano, en las islas del Pacífico y en el oeste de India. Los tallos alcanzan alturas de hasta 3 m en su etapa madura (Borin, 2003; USDA, 2012; Wallace y Knight, 2006).
- *Carex rostrata* pertenece a la familia de las *Cypereceae*, crece en lugares húmedos en suelos con pH entre 4,5 y 7,0, a temperaturas óptimas entre 14-32 °C. Tolera bajos niveles de salinidad y se propaga mediante rizomas en un ritmo de crecimiento moderado a lento (< 0,3 m/año). Puede ser encontrado de forma nativa en casi todo el continente Americano, Alaska, Canadá y Dinamarca. Los tallos alcanzan alturas de 1 m en su etapa madura (Borin, 2003; USDA, 2012; Wallace y Knight, 2006).

1.4 Hidrología e hidráulica de los humedales

El control de parámetros como el flujo de agua y el volumen del humedal determinan la cantidad de tiempo que el agua pasa dentro del humedal y por ende, el tiempo de interacción entre el agua y el ecosistema del humedal. La capacidad de controlar adecuados niveles de agua es importante en HC y es necesario mantener un régimen hidráulico que sea adecuado para las características hidrológicas requeridas tanto por los microorganismos como por las plantas, permitiendo que la depuración del agua servida ocurra en el mayor grado en el humedal (Kadlec y Knight, 1996). Estos parámetros

hidráulicos son a su vez intervenidos por el medioambiente, donde factores como la temperatura ambiental, las precipitaciones, la humedad ambiental, el viento, la tasa de evapotranspiración entre otros pueden afectar el comportamiento hídrico, pudiendo aumentar o disminuir los volúmenes de agua que reciben estos sistemas (Allen y col., 2006). Los parámetros necesarios para conocer el manejo de humedales construidos son:

a) Tiempo de Retención Hidráulico (TRH): Se define como la cantidad de tiempo que el agua permanece dentro del humedal, como se observa en la (Ecuación 1).

$$t = \frac{V_{activo}}{Q} = \frac{\varepsilon h A_{activo}}{Q} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

t = tiempo de retención [d]

V_{activo} = volumen del humedal que contiene agua en flujo activo [m^3]

Q = flujo de agua [m^3/d]

ε = porosidad del medio (fracción del volumen ocupado por el agua), adimensional

h = altura del agua en el humedal [m]

A_{activo} = área del humedal que contiene agua en flujo activo [m^2]

b) Carga Hidráulica Superficial (CHS): Se define como el flujo de agua adicionada dividido por el área superficial del humedal, como se observa en la (Ecuación 2).

$$q = \frac{Q_i}{LW} = \frac{\varepsilon h}{t_n} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

q = carga hidráulica superficial [m/d]

Q_i = flujo de entrada [m^3/d]

L = longitud del humedal [m]

W = ancho del humedal [m]

ε = porosidad del medio (fracción del volumen ocupado por el agua), adimensional

h = altura del agua en el humedal [m]

t_n = tiempo de retención hidráulico nominal [d]

c) Balance hídrico: Se utiliza para estimar la dinámica hídrica del volumen de almacenamiento de un humedal construido. La ecuación de balance general se presenta en la (Ecuación 3).

$$Q_i - Q_o + Q_c - Q_b - Q_{gw} + Q_{sm} + (P \times A) - (ET \times A) = \frac{dV}{dt} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

Q_i = flujo de entrada de agua [m^3/d]

Q_o = flujo de salida de agua [m^3/d]

Q_c = captación de agua [m^3/d]

Q_b = pérdida de banca [m^3/d]

Q_{gw} = infiltración a aguas subterráneas [m^3/d]

Q_{sm} = tasa de derretimiento de nieve [m^3/d]

P = tasa de precipitación [m/d]

A = área superficial del humedal [m^2]

ET = tasa de evapotranspiración [m/d]

dV = variación de volumen de agua en el humedal [m^3]

dt = variación de tiempo [s]

1.5 Asociaciones y procesos que ocurren en los humedales construidos

La depuración de las aguas servidas ocurre mediante una serie de fenómenos fisicoquímicos y biológicos que se dan a lo largo de todo el humedal, en los que se ven involucrados tanto el medio de soporte, los microorganismos adheridos a éste, así como las plantas y los rizomas (Kadlec y Knight, 1996). Sin embargo, se ha observado que la eliminación de estos contaminantes se debe principalmente a la actividad microbiológica que se desarrolla en el humedal y que elimina gran parte de los nutrientes y materia orgánica (Faulwetter y *col.*, 2009; Ramond y *col.*, 2012).

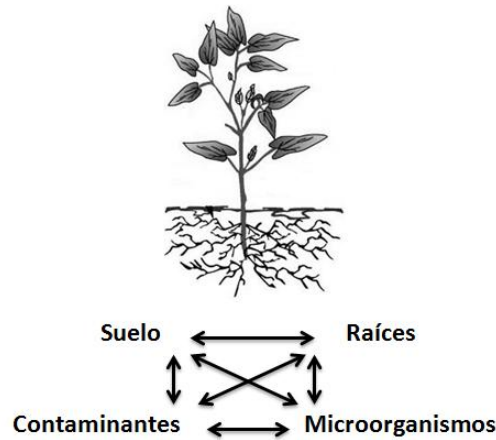


Figura 4: Interacciones que ocurren en un Humedal Construido. Adaptado de (Stottmeister y *col.*, 2003).

Los fenómenos fisicoquímicos involucran procesos tales como: filtración, sedimentación, adsorción, en donde cada uno de estos procesos influye en la eliminación de los contaminantes. Los procesos de filtración de grandes partículas ocurren a través de las raíces y el medio de soporte, mientras que la adsorción de nutrientes es llevada a cabo por el medio de soporte (Sundaravadivel y Vigneswaran, 2001).

Los microorganismos tienen un rol importante en la eliminación de nutrientes y materia orgánica de las aguas servidas, donde la materia orgánica es degradada por mecanismos tanto aerobios como anaerobios. En los HSS los mecanismos de eliminación aerobios casi no se observan (<6%) debido a la ausencia de oxígeno (0,5 mg/L de O₂ para humedales de 50 cm. de profundidad) y la eliminación se lleva a cabo por mecanismos anaerobios mediante procesos de metanogénesis y sulfatoreducción (>94%) (Aguirre, 2004).

Para que los diversos procesos de transformación que realizan los microorganismos ocurran, deben existir condiciones específicas tales como potencial redox, pH y temperatura adecuados. Altos potenciales redox (100 a 700 mV) indican condiciones oxidativas, asociándose a procesos como la nitrificación y la oxidación de carbono orgánico, mientras bajos potenciales (-100 a -500 mV) están relacionados a condiciones reductoras, promoviendo procesos anaeróbicos tales como la acetogénesis, metanogénesis y la sulfatoreducción (Von Sperling, 2007) (Tabla 4). El potencial redox registrado en los HSS indica su estado estrictamente anaerobio, ya que presentan potenciales negativos (-100 a -400) a lo largo del humedal (García y *col.*, 2003), y a su vez estos rangos de POR

concuerdan con las concentraciones de oxígeno disuelto que presentan los HSS, con concentraciones de 0,5 mg/L de O₂ en humedales de 0,5 m de profundidad (Aguirre, 2004).

En la Tabla 4 se detallan de manera más exacta los procesos microbianos que ocurren en los humedales construidos con sus potenciales redox en el cual ocurren (Faulwetter y *col.*, 2009).

Tabla 4: Algunos de los procesos que ocurren en humedales construidos. Adaptada de (Faulwetter y *col.*, 2009).

Proceso	Aceptor de electrones	Potencial redox (mV)
Respiración aeróbica	O ₂	300 a 700
Nitrato reducción	NO ₃ ⁻	100 a 350
Sulfato reducción	SO ₄ ⁻²	-200 a -100
Metanogénesis	CO ₂	-350 a -100

Adaptado de (Henze y *col.*, 2002).

El potencial redox entrega información sobre el tipo de microorganismos que pueden estar actuando en el humedal, y a su vez de acuerdo a los rangos puede influir en el desarrollo de los procesos de la Tabla 4. Del mismo modo, el pH y la temperatura afectan la actividad microbiana ya que las bacterias requieren, en algunos casos, de rangos específicos de dichos parámetros para realizar su metabolismo de manera adecuada (Scholz y Lee, 2005).

Algunos procesos microbianos son sensibles a los cambios de pH, un ejemplo de esto es el proceso de nitrificación o nitrato reducción, el cual se desarrolla de manera óptima a pH 7-8, pero fuera de estos rangos el proceso no ocurre de manera adecuada, ya que fuera de estos rangos de pH, pueden ocurrir fenómenos como la inactivación de las bacterias nitrificantes debido al amoníaco libre, entre otros (Paredes *et. al.*, 2007). Del mismo modo, la temperatura juega un rol a la hora de activar y desactivar diversos procesos microbianos, ya que a bajas temperaturas, muchos procesos se ven inhibidos o no ocurren de manera óptima. Un ejemplo es la disminución de actividad de las bacterias nitrificantes por debajo de los 5°C (Truu *et. al.*, 2009).

Si bien los microorganismos se encargan de la eliminación de materia orgánica y nutrientes, el aporte por parte de las plantas en este último proceso es significativo,

aceptándose que la vegetación en un humedal aporta, de manera general, en una eliminación del 10% para el fósforo y un 25% para el nitrógeno (Bécares, 2004). En los FSS las plantas proporcionan un soporte para la biopelícula, la cual crece en las raíces de las plantas y en el medio granular, además de otras funciones como transferir oxígeno a las raíces (García y Corzo, 2008). Aunque parece aceptado que el oxígeno liberado por las raíces ($0,02-12 \text{ g O}_2/\text{m}^2\cdot\text{día}$) es insignificante comparado con el que se necesita para degradar aeróbicamente las aguas servidas (Bécares, 2004), las cercanías entre las raíces (aproximadamente 35 mm para *Phragmites spp.*), permiten la formación de microambientes aeróbicos en dichas zonas, y a su vez, las raíces y sus cercanías (1-20 mm) crean un gradiente de potencial redox desde 500 a -250 mV, permitiendo la formación de diversos nichos ecológicos que promueven una multitud de procesos microbianos que influyen de manera directa en la depuración de las aguas servidas (Faulwetter y col., 2009).

En sistemas de FS, los tallos y hojas sumergidos aumentan la superficie de la biopelícula encargada de la eliminación de los contaminantes, por lo que la cantidad de vegetación en el sistema debería estar relacionada con el rendimiento del mismo. En sistemas de FSS las raíces sirven de soporte a la biopelícula, además del medio granular. Puesto que el funcionamiento de un sistema dependerá de la abundancia de bacterias en el mismo, cabe esperar que el incremento de biopelícula mejore los procesos (Bécares, 2004).

1.6 Eliminación de contaminantes en HSS

La eliminación de materia orgánica y nutrientes como el nitrógeno y el fósforo ocurren mediante procesos específicos en los HSS. Los contaminantes eliminados por los HC se pueden clasificar en cuatro elementos importantes los cuales son: sólidos suspendidos, materia orgánica, nitrógeno y fósforo.

1.6.1 Sólidos suspendidos

La materia en suspensión (MES) o los sólidos suspendidos, quedan retenidos en los humedales mediante la filtración del medio granular y por precipitación. Altos tiempos de retención hidráulicos (3-10 días), permiten eliminar el 100% de los sólidos totales

presentes en las aguas servidas (Vymazal y *col.*, 1998). En los HSS la mayor parte de la eliminación de sólidos ocurre cerca de la zona de entrada, la eliminación de sólidos alcanza eficiencias de más del 90% (Aguirre, 2004). Estos sólidos quedan retenidos en un 99% en el espacio intersticial mientras que solo un 1% de estos se adhieren a la grava (Caselles-Osorio y *col.*, 2007). Un contenido excesivo de sólidos de tipo orgánico o inorgánico (>50 mg/L) puede provocar una pronta colmatación de los humedales, es decir, una acumulación excesiva de sólidos en la zona de entrada, la cual altere la conductividad hidráulica del humedal. Para esto es necesario disponer de un pretratamiento para eliminar sólidos como la arena y evitar este problema (García y Corzo, 2008).

1.6.2 Materia orgánica

La materia orgánica se puede clasificar en materia orgánica particulada (MOP) y disuelta (MOD) donde la MOP es eliminada del mismo modo que los sólidos suspendidos, es decir, por mecanismos físicos como la filtración y la sedimentación, mientras que la MOD es degradada por la presencia de microorganismos que forman la biopelícula adheridos a este medio de soporte (Aguirre, 2004).

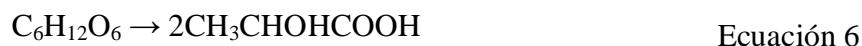
La degradación aeróbica de la MOD es realizada por bacterias heterótrofas aeróbicas, mientras que la degradación anaeróbica ocurre en varias etapas y en zonas donde existe ausencia de oxígeno. Este proceso es realizado por bacterias del tipo anaerobias estrictas y anaerobias facultativas (García y Corzo, 2008).

El proceso de degradación aeróbica se puede resumir de acuerdo a la Ecuación 4, donde en presencia de oxígeno, las bacterias heterótrofas aeróbicas degradan la materia orgánica a dióxido de carbono y agua (Vymazal *et al.* 1998).

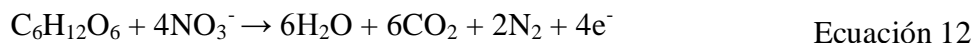
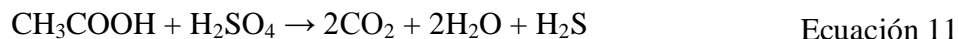


La digestión anaeróbica es un proceso complejo que realizan cierto grupo de bacterias autótrofas, las cuales degradan la materia orgánica y obtienen sus substratos mediante reacciones que implican numerosos productos intermedios (Ruiz y *col.*, 2006). Este proceso ocurre en una serie de etapas debido a los diversos intermediarios de reacción que ocurren, donde en una primera etapa, gracias a procesos de fermentación, se producen

ácidos grasos como el acético (Ecuación 5), butírico y láctico (Ecuación 6), además de alcoholes (Ecuación 7) y gases como el H₂ y CO₂ (Vymazal y *col.*,1998).



En una segunda etapa estos intermediarios son utilizados por bacterias del tipo metanogénicas (Ecuaciones 8 y 9), sulfatoreductoras (Ecuaciones 10 y 11) y desnitrificantes (Ecuación 12) para obtener energía. Estos tres grupos bacterianos juegan un rol importantes en la degradación anaeróbica de la materia orgánica (Lettinga y *col.*, 2001)



Las bacterias heterótrofas aeróbicas obtienen con un mismo substrato más energía que las anaeróbicas debido a que los productos finales de estas últimas aun contienen una alta energía almacenada, por lo que la generación de lodos mediante degradación anaeróbica es significativamente menor que en el proceso aerobio (Leitão y *col.*, 2006).

Todas las reacciones descritas anteriormente ocurren simultáneamente en los HSS, y dependiendo de los factores involucrados, predominan unas reacciones más que otras. Para humedales de 30 cm, la eliminación de materia orgánica ocurre en un 9,9% por respiración aeróbica, un 56,9% por desnitrificación, un 33,2% por sulfatoreducción y no ocurre eliminación a través de metanogénesis. Para humedales de 50 cm, son de un 5,7% respiración aeróbica, 0% desnitrificación 89,4% sulfatoreducción y 4,9% metanogénesis (Aguirre, 2004).

- Actividad metanogénica

El proceso específico para la producción de CH₄ mediante metanogénesis se puede observar en la Tabla 5, donde el paso de producción de metano es que diferencia este

mecanismo de los demás tipos de degradación anaerobia como la sulfatoreducción y la desnitrificación.

Tabla 5: Procesos que ocurren en la degradación anaerobia

Proceso	Grupo encargado	Substrato	Productos
Hidrólisis de macromoléculas	Enzimas extracelulares	Grasas, Proteínas, Azúcares	Ácidos grasos, Aminoácidos, Carbohidratos
Producción de ácidos	Bacterias formadoras de ácido	Ácidos grasos de cadena corta, Aminoácidos, Carbohidratos	Ácidos butírico, ácido propiónico
Producción de metano	Bacterias acetoclásticas	Acido acético	Metano, Dióxido de carbono
	Bacterias metanogénicas	Hidrógeno, Dióxido de carbono, Acetato, Metanol	Metano

De acuerdo a esto, se pueden distinguir distintos géneros de bacterias, que, dependiendo del substrato que utilizan, se pueden dividir en los siguientes grupos fisiológicos (Torres-Alvarado y *col.*, 2005):

- Grupo I: El género *Methanosaeta* pertenece a este grupo de microorganismos que se caracterizan por producir metano utilizando exclusivamente acetato como substrato, de acuerdo a la siguiente reacción.



- Grupo II: Incluye géneros de bacterias como *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* y *Methanogenium*, los cuales se caracterizan por producir metano a partir de hidrógeno y dióxido de carbono.



- Grupo III: Comprende los géneros bacterianos *Methanolobus* y *Methanococcus*, que producen metano a partir de compuestos metilados como el metanol y las metilaminas.



Ecuación 15

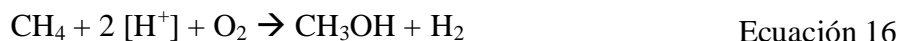
- Grupo IV: Incluye al género *Methanosarcina*, el cual es capaz de producir metano a partir de acetato, hidrógeno y compuestos metilados.

La liberación de CH₄ por los HSS está mediada en primer lugar por la producción del gas al interior de las celdas, en segundo lugar por la oxidación aerobia y anaerobia del CH₄ al interior de las celdas, y finalmente por el transporte y emisión de este gas a la atmósfera (Elizabeth, 2010).

Las bacterias que producen los diversos ácidos se pueden adaptar relativamente a cambios en las condiciones de pH, pero en cambio las bacterias metanogénicas son sensibles a cambios de pH y operan adecuadamente en rangos de pH entre 6,5-7,5, considerándose que bajo pH 6,2 el metabolismo de este tipo de bacterias cesa (Vymazal y col., 1998). Otros factores que pueden inhibir o disminuir la actividad de las bacterias metanogénicas es la presencia de sulfato, la cual presenta dos clases de inhibiciones: a) en primer lugar las bacterias sulfatoreductoras lo utilizan como aceptor de electrones al oxidar la materia orgánica, por lo que consumen con las bacterias metanogénica por el substrato; b) el sulfuro (S⁻²), generado por las bacterias sulfatoreductoras, es tóxico para algunas bacterias metanogénicas, ya que se sabe que el sulfuro de hidrógeno (H₂S) al estar en el citoplasma de las células puede denaturar las proteínas por la formación de puentes disulfuro entre las cadenas polipeptídicas (Chen y col., 2008).

La oxidación de metano, ocurre en presencia moderada de oxígeno (oxidación aerobia), y puede a su vez reducirse en ausencia de oxígeno (reducción anaerobia). La primera, se produce por bacterias de los géneros *Methylococcus* *Methylomonas* y por las bacterias nitrificantes, como *Nitrosomaonas europea* y *Nitrosococcus oceanus* (Jones y Morita, 1983). Las bacterias que oxidan el CH₄ son llamadas bacterias metanotróficas y son abundantes en la columna de agua, en la interfase aeróbica del sedimento-agua, así como en

la zona de la rizósfera. La reacción que cataliza la oxidación aerobia de CH₄ es la enzima metano monoxigenasa (MMO), a través de la siguiente reacción:



La reducción anaerobia, se realiza principalmente en los humedales por varios grupos de Archaea, en la zona de transición de reducción de sulfato y metanogénesis (Torres-Alvarado y *col.*, 2005). A continuación se presenta la reacción de la reducción anaerobia de CH₄:



El transporte de metano a la atmósfera ocurre mediante 3 mecanismos: a) difusión pasiva a través de las plantas, conocido como ventilación, b) difusión a través del agua y c) ebullición o formación de burbujas. El transporte de CH₄ por las plantas es a través de las aerénquimas. La difusión del CH₄ a través del agua es muy lenta debida a su baja solubilidad. La ebullición se refiere al paso de burbujas de CH₄ por la columna de agua sin disolverse en ella. Se ha observado que este último fenómeno es un importante mecanismo de transporte del CH₄ a la atmósfera (Elizabeth, 2010).

