



**UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA**

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA DE BIOSISTEMAS

**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE UN SISTEMA DE HUMEDALES
ARTIFICIALES DE FLUJO SUBSUPERFICIAL VERTICAL PARA LA
OPTIMIZACIÓN DEL DISEÑO DE MODELOS DE CAJA NEGRA BAJO
CONDICIONES TROPICALES**

Trabajo Final de Graduación sometido a la consideración de la

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Como parte de los requisitos para aspirar al título de grado de
LICENCIATURA EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y DE BIOSISTEMAS

JOHEL ALBERTO VENEGAS CASTILLO

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica

2020

Trabajo Final de Graduación sometido a revisión por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Ingeniería de Biosistemas de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Costa Rica, como requisito para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agrícola y de Biosistemas



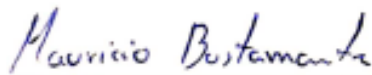
Ing. Johel Alberto Venegas Castillo, Bach.

Candidato



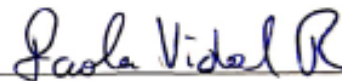
Ing. Ronald Aguilar Álvarez, Ph.D.

Director, Comité Asesor



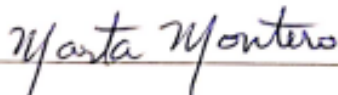
Ing. Mauricio Bustamante Román, Ph.D.

Miembro, Comité Asesor



Ing. Paola Vidal Rivera, Lic.

Miembro, Comité Asesor



Ing. Marta Montero Calderón, Ph.D.

Miembro, Tribunal Examinador



Ing. Sisgo Acuña Chinchilla, M.Sc.

Miembro, Tribunal Examinador

Dedicatoria

A mis padres, Flor y Luis.

A mi hermana, Melissa.

A mi sobrina, Camila.

Agradecimientos

A mi Familia por su gran apoyo y paciencia en todo este proceso, les agradezco de corazón los valores y la educación que me han brindado.

Al Ing. Ronald Aguilar Álvarez por confiar en mí para desarrollar el proyecto, en tan noble temática, por su ayuda incondicional y tiempo invertido. Además, por los consejos, aportes y recomendaciones que fueron claves en el desarrollo del TFG.

Al Ing. Mauricio Bustamante Román por su compromiso y disposición a colaborar en este TFG; así como sus acertados aportes y recomendaciones.

A la Ing. Paola Vidal Rivera por su gran disposición a colaborar en este TFG, por sus aportes, recomendaciones y principalmente por darme la oportunidad de trabajar en el LIA.

A Dagoberto Oviedo Meza por su colaboración y guía en el Laboratorio.

A Don Víctor Rodríguez, Diego Padilla, Ensio Pérez, David Arroyo y Ashley Hall, por su tiempo y colaboración en las diferentes etapas en las que participaron en el TFG.

A la Escuela de Ingeniería de Biosistemas, Administrativos y Docentes, por su apoyo en los diferentes requerimientos del TFG y durante mis años de estudio.

Al Centro de Investigación Agronómicas por su colaboración en las pruebas de laboratorio.

A todas esas personas que fueron un apoyo fundamental y estuvieron presentes durante las diferentes etapas en mi tiempo de universidad.

A la Universidad de Costa Rica y al sistema de becas, por hacer posible mi educación superior.

A Dios por enseñarme que todo tiene su tiempo y su propósito.

RESUMEN

A nivel mundial, el 56% de las extracciones de agua dulce son consideradas aguas residuales, de las cuales el 80% son liberadas al ambiente sin ningún tratamiento, provocando el deterioro de los ecosistemas y de la salud pública [1]. Los humedales artificiales son una alternativa accesible para el tratamiento de las aguas residuales y deben ser diseñados bajo parámetros asociados a la temperatura de la zona donde se implementarán. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es establecer los parámetros de diseño de un sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical (HFSSV) a escala de laboratorio bajo tres tratamientos mediante los modelos de caja negra de remoción de contaminantes en aguas residuales ordinarias para su optimización en zonas tropicales.

El estudio se elaboró utilizando nueve HFSSV, tres por cada tratamiento (*Neomarica gracilis* (lirio), *Heliconia psittacorum* (heliconia) y control (sin plantas)). El sustrato de los humedales está compuesto por 3 capas de distinto espesor, de forma descendente: granito de río (0,1 m), piedra cuarta de origen volcánico (0,18 m) y piedra canto rodado (0,07 m). Además se establecieron los siguientes criterios de operación: 0,32 m² de área, 0,35 m de profundidad, 3,22 g DQO/m²/d de carga orgánica, 3 l/d de caudal, 12,3% de porosidad promedio del sustrato, 9,31 mm/d de carga hidráulica y un tiempo de retención hidráulica de 2,1 días.

El objetivo específico 1 consistió en estudiar el crecimiento y retención de nutrientes por parte de las plantas, donde se obtuvo un aumento en el número de hojas y de longitud de lámina foliar para las plantas madre del lirio, a diferencia de las heliconias que presentaron

una disminución debido al marchitamiento en sus tejidos. Los lirios y las heliconias presentaron un total de 38 y 46 retoños, respectivamente, con un crecimiento adecuado en la cantidad de hojas y de longitud de lámina foliar. La longitud de raíz y la masa fue analizada para el conjunto planta madre-retoño; siendo la heliconia la de mayor crecimiento (26,3 cm y 158,8 g) en comparación al lirio (25,1 cm y 50,6 g). Además la heliconia obtuvo las mayores tasas de absorción de C, N y P, lo cual es acorde a los resultados obtenidos en el balance de masa, donde se determinó que del 100% de masa de los contaminantes presentes en las aguas residuales, la heliconia retiene 6,29% C, 1,10% N y 1,16% P; y el lirio 4,19% C, 0,72% N y 0,67% P.

El objetivo específico 2 consistió en evaluar las eficiencias de remoción de contaminantes en los HFSSV, como resultado se obtuvieron los siguientes porcentajes de remoción: 77,1-86,7% DBO₅, 35,4-38,4% DQO, 98,6-98,8% PO₄-P, 24,9-27,7% SF, 49,6-63,4% SST, 94,7-98,4% CF y CT 89,8-94,1% CT; siendo las concentraciones significativamente diferentes entre el afluente y los efluentes. La disminución de la turbiedad fue significativamente más eficiente en los humedales con lirio (99,6%) con respecto a la heliconia (99,5%) y el control (99,5%).

El objetivo específico 3 consistió en determinar las constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área (k) mediante los modelos de flujo de tapón y flujo de tapón modificado. Las k están relacionadas con la eficiencia de remoción de contaminantes, por lo que las mayores k se presentan para los parámetros de DBO₅ (0,168-0,207 m/d), PO₄-P (0,337-0,342 m/d), CF (0,262-0,316 m/d) y CT (0,204-0,240 m/d).

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE CUADROS	xi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	12
1.1. Justificación	12
1.2. Planteamiento del problema	20
1.3. Objetivos del proyecto	21
1.3.1. Objetivo general	21
1.3.2. Objetivos específicos	21
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Servicios ecosistémicos y biorremediación	22
2.2. Humedales artificiales	23
2.3. Ventajas y desventajas de los humedales artificiales	25
2.4. Sustrato y vegetación en los humedales artificiales	27
2.5. Parámetros de caracterización para aguas residuales y sus mecanismos de remoción	32
2.6. Modelos de caja negra	40
2.7. Constante de velocidad de remoción de primer orden en función del área	42
2.8. Normativa nacional	43
2.9. Investigaciones referentes a humedales artificiales	46
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	48
3.1. Descripción del sistema	48
3.1.1. Sustrato	49

3.1.2. Sistema de drenaje	52
3.1.3. Diseño experimental	53
3.1.4. Vegetación	54
3.1.5. Operación del sistema	55
3.2. Estudio del crecimiento de las plantas	58
3.3. Estudio sobre la retención de nutrientes por parte de las plantas	60
3.4. Balance de masa	61
3.5. Medición de parámetros de calidad de agua	63
3.6. Remoción de contaminantes	64
3.7. Estadística	65
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
4.1. Crecimiento y retención de nutrientes en las plantas	66
4.1.1. Crecimiento de las plantas madre	66
4.1.2. Crecimiento de los retoños	70
4.1.3. Floración	71
4.1.4. Crecimiento de la lámina foliar durante el periodo de experimentación	72
4.1.5. Absorción de nutrientes en las plantas y balance de masa	74
4.2. Evaluación de la eficiencia del sistema de humedales artificiales	80
4.3. Constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área (<i>k</i>) 95	
CONCLUSIONES	101
RECOMENDACIONES	104
LIMITACIONES	105
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
ANEXOS	116