1.6.3 Nitrógeno

Los mecanismos de eliminación de nitrógeno dependen de la forma en que se encuentre éste en el HSS, pudiendo presentarse como nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal (NH₄⁺) o nitrógeno oxidado (NO₂⁻ y NO₃⁻). El nitrógeno orgánico está generalmente asociado a la materia en suspensión presente en las aguas servidas por lo que es eliminado de la misma manera que los sólidos suspendidos (Aguirre 2004). El nitrógeno inorgánico es eliminado por diversas vías que involucran procesos de biodegradación y procesos fisicoquímicos. Todas estas transformaciones son necesarias para mantener el ecosistema del humedal y para su correcto funcionamiento (Vymazal, 2007). Los distintos procesos son:

- Volatilización del amoníaco: Es la pérdida de amoníaco por volatilización a la atmosfera. Estudios indican que la eliminación de amoníaco (NH₃) es insignificante

cuando el valor de pH es bajo 7,5, ya que a medida que aumenta el pH la relación $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ aumenta, siendo a pH 9,3 una relación de 1:1. La volatilización del amoníaco puede eliminar valores de 2,2 g N/m²·d de nitrógeno, pero estos valores dependen, del pH de que tengan los humedales (Vymazal, 2007).

- Nitrificación: Proceso mediante el cual el amonio (NH_4^+) es transformado a ion nitrato (NO_3^-). Este proceso es de esperarse que este proceso solo aporte una pequeña parte al proceso de eliminación de nitrógeno (en las zonas cercanas a la raíz de la plantas), ya que para que ocurra la nitrificación es necesario potenciales redox entre +50 y +250 mV (Von Sperling, 2007). Sin embargo, es imprescindible, para que ocurra el proceso de desnitrificación ya que genera los intermediarios para dicha reacción. Este proceso requiere el consumo de oxígeno 4,3 mg O₂ por mg de nitrógeno amoniacal oxidado (N-NH₄⁺) (Plaza de los Reyes y *col.*, 2011).
- Desnitrificación: Considerado como el principal proceso de eliminación de nitrógeno ya que el ion nitrato (NO_3^-) pasa por sus intermediarios nitrito (NO_2^-) y óxido nitroso (N₂O) para finalmente eliminarse como nitrógeno gas (N₂) (Plaza de los Reyes y *col.*, 2011). La desnitrificación es una reacción irreversible y solo ocurre en medio anóxico (-50 a + 50 mV) (Von Sperling, 2007), y con presencia de materia orgánica, donde el nitrógeno es utilizado como aceptor de electrones tras la ausencia de oxígeno (Vymazal, 2007). La eliminación total de nitrógeno ocurre entre un 60-95% por desnitrificación (Lee y *col.*, 2009). Sin embargo, la eliminación del nitrógeno de aguas servidas por HSS, genera distintas eficiencias de eliminación al existir distintos valores de cargas de nitrógeno, ya que con cargas de 0,14 a 0,29 g N/m²·d las eficiencias de eliminación varían de un 19 a un 41% (Plaza de los Reyes y *col.*, 2011).
- Asimilación: las dos formas de nitrógeno más comunes que absorben las plantas son el amoníaco y el nitrato (Kadlec y Knight, 1996). La incorporación y almacenamiento por la plantas depende de la concentración de estos nutrientes en sus tejidos y en humedales artificiales ocurre entre 100 a 200 g N/m²·año (Vymazal,

2007), y puede corresponder a un 1-34% de la eliminación de nitrógeno (Lee y *col.*, 2009).

- Adsorción: el amonio puede ser absorbido desde el agua por una reacción de intercambio catiónico con el detrito, sedimentos inorgánicos o suelos. El amonio adsorbido se une ligeramente a la superficie y puede ser liberado fácilmente cuando las características químicas del agua se modifican (Vymazal, 2007).

1.6.4 Fósforo

Los humedales proveen un ambiente para la interconversión de todas las formas de fósforo (orgánico, fosfatos, orto fosfatos). El fósforo soluble es captado por las plantas y utilizado en la formación de tejidos, el fósforo insoluble puede precipitar o ser adsorbido por el medio de soporte, pero también puede re-solubilizarse si se alteran condiciones como el pH en el influente (Kadlec y Knight, 1996). Los procesos de adsorción y precipitación ocurren mediante interacciones iónicas entre el fósforo y el medio de soporte, donde la presencia de calcio (Ca), aluminio (Al) y hierro (Fe) en el éste medio permiten interacciones iónicas con las formas de fósforo, precipitándolo o adhiriéndolo al medio (Vymazal, 2004).

En HSS el proceso que más ocurre para la eliminación y retención de fósforo es la adsorción, participando en 90% de la eliminación luego le siguen los procesos asimilación por plantas y microorganismos, donde las plantas pueden aportar de un 5 a un 10%, y el proceso que menos ocurre es la precipitación (Vymazal, 2007; Vohla y *col.* 2011). El proceso de adsorción es el principal mecanismo de eliminación, pero a su vez los materiales comunes utilizados en la construcción de los humedales (grava) poseen una baja capacidad de adsorción, por lo que en último tiempo se ha estudiado el uso de medios especiales como la zeolita, los cuales pueden aumentar hasta un 30% más las eficiencias de eliminación de fósforo (Andrés, 2010; Vohla y *col.* 2011).

La eliminación de fósforo en HSS presenta eficiencias de 26-60% con diferencias de concentración de 5,1-11,4 mg P/L, y donde la eliminación de fósforo es principalmente mediada por el tamaño del humedal y el material de filtración (Vymazal, 2004).

1.7 Balance de masa en humedales construidos

Los humedales construidos pueden ser considerados como una caja negra donde los balances de masa se realizan entre la entrada y salida de cada celda. En estos sistemas, la entrada es netamente el influente de aguas servidas con todos sus componentes, mientras que los factores de salida dependerán del tipo de balance que se esté realizando, es decir, si es balance hídrico, de materia orgánica, de nutrientes, entre otros (Kadlec y Knight, 1996).

De manera general, el balance de masa en un humedal construido se puede representar en la Figura 5.

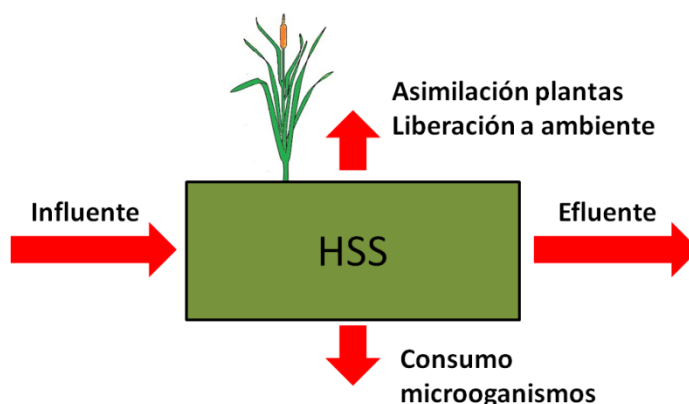


Figura 5: Esquema general de un balance de masa un HSS.

El balance hídrico en humedales construidos se ve expresado en la Ecuación 3 presentada anteriormente, donde se deben considerar todos los factores indicados en la Figura 5, y donde la liberación al ambiente ocurre por el fenómeno llamado Evapotranspiración, el cual se define como la combinación de dos procesos separados por los que el agua se pierde a través de la superficie del suelo, en primer lugar por evaporación y por otra parte mediante transpiración del cultivo. En las primeras etapas del cultivo, el agua se pierde principalmente por evaporación directa del suelo, pero con el desarrollo del cultivo y finalmente cuando este cubre totalmente el suelo, la transpiración se convierte en el proceso principal (Allen y *col.*, 2006; Kadlec y Knight, 1996).

El balance de materia orgánica involucra principalmente el consumo de microorganismos, donde dicho fenómeno es el principal encargado de la disminución de DBO₅ y DQO en los efluentes de salida de las celdas. Los humedales construidos en su

puesta en marcha presentan un bajo desarrollo de su actividad microbiana por lo que la eliminación de materia orgánica es baja (<50%), sin embargo, a medida que se desarrolla la biopelícula en el medio de soporte, el consumo por parte de los microorganismos alcanza eficiencias mayores a un 80% (Vera y col., 2011), ya que la materia orgánica del agua servida es transportada a las zonas inmediatas a los biofilms que recubren las superficies del medio granular del humedal. Lo cierto es que las poblaciones adheridas asimilan de 2 a 5 veces más glucosa y presentan tasas de respiración más elevadas que las células en suspensión (Morató y Delgado, 2004).

El balance de nutrientes involucra el consumo por microorganismos, donde al igual que el balance de materia orgánica, el mayor desarrollo de la biopelícula permite obtener mayores eficiencias de eliminación. Sin embargo, el balance de nutrientes también involucra la asimilación por parte de las plantas, permitiendo estimar el aporte por cada uno de estos mecanismos a la eficiencia de eliminación total de las celdas (Chung y col., 2008). El mayor desarrollo de las plantas permite un mayor aporte en la eliminación de nutrientes, sin embargo la poda o cosecha de las plantas debe realizarse en los inicios de otoño, para así evitar la devolución de nutrientes a la fracción líquida de las celdas, ya que Das y Tanaka (2007) estiman que la zona foliar llegan a contener alrededor de 30 g N/m² en el período de verano, mientras que en período de invierno esta concentración baja de los 15 g N/m². A su vez el balance de fósforo permite estimar la porción que queda almacenada dentro de la celda, ya que fenómenos como las precipitaciones y los cambios repentinos de pH en las celdas pueden provocar la liberación de este nutriente al efluente (Kadlec y Knight, 1996; Sawaitayothin y Polprasert, 2007).

Presentando la problemática de la necesidad de tratamiento de las aguas servidas para los sectores rurales de nuestro país, utilizando sistemas no convencionales que permitan la eliminación de materia orgánica y nutrientes de estas aguas se propone la siguiente hipótesis de trabajo:

La actividad microbiológica en el soporte granular del humedal construido de flujo subsuperficial, influye en la eliminación de la materia orgánica y nitrógeno del efluente tratado de aguas servidas.

Para poder validar esta hipótesis se plantea el siguiente objetivo general: Evaluar la evolución de la actividad microbiológica en el soporte granular del humedal construido de

flujo subsuperficial, y si ésta influye en la eliminación de la materia orgánica y nitrógeno del efluente tratado de aguas servidas. Y los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la evolución de la actividad microbiológica del soporte granular del humedal construido de flujo subsuperficial.
- Evaluar la evolución de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratada por un humedal construido de flujo subsuperficial
- Estudiar la influencia de actividad microbiológica en la eficiencia de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratadas por un humedal construido de flujo subsuperficial.

2 METODOLOGIA

2.1 Evaluar la evolución de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratadas por un humedal construido de flujo subsuperficial.

2.1.1 Características de la planta piloto de humedales construidos.

- Ubicación

Para la realización de este proyecto se implementó de una estación experimental, constituida por 4 unidades paralelas de HSS. Está ubicada dentro del terreno de la PTAS de la comuna de Hualqui, provincia de Concepción, Región del Biobío (Chile), perteneciente a la Empresa de Servicios Sanitarios del Biobío, ESSBIO S.A. ($36^{\circ}59'26.93''$ de la latitud sur, y $72^{\circ}56'47.23''$ de longitud Oeste). La Figura 6 presenta la localización general de la estación experimental en el perímetro de la PTAS de la comuna de Hualqui.

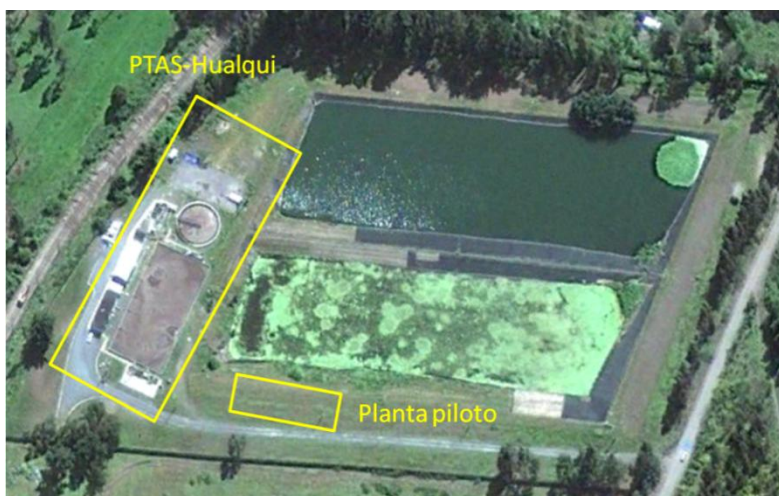


Figura 6: Ubicación de la estación experimental en la PTAS de la comuna de Hualqui ($36^{\circ}59'26.93''$ latitud sur y $72^{\circ}56'47.23''$ de Longitud oeste).

- Obtención del influente y esquema planta piloto

Para la alimentación de la estación experimental se utilizó el agua servida que llega a la PTAS. La Figura 7 muestra el punto de extracción y el flujo de agua en la estación experimental. El agua fue extraída por una bomba para aguas negras modelo Vxm8/35-I (marca Pedrollo), después del pre-tratamiento (cámara de rejillas con separación de 20 mm y desarenador), y antes de ingresar al tratamiento biológico (Rojas 2012). El agua servida fue

llevada a un estanque de almacenamiento de 650 L. Éste a su vez alimentó por presión cada una de las 4 celdas de HSS.

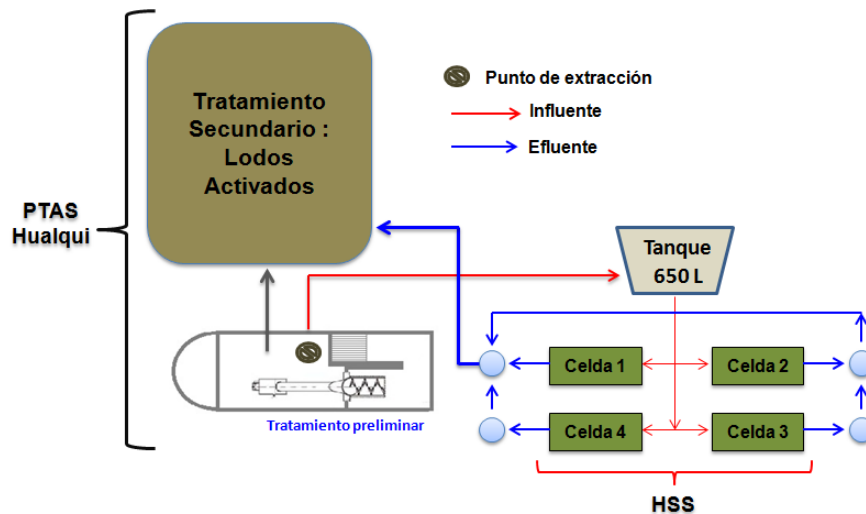


Figura 7: Punto de extracción, recorrido del influente y del efluente. Adaptado de (Rojas, 2012).

- Características de las celdas de HSS

El humedal consta de 4 celdas paralelas de HSS, con un área superficial de $4,5 \text{ m}^2$ cada una, y un volumen útil aproximado de $1,52 \text{ m}^3$. Se utilizó como medio de soporte, gravilla de tamaño 3/4" a 1". El tiempo de retención hidráulico (TRH) varió entre 3 y 9 d, siendo en función de la cantidad de agua servida aplicada. Cada unidad de HSS fue plantada con un total de 18 ejemplares. Las unidades 1 y 3 fueron plantadas con la especie de macrófita *Phragmites australis*, mientras que, las unidades 2 y 4, fueron plantadas con la especie *Schoenoplectus californicus* (Rojas, 2012). La Figura 8 presenta el desarrollo de la vegetación en las 4 unidades de HSS en la estación de otoño.

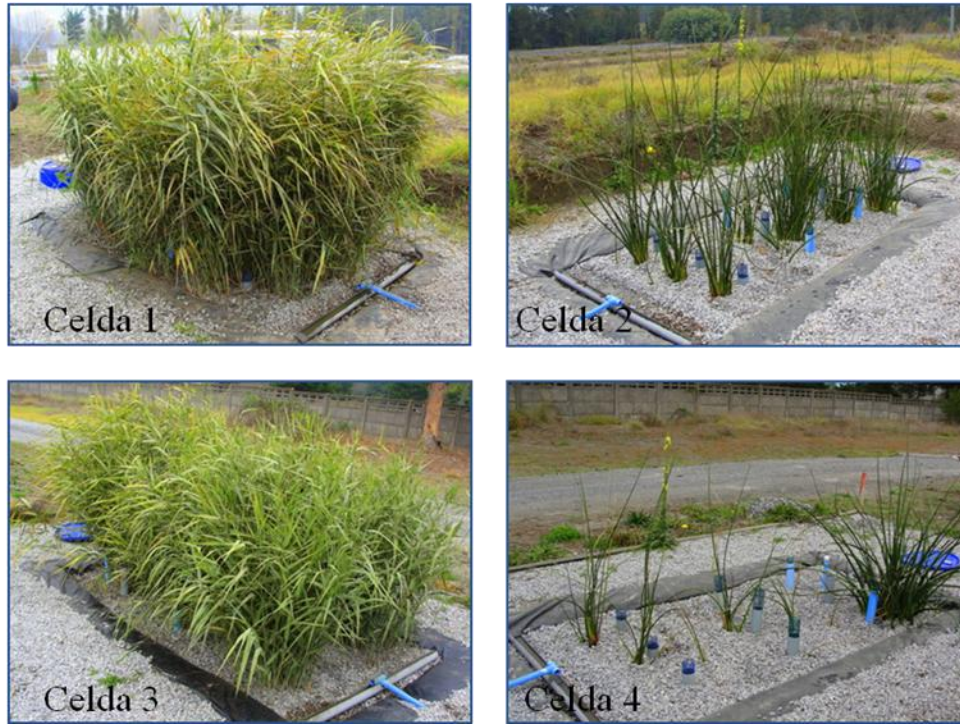


Figura 8: Celdas en la planta piloto de HSS. Celda 1 y 3 *Phragmites australis*; Celda 2 y 4 *Schoenoplectus californicus*.

- **Parámetros hidráulicos de operación**

La alimentación de los humedales fue de aproximadamente 180 minutos diarios, 2 veces a la semana. En cada uno de estos días se tomaron los datos: a) tiempo de operación, b) aforos volumétricos de caudal, c) altura de la columna de agua en cada unidad, d) altura y tiempo de llenado del estanque distribuidor. Con estos datos, se calcularon los parámetros hidráulicos de operación presentados en la Tabla 6, para cada una de las unidades de HSS (Vera, 2012).

Tabla 6: Parámetros hidráulicos de operación

Parámetros de operación	Unidad
Caudal	l/s
Carga hidráulica	mm/d
Tiempo de retención hidráulico	d

2.1.2 Parámetros in-situ

Los parámetros *in-situ* fueron medidos quincenalmente en cada una de las celdas, mediante multiparamétrico portátil OAKTON (PC650–480485) y medidor oxígeno disuelto portátil (Hanna oxi 330i/set HI 9146-04). Para los efectos de este trabajo los parámetros solo se midieron en los muestreadores del centro de cada línea (A2, B2 y C2) como se observa en la Figura 9a.

Los parámetros a medir fueron:

- Temperatura (°C)
- Potencial de oxido reducción, Redox (mV)
- Oxígeno disuelto (ppm), solo se midió en el punto B2.
- pH.

Dichas medidas se realizaron para las temporadas de verano, otoño e invierno de 2012

2.1.3 Parámetros de laboratorio

Se tomaron muestras a la salida de cada una de las cuatro celdas y de la entrada cada 15 días, las muestras fueron filtradas por membranas Wathman de 0,45 μm de tamaño de poro y luego almacenadas en un refrigerador a 6°C, para su posterior análisis. Los parámetros físico-químicos, fueron analizados quincenal y/o mensual. Los parámetros físico-químicos monitoreados de forma quincenal fueron la Demanda Química de Oxígeno (DQO), Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5), Sólidos Suspendedos totales (SST), Sólidos Suspendedos Volátiles (SSV), Amonio (NH_4^+); y los de frecuencia mensual fueron Fosfato (PO_4^{-3}), Nitrato (NO_3^-) Nitrógeno Total (NT) y Fósforo Total (PT).