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HA	Humedal Artificial
HFS	Humedal de Flujo Superficial
HFSSH	Humedal de Flujo Subsuperficial Horizontal
HFSSV	Humedal de Flujo Subsuperficial Vertical
TRH	Tiempo de Retención Hidráulica
AR	Agua Residual
DBO₅	Demanda Biológica de Oxígeno (5 días a 20°C)
DQO	Demanda Química de Oxígeno
NH₃-N	Nitrógeno amoniacal
NO₂-N	Nitrito
NO₃-N	Nitrato
NT	Nitrógeno total
PO₄-P	Fósforo
ST	Sólidos Totales
SF	Sólidos Fijos
SV	Sólidos Volátiles
S. Filtra.	Sólidos Filtrables
SST	Sólidos Suspendidos Totales
S. Sedim.	Sólidos Sedimentables
SDT	Sólidos Disueltos Totales
CF	Coliformes Fecales
CT	Coliformes Totales
OD	Oxígeno Disuelto

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de humedales artificiales de tipo Flujo Superficial (A), Flujo Subsuperficial Horizontal (B) y Flujo Subsuperficial Vertical (C)	25
Figura 2. Sistema de HFSSV a escala de laboratorio	49
Figura 3. Sustratos que conforman el lecho del humedal artificial, canto rodado (izquierda), piedra volcánica (centro) y granito de río (derecha)	51
Figura 4. Sistema de drenaje perforado para extracción de muestra	52
Figura 5. Sistema experimental de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical al inicio del estudio	53
Figura 6. Lirio (<i>Neomarica gracilis</i>) y heliconia (<i>Heliconia psittacorum</i>), respectivamente	54
Figura 7. Sistema de PVC para la aplicación del riego con aguas residuales.....	57
Figura 8. Aspecto inicial de las plantas heliconia (izquierda) y lirio (derecha), previo a la fase experimental.....	59
Figura 9. Diagrama del balance de masa del carbono (DQO, DBO ₅ y SV), nitrógeno total (NT) y fósforo (PO ₄ -P) para los HFSSV	62
Figura 10. Cambio en la fisiología de las plantas estudiadas entre la semana inicial (A) y final (B), en Lirio (1) y Heliconia (2), respectivamente.....	69
Figura 11. Comportamiento de la lámina foliar de las plantas madre de lirio y heliconia con respecto al tiempo de estudio, desde la semana 0 a la semana 16	73
Figura 12. Comportamiento de la lámina foliar de los retoños de lirio y heliconia con respecto al tiempo de estudio, desde la semana 0 a la semana 16	74
Figura 13. Comparación de la turbidez entre el afluente (AR) y los efluentes del sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical en la semana 0	93

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis obligatorio de aguas residuales vertidas en alcantarillado sanitario y en un cuerpo receptor	44
Cuadro 2. Parámetros físicos promedio de las plantas madre en la semana 0, semana 16 y la diferencia entre las semanas (Δ). Número de hojas, longitud de lámina foliar, largo de raíz y masa (n = 15)	67
Cuadro 3. Parámetros físicos promedio de los retoños en la semana 0 y semana 16. Número de retoños, número de hojas y longitud de lámina foliar (n _{lirio} = 38 y n _{heliconia} = 46) y longitud de tallo (n = 46).....	70
Cuadro 4. Registro de floración para las plantas madre y retoños, para el lirio y la heliconia	71
Cuadro 5. Tasas de absorción de carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P), de las plantas lirio y heliconia, a partir de la ganancia de masa seca entre la semana 0 y la semana 16.....	75
Cuadro 6. Balance de masa (g) en los humedales artificiales con lirio	76
Cuadro 7. Balance de masa (g) en los humedales artificiales con heliconia	76
Cuadro 8. Balance de masa (g) en los humedales artificiales control	76
Cuadro 9. Concentración de contaminantes (mg/l) y eficiencias de remoción (% , valores entre paréntesis) en los humedales artificiales a escala de laboratorio, (Prom. \pm Desv. Est.), AR (n = 15), Lirio/Heliconia/Control (n = 45).....	81
Cuadro 10. Cumplimiento de límites máximos para los diferentes tipos de reúso de agua, (Prom. \pm Desv. Est.).....	83
Cuadro 11. Constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área para HFSSV.....	96

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Justificación

La comprensión del problema se desarrolla desde una perspectiva global hasta llegar a la esencia del estudio. Inicialmente se abarca la temática de la importancia a nivel global del recurso hídrico en las diferentes actividades antropogénicas, para luego estudiar la situación con respecto a la disposición de estas aguas después de su uso. Seguidamente se analiza la situación de Costa Rica respecto al tratamiento de aguas residuales, con el fin de enfocar una solución alternativa mediante la bioingeniería. Finalmente, se brinda la importancia del conocimiento de parámetros de diseño para la optimización de humedales artificiales en el trópico.

La gestión adecuada del recurso hídrico es de gran importancia en la actualidad debido al aumento en la demanda generada por el crecimiento demográfico, aumento de la producción mundial de alimentos y efectos generados por el cambio climático. En el 2017, la población mundial fue de 7700 millones de personas y se espera un aumento importante para el 2050 de aproximadamente 10200 millones de personas. Lo anterior está estrictamente relacionado con la demanda del agua, actualmente es de 4600 km³/año y para el año 2050 se espera un incremento entre un 20-30%; por lo tanto la demanda hídrica aumentará entre 5500 a 6000 km³/año. El hecho de que aumente la demanda no significa que la oferta también lo haga, ya que se pronostican cambios en los patrones de precipitación en el futuro, lo que generaría sequías en muchas partes del mundo, haciendo que entre 4800 a 5700 millones de

personas sufran escasez de agua al menos un mes al año para el 2050, por lo que se deben buscar alternativas para administrar y cuidar el agua. [2]

La agricultura es otro factor que posee un mayor porcentaje en el consumo de agua fresca. Estimaciones indican que la agricultura consume el 70% de las extracciones de agua fresca a nivel mundial, en su mayoría destinadas para el riego de los cultivos. Unido a esto se encuentra el aumento del 60% en la demanda de alimentos, lo que promueve la expansión de terrenos destinados a la producción agrícola, interfiriendo en las zonas de recarga acuífera y en su biodiversidad. [2]

La industria tiene un papel importante en cuanto al uso del agua. La industria requiere del 20% de las extracciones de este líquido a nivel mundial, del cual el 75% se utiliza para generación eléctrica y el 25% para producción en general. El agua, la energía y la alimentación son tres factores que se interrelacionan de forma importante. Para el 2025 se estima un aumento del 60% y el 80%, en el uso de agua para la producción de alimento y electricidad, respectivamente. [2]

A nivel mundial el tratamiento de aguas residuales es un tema poco alentador, ya que gran porcentaje de estas aguas no se tratan e inclusive son pocos los datos de generación, recolección y tratamiento de aguas que poseen las entidades internacionales. El 56% de las extracciones de agua dulce son consideradas aguas residuales municipales, industriales y de drenaje agrícola. De este porcentaje cerca del 80% de las aguas residuales generadas se liberan al medio ambiente sin un tratamiento adecuado, lo que ocasiona un deterioro

considerable a la calidad del agua y genera afectaciones importantes en la salud humana y de los ecosistemas. [1]

El tratamiento de las aguas residuales está en función del poder económico de los países y de su compromiso con el ambiente y la salud pública. Los países con altos ingresos tratan alrededor del 70% de sus aguas residuales, mientras que los de ingresos medios-altos realizan un tratamiento del 38%. Por otro lado, los países de ingresos medios-bajos tratan el 28% de sus aguas residuales municipales e industriales. En cuanto a los países con un ingreso bajo, solamente tratan el 8% de sus aguas residuales. [1]

La situación en Costa Rica respecto a la temática del tratamiento de aguas residuales ha presentado un rezago por décadas. El país centró sus esfuerzos en brindar el servicio de agua potable, prestándole menor importancia al saneamiento. Esto ha generado un deterioro en la calidad del agua de quebradas, ríos y zonas costeras, disminuyendo la calidad ambiental y afectando la salud pública de las comunidades aledañas a estos afluentes. [3]

En el periodo 2014-2015, el Ministerio de Salud de Costa Rica reportó un total de 912 plantas de tratamiento en condominios y urbanizaciones privadas; y 29 plantas de tratamiento de índole público. Para el 2015, se calculó que la producción de aguas residuales ordinarias en el país fue de 966.455 m³/d y solo recibieron tratamiento 139.498,29 m³/d, por lo que solo el 14,43% de las aguas residuales ordinarias son tratadas, excluyendo las aguas residuales industriales [4].

Según datos del 2015, el 70% de las aguas residuales son tratadas mediante tanques sépticos, siendo esta la solución más popular y de gran aceptación por los costarricenses. Además, se contabiliza que el 13,4% de las aguas van directo al alcantarillado sin pasar por ninguna planta de tratamiento, un 8% llega a una planta de tratamiento pública, 6,4% se trata en plantas de tratamiento privadas, el 1,6% se coloca en letrinas, un 0,5% no tiene sanitario y 0,1% utilizan otro sistema. [3]

Actualmente, el país está tomando medidas con respecto a la temática del saneamiento por medio de la Política Nacional de Saneamiento de Aguas Residuales (PNSAR) como ruta para el cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas. La política cuenta con un plan de inversión de \$6.200 millones que debe implementarse en el período del año 2017 al 2045 impactando a zonas urbanas, rurales y costeras. El avance más importante es en el Proyecto de Mejoramiento Ambiental del Área Metropolitana de San José, mediante “la conclusión de la planta de tratamiento de aguas residuales Los Tajos, la construcción del primer túnel urbano y emisario, y el inicio de la instalación de la red de alcantarillado sanitario” [3]. Lo anterior permitió pasar de una cobertura de captación de aguas residuales de 4,2% en 2014 a un 14,4% en 2017.