La DBO_5 fue medida por la metodología Winkler luego de 5 días de incubación a 20°C. La DQO se determinó espectroscópicamente (660 nm) mediante el equipo (Spectronic unicam-Genesis 10 UV), después de 2 horas de digestión a temperatura de 150°C. El PO_4^{-3} fue determinado mediante el método del fósforo total modificado para determinar fosfato y medido espectroscópicamente (890 nm), de acuerdo a Standard métodos (APHA, 1998). El NH_4^+ , NO_3^- , NT y PT fueron medidos por Kits Merck Spectroquant–Nova 60. Los SST fueron medidos al filtrar con el filtro de membrana Whatman de 0,45 μm de tamaño de poro y luego dicho filtro es llevado a una cápsula de

porcelana y secado a 103–105 °C, posteriormente los SSV corresponderán al residuo que se ha volatilizado luego que dicho filtro fue expuesto a 550 °C por 1 hora.

Los resultados se dividen en 6 etapas, correspondientes a las estaciones del año 2011 y 2012, correspondiendo a 420 días de operación.

Los datos para el año 2011 fueron obtenidos de la tesis de la Ingeniera Ambiental Srta. Karen Rojas (Rojas, 2012), la cual operó la planta piloto en la etapa de puesta en marcha durante los primeros 190 días.

2.1.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico contempló la evaluación de los efluentes de cada una de las celdas. Primero se realiza la prueba de normalidad, agrupando los datos según parámetro para determinar las pruebas estadísticas de comparación.

Para comparar si existieron diferencias entre los duplicados de las celdas: a) si los datos presentaron una distribución normal, se realizó Test t-pareado; b) si los datos no presentaron una distribución normal, se realizó Test de Wilcoxon.

Para comparar si existió diferencia a lo largo de las estaciones: a) si los datos presentaron una distribución normal, se realizó Test ANOVA; b) si los datos no presentaron una distribución normal, se realizó Test de Kruskal Wallis.

Para todas las pruebas estadísticas se utilizó un nivel de significancia de 0,05. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa INFOSTAT (Di Rienzo y col., 2011).

2.2 Evaluar la evolución de la actividad microbiológica del soporte granular del humedal artificial de flujo subsuperficial.

2.2.1 Actividad metanogénica

La Figura 9 presenta los puntos de muestreo para análisis microbiológico. Se muestreó el material granular de las celdas en 3 puntos de monitoreo por celda (líneas A1, B1 y C1, Figura 9a) instalados dentro del medio de soporte granular, con la finalidad de hacer un seguimiento a la evolución de la actividad microbiana metanogénica del sistema.

Para la obtención de la muestra de la actividad metanogénica, se utilizó el medio de soporte retenido en los puntos de muestreo (Figura 9a), luego este medio fue sonicado por 3 minutos (Morató y *col.*, 2005) en una relación de 100 g de medio de soporte y 100 mL de agua destilada (Caselles-Osorio y *col.*, 2007).

La biomasa obtenida fue lavada 3 veces con buffer fosfato (KH_2PO_4 0,143 g/L / K_2HPO_4 0,979 g/L), con la finalidad de eliminar iones del medio que pudiesen interferir con los resultados de la actividad de la biomasa.

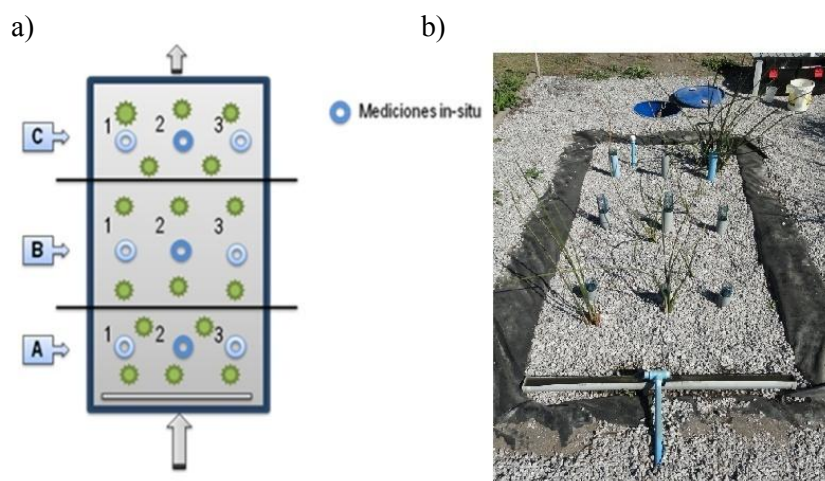


Figura 9: Puntos de muestreo de parámetros in situ y actividad metanogénica. a) Diseño de celda para monitoreo, b) fotografía celda recién plantada.

Para los ensayos de actividad metanogénica, cada reactor (botella de 100 mL) fue conectado a un frasco Mariotte de 250 mL de volumen, relleno de una solución alcalina (20 g NaOH/L) que retiene el CO_2 formado durante el proceso por formación de carbonato, generando una medida directa y continua del CH_4 producido (Figura 10). Las concentraciones de SSV de los inóculos evaluados fueron transferidos a las botellas, con la posterior adición de 1 mL de una mezcla de AGV (2,0 g/L ac. acético, 0,5 g/L ac. propiónico, y 0,5 g/L ac. butírico) ajustados a pH 7; además se les añadió 1 mL de una solución de nutrientes y 1 mL de Na_2S . Cada botella fue sellada y burbujeada con gas N_2 durante 30 segundos para mantener las condiciones anaeróbicas (Soto y *col.*, 1993).

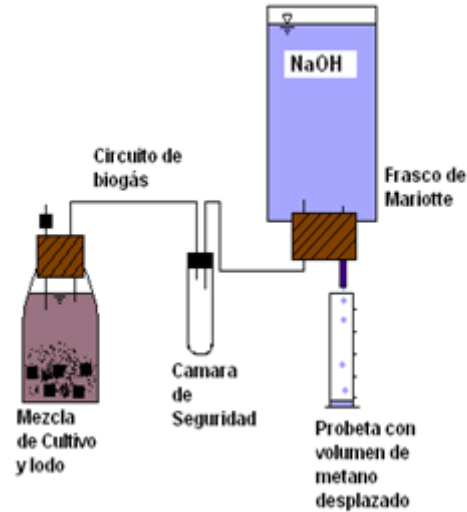


Figura 10: Sistema para realizar el ensayo de actividad metanogénica. Extraído de (Hsieh, 2009).

2.3 Estudiar la influencia de actividad microbiológica y plantas en la eficiencia de eliminación de materia orgánica y nitrógeno de las aguas servidas tratadas por un humedal construido de flujo subsuperficial.

Los balances de masa se realizaron para todo el período de monitoreo de las celdas, es decir, desde su puesta en marcha en Invierno de 2011 hasta la última recopilación de datos en Invierno de 2012, dando un total de 5 estaciones de monitoreo con un total de 420 días de operación.

2.3.1 Balance hídrico

Para el balance hídrico se utilizó la Ecuación 3 (Kadlec y Knight, 1996), la cual fue simplificada a los parámetros que afectaban directamente las celdas de la planta piloto de HSS. La ecuación final utilizada se aprecia en la Ecuación 18, donde los factores que afectan este balance son cuatro.

$$Q_i + (P \times A) - (ET \times A) = Q_o \quad \text{Ecuación 18}$$

Donde:

Q_i = flujo de entrada de agua [m^3/d]

Q_o = flujo de salida de agua [m^3/d]

P = tasa de precipitación [m/d]

A = área superficial del humedal [m^2]

ET = tasa de evapotranspiración [m/d]

El flujo de entrada de agua (Q_i) para los períodos de invierno y primavera de 2011 fueron obtenidos de (Rojas, 2012), y para el período de 2012 se midió de acuerdo al volumen almacenado en el tanque y a la cantidad de tanques utilizados.

La tasa de precipitación (P) para la zona de Hualqui se obtuvo de la base de datos de Accu Weather para los períodos de Julio de 2011 hasta Agosto de 2012, dividiendo el total de precipitación en cada temporada por el número de días, correspondiente a 84 días para cada temporada de operación.

Para la tasa de evapotranspiración (ET) se utilizaron valores de evapotranspiración de referencia (ET_o) debido a la falta de datos meteorológicos con los que poder utilizar las ecuaciones de cálculo de ésta. Estas ET_o fueron obtenidas para un región templada, y considerado la zona como húmedas y subhúmedas (Allen y *col.*, 2006), presentando valores de ET_o entre los 0,001 a 0,004 m/día de acuerdo a las diversas temperaturas promedio por estación, considerándose un valor de 0,004 m/día para la estación de verano, de 0,003 m/día para primavera, de 0,002 m/día para otoño y de 0,001 m/día para invierno.

2.3.2 Balances de masa

Los balances de masa se hicieron tanto para materia orgánica y sólidos, como para nutrientes. De manera general estos balances pueden ser explicados mediante la Ecuación 19, donde se observa la acción tanto de microorganismo, el medio de soporte, y las plantas en la eliminación de contaminantes.

$$C_i \times Q_i \times D_o - C_{mo+a} - C_p = C_o \times Q_o \times D_o$$

Ecuación 19

Donde:

C_i = concentración influente (g/L)

Q_i = flujo de entrada de agua (L/día)

D_o = días de operación (d)

C_{mo+a} = consumo por microorganismos y/o almacenaje (g)

C_p = consumo por plantas (g)

C_o = concentración de salida (g/L)

Q_o = flujo de salida de agua (L/día)

El tiempo de operación calculado fue de 84 días para cada temporada correspondiente a los periodos de monitoreo de 2011 – 2012, y los valores utilizados en la Ecuación 5 fueron obtenidos de la caracterización fisicoquímica del influente, las concentraciones de salida de los efluentes de los HSS y el balance hídrico respectivamente.

Para el balance de materia orgánica y sólidos, la Ecuación 5 fue simplificada eliminando el coeficiente C_p , correspondiente a la consumo por parte de las plantas, ya que estas no participan de forma directa en la eliminación de este tipo de constituyentes de aguas servidas.

Para el balance de nutrientes se utilizó la Ecuación 5 completa, donde el coeficiente C_p fue obtenido a partir de un análisis foliar y radicular de las plantas en cada una de las zonas de las cuatro celdas, las cuales fueron enviadas al Laboratorio de suelos INIA Quilamapu en la ciudad de Chillan. Paralelamente se realizó un análisis de biomasa de las plantas en cada una de las zonas de las celdas para estimar la cantidad (g) que contenía cada planta en cuanto a nitrógeno.

3 RESULTADOS

3.1 Caracterización fisicoquímica del influente

La Tabla 7 muestra la caracterización fisicoquímica del influente para las estaciones de invierno y primavera de 2011, y verano, otoño e invierno de 2012.

Se pueden observar la variabilidad (desviación estándar de hasta un 90% con respecto a la media) del agua servida en cada estación, especialmente para la materia orgánica (DQO y DBO₅), SST y NT. A su vez, existen variaciones de la concentración de materia orgánica (DQO y DBO₅) entre las distintas estaciones del año, donde para el período de verano de 2012 se pueden observar las menores concentraciones, con aumentos de hasta un 100% a medida que se aproxima el período de invierno. A su vez se puede apreciar que entre un 50-70% de la materia orgánica corresponde a materia orgánica biodegradable.

Los sólidos, se puede observar que aumentaron gradualmente desde invierno de 2011 hasta otoño de 2012 donde existió un aumento de hasta un 400% de las concentraciones. En cuanto a los SSV se observa que representan entre un 50-70% de los SST, sin embargo esta proporción no se aplica para el período de verano de 2012.

Para los nutrientes se observa que en cuanto al fósforo no existen variaciones de concentración entre las diversas estaciones, sin embargo, para el nitrógeno se observa un aumento del 200% entre el período de Invierno de 2011 y los períodos de primavera de 2011 y verano de 2012, observándose un aumento de 20mg/L para el período de otoño de 2012, donde se presentan las mayores concentraciones de nitrógeno en el influente.

Tabla 7: Caracterización fisicoquímica del influente

Parámetro	Concentración (mg/L)				
	Invierno '11	Primavera '11	Verano '12	Otoño '12	Invierno '12
DBO ₅	184,0 ± 38,6	240,0 ± 34,0	138,0 ± 127,3	167,7 ± 58,6	200,3 ± 61,4
DQO	287,6 ± 43,8	318,1 ± 79,1	210,7 ± 66,8	260,6 ± 38,8	419,7 ± 72,6
SST	216,6 ± 87,7	280,0 ± 111,6	342,50 ± 194,5	823,2 ± 733,95	530,6 ± 269,9

SSV	123,8 ± 85,9	206,0 ± 103,2	62,5 ± 38,9	568,2 ± 237,4	416,7 ± 244,5
NT	54,6 ± 17,3	92,50 ± 10,61	98,5 ± 12,0	120,3 ± 33	109,5 ± 65,8
N-NH ₄ ⁺	39,5 ± 13,2	99,3 ± 44,8	77,0 ± 12,8	102,8 ± 29,3	91,8 ± 38,1
N-NO ₃ ⁻	ND	ND	ND	ND	ND
PT	14,1 ± 3,2	17,2 ± 5,9	13,7 ± 1,8	15,2 ± 1,4	14,2 ± 2,6
P-PO ₄ ⁻³	8,2 ± 2,5	5,8 ± 0,8	8,5 ± 3,3	13,4 ± 0,2	10,1 ± 0,4

ND: No detectable

3.2 Comportamiento de la operación de los humedales

A continuación se entregan los resultados relacionados al comportamiento de los humedales en el tratamiento de las aguas servidas. Se presentan las concentraciones de salida y sus respectivas eficiencias de eliminación, en cuanto a materia orgánica, sólidos, nutrientes y parámetros in situ (T°, pH, POR, OD) monitoreados en el tiempo.

3.2.1 Parámetros in-situ

Las variaciones de temperatura a lo largo de las celdas en las diferentes estaciones se pueden apreciar en la Figura 11, donde se observa que para los períodos de invierno la temperatura de las celdas se mantienen con una temperatura media de 10°C con desviaciones estándar no superiores a 3,2 y 1,5°C para los períodos de 2011 y 2012, respectivamente.

Para el período de otoño, la temperatura media de las celdas aumenta a 15°C y para el período de primavera esta aumentó a 20°C, pero en ambos períodos se pueden observar variaciones de hasta 5°C, debido a que durante dichos períodos las temperaturas ambientales oscilan constantemente. Para el período de verano se puede observar una temperatura constante cercana a los 25°C en las cuatro celdas

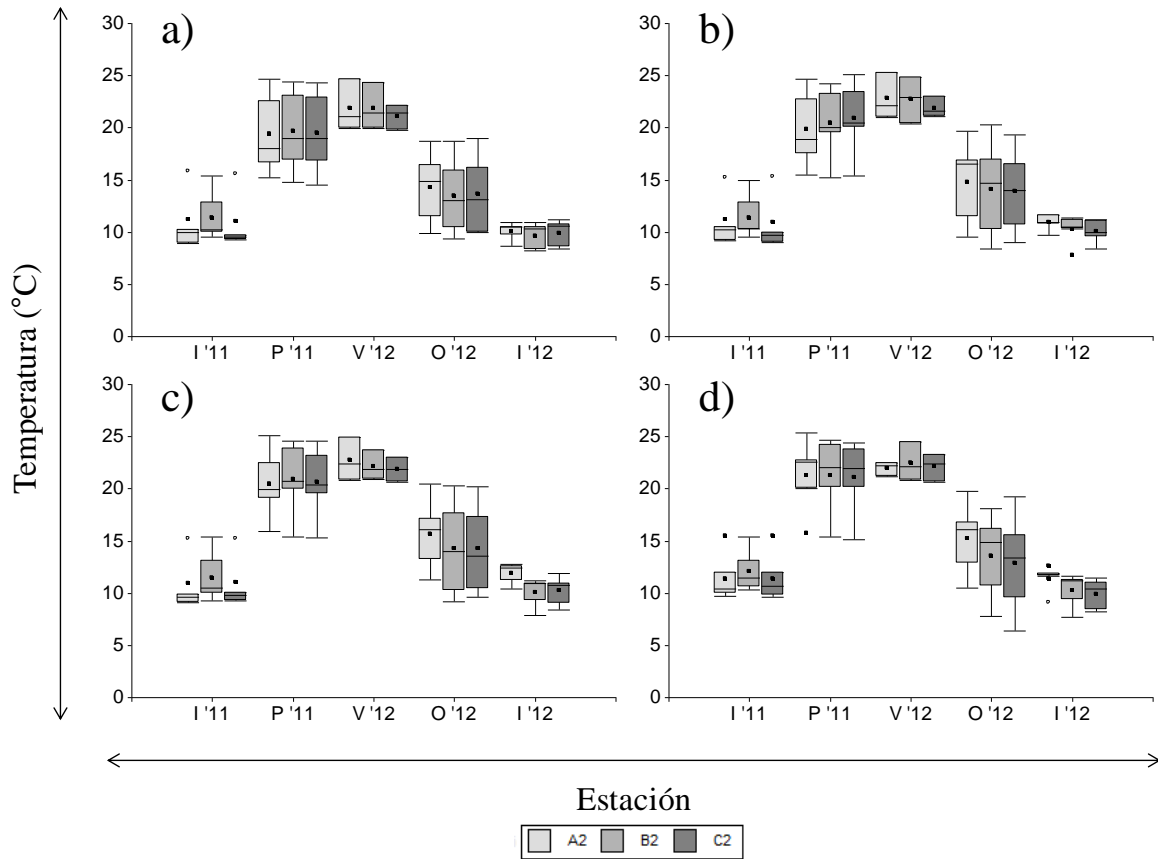


Figura 11: Cambios de temperatura a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

La Figura 12 muestra las variaciones de pH en las celdas de HSS a lo largo de las estaciones. Se observa que no ha existido un cambio en los valores del pH entre las zonas de cada una de las celdas a lo largo del período de monitoreo, presentando para cada una de ellas valores similares entre 6,5-7,5 para los puntos A2, B2 y C2, siendo considerado un valor neutro.

Sin embargo, se puede observar para el período de invierno de 2012 el pH de los puntos de entrada, es decir el punto A2, en cada una de las celdas se hace básico (cerca de 8). Esto puede estar influenciado por las características del influente, aunque se observa que en las zonas media y final de las celdas, puntos B2 y C2, este valor disminuye al rango de pH neutro entre 6,5-7,5, lo que puede otorgarle una capacidad buffer a este tipo de humedales construidos.