Además, Costa Rica ha invertido en la investigación de soluciones alternativas a través del trabajo conjunto entre la Asociación Centroamericana para la Economía, la Salud y el Ambiente (ACEPESA), las universidades públicas y organizaciones internacionales. Esta asociación ha instalado cerca de 100 biojardineras (humedal artificial) de las cuales cada diseño es particular debido a que se han instalado en casas, empresas, museos y hoteles.

También en el mercado costarricense se encuentran empresas privadas como Grupo PROAMSA, BioTratar, Bionest S.A. y Desarrollos Naturales para el Ambiente S.A., que se han abierto paso en la implementación de soluciones alternativas en el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales. [5]

Dentro de las soluciones alternativas para la problemática del agua en el trópico se encuentran los humedales artificiales, estos son un sistema biológico de tratamiento de aguas residuales en donde su proceso se da básicamente por degradación de los contaminantes por medio de microorganismos y plantas. La construcción de estos sistemas es de bajo costo y su operación es simple, en comparación con los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales. Además, es potencialmente eficiente en la remoción de contaminantes. [6]

Inicialmente los humedales artificiales fueron desarrollados, implementados y estudiados en zonas de climas templados. Estudios han determinado que los rendimientos de los humedales artificiales en climas templados varían según las estaciones, donde los cambios drásticos de temperatura provocan fluctuaciones en las eficiencias de remoción de contaminantes. La eficiencia de remoción depende de la actividad metabólica de los microorganismos que consumen y transforman los contaminantes de las aguas residuales. Los microorganismos poseen tasas máximas de crecimiento a temperaturas más elevadas y por lo tanto las eficiencias de los humedales artificiales son mayores. Por el contrario, al descender las temperaturas también lo hace la actividad microbiológica, por lo que las eficiencias de remoción disminuyen. [6]

La implementación de humedales artificiales en los trópicos ha mostrado mejores resultados en comparación con los desarrollados en climas templados, debido a las temperaturas cálidas y estables durante el año [6–9]. La ventaja de implementar estos sistemas en los trópicos es que no se presentan temperaturas invernales como en las zonas templadas, por lo que la actividad microbiológica no disminuye drásticamente. Además, es importante tener en cuenta que las lluvias tropicales tienen un efecto de dilución, por lo que las concentraciones de los contaminantes en los efluentes tienden a disminuir, mejorando los rendimientos de los humedales artificiales. Se debe tener claridad que esta mejoría no se da por el propio humedal sino por un agente externo, tal como se explicó. [6]

Existen varios tipos de humedales artificiales, los de flujo superficial (HFS), los de flujo subsuperficial horizontal (HFSSH) y los de flujo subsuperficial vertical (HFSSV). Según investigaciones los HFSSV son más eficientes en la remoción de contaminantes de las aguas residuales y requieren de menor área superficial. Los HFSSV son sistemas en donde el flujo puede atravesar el sustrato de forma ascendente o descendente, y de forma continua o intermitente. Los HFSSV de flujo intermitente son más efectivos en comparación a los de flujo continuo, ya que se maximiza el intercambio de oxígeno entre el sustrato y la atmósfera, potenciando los procesos de oxidación química de los contaminantes. [10]

Los HFSSV de flujo descendente son dosificados intermitentemente con aguas residuales por la parte superior del sustrato. Conforme el agua contaminada atraviesa el sustrato se va depurando por medio de procesos físicos (filtración, adsorción y absorción) por parte del sustrato y de las raíces de las plantas; también por procesos bioquímicos generados por la

actividad metabólica de los microorganismos. La dinámica explicada anteriormente hace que los HFSSV de flujo descendente intermitente promueven una mayor remoción de materia orgánica y sólidos suspendidos. [6]

El diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales es comúnmente elaborado mediante modelos matemáticos de caja negra que describen la eliminación de contaminantes como por ejemplo el flujo de tapón y el flujo de tapón modificado ($k-C^*$). El diseño mediante estos modelos se realiza utilizando parámetros iniciales, tales como la concentración de contaminantes de entrada, conductividad hidráulica o tasa de retención hidráulica y constantes de velocidad de remoción de primer orden basada en el área (k). [6]

Estas constantes de remoción han sido determinadas en múltiples humedales artificiales en zonas templadas, generando un banco de datos de diseño para estas zonas. Esta constante indica la velocidad de eliminación de contaminantes en el agua, debido a procesos biológicos y fisicoquímicos. La constante k depende de factores ambientales como la temperatura y la humedad; los cuales están relacionados con la zona en donde se construya el humedal artificial [6]. Por lo tanto, es necesario determinar estos parámetros de diseño para los trópicos, con el fin de optimizar las áreas que requieren los humedales artificiales.

La agricultura utiliza cerca del 70% de las extracciones de agua dulce para su desarrollo y el 80% de las aguas residuales municipales, industriales y agrícolas no reciben ningún tratamiento antes de verter estas aguas a cuerpos receptores. Por lo que el impacto de las actividades agrícolas en el recurso hídrico es considerable y esto se da mediante el arrastre

por escorrentía de los agroquímicos presentes en los campos y por la materia fecal generada en la producción animal.

Comprender la importancia del recurso hídrico y su condición de escasez en el futuro, hace que la Ingeniería Agrícola y de Biosistemas potencie su relevancia mediante la búsqueda de soluciones y mejoras a sistemas ingenieriles para el tratamiento de aguas residuales de distintos orígenes. Esta investigación contribuye en la meta país del cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas, específicamente del objetivo 6, el cual busca “Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos” [11].

Además, participa en el cumplimiento de algunas metas del objetivo 6 como por ejemplo la meta 6.2, que busca “lograr el acceso a servicios de saneamiento e higiene adecuados y equitativos para todos”. La meta 6.3, que busca “mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, eliminando el vertimiento y minimizando la emisión de productos químicos y materiales peligrosos, reduciendo a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar y aumentando considerablemente el reciclado y la reutilización sin riesgos a nivel mundial”; y la meta 6.6 que busca “proteger y restablecer los ecosistemas relacionados con el agua, incluidos los bosques, las montañas, los humedales, los ríos, los acuíferos y los lagos”. [11]

1.2. Planteamiento del problema

El desarrollo de los humedales artificiales como alternativa para el tratamiento de aguas residuales inició en 1952 en el Instituto Max Planck al oeste de Alemania, mientras que en el hemisferio oeste en la década de 1970 [10]. La mayor parte de los estudios desde sus inicios se han generado en las zonas templadas, en donde se han utilizado modelos de caja negra para el diseño de los humedales artificiales. Los modelos de caja negra dependen de la constante de velocidad de remoción de primer orden (k), que describe los procesos biológicos, físicos y químicos que se desarrollaron dentro del humedal, bajo las condiciones climáticas de esas regiones.

La literatura menciona que no es recomendable visualizar los parámetros de diseño como universales debido a que son influenciados por las condiciones climáticas y de operación de los humedales [10]. Por lo que el uso de parámetros determinados en zonas templadas no es la mejor práctica para el diseño de humedales artificiales en los trópicos, ya que normalmente se reportan los valores para los meses más fríos [6]. Las zonas tropicales son caracterizadas por presentar temperaturas más elevadas y relativamente constantes a lo largo del año que en zonas templadas, favoreciendo los procesos de remoción de los contaminantes debido al aumento en la actividad microbiana a temperaturas mayores de 20°C [12,13]. Por lo tanto, en este trabajo se determinarán los parámetros de los modelos de caja negra (flujo tapón y flujo tapón modificado $k-C^*$) para el ajuste en los diseños en zonas tropicales para el caso de Costa Rica.

1.3. Objetivos del proyecto

1.3.1. Objetivo general: Establecer los parámetros de diseño de un sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical a escala de laboratorio bajo tres tratamientos mediante los modelos de caja negra de remoción de contaminantes en aguas residuales ordinarias para su optimización en zonas tropicales.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Estudiar el crecimiento y retención de nutrientes por parte de las plantas lirio (*Neomarica gracilis*) y heliconia (*Heliconia psittacorum*) como fitorremediación de aguas residuales ordinarias.

2. Evaluar la eficiencia del sistema de humedales artificiales como biorremediación de aguas residuales ordinarias mediante tres tratamientos: lirio (*Neomarica gracilis*), heliconia (*Heliconia psittacorum*) y control.

3. Determinar las constantes de remoción de los modelos de caja negra del sistema de humedales artificiales para la optimización de diseños futuros en los trópicos mediante los tratamientos: lirio (*Neomarica gracilis*), heliconia (*Heliconia psittacorum*) y control.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. Servicios ecosistémicos y biorremediación

Las nuevas tecnologías ambientales surgieron a partir de la observación y comprensión de los procesos naturales. El uso de sistemas naturales para beneficio del ser humano e intrínsecamente para la naturaleza, se denomina servicio ecosistémico. Los servicios ecosistémicos se definen como el conjunto de beneficios que genera un ecosistema a una población y existen diferentes tipos de servicios, dentro de los cuales cabe destacar el de tipo regulación. El servicio de regulación considera múltiples procesos ecosistémicos complejos para la regulación de las condiciones del ambiente en el que los seres humanos se desarrollan, por ejemplo, la regulación climática, la regulación de vectores de enfermedades y la depuración de aguas, tal como ocurre con los humedales naturales [14].

De esta manera surge el concepto de biorremediación, el cual implementa la ingeniería en sistemas biológicos para la transformación de compuestos químicos tóxicos en otros más tolerables para la naturaleza [15] . Estas tecnologías se basan en el consumo de sustancias orgánicas e inorgánicas por parte de microorganismos, los cuales utilizan el carbono como fuente de crecimiento y de energía para sus funciones metabólicas. [16]

Existen varios tipos de biorremediación, dentro de los que se pueden citar fitorremediación y biorremediación microbiana. La primera se refiere a la implementación de plantas para contener o remover compuestos orgánicos y metales pesados; mientras que la segunda utiliza

microorganismos como bacterias, hongos y algas para mineralizar los contaminantes en compuestos menos nocivos. [16]

2.2. Humedales artificiales

Los humedales artificiales (HA) son tecnologías ecológicas y sostenibles diseñadas para optimizar los procesos que se desarrollan en humedales naturales en el tratamiento de aguas contaminadas [17]. La remoción de contaminantes se da por medio de procesos fisicoquímicos y bacteriológicos, potenciados por la transferencia de oxígeno a través de las plantas (fitorremediación) y la formación de bacterias en el sustrato (biorremediación microbiana) [12,18]. Los humedales artificiales pueden tratar aguas residuales de diferentes orígenes, por ejemplo, domésticas, municipales e industriales. Dentro de las aguas industriales se destacan las provenientes de la industria textil, minera, láctea y agrícola. Además, se han tratado lixiviados de vertederos, escorrentía de aguas pluviales urbanas y escorrentía agrícola. [19]

Los humedales artificiales presentan varios tipos de diseño, que están diferenciados según los patrones de flujo, sustratos y plantas [10,19]. Según la dirección del flujo de las aguas, los HA se clasifican en superficiales y subsuperficiales, estos últimos se subdividen en horizontales y verticales (Figura 1):

- **Humedales de Flujo Superficial (HFS):** Son sistemas generalmente utilizados en tratamientos terciarios. Las aguas se encuentran expuestas a la atmósfera, requieren

de grandes áreas superficiales y generalmente tienen profundidades entre 0,1 y 0,6 m. Poseen un fondo impermeable, usualmente una geomembrana artificial o un suelo impermeable con arcilla, para evitar la infiltración del agua hacia mantos acuíferos. En estos humedales es común observar plantas flotantes, sumergidas o emergentes (Figura 1A). [17–19]

- Humedales de Flujo Subsuperficial Horizontal (HFSSH): Son sistemas utilizados para el tratamiento secundario o terciario. Están compuestos por un lecho de grava y vegetación emergente apta para condiciones variables de oxígeno disuelto y saturación en el sustrato. El flujo del agua se da bajo la superficie del lecho de forma horizontal desde la entrada hasta la salida, por lo que principalmente ocurren procesos de degradación anaeróbica (Figura 1B). [10,17,19]
- Humedales de Flujo Subsuperficial Vertical (HFSSV): Son sistemas utilizados en tratamiento secundario o terciario. Están conformados por un lecho de grava o arena, y vegetación emergente. El flujo de agua es distribuido a través del lecho de forma vertical, ya sea ascendente, descendente o ambos. Generalmente son sistemas alimentados por pulsos, por lo que entre cada uno de ellos se da una dinámica de aireación de poros, por lo que los principales procesos de degradación son aeróbicos (Figura 1C). [10,17,19]

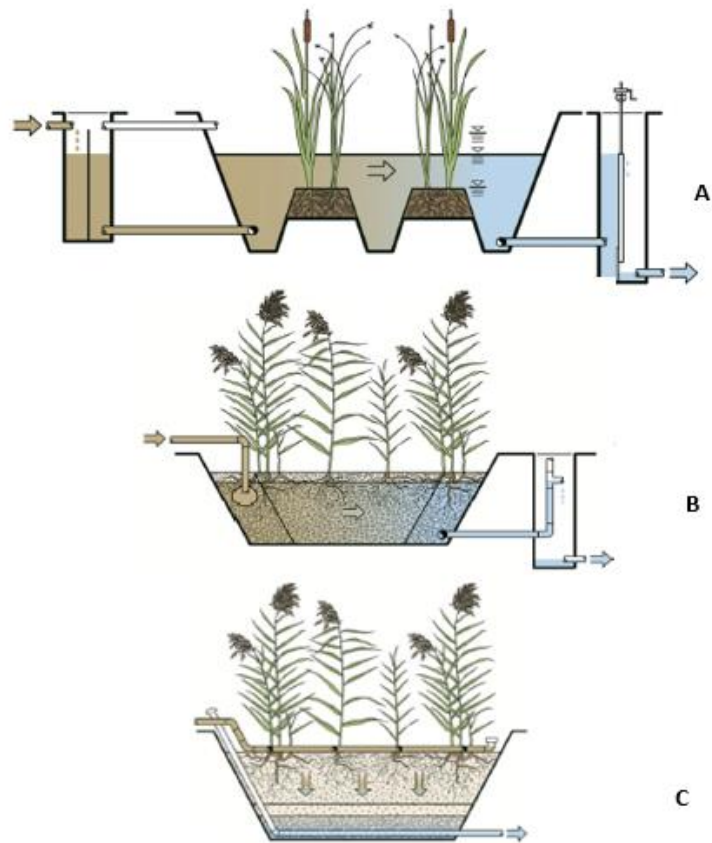


Figura 1. Esquema general de humedales artificiales de tipo Flujo Superficial (A), Flujo Subsuperficial Horizontal (B) y Flujo Subsuperficial Vertical (C). [17]

2.3. Ventajas y desventajas de los humedales artificiales

Los sistemas de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales son una tecnología versátil y atractiva, con el fin de disminuir el deterioro del recurso hídrico a partir de actividades humanas. Para la implementación de humedales artificiales se debe tomar en cuenta una serie de ventajas y desventajas en contraste con los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales [17,19–21]:

Ventajas:

- Bajos requisitos de operación y mantenimiento.
- Bajos costos de construcción.
- No requiere de personal altamente especializado.
- Consumo energético nulo si se diseñan por gravedad.
- Poca producción de lodos que requieran tratamiento.
- El rendimiento es menos susceptible a las variaciones de concentraciones de contaminantes entrantes.
- Eficientes en la remoción de demanda química de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO), sólidos suspendidos totales (SST), metales y patógenos.
- Los humedales de flujo subsuperficial no generan malos olores, ni mosquitos.
- Son capaces de remover nitrógeno (N) y fósforo (P), con mayores tiempos de retención.
- Pueden tratar aguas residuales primarias, secundarias o terciarias; de origen doméstico, agrícola e industrial.
- Aprovechamiento del material vegetal plantado.
- Perfecta integración ambiental.

Desventajas:

- Requiere áreas mayores que los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales.
- La puesta en marcha de los sistemas puede tardar varios meses.

- Compuestos como el P, metales y algunos orgánicos, se acumulan con el tiempo en el sedimento.
- Requieren un caudal mínimo para satisfacer las necesidades hídricas de la vegetación plantada.
- La inadecuada elección del sustrato para las diferentes capas puede provocar colmatación.
- Requiere una etapa inicial de separación de sólidos gruesos.
- En climas fríos las bajas temperaturas invernales afectan la eficiencia de remoción.
- No son capaces de remover por completo los contaminantes y patógenos.