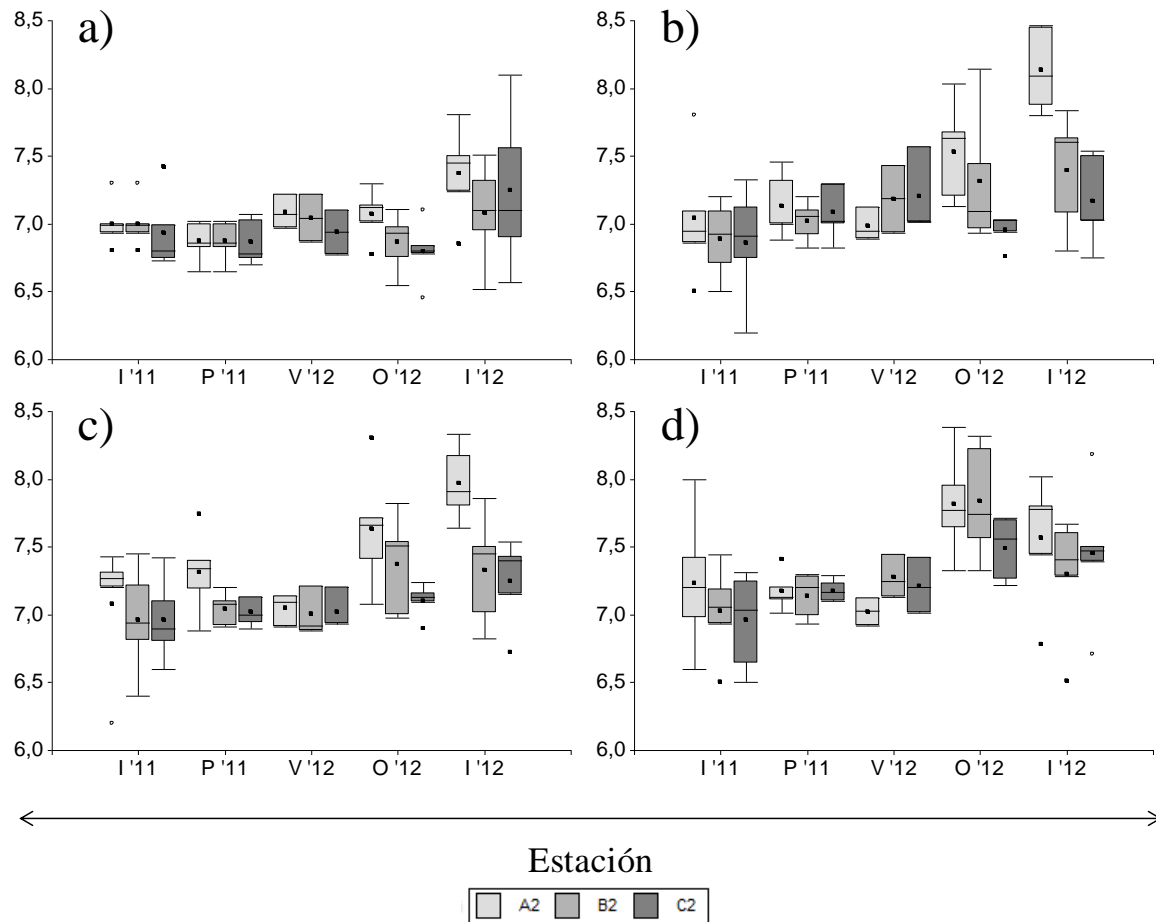


Figura 12: Cambios en el pH a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

Las variaciones de POR a lo largo del tiempo de operación se muestran en la Figura 13. Se observa que los valores medidos de POR a lo largo de todo el monitoreo se sitúan bajo los -100 mV, donde las medias para las celdas de *Phragmites spp.* y de *Schoenoplectus spp.* son de -250 a -200 mV durante todo el período de operación. Sin embargo se pueden observar que existen mayores rangos de POR para invierno de 2012, donde los valores fluctúan entre los -100 a -300 mV. Estos valores corroboran el estado anaerobio de este tipo de humedales construidos, presentando características fuertemente reductoras al interior de las celdas.

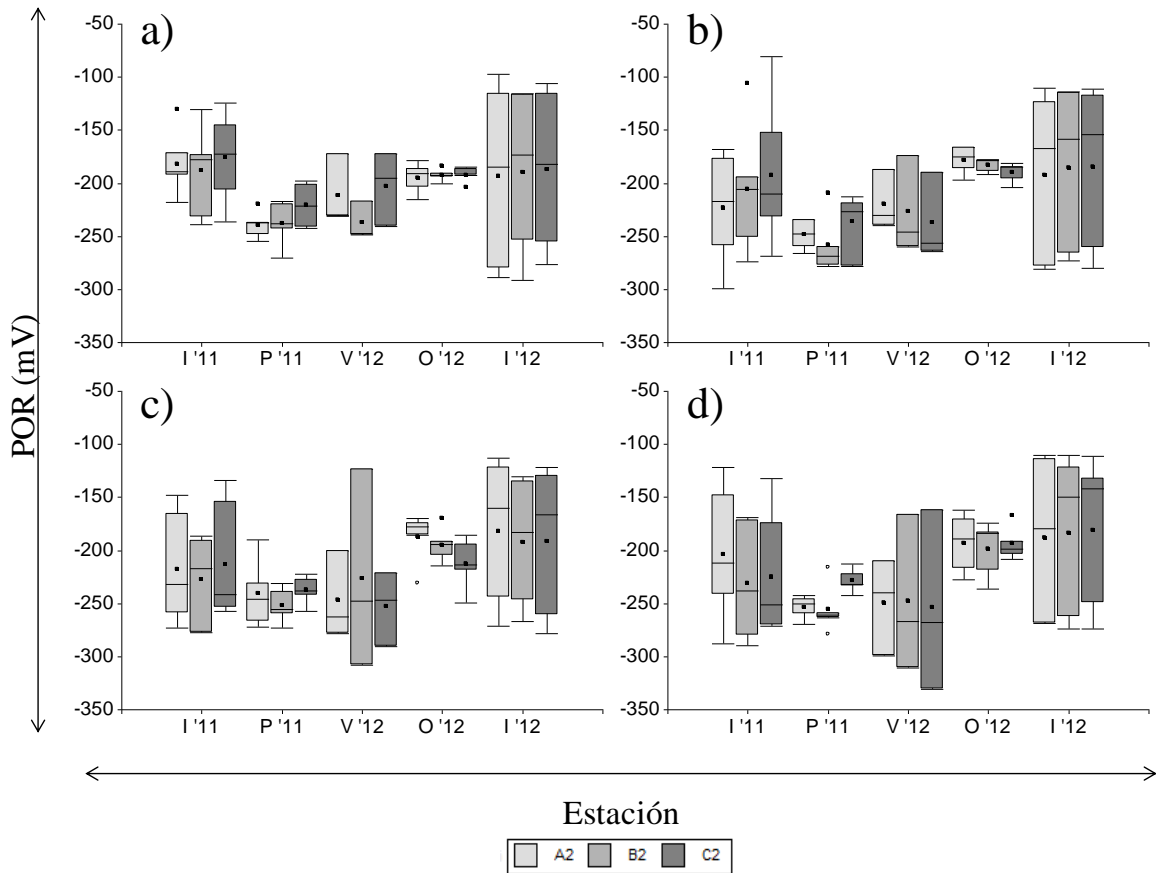


Figura 13: Cambios de los POR a lo largo de las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

La Figura 14 indica que no existe una variación en las concentraciones de OD en cada una de las celdas en las distintas estaciones del año. Los valores medios de OD son de 0,5 mg/L y los valores máximos medidos no superan concentraciones sobre 1 mg/L.

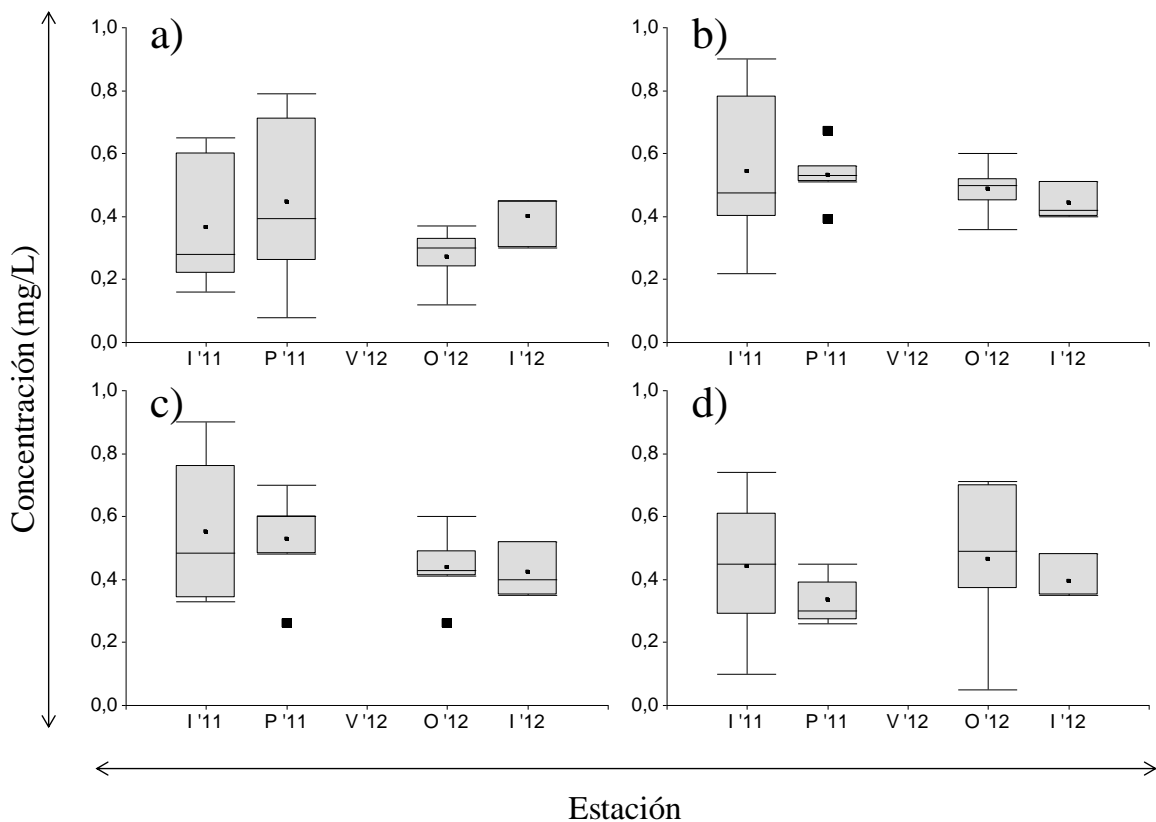


Figura 14: Concentraciones de OD en las celdas. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

3.2.2 Eliminación de materia orgánica y sólidos

La Figura 15 muestra las eficiencias de eliminación de DBO_5 de cada una de las celdas a lo largo de las estaciones. Se puede observar un aumento de las eficiencias de eliminación de DBO_5 a lo largo de las estaciones en el primer año de operación de la planta piloto. Como se puede apreciar, las eficiencias de eliminación son relativamente similares para las cuatro celdas y no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para los duplicados de las celdas de *Phragmites spp.* y para los duplicados *Schoenoplectus spp.* a lo largo del período de monitoreo. En un inicio las cuatro celdas presentaron eficiencias de eliminación sobre el 55%, las que fueron aumentando hasta alcanzar eficiencias sobre el 70% en invierno de 2012. Sin embargo, aunque no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) para las concentraciones de efluentes a lo largo de las estaciones de operación en ambos tipos de celdas, se pueden apreciar ciertas diferencias entre las celdas de *Phragmites spp.* y

Schoenoplectus spp., donde para el período de verano de 2012 se observa que las eficiencias de eliminación promedio de las celdas de *Phragmites spp.* fue cercana a un 65% mientras que el promedio de las celdas de *Schoenoplectus spp.* no superó el 60%.

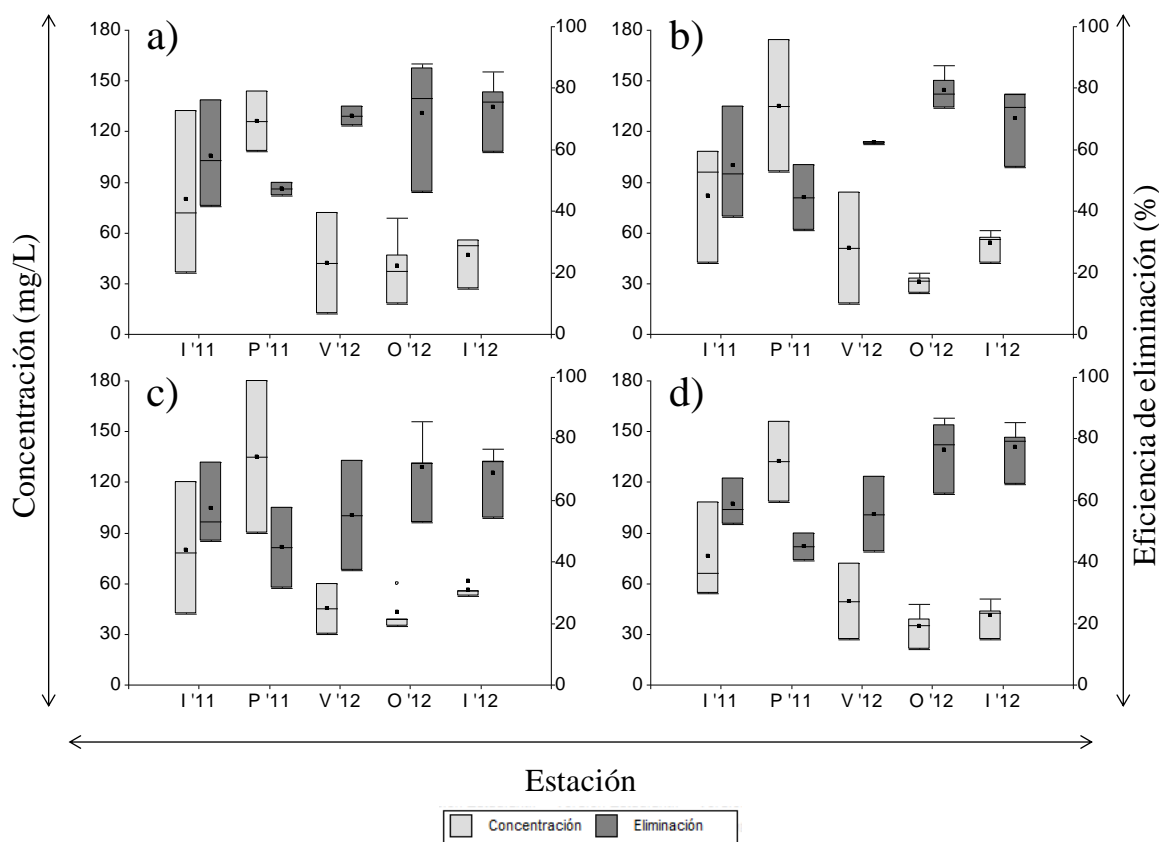


Figura 15: Concentración influente y eficiencias de eliminación de DBO₅. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

La Figura 16 muestra las eficiencias de eliminación de materia orgánica, medida como DQO, en las cuatro celdas. Se puede observar un aumento de las eficiencias de eliminación de DQO a lo largo de las estaciones en el primer año de operación de la planta piloto, y las concentraciones efluentes para los duplicados de las celdas de *Phragmites spp.* y para los duplicados *Schoenoplectus spp.* no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sí. Las eficiencias de eliminación aumentan paulatinamente alrededor de un 10%, en cada una de las celdas a lo largo de las estaciones. Finalmente alcanzan una fase estacionaria con un valor promedio similar de alrededor de un 60%, para invierno de 2012.

En un inicio el promedio de eliminación de las 4 celdas fueron cercanas al 30%, pero posteriormente en verano de 2012 las eficiencias aumentan hasta valores cercanos a un 60%, y para invierno de 2012 las cuatro celdas alcanzaron eficiencias de eliminación sobre el 65%. Sin embargo, se pudo observar que existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones de los efluentes de cada una de las celdas a lo largo de las distintas estaciones de monitoreo, donde se observó una concentración de salida de 80 y 75 mg/L para las celdas de *Phragmites spp.* y *Schoenoplectus spp.* respectivamente en el período de verano de 2012, hasta alcanzar valores promedio de 140 y 135 mg/L respectivamente en el período de invierno de 2012 (Tabla 8).

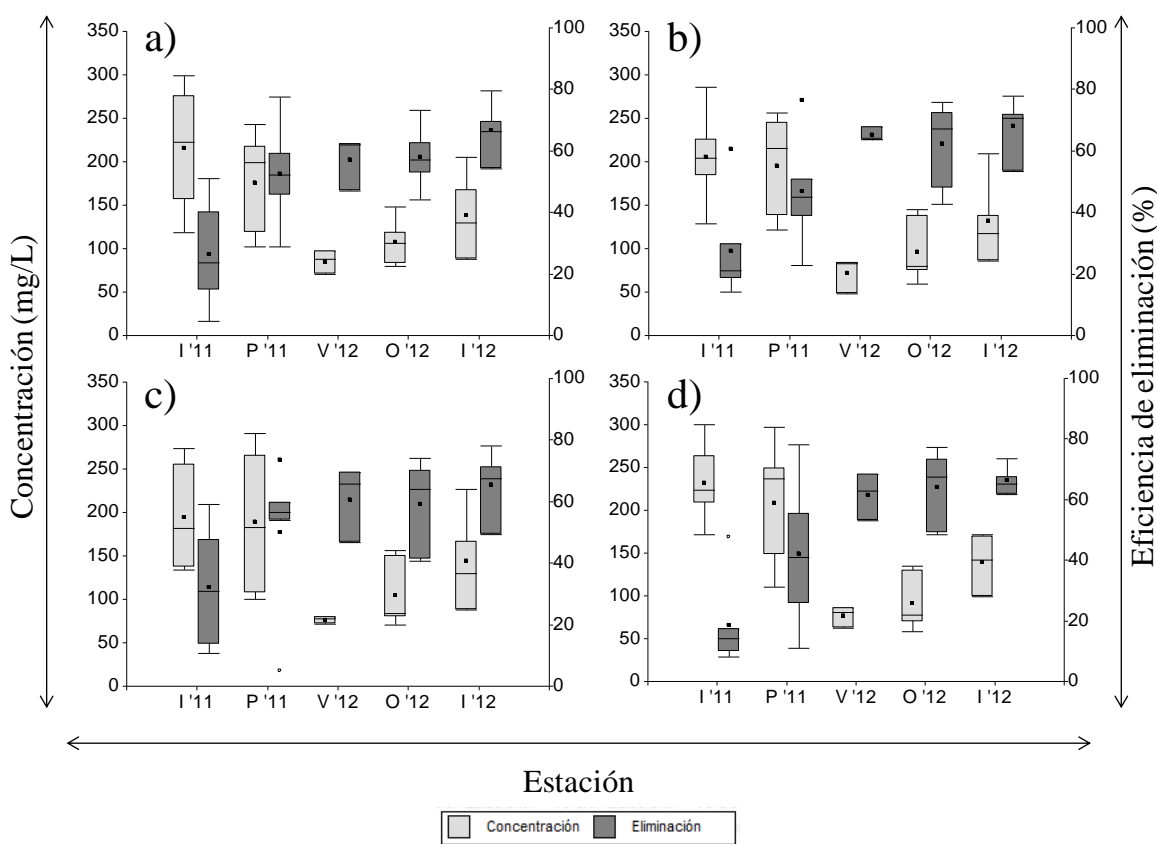


Figura 16: Concentración influente y eficiencias de eliminación de DQO. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

En la Figura 17 se observa un aumento en la eliminación de SST a lo largo del año de funcionamiento de las cuatro celdas, donde en el inicio de operación las 4 celdas

presentan eficiencias cercanas a un 80%, y posteriormente para los períodos de verano de 2012 en adelante se observar un aumento de estas eficiencias hasta invierno de 2012, donde cada una de las celdas presenta eficiencias de eliminación por sobre el 96%, permitiendo descargar efluentes con concentraciones menores a 10 mg/L para el período de Invierno de 2012 (Tabla 8). A su vez, se observa que estos valores de concentraciones de efluente presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) a lo largo de las estaciones de operación.