2.4. Sustrato y vegetación en los humedales artificiales

El sustrato es un componente fundamental en los humedales artificiales. Dentro de las funciones que desempeña en el sistema es de darle soporte a la vegetación, filtrar y drenar las aguas residuales, promover los procesos de adsorción y transformación de contaminantes, y aportar una superficie para la fijación de los microorganismos a través de la formación de la biopelícula. [19]

El tiempo de contacto del agua con el sustrato es menor en los humedales artificiales de flujo vertical descendente, por lo que se han implementado el uso de diversos materiales con altos contenidos de aluminio, hierro, calcio y magnesio, para mejorar principalmente la remoción de fósforo. Los materiales utilizados como sustrato en los humedales artificiales incluyen rocas naturales (ígneas, dolomita, zeolita, bauxita, grava, vermiculita piedra caliza, arenas),

materiales artificiales (carbón activado) o subproductos industriales (cenizas, mineral de hierro, carbón vegetal). Por lo que la selección del sustrato es de gran importancia, ya que interviene en la eficiencia operativa del tratamiento de las aguas residuales en los humedales artificiales. [19,22]

La vegetación es un componente importante en los humedales artificiales y son muchas las especies adaptadas para crecer en condiciones de humedad como las que se presentan en los humedales. Sin embargo, en relación con los humedales artificiales, se ha estudiado una fracción reducida de especies vegetales. Usualmente estas plantas deben tolerar concentraciones altas de nutrientes, suelos saturados y condiciones anaeróbicas. Además, se recomienda que la planta pueda propagarse por medio de rizomas y que sean plantas nativas de la región, para así garantizar su sobrevivencia. [10]

Las macrófitas emergentes son las plantas más utilizadas en el diseño de humedales artificiales para tratamiento de aguas residuales. Estas plantas tienen la capacidad de sobrevivir en medios inundados o medianamente saturados, debido al transporte de oxígeno desde sus hojas hasta las raíces, con el fin de desintoxicar el área radicular. Las plantas más comunes utilizadas en los humedales artificiales son: *Cyperus papyrus*, *Miscanthidium violaceum*, *Phragmites australis*, *Typha latifolia*, *Scirpus spp.*, *Canna indica*, *Iris graminea*, *Heliconia psittacorum*, entre otras. [19,20,23]

Numerosos estudios han determinado la extracción de nutrientes por parte de las plantas en los humedales artificiales y se ha llegado a la conclusión de que el proceso más importante es el ciclo biogeoquímico completo. Ya que el efecto de absorción por parte de las plantas es

mínimo en los humedales artificiales de flujo subsuperficial [10]. Los mecanismos de eliminación de contaminantes por parte de las plantas en los humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical están relacionados principalmente con procesos físicos [17]. Los mecanismos de tratamiento por parte de las plantas se mencionan a continuación [10,17,19,24]:

- Estabilización del sustrato mediante el sistema radicular.
- El sistema radicular aumenta el área superficial para el crecimiento de microorganismos.
- El crecimiento radicular permite mantener las propiedades hidráulicas del sustrato.
- Desintoxicación del área cercana a las raíces por medio de los exudados químicos de las plantas.
- Adición de especies de hongos al introducir las plantas a los humedales artificiales.
- Introducción de bacterias simbióticas por parte del sistema radicular de las plantas.
- Absorción de los contaminantes del agua a través de las raíces y que son incorporados en los tejidos de las plantas. Posteriormente se requiere cosechar estas plantas para evitar el reintegro de estos contaminantes a los humedales artificiales.
- Oxigenación del sustrato por medio del sistema radicular, pero en menor proporción al que se integra al sustrato desde la atmósfera.

El uso de especies vegetales de tipo ornamental en los humedales artificiales permite mejorar la apariencia estética de estos sistemas de tratamiento de aguas residuales y por lo tanto la aceptación del público [25]. Zurita *et al.* [26], señala la riqueza en biodiversidad de especies

vegetales no convencionales presentes en los países de zonas tropicales y su potencial uso como plantas emergentes en los tratamientos de aguas residuales por medio de humedales artificiales. Esta investigación se enfoca en dos especies tropicales presentes en Costa Rica [27], la *Neomarica gracilis* o llamada comúnmente lirio caminante y la *Heliconia psittacorum*, conocida como avecilla.

La *Neomarica gracilis* es una planta herbácea, perenne y con una altura entre 25-45 cm. Posee rizomas con raíces de tipo fasciculadas, las cuales son abundantes, largas y delgadas. Las hojas son largas (30-60 cm) y aplanadas en forma de espada, con un ancho entre 1 a 1,5 cm, de un color verde oscuro. Las hojas crecen directamente del rizoma formando una densa masa. Además, genera un tallo similar a una hoja de donde emerge la floración, la cual tiene pétalos exteriores blancos, pétalos interiores de color morado y manchas café-amarillentas en su interior. [28]

La planta *Neomarica gracilis* no ha sido implementada en el tratamiento de aguas residuales mediante humedales artificiales, pero si se han utilizado especies que pertenecen a la misma familia (Iridaceae). La *Iris sibirica* fue evaluada en un estudio donde se utilizaron humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical a escala de laboratorio para el tratamiento de aguas contaminadas, simulando las aguas de un río contaminado. La absorción de nutrientes por parte de las plantas fue entre el 19,86-50,19% de la remoción de nitrógeno y entre el 13,19-22,32% de la remoción de fósforo. Además las eficiencias de remoción de los humedales con *Iris sibirica* para DQO, nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) fue de 39,3%, 45,8% y 57,7%, respectivamente [29]. La especie *Iris pseudacorus* fue utilizada en un estudio donde

se tratan las aguas residuales domésticas en Irlanda mediante un humedal de flujo subsuperficial horizontal, mostrando eficiencias de remoción de 30% para NT y 28% en PT [30].

La *Heliconia psittacorum* se caracteriza por crecer entre 0,8 a 1,5 m de altura. Además, es de tipo herbácea, perenne, rizomatosa, con fuertes y largas raíces fibrosas. Posee un pseudotallo aéreo formado por las bases de las hojas con un diámetro cercano a los 2,5 cm. Las hojas son de un verde intenso, conformadas por un pecíolo largo (cerca de 25 cm) y una lámina foliar elíptica de un largo entre 35 a 55 cm, y un ancho de 4 a 15 cm. La inflorescencia está constituida por un pedúnculo largo (15-55 cm), una espiga erecta de color naranja de entre 6 a 12 cm que contiene una estructura modificada en forma de hoja llamada brácteas de color rojizo, las cuales contienen las flores. [31,32]

La especie *Heliconia psittacorum* ha sido evaluada en gran variedad de estudios referentes a la remoción de contaminantes mediante humedales artificiales. Un estudio realizado en el trópico mediante la implementación de humedales subsuperficiales horizontales a escala piloto obtuvo que los humedales con heliconia remueven entre el 42-79% de DQO, 88-97% SST (sólidos suspendidos totales), 4-14% NT y 6-13% PT [25]. Una revisión de diferentes estudios que utilizan plantas ornamentales en humedales artificiales muestra los siguientes resultados para la heliconia [30]: en Brasil para el tratamiento de aguas residuales domésticas se obtuvieron porcentajes de remoción de 88% en SST, 95% en DQO y 95% en DBO; en Colombia para el tratamiento de aguas residuales domésticas se obtuvo 70% en DQO y

57% en NH_3 (Amoniaco); en México para el tratamiento de aguas residuales del proceso de café se obtuvieron remociones del 91% en DQO y 93% en coliformes.

Investigaciones han resaltado la posibilidad de producir flores comerciales en humedales artificiales sin reducir la eficiencia de remoción de contaminantes. La producción y venta de flores a partir de humedales artificiales beneficiaría económicamente a las comunidades de las zonas tropicales, además de mejorar la salud pública mediante el tratamiento de las aguas residuales y su impacto positivo en los cuerpos de agua. [25,26,30].

2.5. Parámetros de caracterización para aguas residuales y sus mecanismos de remoción.

Las concentraciones de los contaminantes presentes en las aguas residuales se miden por medio de una serie de parámetros para verificar el grado de contaminación. Este apartado explicará los parámetros de DBO, DQO, nitrógeno, fósforo, sólidos y patógenos; siendo los más comunes en el análisis de la calidad de las aguas residuales.

El carbono presente en la materia orgánica de las aguas residuales interactúa estrechamente en los procesos internos del ecosistema generado dentro de los humedales artificiales [10]. La materia orgánica presente en las aguas residuales es metabolizada por microorganismos provocando el consumo y reducción del oxígeno disuelto en las aguas, siendo uno de los principales problemas que afectan a los cuerpos receptores [33]. La medición del potencial de consumo de oxígeno disuelto se realiza mediante la DBO y la DQO.

La Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) es la medición del consumo de oxígeno por parte de los microorganismos en la oxidación de la materia orgánica [10]. Esta medición se realiza durante 5 días a 20°C, de ahí su nombre DBO₅. Durante esta prueba se estima que se consume el 70% de las sustancias biodegradables [21].

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) es la medición del consumo de oxígeno que se produce como resultado de la oxidación química de la materia orgánica y otros compuestos, utilizando un agente químico [10,33]. Para esta medición se utiliza un oxidante fuerte, por lo general dicromato de potasio, en un medio ácido. La reacción generada es capaz de oxidar la materia orgánica y otros compuestos, por esta razón es que normalmente la DQO es mayor que la DBO [10].