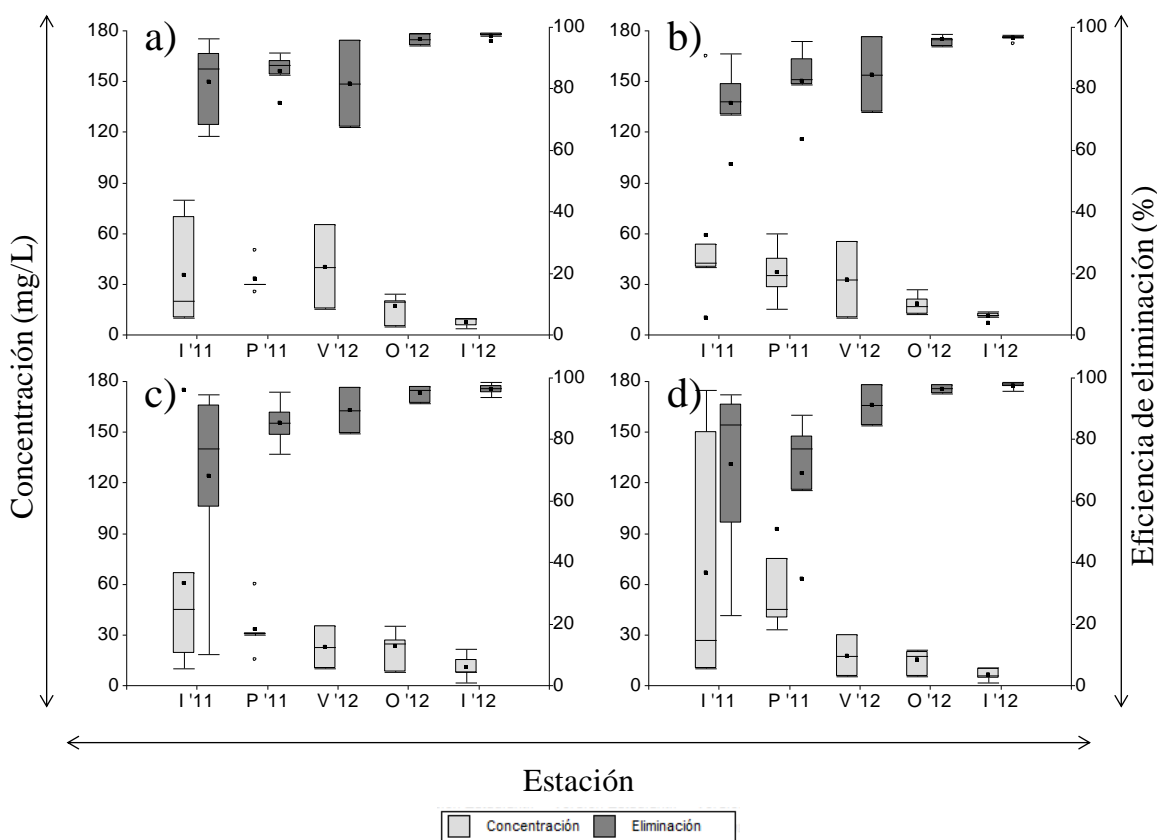


Figura 17: Concentración influente y eficiencias de eliminación de SST. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

En Figura 18 se puede apreciar una mayor eficiencia de eliminación de SSV, en la puesta en marcha, para la celda 1, alcanzando eficiencias cercanas al 90%, mientras que las demás alcanzan valores $< 80\%$. Estas eficiencias posteriormente, para la temporada de primavera de 2011 en adelante presentan valores similares (cercanos a un 85%) entre las cuatro celdas y se puede observar un aumento para el período de otoño de 2012 en adelante,

donde cada una de las celdas presenta eficiencias por sobre el 96%. A su vez, no se aprecian diferencias significativas ($p < 0,05$) para las concentraciones de efluente de SSV a lo largo de las estaciones para las réplicas de *Phragmites spp.* y *Schoenoplectus spp.*

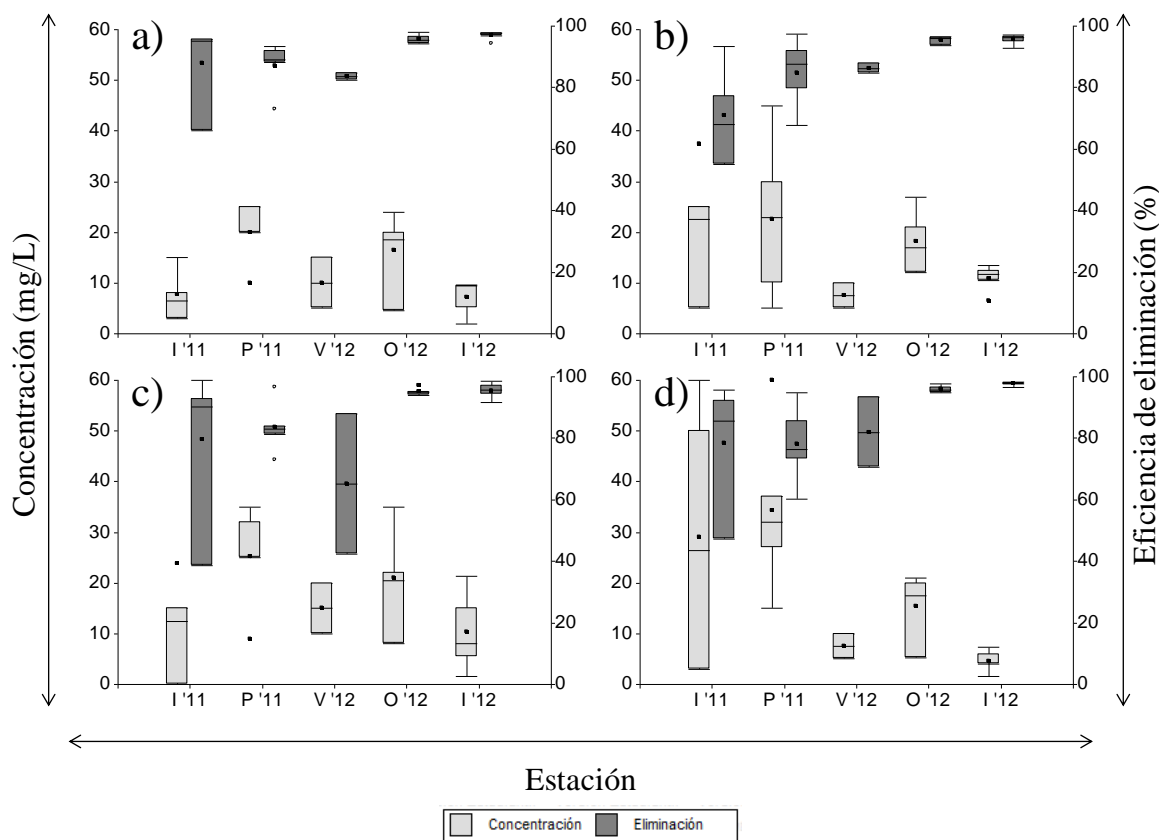


Figura 18: Concentración influente y eficiencias de eliminación de SSV. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

3.2.3 Eliminación de nutrientes

En la Figura 19 se observa que las eficiencias de eliminación de nitrógeno total (NT) presentan cambios a lo largo de las estaciones en cada una de las celdas, y a su vez, no se apreciaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para las concentraciones de efluente de NT entre los duplicados de *Phragmites spp.* y entre los de *Schoenoplectus spp.* a lo largo del período de operación.

En la puesta en marcha de la planta piloto, se puede observar que cada una de las celdas presenta eficiencias de eliminación sobre el 40%, mientras que para el período de

primavera de 2011, estas eficiencias se ubican bajo un 30%. Para el período de verano de 2012 se observa que las celdas de *Phragmites spp.* presentan eficiencias sobre un 45% mientras que las celdas con *Schoenoplectus spp.* no superan el 30%. Luego para el período de otoño de 2012 las eficiencias de las celdas de *Phragmites spp.* disminuyen a un 35 y 20% respectivamente, mientras que las celdas de *Schoenoplectus spp.* presentan valores < 20 y 10% de eliminación. Finalmente para el período de invierno de 2012 se observa que las eficiencias de las celdas 1, 2 y 3 no superan el 30% mientras que la celda 4 presenta eficiencias cercanas a un 60%.

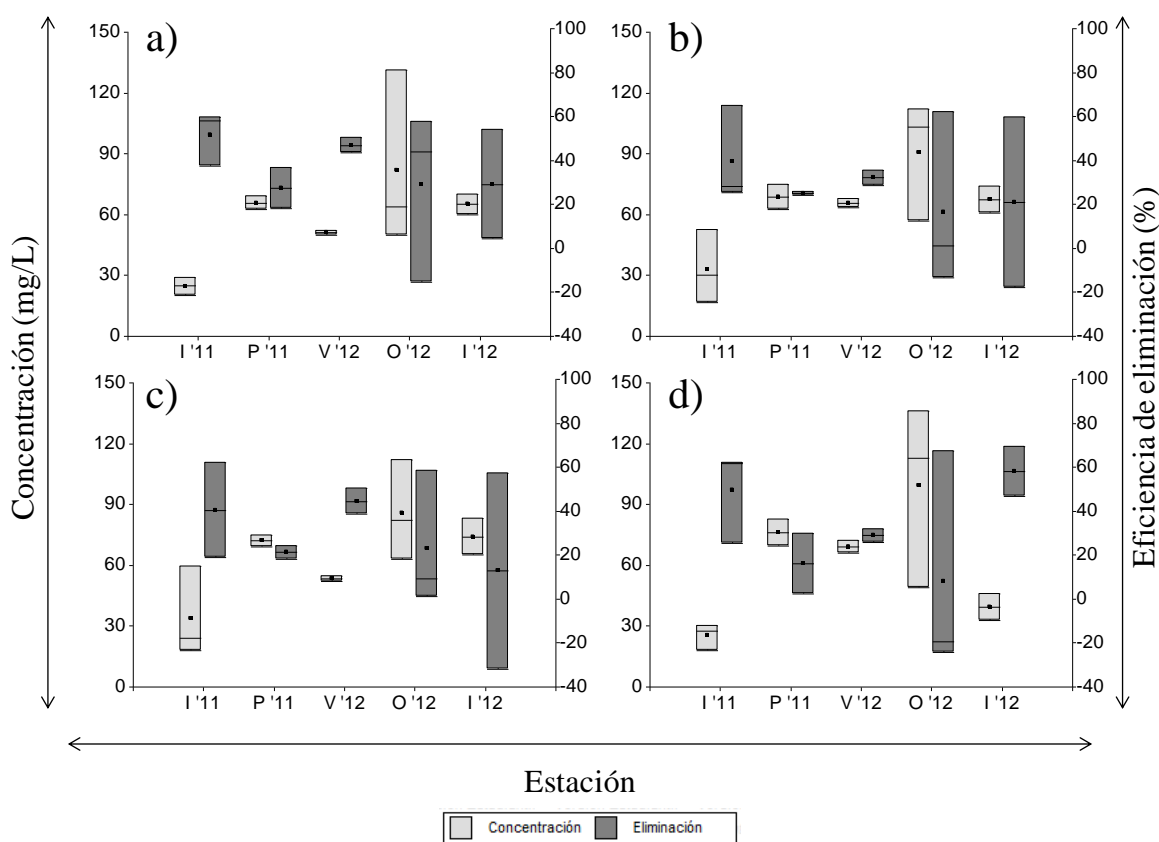


Figura 19: Concentración influente y eficiencias de eliminación de NT. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

La Figura 20 muestra las eficiencias de eliminación de amonio (NH_4^+) presenta cambios a lo largo de las estaciones. En la puesta en marcha de la planta piloto, se puede observar que las celdas 1, 2 y 3 presentan eficiencias sobre un 35%, mientras que la celda 4

solo alcanza un 25%. Sin embargo, estas eficiencias se asemejan para el período de verano de 2012, alcanzando valores de alrededor a un 35% de eliminación. Para el período de otoño 2012 se observa que solo la celda 1 alcanza eficiencias sobre el 30%, mientras que la celda 2, 3 y 4 no superan el 10, 20 y 5% respectivamente. Finalmente para el período de invierno de 2012 se observa que las celdas 1, 2 y 3 no superan el 20% de eliminación, mientras que la celda 4 alcanza un 45% de eficiencia. Esto puede atribuirse a que en este primer año de operación no se realizó una poda de las plantas para favorecer la eliminación de nitrógeno e impedir que éste retornara al sistema nuevamente. Estas eficiencias de eliminación se adecúan a los análisis estadísticos, ya que se aprecian diferencias significativas ($p < 0,05$) para los concentraciones de efluentes tanto de las celdas plantadas con *Phragmites spp.* como las con *Schoenoplectus spp.* en las diferentes estaciones de monitoreo.

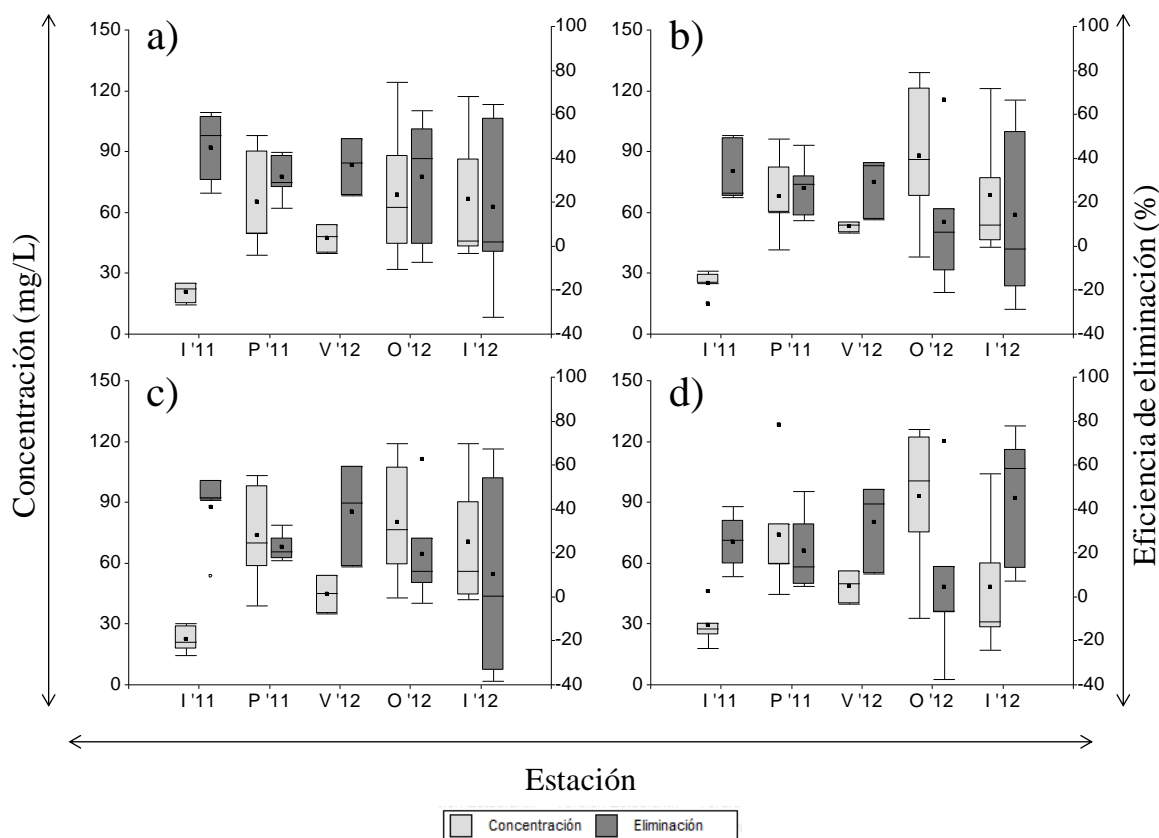


Figura 20: Concentración influente y eficiencias de eliminación de NH_4^+ . a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

En la Figura 21 se puede observar las eficiencias de eliminación de Fósforo Total en las cuatro celdas, donde las celdas de *Phragmites spp.* y de *Schoenoplectus spp.* se comportan como duplicados, al no existir diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sus concentraciones de efluentes.

Como se puede observar, en un inicio las celdas con *Phragmites spp.* presentan eficiencias $\geq 30\%$, mientras que las celdas con *Schoenoplectus spp.* presentan eficiencias de alrededor de un 10%. Posteriormente, para el período de verano de 2012, estas eficiencias son menores a un 5% con excepción de la celda 1, la cual alcanza valores cercanos al 10%. Para el período de otoño de 2012, las celdas 1 y 3 presentan eficiencias de alrededor de 10%, mientras que las celdas 2 y 4 no superan un 2%. Finalmente para el período de invierno de 2012 estos valores aumentan presentando en celda 3 valores superiores a un 20%, de alrededor de un 30% en las celdas 1 y 2 y superiores a un 55% en la celda 4.

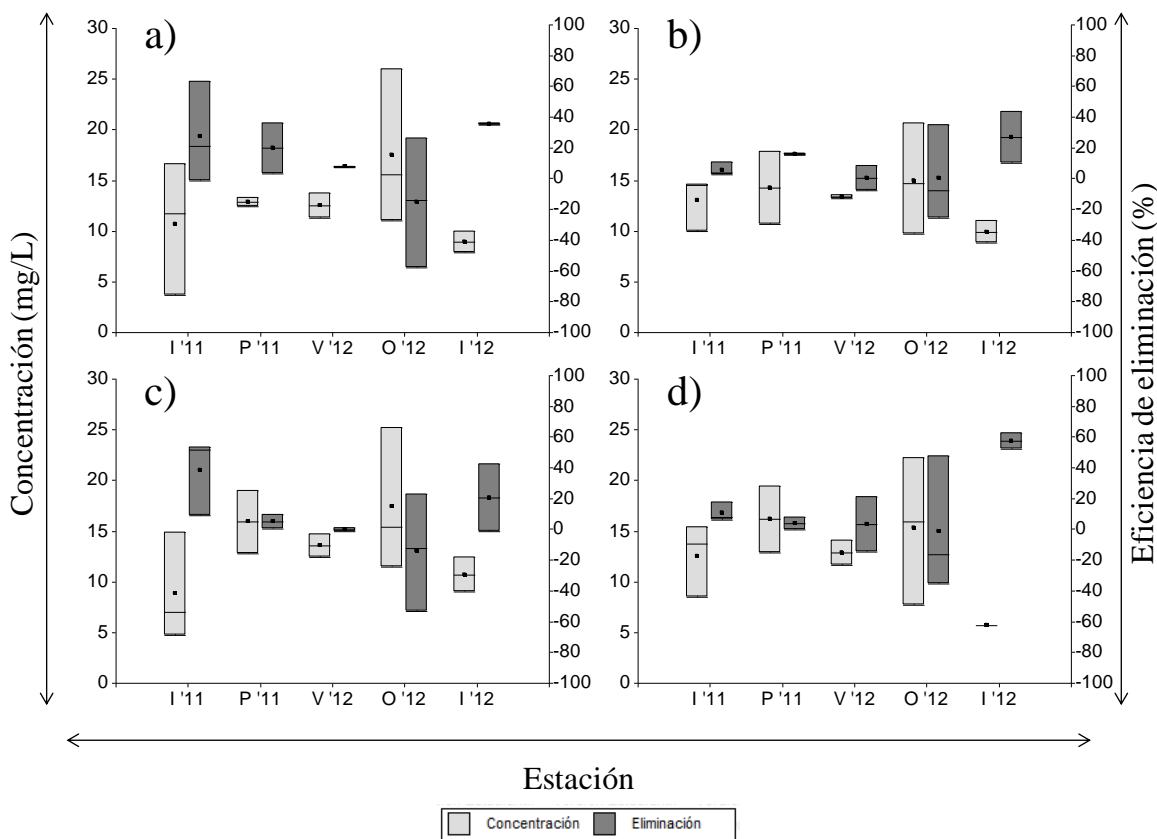


Figura 21: Concentración influente y eficiencias de eliminación de PT. a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

Como se aprecia en la Figura 22, las eficiencias de eliminación del fosfato para invierno de 2011, en las celdas de *Phragmites spp.* presentan eficiencias mayores al 20%, mientras que las celdas plantadas con *Schoenoplectus spp.* no pasan del 10%. Las eficiencias se vuelven relativamente similares para el periodo de primavera de 2011, con valores cercanos a un 10%, con excepción de la celda 1, la cual presenta valores sobre un 20%. Para el período de otoño de 2012 las celdas de *Phragmites spp.* presentan una eficiencia negativa, observándose un aporte del 5% desde las celdas a la fracción líquida, mientras que la celda 2 presenta eficiencias cercanas a un 10% y la celda 4 cercanas a un 0%. Finalmente para el período de invierno de 2012 estas eficiencias aumentan alcanzando valores superiores a un 30% para la celda 1, cercanos a un 20% para las celdas 2 y 3 y superiores a un 50% para las celda 4.

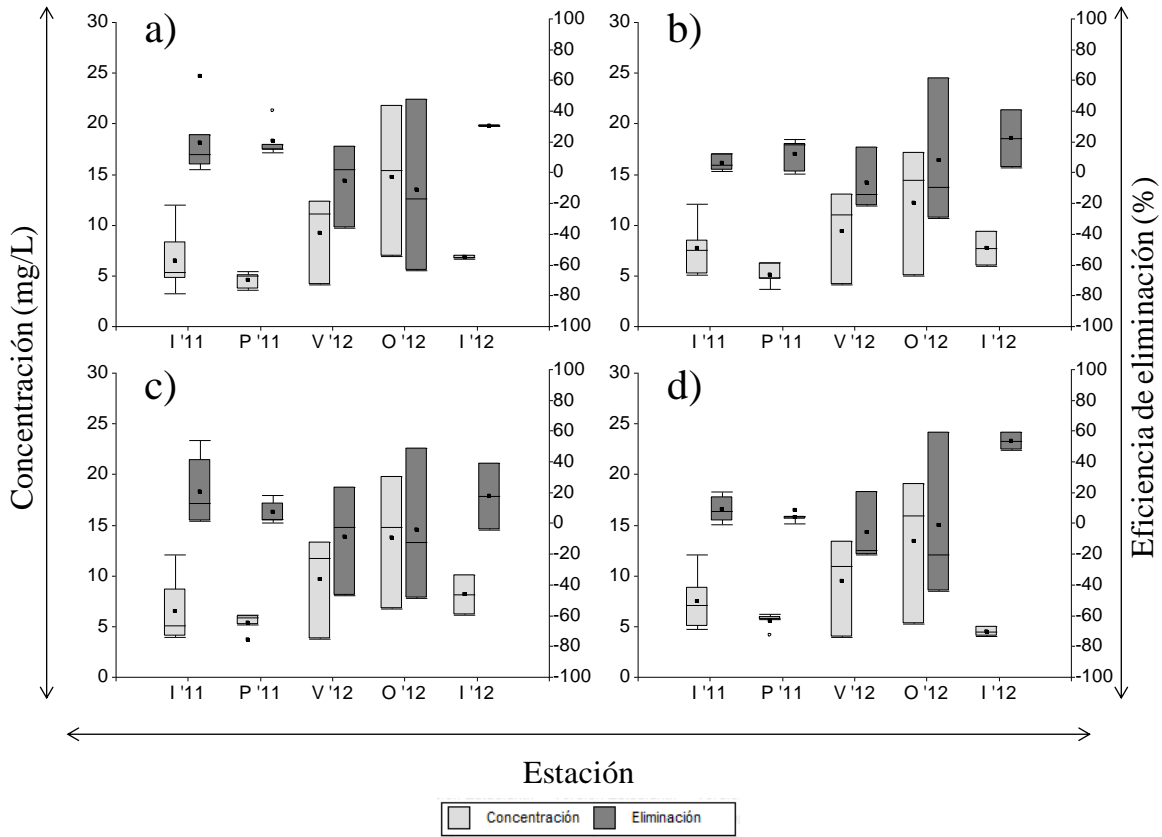


Figura 22: Concentración influente y eficiencias de eliminación de PO_4^{3-} . a) celda 1; b) celda 2; c) celda 3; d) celda 4. I'11: invierno 2011, P'11: primavera 2011, V'12: verano 2012, O'12: otoño 2012, I'12: invierno 2012.

En la Tabla 8 se presentan las concentraciones de los efluentes a la salida de las celdas de la planta piloto en las diferentes estaciones que fue monitoreada.

Tabla 8: Concentraciones de los efluentes de las celdas de HSS

Parámetro	Estación	Concentración (mg/L)			
		Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4
DBO ₅	I '11	80 ± 49	82 ± 35	80 ± 39	76 ± 28
	P '11	126 ± 25	135 ± 55	135 ± 64	132 ± 34
	V '12	42 ± 42	51 ± 47	45 ± 21	50 ± 32
	O '12	41 ± 22	31 ± 5	43 ± 11	35 ± 11
	I '12	47 ± 14	54 ± 8	56 ± 4	41 ± 10
DQO	I '11	216 ± 76	205 ± 52	194 ± 63	231 ± 46
	P '11	176 ± 62	195 ± 62	189 ± 88	208 ± 77
	V '12	85 ± 13	71 ± 20	76 ± 4	76 ± 12
	O '12	107 ± 25	96 ± 36	104 ± 38	91 ± 33
	I '12	138 ± 58	132 ± 56	144 ± 66	139 ± 37
SST	I '11	35 ± 31,6	58,9 ± 54	60,1 ± 60,6	66,4 ± 75,4
	P '11	99 ± 146,2	41 ± 17,1	43 ± 26,4	107 ± 94,8
	V '12	40 ± 35,4	32,5 ± 31,8	22,5 ± 17,7	17,5 ± 17,7
	O '12	16,9 ± 8,5	18,3 ± 7,1	23 ± 11,3	15,3 ± 7,2
	I '12	7,4 ± 3	11 ± 2,5	10,7 ± 7,6	6,4 ± 3,8
SSV	I '11	7,8 ± 5,3	37,5 ± 42,5	23,8 ± 31,5	46,5 ± 55,9
	P '11	71 ± 114,2	21 ± 16,4	30,8 ± 18,8	69,8 ± 47,5
	V '12	10 ± 7,1	7,5 ± 3,5	15 ± 7,1	7,5 ± 3,5
	O '12	16,4 ± 8,4	18,3 ± 7,1	21 ± 16,4	15,3 ± 7,2
	I '12	7,1 ± 3,5	10,9 ± 2,7	10,3 ± 7,9	4,6 ± 2,2
NT	I '11	24,7 ± 4,5	33 ± 18,2	33,8 ± 22,4	25,2 ± 6,3
	P '11	65,8 ± 4,6	68,8 ± 8,8	72 ± 4,2	76 ± 9,2
	V '12	51 ± 1,4	65,8 ± 3,2	53,3 ± 1,8	69 ± 4,2
	O '12	81,7 ± 43,3	90,7 ± 29,5	85,7 ± 24,7	99,3 ± 45,1
	I '12	65 ± 7,1	67,5 ± 9,2	74 ± 12,7	39,5 ± 9,19
NH ₄ ⁺	I '11	20,4 ± 5,3	25,1 ± 6,2	22,3 ± 6,9	29,2 ± 10,4
	P '11	65,2 ± 26,8	68 ± 21,2	73,6 ± 27	74,1 ± 32,5
	V '12	47,3 ± 7,0	53,0 ± 2,7	44,7 ± 9,5	48,7 ± 8,1
	O '12	68,8 ± 33,5	88,0 ± 34,0	80,2 ± 28,7	92,8 ± 34,7
	I '12	66,4 ± 33,9	68,2 ± 33,4	70,2 ± 33,4	48,0 ± 35,11
PT	I '11	10,7 ± 6,5	13 ± 2,6	8,9 ± 5,4	12,5 ± 3,6
	P '11	12,9 ± 0,6	14,3 ± 5	15,9 ± 4,4	16,2 ± 4,6
	V '12	12,5 ± 1,7	13,4 ± 0,3	13,6 ± 1,6	12,9 ± 1,8
	O '12	17,5 ± 7,7	15 ± 5,5	17,4 ± 7	15,3 ± 7,3
	I '12	9 ± 1,5	9,9 ± 1,6	10,7 ± 2,4	5,7 ± 0
PO ₄ ⁻³	I '11	6,5 ± 3,2	7,7 ± 2,6	6,5 ± 3,2	7,5 ± 2,7
	P '11	4,6 ± 0,9	5,1 ± 1,1	5,4 ± 1,1	5,5 ± 0,8
	V '12	9,2 ± 4,4	9,4 ± 4,6	9,6 ± 5,1	9,4 ± 4,9
	O '12	14,7 ± 7,5	12,2 ± 6,4	13,7 ± 6,6	13,4 ± 7,2
	I '12	6,8 ± 0,2	7,7 ± 2,4	8,1 ± 2,8	4,5 ± 0,7

3.3 Actividad metanogénica de los humedales

El ensayo de actividad metanogénica permitió obtener información sobre la producción de metano y el consumo de materia orgánica (DQO) en condiciones ideales de temperatura (30°C), en cada una de las zonas de las celdas (A, B y C), los que se observan en la Tabla 9.

De manera general se puede observar que la mayor actividad de la biomasa microbiana se observó en las primeras dos zonas del humedal (A y B), donde la suma de las actividades de las zonas presentó, en promedio, valores de producción de metano cercanos a 45 mL CH₄/g SSV·día para las celdas plantadas con *Phragmites australis* y las celdas con *Schoenoplectus californicus*.

De acuerdo a las producciones de CH₄ en cada uno de los ensayos, se pudo determinar el consumo de materia orgánica, medida como DQO, en las distintas zonas de cada celda. A su vez, estos porcentajes de consumo de materia orgánica obtenidos estuvieron directamente relacionados con la cantidad de SSV presentes en las distintas zonas de las celdas, donde se observa, que las zonas de entrada y media presentaron los mayores valores entre 150-300 g SSV/zona, indicando un desarrollo y crecimiento más acelerado de la biomasa en dichas zonas en el primer año de operación del humedal.

Para la celda 1 se observa que la mayor actividad ocurre para las muestras de la zona A, con una producción de CH₄ específica cercana a 25 mL CH₄/g SSV·día. De acuerdo a esta actividad, se observó que en condiciones ideales, alrededor del 30% de materia orgánica sería degradada por actividad metanogénica en la zona de entrada, mientras que las restantes zonas de la celda se encargarían alrededor de un 25% de la eliminación.

La celda 2 presenta las mayores producciones de metano en las primeras dos zonas de la celda con actividades específicas de alrededor de 15 y 20 mL CH₄/g SSV·día. Estas dos zonas en conjunto, estarían degradando sobre el 70% de la materia orgánica mediante actividad metanogénica en condiciones ideales, mientras que la zona C solo estaría degradando un porcentaje menor al 10%.

En la celda 3 los resultados son relativamente similares a la celda 2, donde se observa claramente que las mayores producciones de metano ocurren en las zonas de

entrada y media de la celda, con valores de producción específicos superiores a 25 mL CH₄/g SSV·día en ambas zonas. Estas producciones de CH₄ se traducen en que se traduce en que el mayor porcentaje de degradación de materia orgánica ocurre en las dos primeras zonas de la celda, donde en conjunto se encargan de eliminar sobre el 55% de ésta, y a su vez, la zona C se encarga solo de eliminar un 15%.

La celda 4 presentó actividades específicas de producción de metano similares en las tres zonas, con un valor cercano a 25 mL CH₄/g SSV·día para la zona de entrada y valores cercanos a 35 ml CH₄/g SSV·día para las zonas media y de salida de la celda. Sin embargo de acuerdo a los valores de SSV en cada zona de las celdas, finalmente la zona de entrada degradaría casi un 35% de la materia orgánica mientras que la zona de salida no aportaría un valor superior al 25%.

Tabla 9: Resultados ensayo de actividad metanogénica

Celda	Zona	Actividad específica (mL CH ₄ / g SSV·día)	Consumo específico (g DQO/g SSV·día)	SSV (g)	Producción de metano (mL CH ₄ /día)	Consumo de DQO (g DQO/día)	Consumo de DQO (%)
1	A	23,75 ± 0,00	0,06 ± 0,00	187,80	4460,20 ± 0,00	11,50 ± 0,00	30,78
	B	8,42 ± 2,23	0,02 ± 0,01	184,07	1549,26 ± 409,82	3,99 ± 1,06	10,69
	C	13,77 ± 5,99	0,04 ± 0,02	168,96	2326,49 ± 1011,56	6,00 ± 2,61	16,05
2	A	12,32 ± 1,99	0,03 ± 0,01	381,91	4704,83 ± 798,98	12,13 ± 1,96	32,47
	B	21,01 ± 10,31	0,05 ± 0,03	279,56	5872,14 ± 2880,78	15,13 ± 7,43	40,52
	C	10,45 ± 1,84	0,03 ± 0,01	136,81	1429,99 ± 251,76	3,69 ± 0,65	9,87
3	A	25,41 ± 9,91	0,07 ± 0,03	140,99	3590,90 ± 1397,38	9,26 ± 3,06	24,78
	B	34,40 ± 7,30	0,09 ± 0,02	133,76	4600,91 ± 976,00	11,86 ± 2,52	31,75
	C	16,49 ± 8,03	0,04 ± 0,02	133,76	2205,15 ± 1073,60	5,68 ± 2,77	15,22
4	A	25,46 ± 0,25	0,07 ± 0,00	195,49	4978,04 ± 49,37	12,83 ± 0,13	34,35
	B	36,69 ± 3,54	0,10 ± 0,01	79,36	2912,00 ± 280,58	7,51 ± 0,72	20,09
	C	37,33 ± 14,87	0,10 ± 0,04	93,22	3479,82 ± 1385,73	8,97 ± 3,57	24,01

3.4 Balances de masa en los humedales

3.4.1 Balance hídrico

De acuerdo al balance hídrico presentado en la Tabla 10, se pueden observar diversos cambios a lo largo de las estaciones del año. Como se observa para la temporada de invierno de 2011, la alimentación de influente fue mayor, correspondiendo a 125 L/celda·día mientras que para el período de primavera de 2011 fue menor con 79 L/celda·día.

Se puede apreciar a su vez los cambios en los valores de evapotranspiración por temporada, esto debido a que existieron diferentes valores de temperaturas a lo largo de las estaciones, lo que influye directamente con la tasa de ET. Se observa que para el período de verano, donde las temperaturas son superiores a 20°C en promedio, las pérdidas alcanzan valores de 18 L/celda·día, mientras que, para los períodos de invierno donde las temperaturas promedio no superan los 10°C, las pérdidas por evapotranspiración disminuyen a 5 L/celda·día.

A su vez, las diversas estaciones presentan regímenes de precipitaciones variadas, donde los aportes de agua a cada una de las celdas fue entre 3 – 21 L/celda·día, observándose mayores aportes para los períodos de otoño e invierno, con aportes cercanos a 20 L/celda·día, y menores para los períodos de primavera y verano con aportes menores a 3 L/celda·día.

Estos factores ambientales influyen, como se observa en la Tabla 10, en los caudales de salida en cada una de las temporadas, donde los mayores caudales se presentan en las temporadas de otoño e invierno principalmente, cercanos a los 100 L/celda·día para el período 2012, donde las tasas de evapotranspiración son bajas y las precipitaciones altas, y al contrario, en primavera y verano los caudales son los menores, cercanos a 70 L/celda·día.

Tabla 10: Balance hídrico en cada una de las celdas

Estación	CHS (mm/celda·día)	Parámetros (L/celda·día)			
		Entrada	ET	Precipitación	Salida
I '11	27,8	125	5	21	141
P '11	17,5	79	14	3	69
V '12	19,8	89	18	3	74
O '12	19,8	89	9	18	98
I '12	19,8	89	5	10	94

CHS: Carga Hidráulica Superficial

A su vez, las variaciones en los caudales de salida afectaron directamente los TRH en cada una de la celdas en las distintas temporadas de monitoreo, como se puede observar en la Tabla 11.

Para la temporada de invierno de 2011 se observan los menores TRH para las cuatro celdas, donde estos valores no superan los 4 días, mientras que para el período de primavera de 2011 los TRH son cercanos a los 8 días. Posteriormente estos TRH disminuyen hasta valores cercanos a los 6 días para las cuatro celdas, en las temporadas de otoño e invierno de 2012.

Tabla 11: Tiempos de retención hidráulico en las distintas estaciones

Estación	TRH (días)			
	Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4
I '11	3,6	3,7	3,4	3,6
P '11	7,5	7,7	7,0	7,5
V '12	6,9	7,1	6,5	6,9
O '12	5,2	5,4	4,9	5,2
I '12	5,4	5,6	5,1	5,4

3.4.2 Balances de masa

Los balances de masa realizados para materia orgánica, sólidos y nutrientes fueron agrupados de acuerdo a los duplicados por tipo de especie, es decir, las celdas con *Phragmites australis* y las celdas con *Schoenoplectus californicus*.

No se realizó análisis foliar y radicular para el contenido de fósforo en las plantas, por lo que se asumirá para estos balances, que el fosforo únicamente retenido o consumido por los microorganismos en las celdas.

En la Tabla 12 se observa en balance de masa promedio para las celdas plantadas con *Phragmites spp.*, donde se puede distinguir que alrededor de 50% de materia orgánica (medida como DQO) quedó retenida o fue consumida en el interior de las celdas desde el inicio del monitoreo, mientras que casi el 65% de la materia orgánica biodegradable fue eliminada en los 420 días de operación.

El balance de sólidos de estos duplicados indicó las eficiencias de eliminación donde más del 90% de los sólidos que ingresaron fueron retenidos y/o consumidos por microorganismos al interior de las celdas, permitiendo que solo un porcentaje menor al 10% fuera eliminado en efluente.

El balance de nutrientes permitió establecer que la eliminación de nitrógeno por parte de estas celdas fue ligeramente superior al 35%, donde las plantas se encargaron de asimilar alrededor de un 7% del nitrógeno ingresado a estos humedales, es decir, alrededor de 56 g/m². Mientras que para el fósforo, el porcentaje de eliminación de las celdas fue cercano a un 15% reteniendo en el interior casi 80 de los alrededor de 600 g de fósforo alimentado desde la puesta en marcha.

Tabla 12: Balances de masa para las celdas plantadas con *Phragmites australis*

Parámetro	Entrada (g)	Consumo y retención				Salida	
		Microorganismos y/o retención		Plantas		g	%
		g	%	g	%		
DQO	11785	5813 ± 155	49 ± 1	-	-	5972 ± 155	51 ± 1
DBO ₅	7302	4576 ± 112	63 ± 2	-	-	2726 ± 112	37 ± 2
SST	16808	15404 ± 41	92 ± 0	-	-	1404 ± 41	8 ± 0
SSV	10493	9711 ± 37	93 ± 0	-	-	782 ± 37	7 ± 0
NT	3640	1042 ± 256	29 ± 7	256 ± 28	7 ± 1	2341 ± 228	64 ± 6
NH ₄ ⁺	3102	1006 ± 127	32 ± 4	-	-	2097 ± 127	68 ± 4
PT	584	81 ± 11	14 ± 2	-	-	503 ± 11	86 ± 2
PO ₄ ⁻³	364	23 ± 6	6 ± 2	-	-	341 ± 6	94 ± 2

En la Tabla 13 se observa el balance promedio para las celdas plantadas con *Schoenoplectus spp.*, donde se puede observar que existe similitud con los duplicados anteriores en cuanto a la eliminación de materia orgánica, ya que alrededor del 50 % de materia orgánica (medida como DQO) fue eliminada por parte de éstas celdas y alrededor del 65 % de la materia orgánica biodegradable fue retenida y consumida al interior de estas celdas.

El balance de sólidos en este tipo de celdas corrobora también eficiencias de eliminación de este tipo de tecnologías, ya que el 90 % de los sólidos, totales y volátiles, fueron retenidos y/o consumidos al interior de las celdas, permitiendo liberar solo 1000 g de los casi 9500 g de SSV alimentados a estas celdas.

El balance de nutrientes permitió establecer que la eliminación de nitrógeno por parte de las celdas en los 420 días de operación fue de un 35 %, donde la asimilación por parte de las plantas no superó el 5 %, es decir, no fue superior a 22 g/m². Por otra parte, la eliminación del fósforo alcanzó eficiencias similares a las celdas con *Phragmites spp.* donde casi el 15 % del fósforo alimentado fue retenido por las celda, es decir, casi 80 g de los alrededor de 600 g que entraron a las celdas.

Tabla 13: Balances de masa para las celdas plantadas con *Schoenoplectus californicus*

Parámetro	Entrada (g)	Consumo y retención				Salida	
		Microorganismos y/o retención		Plantas		g	%
		g	%	g	%		
DQO	11785	5736 ± 303	49 ± 3	-	-	6049 ± 303	51 ± 3
DBO5	7302	4633 ± 116	63 ± 2	-	-	2669 ± 116	37 ± 2
SST	16808	15276 ± 222	91 ± 1	-	-	1532 ± 222	9 ± 1
SSV	10493	9487 ± 221	90 ± 2	-	-	1006 ± 221	10 ± 2
NT	3640	1150 ± 225	32 ± 6	98 ± 96	3 ± 3	2391 ± 129	66 ± 4
NH ₄ ⁺	3102	847 ± 45	27 ± 1	-	-	2256 ± 45	73 ± 1
PT	584	76 ± 20	13 ± 3	-	-	508 ± 20	87 ± 3
PO ₄ ⁻³	364	30 ± 11	8 ± 3	-	-	334 ± 11	92 ± 3

4 DISCUSION

4.1 Caracterización fisicoquímica del influente

Al comparar las concentraciones del influente que llega a la PTAS de Hualqui con la Tabla 1, se observa que los parámetros como materia orgánica (DBO₅ y DQO), sólidos (SST y SSV) y nutrientes como el PT y PO₄⁻³ se encuentran dentro de los rangos establecidos para las zonas rurales.