Existe una relación entre la DBO₅ y la DQO para determinar la biodegradabilidad de las aguas residuales, esto a partir del cociente entre esos dos parámetros (DBO₅/ DQO). Los valores superiores o iguales a 0,4 clasifican a las aguas como muy biodegradables, entre 0,2-0,4 clasifican a las aguas como biodegradables y valores menores e iguales a 0,2 clasifican las aguas como poco biodegradables [21]

La materia orgánica disuelta es degradada biológicamente mediante microorganismos aeróbicos y anaeróbicos. También la remoción de partículas se da por mecanismos físicos como la filtración y sedimentación [17]. Los humedales artificiales de flujo vertical son más susceptibles a la reducción aeróbica de la materia orgánica. Esta degradación se da en su mayoría en los 20 cm superiores del sustrato porque en ese volumen de sustrato se da la

mayor filtración, hay mayor disponibilidad de oxígeno y por lo tanto mayor biomasa microbiana [10].

Las aguas residuales de tipo ordinario están compuestas por nutrientes que son aportados por detergentes, fertilizantes y excretas humanas. Comúnmente los nutrientes medidos son el nitrógeno y el fósforo, ya que son los causantes de la eutrofización. La eutrofización provoca la reducción del oxígeno en el agua debido al crecimiento masivo de algas y otras plantas, lo que llega a afectar a la fauna de los cuerpos receptores de estas aguas. Una manera de cuantificar estos dos nutrientes es mediante métodos colorimétricos y espectrofotométricos. [21]

El nitrógeno existe en diferentes formas y son varios los procesos que lo transforman de una a otra forma, generando un sistema complejo llamado el ciclo del nitrógeno. El nitrógeno entra a los sistemas de humedales artificiales de diferentes maneras dependiendo del tipo de tratamiento que se va a realizar. Los humedales artificiales de tratamiento primario y secundario reciben mayormente nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal. En el caso de humedales utilizados para tratamiento terciario, se da la presencia de mayores concentraciones de nitrato en la mezcla de formas de nitrógeno presentes en las aguas residuales. En muchos casos la expectativa de transformación del nitrógeno es su conversión a nitrato, ya que es un compuesto del nitrógeno menos tóxico. Cabe señalar que son más las legislaciones que apuntan a la remoción del nitrógeno total de las aguas residuales y no solamente a la transformación del nitrógeno. [17]

El nitrógeno que es visto como contaminante de los cuerpos de aguas, es un nutriente esencial en el crecimiento de las algas debido al proceso de eutrofización que ocurre en el agua. La reducción del oxígeno disuelto en el agua se da por procesos de nitrificación que convierten el nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) a nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$) y de nitrito a nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$). Visto desde la perspectiva del tratamiento de las aguas residuales en humedales artificiales es un nutriente esencial para los microorganismos que participan en la depuración de las aguas. [33]

Las transformaciones del nitrógeno inducidas por microorganismos son significativamente contribuyentes en la conversión del nitrógeno en los humedales artificiales [17]. Las vías más importantes de transformación del nitrógeno en humedales artificiales relacionadas con la intervención de microorganismos son la nitrificación y la desnitrificación.

La nitrificación es un proceso de transformación del nitrógeno amoniacal a $\text{NO}_3\text{-N}$ en presencia de oxígeno. La oxidación de compuestos inorgánicos se da a través de las bacterias autótrofas llamadas Nitrosomas y Nitrobacter [21]. Estas bacterias dividen el proceso de nitrificación en dos etapas. La primera etapa está definida por las nitrosomas, las cuales toman el nitrógeno amoniacal y lo oxidan en $\text{NO}_2\text{-N}$. Esta transformación, como se describió anteriormente, es producto de la interacción de las bacterias nitrosomas y en menor medida a través de la asimilación del $\text{NH}_3\text{-N}$ por parte de las plantas (15-20%) [21]. La segunda parte de la nitrificación es generada por los nitrobacter, estas bacterias toman el $\text{NO}_2\text{-N}$ y lo transforman en $\text{NO}_3\text{-N}$. Por lo general, las plantas utilizadas en humedales artificiales tienen la capacidad de generar zonas aeróbicas en sus raíces y rizomas, por medio de la traslocación

del oxígeno de las hojas a esas estructuras inferiores. Esto permite el desarrollo de los microorganismos que degradan la materia orgánica y benefician la nitrificación [34].

El proceso de nitrificación es efectivo cuando se proporcionan las condiciones necesarias para las bacterias nitrificantes. Estas bacterias son sensibles y son inhibidas por sustancias orgánicas e inorgánicas, como altas concentraciones de amoníaco y ácido nitroso [21]. Las bacterias nitrificantes requieren de oxígeno disuelto mayor a 1 mg/l, temperaturas mayores a 20°C y un pH óptimo entre 7,5-8,6 [12,13,21]. El proceso de nitrificación conlleva al consumo de alcalinidad por lo que las aguas tienden a acidificarse [35]. Además, es importante recalcar que los humedales artificiales de flujo vertical son altamente eficientes en el proceso de nitrificación debido a la oxigenación resultante del intercambio de oxígeno atmosférico en el sustrato por el efecto de los flujos intermitentes de agua que ingresan al sistema [17].

La nitrificación es solamente un proceso de conversión y no da como resultado la eliminación del nitrógeno [17]. Por lo que la remoción biológica de nitrógeno en los humedales artificiales requiere de un proceso posterior de desnitrificación. La desnitrificación es un proceso que requiere de condiciones anaeróbicas y de carbono orgánico para que las bacterias heterótrofas facultativas puedan transformar el nitrato en gas nitrógeno [17]. El pH óptimo es de 7-8, requiere de temperaturas mayores a 20°C y para transformar cada gramo de nitrato se requiere del consumo de 3 g de DBO₅ para que la desnitrificación sea efectiva [21]. Las condiciones de anoxia que requiere la desnitrificación es fundamental, por lo que los humedales de flujo vertical no son eficientes para este proceso, ya que tienen un potencial

alto de oxigenación en el sustrato [17,36]. Debido a las condiciones aeróbicas, los estudios mencionan que los humedales de flujo vertical tienden a remover aproximadamente 30% menos de NT en comparación con los humedales de flujo horizontal. [17,36]

El fósforo ($\text{PO}_4\text{-P}$) es un nutriente requerido para el crecimiento de las plantas y frecuentemente es un factor limitante en la producción vegetal [10]. Las aguas residuales por lo general contienen excesos de fósforo, el cual está presente en los detergentes en forma de polifosfatos que se hidrolizan formando ortofosfatos disponibles para el metabolismo biológico [33]. Además de los ortofosfatos, las aguas ingresan a los humedales con una carga de fósforo orgánico. Estas diferentes formas de fósforo son removidas de los humedales artificiales mediante procesos de precipitación química, sedimentación, adsorción y absorción de plantas y microorganismos [17]. La adsorción y la precipitación del fósforo se dan mediante reacciones con el hierro, aluminio y calcio, presentes en las aguas residuales y en el sustrato [19,21,37,38]. Algunos autores coinciden en que la remoción del fósforo por medio de las plantas se da en un 10% o menos [21,23,39]. En general la retención de fósforo por parte del sustrato tiende a ser mayor al inicio pero conforme pasa el tiempo esta retención disminuye al limitarse los espacios disponibles para la adsorción, mostrando porcentajes de retención entre 15-30% de forma general para los humedales artificiales de flujo subsuperficial [21] y entre 10-20% específicamente para los HFSSV [17]. El fósforo se puede medir con métodos colorimétricos. Usualmente los equipos como los colorímetros miden la concentración (mg/l) de ortofosfatos, en particular el PO_4^{3-} , por lo que para representarlo como unidades de fósforo ($\text{PO}_4\text{-P}$) se requiere de multiplicar por el valor de 0,3261.

Los contaminantes en las aguas residuales contribuyen en la carga de sólidos y son clasificados por su tamaño, características químicas y su capacidad de sedimentación. La clasificación de sólidos por tamaño se refiere a la capacidad de los sólidos en atravesar o no, un papel filtro de 0,45 μm de porosidad [21,33]. Los sólidos retenidos en el papel filtro son llamados sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos que atraviesan el papel se clasifican como sólidos disueltos o sólidos filtrables (S. Filtra.). Los sólidos clasificados por características químicas son los que se determinan mediante la exposición de las muestras a temperaturas de 550°C, ya que esto permite volatilizar la porción orgánica de las muestras de agua. La fracción volatilizada se conoce como sólidos volátiles (SV) y la fracción que no combustiona se le denomina sólidos fijos (SF), los cuales representan a la materia mineral. La suma de los SV y los SF dan como resultado los sólidos totales (ST). La clasificación según la capacidad de sedimentación permite determinar los sólidos sedimentables (S. Sedim.) y los sólidos no sedimentables. Los sólidos sedimentables son aquellos que al depositar 1 litro de muestra en un cono Imhoff, sedimentan en 1 hora. [33]

El sustrato de los humedales artificiales de flujo subsuperficial contribuyen en la remoción de sólidos sedimentables suspendidos mediante la intercepción y asentamiento de los materiales sólidos presentes en los contaminantes de las aguas [10]. Una ventaja es que no existe riesgo de resuspensión por viento o actividad animal en el humedal; sin embargo, una desventaja es que con el tiempo el material se acumula en el sustrato y llega a afectar la conductividad hidráulica y el rendimiento del sistema [10].