No ocurre lo mismo con el NT y el NH₄⁺ en los períodos de primavera de 2011 hasta invierno de 2012, cuyos valores se encuentran por sobre las concentraciones medias de las aguas servidas rurales. Este fenómeno de aumento de las concentraciones de dicho nutriente puede asociarse probablemente al procesamiento de productos cárnicos en la zona, donde la sangre, producto de desecho, puede aportar al incremento de las concentraciones de nitrógeno en el influente. Esto es debido a que ésta posee proteínas cuyo grupo funcional es el amino, que hidrolizado se transforma en amonio, y además no hidrolizado está presente en forma orgánica y aportando por lo tanto, en este caso, al incremento de casi un 50% de las concentraciones en el NT y el NH₄⁺ en el último año (Del Nery y *col.*, 2007). Esto puede respaldar a la vez el aumento de las concentraciones de materia orgánica entre los períodos de verano de 2012 e invierno de 2012, donde existe un aumento sobre un 40% para DBO₅ y sobre un 90% para DQO.

Existió a su vez un aumento de los sólidos en el período de otoño de 2012 donde los valores fueron un 180% superiores para los SST y un 120% superiores para SSV que el período de primavera de 2011. Estas variaciones pueden atribuirse al aumento de aguas de escorrentía en el periodo de otoño debido a las mayores precipitaciones (Tabla 10), lo que pudo conllevar a un mayor arrastre de sólidos en los influentes que llegan a la PTAS (Metcalf y Eddy, 1995).

4.2 Comportamiento de la operación de los humedales

Al analizar el comportamiento de los humedales se observa que las distintas estaciones de operación desde invierno de 2011 a invierno de 2012 influyen directamente en los parámetros tanto de operación como en las concentraciones de influente y eficiencias de eliminación.

El comportamiento de la temperatura al interior de las celdas (Figura 11) varió entre los períodos de invierno y verano, siendo la temperatura relativamente uniforme a lo largo de las celdas. Estas diferencias entre los 10°C y 25°C afectan directamente fenómenos como las eficiencias de eliminación de materia orgánica, nutrientes, y a la vez la actividad microbiana (Feng y *col.*, 2008; Vymazal, 2009). Las bajas temperaturas de invierno influyen en las eficiencias de eliminación de DBO₅ y DQO, con eficiencias menores a 80 y 65 % respectivamente para el período de invierno de 2012, ya que de acuerdo a las eficiencias de otoño de 2012, se podría haber esperado que fueran mayores en dicha estación debido al mayor desarrollo de la biomasa al interior de las celdas con el paso del tiempo (Vera y *col.*, 2011). Este fenómeno respalda el efecto de las bajas temperaturas en dicha estación (10°C) podrían influir en la eliminación de materia orgánica al interior de las celdas, esperándose que para los períodos de primavera de 2012 y verano de 2013 estas eficiencias aumentarían debido al aumento de temperatura de las celdas desde los 20 a 25°C (Stein y Hook, 2005; Akrotos y Tsihrintzis, 2007).

Los comportamientos del pH en las cuatro celdas (Figura 12) fueron constantes a lo largo de las estaciones presentando un rango de pH entre 6,5-7,5, lo que sería considerado un valor neutro al interior de cada una de las celdas para la actividad de las bacterias nitrificantes, desnitrificantes, acetogénicas y metanogénicas (Vymazal y *col.*, 1998; Paredes y *col.*, 2007). A su vez se observó la capacidad buffer de las celdas para mitigar los cambios de pH en el influente, evitando variaciones abruptas en las celdas, permitiendo así un correcto desarrollo y actividad de bacterias metanogénicas, nitrificantes y desnitrificantes. Por lo que en un humedal a escala real, el efecto buffer del pH funcionaría de mejor manera, siendo beneficioso para los microorganismos sensibles a este tipo de cambios (Paredes y *col.*, 2007, Vymazal y *col.*, 1998).

Los rangos de POR son una indicación de los procesos biológicos que ocurren en el humedal (Kadlec y Knight, 1996), y en las celdas HSS se determinó que estos valores siempre estuvieron bajo los -100mV (Figura 13), sin embargo las distintas estaciones presentaron rangos de POR, donde para el período de verano de 2012 se situaron entre los -150 y -250 mV, mientras que para invierno de 2012 se situaron entre -100 y -300 mV, por lo que algunas estaciones presentaron mayor variación que otras. Los rangos de POR indican de forma aproximada los fenómenos biológicos que pueden ocurrir al interior de las

celdas, por lo que en rangos mayores (-100 a -300 mV) se puede pensar que existiría una competencia entre las bacterias sulfatoreductoras y metanogénicas por los sustratos, ya que las bacterias sulfatoreductoras actúan en un rango de POR entre -100 y -200 mV, mientras que en condiciones más reducidas (< -200 a -300 mV) las bacterias metanogénicas se ven favorecidas (Faulwetter y *col.*, 2009). A su vez, existió presencia de sulfato al interior de las celdas (no mostrado), por lo que si las condiciones de POR son las adecuadas para el que las sulfatoreductoras realicen su metabolismo, siempre resultarán favorecidas y la reacción se ve únicamente limitada por la materia orgánica presente en el medio (Aguirre, 2004).

Las mediciones de oxígeno disuelto (Figura 14) corroboran el estado anaerobio de estos sistemas de humedales, ya que las mediciones promedio para cada temporada no superan los 0,5 mg/L. Estos valores concuerdan con lo encontrado por Vymazal y Kröpfelová (2008), donde indican que a concentraciones de salida < 2 mg/L se trata de condiciones anaerobias o anóxicas.

Por otra parte, se pudo observar un aumento en las eficiencias de eliminación de materia orgánica, medidas como DBO₅ y DQO en las cuatro celdas a lo largo de las 5 estaciones de operación. La eliminación de DBO₅ (Figura 15) presentó un aumento desde primavera de 2011 a invierno de 2012 desde un 40-50% hasta un 70-80%, respectivamente. Aumentando un 30% a lo largo de un año de operación, esperándose alcanzar eficiencias sobre el 90% cuando las celdas alcancen su etapa de madurez, pasado dos años o más de operación (Vera y *col.*, 2011).

Para la DQO (Figura 16) se observó que las concentraciones de efluentes en la salida aumentaron desde el período de verano a invierno de 2012 en las celdas con *Phragmites spp.* y *Schoenoplectus spp.*, con variaciones de 80 a 140 y 75 a 135 mg/L, respectivamente. Dicho aumento pudo atribuirse a dos fenómenos principalmente: a) el aumento de la carga orgánica superficial (COS) aplicada, la cual fue de alrededor de 4 g DQO/m²·día en período de verano de 2012 y alrededor de 8 g DQO/m²·día en el período de invierno de 2012 (García y *col.*, 2005; Huang y *col.*, 2005); b) las temperaturas de invierno cercanas a 10°C (Akratos y Tsihrintzis, 2007). Ambos fenómenos pudieron influir en que las eficiencias de eliminación de ambos tipos de celdas no superaran el 65% luego de los 420 días de operación.

Con respecto a los sólidos, las eficiencias de eliminación, tanto de SST (Figura 17) como de SSV (Figura 18), muestran un aumento progresivo en cada una de las celdas desde un 80% en un inicio, a un 95% para invierno de 2012, logrando concentraciones de efluentes de SST y SSV menor a 20 y 15 mg/L respectivamente. Este aumento en la eliminación de sólidos desde la puesta en marcha de los sistemas hasta invierno de 2012 se ve influenciado tanto por el aumento de la cobertura y el desarrollo de las plantas y sus raíces, como por el aumento de biomasa en el medio de soporte de las celdas, potenciando los procesos de filtración y sedimentación que son los principales mecanismos por los cuales son eliminados los sólidos (Caselles-Osorio y *col.*, 2007; Vymazal y *col.*, 1998).

La eliminación de nitrógeno en las celdas de HSS (Figura 19) presentan fluctuaciones a lo largo de las estaciones de operación las cuales pueden ser explicadas por diversos procesos que pudieron haber ocurrido desde el inicio de operación de estas celdas hasta el periodo de invierno de 2012. En primer lugar las eficiencias de eliminación para invierno de 2011 (>40%) en todas las celdas, se deben probablemente a la eliminación de NH_4^+ por fenómenos de adsorción. Esto se respalda debido a que grava recién instalada como medio de soporte pudo haber aportado en la fijación de este ion en el inicio de operación de estos HSS, ya que se conoce que algunos sedimentos de FS poseen la capacidad de adsorber hasta 20 g N/m² (Plaza de los Reyes y *col.*, 2011). Posteriormente, para primavera de 2011, estas eficiencias disminuyen a un 20-25 %, debido probablemente a que la baja capacidad de adsorción de la grava permite que este fenómeno solo aporte en la eliminación de NH_4^+ al inicio de la operación (Albuquerque y *col.*, 2010). Luego en el período de verano de 2012 el aumento de las eficiencias de eliminación, alrededor de un 45% para las celdas de *Phragmites spp.* y de un 30% para las celdas de *Schoenoplectus spp.*, se puede asociar a dos fenómenos principalmente: a) el rápido desarrollo de las plantas y con ello la asimilación del nitrógeno en dicho período. Donde, se pueden observar diferencias en la eficiencia de eliminación entre las dos especies de macrófitas, lo que se puede asociar debido a que la tasa de crecimiento y propagación es mayor en la especie *Phragmites australis* que en la especie *Schoenoplectus californicus* (Wallace y Knight, 2006; Rojas, 2012); b) el desarrollo de actividad microbiana, como por ejemplo bacterias nitrificantes y desnitrificantes, en la superficie de los rizomas de las plantas. Donde las mayores eficiencias observadas en las celdas correspondientes a *Phragmites australis*

pueden asociarse debido a su mayor crecimiento y desarrollo, presentando así una mayor superficie de soporte para el desarrollo de estas bacterias (Kadlec y Knight, 1996). Posteriormente para los períodos de otoño e invierno de 2012 las eficiencias disminuyeron alrededor de un 10-15% en cada una de las celdas con excepción de la celda 4, lo que pudo deberse a dos fenómenos principalmente: a) la disminución de temperaturas en dichos períodos, causando inhibición de los procesos de nitrificación/desnitrificación. De acuerdo a Paredes y col. (2007), las tasas de eliminación para invierno (5-10°C) en HSS pueden bajar a valores de 0,15 g/m²·día, mientras que en verano (25-30°C) estas pueden aumentar a 0,7 g/m²·día; b) el no haber realizado la poda o cosecha de la plantas en el período de otoño pudo permitir la translocación o liberación del nitrógeno acumulado por las plantas a la fase líquida del humedal, provocando un aumento en las concentraciones de nitrógeno de los efluentes (Lee y col.,2009).

La eliminación de fósforo en las celdas (Figura 21), presentaron un patrón de comportamiento similar a la eliminación de nitrógeno en los períodos de invierno y primavera de 2011. Observándose en un inicio eficiencias sobre un 25% para las celdas con *Phragmites spp.*, y cercanas a un 10% para las celdas con *Schoenoplectus spp.*, pero luego en el período de primavera estas eficiencias disminuyeron alrededor de un 5-20 % en cada una de las celdas, con excepción de la celda 2. Dicho fenómeno se puede explicar debido a que en un inicio la grava recién instalada pudo haber participado activamente en los fenómenos de adsorción, pero luego de un tiempo esta grava se satura y debido a que no suele contener grandes cantidades de Fe, Al y Ca, los procesos de precipitación y adsorción de fósforo, casi no ocurren (Vohla y col., 2011). Luego para el período de verano estas eficiencias disminuyen solo alrededor de un 5% en las cuatro celdas, lo que puede explicarse debido a la asimilación por parte de las plantas, pero que en definitiva no es suficiente para aumentar las eficiencias de eliminación, ya que de acuerdo a Vymazal (2004), el consumo por plantas es solo una fracción del total de fósforo eliminado en humedales construidos, captando en algunos casos de 2-4 g/m². Posteriormente para el período de otoño de 2012 se observa un aumento de las concentraciones de PT y PO₄⁻³ en los efluentes (Tabla 8) presentando mayores concentraciones que los influentes (Tabla 7), explicándose probablemente por dos fenómenos: a) en primer lugar, y probablemente el más importante, debido a las altas precipitaciones presentadas en dicho período (Tabla 10),

lo que pudo ocasionar un lavado de la grava eliminando el fósforo que había sido previamente retenido en el medio; b) la translocación o devolución de nutrientes a la fase líquida producto de no haber realizado la poda o cosecha de las plantas en dicho período (Vymazal y *col.*, 1998). Posteriormente para el período de invierno de 2012 se observa un aumento en las eficiencias de eliminación en las cuatro celdas, la cual puede relacionarse con el fenómeno antes explicado, donde si ocurrió un lavado de la grava debido a las altas precipitaciones en otoño de 2012, luego para invierno de 2012 este material pudo haber participado nuevamente en los fenómenos de adsorción como ocurrió en la puesta en marcha de las celdas.

4.3 Actividad metanogénica en los humedales

Las actividades específicas de producción de metano y el consumo específico de DQO en cada uno de los ensayos (Tabla 9) se asocian a las características de la biomasa en cada una de las zonas. De acuerdo a los resultados se pudo evidenciar que las mayores actividades específicas, y por ende, los mayores consumos específicos de DQO fueron para las muestras tomadas de la zona de entrada y media de las celdas.

Las actividad específica en la entrada de la celda 1 resultó ser aproximadamente el doble de la zona de salida, con un valor de 23,750 mL CH₄/ g SSV·día; a su vez la actividad en la celda 2 en la zona media resultó ser dos veces superior a las zona de salida con un valor de 21,005 mL CH₄/ g SSV·día; del mismo modo esto ocurrió para la celda 3 con valores sobre los 25 mL CH₄/ g SSV·día para las zonas de entrada y media, siendo de alrededor del doble en comparación al valor en la zona de salida; mientras que en la celda 4 este fenómeno no se observó y los valores de producción específica de CH₄ fueron relativamente similares para las tres zonas. Estas diferencias en las actividades específicas, se pueden relacionar a un mayor desarrollo y crecimiento, en la zona de entrada y media de las celdas, de las bacterias hidrolíticas, acetogénicas, hidrogénicas y metanogénicas debido a una mayor disponibilidad de sustratos orgánicos que son necesarios para su crecimiento (Hutňan y *col.*, 1999). Gracias a procesos físicos como la filtración y sedimentación por parte del medio de soporte y las raíces de la plantas, estos sustratos orgánicos se acumulan principalmente en las zonas de entrada y media de las celdas (Tanner, 2001), y debido a

esto se puede observar que las mayores concentraciones de SSV, se ubican en la zonas de entrada y media de las celdas. Sin embargo este fenómeno no se observa en la celda 4, lo que puede relacionarse con la baja densidad de plantas que presentó dicha celda a lo largo de los 420 días de operación, permitiendo que los sustratos no se acumularan en las zonas de entrada y se distribuyeran uniformemente a lo largo de la celda.

El crecimiento de las bacterias metanogénicas está gobernado por la actividad y el metabolismo de éstas dentro de las celdas, donde el rendimiento bacteriano (Y) definido como la capacidad bacteriana de transformar a biomasa una cierta cantidad de sustrato, es el que se relaciona directamente con el metabolismo y crecimiento de éstas bacterias. Sin embargo, este rendimiento se ve afectado por parámetros operacionales como la temperatura al interior de las celdas, ya que la actividad de estos microorganismos termófilos fue analizada en ensayos a 30°C, mientras que las temperaturas de las celdas en períodos de otoño e invierno no superaron los 15 y 10 °C respectivamente. De acuerdo a estos factores se puede decir que las tasa de crecimiento de las bacterias metanogénicas dentro de las celdas de HSS llega a ser 2-3 veces menor para estos períodos, que en el ensayo de actividad metanogénica a 30°C (Lettinga y *col.* 2001), ya que la actividad metanogénica está estrechamente regulada por la temperatura presentando diferencias de producción de CH₄ hasta 8 veces superiores entre ensayos a 5°C y a 35°C (Westerman, 1993). De acuerdo a lo anterior se entiende el porqué los resultados del ensayo se definen como la producción ideal de CH₄ en cada zona de las celdas, ya que los parámetros operativos influyen directamente en esta producción.

Con respecto a la liberación de CH₄ al medioambiente, se sabe que éste es un gas de efecto invernadero (GEI) con un potencial de calentamiento global de 21, es decir, que en una medida de tiempo de 100 años, cada Kg de CH₄ calienta la tierra 21 veces más que la misma masa de CO₂ (Søvic y *col.*, 2006), por lo que su producción en exceso en los humedales construidos no es una buena práctica. Debido a esto, la realidad indica que las producciones ideales de CH₄ no se producen en la región debido principalmente a las condiciones climáticas, por lo que la degradación de la materia orgánica ocurre por otros mecanismos de eliminación como por ejemplo la sulfatoreducción. A su vez otro fenómeno que permite la disminución de liberación de CH₄ es la acción de la plantas, las cuales evitan la emisión directa de éste gas a la atmósfera, manteniéndolo disuelto en el efluente. Este

fenómeno fue estudiado por Zhu y col. (2007), donde a su vez se indica que la poda de las plantas aumenta las emisiones de CH₄ al ambiente, pero no así cuando la temperatura de las celdas se encuentra cercana a los 10°C. Estos resultados permiten poder optimizar el proceso tanto de captación de nutrientes como de emisión de CH₄, ya que se podrían programar las podas de las plantas en el período de Otoño, donde la temperatura de las celdas presenta una disminución bajo los 15°C y a su vez permitiendo el mínimo de translocación de nutrientes desde las plantas a las celdas.

4.4 Balances de masa en los humedales

Las diversas condiciones meteorológicas en las distintas estaciones alteran los regímenes hídricos aplicados en cada una de las celdas de HSS (Tabla 10), ya que aunque las cargas hidráulicas superficiales (CHS) fueron controladas durante los distintas estaciones de operación, estas condiciones meteorológicas afectaron directamente los TRH en cada una de las celdas (Tabla 11). Este fenómeno es de interés, ya que de acuerdo a Akrotos y Tsihrantzis (2007) en HSS con temperaturas > 15°C, un TRH de 8 días o mayor es adecuado para una eliminación de materia orgánica sobre el 90%, mientras que para la eliminación de nitrógeno existen diferencias significativas entre la aplicación de TRHs de 6 y 8 días, donde en el primer caso se observan eficiencias cercanas a un 45% mientras que el con el segundo las eficiencias alcanzan un 80%. De acuerdo a lo anterior, se puede inferir que las eficiencias de eliminación de celdas pudieron haber sido superiores si los TRH hubieran sido ≥ 8 días. Sin embargo, el aumento del TRH disminuye la CHS que se puede aplicar a las celdas, por lo que se debe optimizar adecuadamente la relación CHS/TRH permitiendo la aplicación del mayor volumen de agua servida por día, pero a la vez permitiendo que se alcancen las mayores eficiencias de eliminación dentro de las celdas.

Los balances de masa realizados para los 420 días de operación en cada una de las celdas fueron similares con respecto a la eliminación de materia orgánica y sólidos desde el inicio de operación de las celdas hasta invierno de 2012, lo que se respalda con los resultados discutidos anteriormente sobre la eliminación de materia orgánica (Figura 15 y 16), donde el aumento de las eficiencias de eliminación de las cuatro celdas, resultó en un balance final de eliminación cercano a 50 y 65 % para DQO y DBO₅ respectivamente. Este mismo fenómeno ocurrió para los sólidos donde se pudo observar un aumento progresivo

de las eficiencias de eliminación, tanto de SST como de SSV, durante las distintas estaciones desde la puesta en marcha de esta investigación (Figura 17 y Figura 18). Este aumento progresivo y similar desde un 80 a un 95 % en las eficiencias de las cuatro celdas se respalda por los balances finales para sólidos donde se observó tanto para SST como para SSV, valores cercanos al 90% fueron retenidos por parte de las celdas en los primeros 420 días de operación. De acuerdo a estos resultados se puede estimar que no existió diferencia entre las celdas plantadas con *Phragmites spp.* y las celdas plantadas con *Schoenoplectus spp.* respecto a la eliminación de materia orgánica y sólidos en los primeros 420 días de operación de las celdas.

El balance de masa para nitrógeno indicó los aportes en el proceso de eliminación de este nutriente. Los aportes en la eliminación por parte de las plantas (< 8% para las celdas con *Phragmites spp.* y < 4% para las celdas con *Schoenoplectus spp.*) no se relacionan con los coeficientes de asimilación de nutriente (15-25 %). Los balances de nitrógeno pueden ser no representativos debido a que el análisis foliar y de biomasa de las plantas fue realizado en el período primavera de 2012, por lo que la cantidad de nitrógeno presente en los tejidos y raíces (menores a un 8%) de éstas, no es precisamente la total asimilada durante el proceso de eliminación (Sawattayothin y Polprasert, 2007). Por lo tanto, al no haber realizado la poda de las plantas en los períodos de otoño, estas debieron haber entregado nutrientes de vuelta a fase líquida por lo que el balance de masa total no sería el adecuado (Chung y col., 2008).

El balance masa total del fósforo respaldó lo antes señalado sobre los procesos y eficiencias de eliminación de este nutriente, ya que como el principal mecanismo por el que se elimina es por adsorción y precipitación, y al poseer las cuatro celdas el mismo medio de soporte (grava), los balances de fósforo fueron relativamente similares entre las cuatro celdas donde alrededor del 90-95 % fue eliminado como efluente en las celdas a lo largo de las cinco estaciones de operación, evidenciando que la eliminación de fósforo por parte de estos sistemas es baja y depende más del tipo de medio de soporte que de las especies macrófitas utilizadas (Chung y col., 2008).

5 CONCLUSIONES

- Las concentraciones de oxígeno disuelto (< 1 mg/L) y los potenciales de oxidoreducción (< 100 mV) dentro de las celdas *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus*, dan cuenta de que estos sistemas operan bajo condiciones anaerobias, condiciones que no son favorables para las eliminaciones de NT y NH_4^+ .

- Las bajas temperaturas promedio de invierno (10°C) en Hualqui afectan los procesos de eliminación tanto de materia orgánica como de nitrógeno, siendo este un factor limitante en la degradación anaerobia de la materia orgánica.

- Las eficiencias de eliminación de materia orgánica y sólidos no presentan diferencias entre celdas plantadas con *Phragmites australis* y celdas plantadas con *Schoenoplectus californicus* durante los primeros 420 días de operación de estos sistemas, donde en inicio estas eficiencias son cercanas a un 30% para DQO y cercanas a un 75% para SST, y al final del monitoreo alcanzan eficiencias sobre un 65% para DQO y sobre un 95% para SST en los dos tipos de celdas.

- La producción de CH_4 específica en cada una de las celdas resultó mayor en las zonas de entrada y media de las celdas (> 20 mL $\text{CH}_4/\text{g SSV}\cdot\text{día}$) que en las zonas de salida (< 15 mL $\text{CH}_4/\text{g SSV}\cdot\text{día}$), lo que se debe a un mayor desarrollo y crecimiento de la biomasa en las zonas de entrada y media gracias a la mayor disponibilidad de sustratos.

- Los factores ambientales afectan directamente los regímenes hídricos aplicados a las celdas, alterando tanto las CHS como los TRH, lo que puede afectar las eficiencias de eliminación de materia orgánica y sólidos.

- Los balances de masa realizados indican que las celdas de HSS plantadas con *Phragmites australis* y las celdas plantadas con *Schoenoplectus californicus* presentan eficiencias de eliminación similares luego de 420 días de operación, tanto para la eliminación de materia orgánica como para sólidos y nutrientes.

- De acuerdo a lo anterior, se acepta la hipótesis de trabajo propuesta, ya que la eliminación de materia orgánica y nitrógeno en las celdas de HSS demuestra estar estrechamente relacionada con la actividad microbiológica que ocurre en el medio de soporte de este tipo de humedales.

6 AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer a la Dra. Gladys Vidal por permitirme la realización de esta tesis y por su apoyo y ayuda durante todo el desarrollo de ésta, también a la candidata a Doctor en Ciencias Ambientales, Daniel López por su disposición y entrega al desarrollo de esta tesis, estando siempre disponible ante cualquier duda durante la realización de esta, también extendiendo mis agradecimiento al Doctor en Ciencias Ambientales, Leonardo Vera por su siempre atenta disposición a escuchar y resolver cualquier problema que tuvo relación con esta tesis a lo largo de su ejecución. No puedo olvidar de todos modos a todos los integrantes del Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA) del Centro EULA, por sus ayudas ante problemas, consejos, apoyo y cálidos momentos a lo largo mi estadía en el grupo.

A la empresa sanitaria ESSBIO por facilitar sus dependencias para la construcción y monitoreo de la planta piloto de HSS donde se realizó esta tesis de investigación.

A mis padres por su apoyo incondicional y preocupación a lo largo de todo este proceso, y a mis seres queridos, familiares y amigos que de algún u otro modo me permitieron avanzar día a día en el desarrollo de este proyecto sin olvidar que el cariño y las amistades están por encima de todo.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguirre, P. (2004). Mecanismos de eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes en humedales construidos de flujo subsuperficial. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García, J., Morató, J. y Bayona, J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 17-30.
- Akrotos, C. & Tsihrintzis, V. (2007). Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 29(2), 173–191.
- Albuquerque, A., Oliveira, J., Semitela, S. & Amaral, L. (2010). Evaluation of the effectiveness of horizontal subsurface flow constructed wetlands for different media. *Journal of Environmental Sciences*, 22(6), 820–825.
- Allen, R., Pereira, L., Raes, D. y Smith, M. (2006). Evapotranspiración del cultivo: Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Estudio FAO riego y drenaje, Roma, 323 pp.
- American Public Health Association (APHA) (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater 20th Ed. Washington D.C.
- Andrés, E. (2010) Evaluación de la capacidad de retención de fósforo mediante procesos de adsorción empleando zeolita, y su aplicación en sistemas de humedales construidos para la depuración de aguas residuales urbanas. Proyecto de fin de carrera para optar al grado de Ingeniero Químico, Universidad de Concepción, Chile. 93 pp.
- Baraňao, P. & Tapia, L. (2004). Tratamiento de las Aguas Servidas: Situación en Chile. *Ciencia y Trabajo*, 6(13), 111–117.
- Bécares, E. (2004). Función de la vegetación y procesos de diseño de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal y flujo superficial. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García, J., Morató, J. y Bayona, J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 51-62.
- Borin, M. (2003). Fitodepurazione. Soluzioni per il trattamento dei reflú con le piante. Edizioni Agricole, Bologna, Italy. 197 pp.

- Brix, H. (1994). Use of constructed wetlands in water pollution control: Historical development, present status, and future perspectives. *Water Science and Technology*, 30(8), 209-223.
- Caselles-Osorio, A., Puigagut, J., Segú, E., Vaello, N., Granés, F., García, D. & García, J. (2007). Solids accumulation in six full-scale subsurface flow constructed wetlands. *Water research*, 41(6), 1388-1398.
- Chen, Y., Cheng, J. & Creamer, K. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.
- Chung, A., Wu, Y., Tam, N. & Wong, M. (2008). Nitrogen and phosphate mass balance in a sub-surface flow constructed wetland for treating municipal wastewater. *Ecological Engineering*, 32(1), 81–89.
- Cooper, P. (2005). The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates. *Water science and technology*, 51(9), 81–90.
- Crites, R. y Tchobanoglous, G. (2000) Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados, Mc. Graw Hill, Santafé de Bogota, Colombia. 350 pp.
- Das, S. & Tanaka, N. (2007). Estimating nitrogen budgets of *Typha angustifolia* by considering the regrowth shoot productivity and nitrogen content after harvesting aerial organs in different growing seasons. *Landscape and Ecological Engineering*, 3(2), 99–108.
- Del Nery, V., De Nardi, I., Damianovic, M., Pozzi, E., Amorim, A. & Zaiat, M. (2007). Long-term operating performance of a poultry slaughterhouse wastewater treatment plant. *Resources, Conservation and Recycling*, 50(1), 102–114.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. (2011). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 pp.
- Elizabeth, M. (2010). Suelos de humedales como sumideros de carbono y fuentes de metano. *Terra Latinoamericana*, 28(2), 139–147.
- Encuesta de Caracterización Socioeconómica Nacional (CASEN) del año 2009. Disponible en <http://www.ministeriodesarrollosocial.gob.cl/casen2009/>
- Fahd, K., Martín, I. & Salas, J. (2007). The Carrión de los Céspedes Experimental Plant and the Technological Transfer Centre: urban wastewater treatment experimental platforms for the small rural communities in the Mediterranean area. *Desalination*, 215(1-3), 12–21.

- Faulwetter, J., Gagnon, V., Sundberg, C., Chazarenc, F., Burr, M., Brisson, J., Camper, A. & Stein, O. (2009). Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: A review. *Ecological Engineering*, 35(6), 987–1004.
- Feng, H., Hu, L., Shan, D., Fang, C. & Shen, D. (2008). Effects of temperature and hydraulic residence time (HRT) on treatment of dilute wastewater in a carrier anaerobic baffled reactor. *Biomedical and environmental sciences*, 21(6), 460–466.
- García, J., Ojeda, E., Sales, E., Chico, F., Píriz, T., Aguirre, P. & Mujeriego, R. (2003). Spatial variations of temperature, redox potential, and contaminants in horizontal flow reed beds. *Ecological Engineering*, 21(2-3), 129-142.
- García, J. (2004). Humedales construidos para controlar la contaminación: perspectiva sobre una tecnología en expansión. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García, J., Morató, J. y Bayona, J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 7-16.
- García, J., Aguirre, P., Barragán, J., Mujeriego, R., Matamoros, V. & Bayona, J. (2005). Effect of key design parameters on the efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 25(4), 405–418.
- García, J. y Corzo, A. (2008). Depuración con humedales artificiales: Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial. Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental de la Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 108 pp.
- Henze, M., Harremoës, P., Jansen, J. & Arvin, E. (2002). Wastewater treatment; Biological and chemical processes, in *Environmental Engineering*. Springer-Verlag, Heidelberg, 430pp.
- Hsieh, C. (2009) Toxicidad metanogénica de purín de cerdo mediante ensayos discontinuos. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Ambiental, Universidad de La Serena, Chile. 97 pp.
- Huang, Y., Ortiz, L., Aguirre, P., García, J., Mujeriego, R. & Bayona, J. (2005). Effect of design parameters in horizontal flow constructed wetland on the behaviour of volatile fatty acids and volatile alkylsulfides. *Chemosphere*, 59(6), 769–77.

- Hutňan, M., Mrafková, L., Dřtil, M. & Derco, J. (1999). Methanogenic and Nonmethanogenic Activity of Granulated Sludge in Anaerobic Baffled Reactor. *Chemical Papers*, 53(6), 374-378.
- Instituto nacional de estadística (INE), 2002. Síntesis de resultados censo 2002. Fijación Julio del 2011. Adquirido desde: <http://www.ine.cl/cd2002/sintesis censal.pdf>.
- Jones, R. & Morita, R. (1983). Methane oxidation by *Nitrosococcus oceanus* and *Nitrosomonas europaea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, 401-410.
- Kadlec, R. & Knight, R. (1996). *Treatment Wetlands*. Lewis Publishers, New York, 893 pp.
- Kestler, P. (2004) Uso, reuso y reciclaje del agua residual en una vivienda. Tesis para optar al título de Ingeniera Civil Administrativa, Universidad Rafael Landívar, Guatemala. 64 pp.
- Lahora, A. (2003). Depuración de aguas residuales mediante humedales artificiales: la edar de Los Gallardos (Almería). En: *Ecología, manejo y conservación de los humedales*. Colección Actas, 49. Instituto de Estudios Almerienses (Diputación de Almería). Almería, 99-112.
- Lee, C., Fletcher, T. & Sun, G. (2009). Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Engineering in Life Science*, 9(1), 11-22.
- Leitão, R., Van Haandel, A., Zeeman, G. & Lettinga, G. (2006). The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresource technology*, 97(9), 1105-1118.
- Leppe, A. y Gonzalez, D. (1996). Emisario submarino como sistema de tratamiento de aguas servidas. Presentado en Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Mexico, 8 pp.
- Lettinga, G., Rebac, S. & Zeeman, G. (2001). Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in biotechnology*, 19(9), 363-370.
- Metcalf y Eddy (1995). *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización*. Editorial McGraw-Hill, Madrid, 1485 pp.
- Mendonça, S. (2000). *Sistemas de lagunas de estabilización: Como utilizar aguas residuales tratadas en sistemas de regadío*, Mc. Graw Hill, Santafé de Bogota. 370 pp.

- Morató, J. y Delgado, S. (2004). Eliminación de microorganismos en humedales construidos. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García, J., Morató, J. y Bayona, J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 39-49.
- Morato, J., Codony, F. & Mas, J. (2005). Utilization of a packed-bed biofilm reactor for the determination of the potential of biofilm accumulation in water systems. *Biofouling*, 21, 151-160.
- NESC (National Environmental Services Center) based at West Virginia University (WVU), Pennsylvania (2003). Explaining the Activated Sludge Process. *Pipeline*, 14(2), 1-8.
- Oakley, S. (2005). Lagunas de Estabilización en Honduras: Manual, diseño, construcción, operación y mantenimiento, monitoreo y sostenibilidad, Red Regional de Agua y Saneamiento de Centro América, Honduras. 247 pp.
- O'Hogain, S. (2004). The design of vertical and hybrid subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García J, Morató J y Bayona J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 71-79.
- Padilla, L. y Mondaca, M. (1995) Caracterización Microbiológica de un Emisario Submarino. Evaluación de su Eficiencia. *Memorias Técnicas XI Congreso AIDIS Chile*. 8 pp.
- Paredes, D., Kuschik, P., Mbwette, T., Strange, F. & Müller, R. (2007). New Aspects of Microbial Nitrogen Transformations in the Context of Wastewater Treatment: A review. *Engineering in Life Science*, 7(1), 13-25.
- Pastor, R., Arias, C., Fernández, M. y Guillén, G. (2004). Análisis económico de sistemas naturales para el tratamiento de efluentes industriales. En: *Nuevos Criterios para el Diseño y Operación de Humedales Construidos*. Editores: García, J., Morató, J. y Bayona, J. CPET-Centro de Publicaciones del Campus Nord, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 93-100.
- Plaza de los Reyes, C., Vera, I., Salvato, M., Borin, M. y Vidal G. (2011). Consideraciones para la eliminación de nitrógeno en humedales. *Tecnología del Agua*, 31(330), 40-49.

- Ramalho, R. (1996). Tratamiento de aguas residuales. Editorial Reverte S.A., Barcelona, 705 pp.
- Ramond, J., Welz, P., Cowan, D. & Burton, S. (2012). Microbial community structure stability, a key parameter in monitoring the development of constructed wetland mesocosms during start-up. *Research in microbiology*, 163(1), 28–35.
- Rojas, K. (2012) Puesta en marcha de un sistema piloto de humedales construidos de flujo subsuperficial para la depuración de aguas servidas rurales: Consideración de indicadores de sustentabilidad. Habilitación presentada para optar al título de Ingeniero Ambiental, Universidad de Concepción, Chile. 114 pp.
- Ruiz, G., Jeison, D. & Chamy, R. (2006). Development of denitrifying and methanogenic activities in USB reactors for the treatment of wastewater: Effect of COD/N ratio. *Process Biochemistry*, 41(6), 1338-1342.
- Salazar, P. (2005). Sistema Tohá; Una alternativa ecológica para el tratamiento de aguas residuales en sectores rurales. Tesis para optar al título de Constructor Civil, Universidad Austral, Chile. 117 pp.
- Sánchez, F. (2005). Software para diseñar sistemas de lodos activados y lagunas aireadas. *Conciencia tecnológica* 27(30), 1405-5597.
- Sawaitayothin, V. & Polprasert, C. (2007). Nitrogen mass balance and microbial analysis of constructed wetlands treating municipal landfill leachate. *Bioresource technology*, 98(3), 565–570.
- Scholz, M. & Lee, B. (2005). Constructed wetlands: A review. *International Journal of Environmental Studies*, 62(4), 421–447.
- Silva, J., Torres, P. & Madera, C. (2008). Reuso de aguas residuales domésticas en agricultura: Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 347–459.
- Soto, M., Méndez, R. & Lema, J. (1993). Methanogenic and non-methanogenic activity test. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research*, 27(8), 1361-1376.
- Søvik, A., Augustin, J., Heikkinen, K., Huttunen, J., Necki, J., Karjalainen, S., Kløve, B., Liikanen, A., Mander, U., Puustinen, M., Teiter, S. & Wachniew, P. (2006). Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *Journal of environmental Quality*, 35(1), 2360–2373.

- Stein, O. & Hook, P. (2005). Temperature, Plants, and Oxygen: How Does Season Affect Constructed Wetland Performance? *Journal of Environmental Science and Health*, 40(6), 1331–1342.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Bederski, O., Mu, R. & Moormann, H. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 22, 93–117.
- Subsecretaría de Desarrollo Regional y Administrativo (SUBDERE), (2009). Manual de soluciones de saneamiento sanitario para zonas rurales. 202 pp.
- Sundaravadivel, M. & Vigneswaran, S. (2001). Constructed wetlands for wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*, 31(4), 351-409.
- Superintendencia de servicios sanitarios (SISS), (2011). Informe anual de coberturas urbanas de servicios sanitario año 2010. Fijación Septiembre del 2011. Adquirido desde: http://www.siss.gob.cl/577/articles-8705_recurso_1.pdf.
- Tanner, C. (2001). Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands. *Water science and technology*, 44(11-12), 9–17.
- Torres-Alvarado, R., Ramírez-Vives, F., Fernández, F. & Barriga-Sosa, I. (2005). Methanogenesis and methane oxidation in wetlands. Implications in the global carbon cycle. *Hydrobiológica* 15(3), 327-349.
- Truu, M., Juhanson, J. & Truu, J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *The Science of the total environment*, 407(13), 3958–3971.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2011) .Plant Database. Disponible en: <http://plants.usda.gov/classification.html>.
- Vera, I. (2012) Análisis de funcionamiento y patrones asociativos de sistemas de tratamiento convencionales y naturales de aguas servidas para la eliminación de material orgánica y nutrientes. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción, Chile. 236 pp.
- Vera, I., García, J., Sáez, K., Moragas, L. & Vidal, G. (2011). Performance evaluation of eight years experience of constructed wetland systems in Catalonia as alternative treatment for small communities. *Ecological Engineering*, 37(2), 364–371.

- Vohla, C., Kõiv, M., Bavor, H., Chazarenc, F. & Mander, Ü. (2011). Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 37(1), 70-89.
- Von Sperling, M. (1996). Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Departamento de engenharia sanitária e ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.
- Von Sperling, M. (2007). Basic principles of wastewater treatment. IWA Publishing. London. 212 pp.
- Vymazal, J. (2004). Removal of phosphorus in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow in czech republic. *Water Air Soil and Pollution*, 4(2), 657-670.
- Vymazal, J. (2005). Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 25(5), 478-490.
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the total environment*, 380(1-3), 48-65.
- Vymazal, J. (2008). Constructed Wetlands for Wastewater Treatment : A review, Editors: Sengupta, M. and Dalwani, R. Proceedings of Taal2007: The 12th World Lake Conference. 965-980.
- Vymazal, J. (2009). The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. *Ecological Engineering*, 35(1), 1-17.
- Vymazal, J. & Kröpfelová, L. (2008). Is concentration of dissolved oxygen a good indicator of processes in filtration beds of horizontal flow constructed wetlands? In Wastewater Treatment, Plant Dynamics and Management; (Vymazal, J., ed.); Springer: Dordrecht, The Netherlands. 311-317pp.
- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., Haberl, R., Perfler, R. & Laber, J. (1998). Removal mechanisms and types of constructed wetlands. In: *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe*. Editors: Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., Green, M. & Haberl, R. Backhuys Publisher, Leiden, The Netherlands. pp 17-66.
- Wallace, S. & Knight, R. (2006). Small-scale constructed wetland treatment systems. Feasibility, design criteria, and O&M requirements. IWA Publishing. London, 150 pp.
- Westerman, P. (1993). Temperature regulation of methanogenesis in wetlands. *Chemosphere*, 26, 321-328.

- Zhu, N., An, P., Krishnakumar, B., Zhao, L., Sun, L., Mizuochi, M. & Inamori, Y. (2007). Effect of plant harvest on methane emission from two constructed wetlands designed for the treatment of wastewater. *Journal of environmental management*, 85(4), 936 – 943.