Los patógenos son un indicador importante en la calidad de las aguas residuales debido a que son transmisores de enfermedades. Los patógenos están compuestos por virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos; los cuales son difícilmente medibles de manera individual. Por la dificultad mencionada anteriormente, se asignaron a las bacterias del grupo de coliformes como indicadores de contaminación fecal, ya que están presentes en las heces de los animales y tienen la particularidad de ser más resistentes en el agua en comparación con los otros patógenos. Además, las técnicas de medición de coliformes son rápidas y económicas, comparadas con las técnicas de detección de los otros patógenos. [10,33,40]

Los coliformes son divididos en dos subgrupos, coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF). Los coliformes totales abarcan un gran grupo de bacterias presentes en aguas, suelos y plantas (contaminados y no contaminados), heces humanas y de animales de sangre caliente. El detalle con este subgrupo es que presenta dificultades, ya que contemplan a bacterias no fecales, por lo que el grupo de CT puede entenderse como un grupo de coliformes presente en ambientes contaminados y no contaminados [33]. Se recomienda no utilizar los CT como indicadores de contaminación fecal, pero si como indicadores de la eficiencia del tratamiento del agua [33]. Los coliformes fecales son bacterias indicadoras de contaminación fecal, ya que se encuentran en el tracto intestinal de humanos y animales. Las bacterias que integran este subgrupo son la *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* [33].

Los patógenos en general son removidos del agua residual mediante procesos físicos como filtración y sedimentación, por parte del sustrato de los humedales artificiales. De manera biológica se dan procesos de eliminación mediante la muerte natural y depredación entre

patógenos. Finalmente, otro mecanismo de eliminación de patógenos es mediante la radiación ultravioleta proveniente del sol. La literatura menciona que en los primeros tramos de los humedales artificiales se remueve cerca del 80% de patógenos y en los humedales de flujo subsuperficial se habla de una eliminación del 90-99% de coliformes fecales. [21,41]

2.6. Modelos de caja negra

El diseño de los humedales artificiales comúnmente está basado en modelos de caja negra. Estos modelos describen de forma sencilla la eliminación de contaminantes mediante procesos químicos, físicos y biológicos que se dan en los humedales. La derivación del modelo se genera a partir de los datos de entrada y salida de la concentración de contaminantes en el agua [17].

Dentro de los diferentes modelos de caja negra que se encuentran en la literatura, se puede mencionar el modelo de flujo de tapón, como el más sencillo y utilizado por los diseñadores de estos sistemas. El modelo describe una reacción de primer orden considerando a los humedales como reactores biológicos en donde ocurren procesos de remoción irreversibles, homogéneos y completos [6].

Este modelo depende de la temperatura, por lo que los procesos de biodegradación aumentan si la temperatura también lo hace. Es un modelo apto para predecir la degradación de materia orgánica, nitrificación, desnitrificación, remoción de fósforo y remoción de coliformes fecales [42]. Este modelo matemático se representa por la siguiente ecuación [23]:

$$\frac{C_e}{C_a} = e^{-K_T * t} \quad (1)$$

Donde C_e es la concentración del efluente (mg/l), C_a es la concentración del afluente (mg/l), K_T es la constante de velocidad de remoción de primer orden dependiente de la temperatura (d^{-1}) y t es el tiempo de retención hidráulica (TRH) (d).

El modelo de flujo de tapón considera que el contaminante evaluado se degrada por completo en el sistema. Lo cierto es que parte de los contaminantes se acumulan de forma residual en el sustrato del humedal, por esta razón los investigadores sugieren el uso de otro modelo de caja negra llamado flujo de tapón modificado $k-C^*$ (Ecuación 2), el cual agrega al modelo la concentración residual de los contaminantes no biodegradables en el sustrato como una variable llamada concentración base (C^*) (mg/l) [43].

$$\frac{C_e - C^*}{C_a - C^*} = e^{-K_T * t} \quad (2)$$

La concentración base de los contaminantes puede ser estimada a través de ecuaciones o valores definidos para ciertos parámetros de calidad, determinados a través de relaciones empíricas mediante la investigación en esta temática. La concentración base para humedales de flujo subsuperficial para DBO₅, DQO y SST se determina mediante la siguiente ecuación [6,26]:

$$C^* = 3,5 + 0,053 C_a \quad (3)$$

La concentración base para el nitrógeno total se sugiere que sea de 1,5 mg/l y en el caso de NH₃-N, PO₄-P, CF y CT, un valor de 0 mg/l [10]. Finalmente, para la concentración base de

los sólidos totales en humedales artificiales de flujo vertical se define la siguiente ecuación [6,26]:

$$C^* = 7,8 + 0,063 C_a \quad (4)$$

2.7. Constante de velocidad de remoción de primer orden en función del área

El diseño de HA requiere del uso de constantes relacionadas con la remoción de contaminantes en función de las condiciones climáticas del lugar en donde se construirá el humedal. Por lo tanto, un parámetro importante a tomar en cuenta es la constante de velocidad de remoción de primer orden en función del área (k), fundamental en los modelos de flujo tapón y flujo tapón modificado. La Ecuación 1 y la Ecuación 2 de la sección 2.6 son modificadas matemáticamente para cambiar la dependencia de la temperatura de la constante de velocidad de remoción en función del área. Las k de los modelos de flujo de tapón y flujo de tapón modificado se representa mediante las siguientes ecuaciones:

$$k = \frac{Q}{\varepsilon * A} \ln \left(\frac{C_a}{C_e} \right) \quad (5)$$

$$k = \frac{Q}{\varepsilon * A} \ln \left(\frac{C_a - C^*}{C_e - C^*} \right) \quad (6)$$

Donde k es la constante de velocidad de remoción de primer orden en función del área (m/d), Q es el caudal de agua diario (m³/d), ε es la porosidad del sustrato (decimal), A es el área superficial del humedal (m²) y C^* es la concentración base (mg/l) para el caso del modelo de flujo de tapón modificado.

La constante k se ve afectada por la temperatura. El diseño de humedales artificiales en zonas templadas contempla la fluctuación en las temperaturas durante el año, por lo que los diseños abarcan mayor área superficial debido a las temperaturas bajas durante el invierno. El diseño de los humedales artificiales en zonas tropicales requiere de menores áreas para el tratamiento de las aguas residuales, ya que la temperatura es relativamente constante durante el año, lo que mantiene estable los procesos en el humedal. Por lo tanto, al obtener k se puede estimar el área de superficie que requiere el humedal [26], permitiendo una optimización del diseño para zonas tropicales al utilizar datos más ajustados a la realidad del sistema de tratamiento de aguas residuales.

2.8. Normativa nacional

Un aspecto importante que se debe de tomar en cuenta para el diseño de sistemas de tratamiento de aguas residuales es la reglamentación de cada país. Las normativas permiten orientar el diseño al cumplimiento de la calidad de agua tratada, la cual será posteriormente vertida en alcantarillados sanitarios, cuerpos de agua o utilizada en sistemas de riego. En el caso de Costa Rica, se cuenta con el Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales (N°33601).

En dicho documento, el Artículo 18 y 20 presentan los límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis obligatorio de aguas residuales vertidas en alcantarillados sanitarios y a cuerpos receptores, respectivamente. Los límites que rigen en Costa Rica se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles para los parámetros universales de análisis obligatorio de aguas residuales vertidas en alcantarillado sanitario y en un cuerpo receptor [44].

Parámetro	Alcantarillado sanitario	Cuerpo receptor
DBO ₅ * (mg/l)	300	50
DQO** (mg/l)	750	150
Sólidos suspendidos (mg/l)	300	50
Sólidos sedimentables (ml/l)	5	1
Grasas/aceites (mg/l)	50	30
Potencial hidrógeno (pH)	Entre 6 a 9	Entre 5 a 9
Temperatura (°C)	Entre 15 a 40	Entre 15 a 40

* Demanda Biológica de Oxígeno

** Demanda Química de Oxígeno

El Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales define 8 tipos de reúsos de estas aguas y se aclara que en ningún caso se debe utilizar para consumo humano. A continuación, se presentará la definición de cada tipo de reúso [44]:

- **Tipo 1: Reúso urbano**

Riego de zonas en donde haya acceso del público (por ejemplo, en zona verdes, campos de golf, parques, plazas deportivas y cementerios), lavado de automóviles, inodoros, combate de incendios y otros usos con similar acceso o exposición al agua.

- **Tipo 2: Riego con acceso restringido**

Cultivo de césped, silvicultura y otras áreas donde el acceso del público es prohibido o restringido.

- **Tipo 3: Reúso agrícola en cultivos de alimentos que no se procesan previo a su venta**

Riego superficial o por aspersión, de cualquier cultivo comestible que no se procese previo a su venta, incluyendo aquellos que se consumen crudos.

- **Tipo 4: Reúso agrícola en cultivos de alimentos que se procesan previo a su venta**

Riego de cultivos que, previo a su venta al público, han recibido el procesamiento físico o químico necesario para la destrucción de los organismos patógenos que pudieran contener.

- **Tipo 5: Reúso agrícola en cultivos no alimenticios**

Riego de pastos de piso, forrajes, cultivos de fibras y semillas, y otros cultivos no alimenticios.

- **Tipo 6: Reúso recreativo**

Reúso en cuerpos de agua artificiales donde pueda existir un contacto ocasional (por ejemplo: pesca, canotaje y navegación).

- **Tipo 7: Reúso paisajístico**

Aprovechamientos estéticos donde el contacto con el público no es permitido, y dicha prohibición esté claramente rotulada.

- **Tipo 8: Reúso en la construcción**

Compactación de suelos, control del polvo, lavado de materiales, producción de concreto.

2.9. Investigaciones referentes a humedales artificiales

Estudios realizados en los trópicos con humedales artificiales han obtenido resultados eficientes en cuanto a la remoción de contaminantes. Tal es el caso de un estudio realizado en Uganda en donde se comparó la eficiencia de remoción por parte de las plantas *Cyperus papyrus* y *Miscanthidium violaceum*, obteniendo remociones del 75,3% y 61,5% de fósforo, respectivamente; y remociones del 83,2% y 48,4% de nitrógeno, respectivamente. Dicho estudio determinó que el papiro es significativamente más eficiente ($p < 0,015$) en la remoción de N y P. [45]

Existen estudios enfocados en determinar los parámetros de diseño para las zonas tropicales, como el realizado por Zurita, De Anda y Belmont [26], los cuales estudiaron el tratamiento de aguas residuales domésticas con HFSSH y HFSSV en Ocotlán, México. Como resultado obtuvieron que los HFSSV fueron más eficientes en la remoción de los contaminantes con eficiencias mayores a 80% para DBO y DQO, 50,6% para nitrógeno orgánico, 72,2% para amonio, 50% para fósforo total y 96,9% para coliformes totales. Los HFSSH fueron más eficientes en la remoción de nitrato (47,7%) y SST (82%). Además, determinaron las constantes de velocidad de remoción en función del área (k) para 18,8°C para los distintos parámetros de calidad de agua, obteniendo 30,2 m/año para DBO, 27,3 m/año para DQO, 25,5 m/año para SST, 11,9 m/año para NT y 7,6-9,9 m/año para PT. [26]

Konnerup, Koottatep y Brix [25] realizaron un estudio en Tailandia para evaluar la eficiencia de un HFSSH mediante el uso de las plantas canna y heliconia. Como resultado obtuvieron porcentajes de remoción mayores a 88% para SST, 42-83% para DQO, 4-37% para NT y

7-35% para PT; siendo la canna como la planta con mejores resultados. Además, determinaron las constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área (k) con el modelo $k-C^*$ para la planta canna, con resultados para DQO de 0,283 m/d, NT de 0,0158 m/d y PT de 0,0149 m/d. En el caso de la heliconia se obtuvo para DQO 0,271 m/d, NT 0,0093 m/d y PT 0,0068 m/d.

Mediante los estudios anteriores se permite comprender la importancia del desarrollo de investigaciones similares en Costa Rica, ya que se pueden estimar parámetros de diseño propios para el país con el fin de optimizar la construcción de futuros HA. Lo anterior se fundamenta en la recomendación de la literatura, la cual menciona que se deben de utilizar parámetros de diseño de humedales artificiales sometidos a condiciones climáticas similares [10].

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

3.1. Descripción del sistema

La investigación se realizó en el edificio de laboratorios de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Costa Rica ubicado en la Ciudad de la Investigación en San Pedro de Montes de Oca. Los humedales artificiales se ubicaron en la zona externa del Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela de Ingeniería de Biosistemas, donde las condiciones naturales como la lluvia y el viento no inciden directamente debido al resguardo que genera la infraestructura. Para la medición de la temperatura y humedad relativa del área de trabajo se colocaron sensores de la marca HOBO® modelo UX100-003. Además, se midió la precipitación con un pluviómetro de la marca Cole Parmer, modelo 03319-10.

Para esta investigación se construyeron nueve HFSSV de flujo descendente a escala de laboratorio mediante el uso de cajas plásticas. Las dimensiones de las cajas son de 62 cm de largo, 52 cm de ancho y 35 cm de profundidad, para un área por caja de 0,32 m². Las cajas se pintaron de color negro para evitar el ingreso de la luz en el sustrato y así evitar la proliferación de algas en las paredes (Figura 2). Solamente se dejó una franja translúcida para observar el nivel del agua en el interior de las unidades.



Figura 2. Sistema de HFSSV a escala de laboratorio. (Fotografía tomada el 05/10/2018 por el autor)

3.1.1. Sustrato

El dimensionamiento del espesor de las capas del sustrato fue determinado mediante la revisión de diferentes estudios realizados a nivel de laboratorio por otros autores, siendo considerado el de Konnerup, Trang y Brix [46] como el más relevante. En dicho experimento los autores utilizaron dos humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical con un área de $1,23 \text{ m}^2$ cada uno y estructuraron las capas de sustrato en forma descendente de la siguiente manera: una capa de grava fina de 20 cm (diámetros de 1-2 cm), una capa gruesa de grava de 40 cm (diámetros de 3-5 cm) y una capa de 10 cm de piedra (diámetros de 5-10 cm); para una profundidad de 70 cm.

La profundidad de los humedales artificiales en el presente estudio se ve limitada por la profundidad de las cajas utilizadas (35 cm), ya que normalmente los humedales de flujo subsuperficial están diseñados con profundidades entre 60 cm a 80 cm. Según Lara [24], los

humedales subsuperficiales en zonas cálidas pueden funcionar con 30 cm de profundidad, con la ventaja de que se aumenta el potencial de transferencia de oxígeno pero requiriendo mayor área superficial, por lo que la profundidad de 35 cm de las cajas está dentro de lo sugerido por la literatura. Las cajas utilizadas en el presente estudio poseen la mitad de la profundidad que usualmente se implementa en el diseño de los HFSSV, por lo que se decidió fraccionar aproximadamente por la mitad las capas de sustrato utilizados por Konnerup *et al.* [46]. Además, el tamaño de partícula de los sustratos utilizados se seleccionó lo más aproximado a lo utilizado por Konnerup *et al.* [46] y en función a la disponibilidad del material en el mercado.

Los HFSSV quedaron conformados por tres tipos de sustratos (Figura 3), una capa inferior de 7 cm de espesor integrada por piedra de río de tipo canto rodado para generar un volumen de drenado y diámetros entre 2,91-5,86 cm. La capa intermedia es de 18 cm de espesor, conformada por piedra cuarta de origen volcánico llamada basalto y diámetros entre 0,95-2,22 cm. Esta roca es porosa, por lo que brinda mayor superficie de contacto para el establecimiento de las colonias microbianas. El basalto utilizado proviene de la colada de Cervantes ubicada en el flanco sureste del volcán Irazú, compuesta en su mayoría por sílice, magnesio, hierro, aluminio, entre otros minerales [47,48]. Finalmente, la capa superior es de granito de río con un espesor de 10 cm y diámetros entre 0,12-0,24 cm. Esta capa tiene la función de filtrar las partículas más grandes provenientes en el afluente, generar una superficie de contacto para las bacterias (Biopelícula) y darles soporte a las raíces de las plantas.



Figura 3. Sustratos que conforman el lecho del humedal artificial, canto rodado (izquierda), piedra volcánica (centro) y granito de río (derecha) (Fotografías tomadas el 08/10/2018 por el autor)

Para el cálculo de la porosidad se partió del supuesto de tomar como un conjunto la capa de granito de río y piedra cuarta volcánica, dando como resultado una porosidad de $12,3 \pm 0,3\%$. La capa de piedra de río de tipo canto rodado no se tomó en cuenta, debido a su función de drenaje más que de filtración de partículas y fijación de nutrientes. La porosidad fue determinada mediante la norma ASTM C20-00(2015) (Anexo A) [49].

Durante la fase de pruebas previas al inicio del experimento, se observó que el granito de río descendió y se mezcló con las otras capas de sustrato; esto por acción del agua y por el efecto de apertura de las paredes de las cajas plásticas que se generó al colocar el sustrato. Debido al control deseado para la investigación se decidió elaborar de nuevo los humedales, colocando un sarán negro (80% de sombra) entre el granito de río y la piedra cuarta volcánica para evitar el traslape entre sustratos, lo cual no tuvo ningún efecto negativo en el crecimiento de las raíces de las plantas y por lo tanto se tomó como supuesto la no afectación del sistema.

3.1.2. Sistema de drenaje

El sistema de drenaje fue diseñado con tubería de PVC de 12 mm de diámetro, perforados uniformemente con orificios de 3,18 mm (1/8 pulgada) y distribuidos uniformemente en cuatro filas longitudinales al tubo con una proporción de tres orificios por cada 100 mm [50]. Además, la tubería fue envuelta en un geotextil para evitar obstrucciones en los orificios y se le agregó una válvula de bola para extraer las muestras (Figura 4). A este sistema de drenaje se anexó una tubería de aireación para mantener el sistema de drenaje a presión atmosférica y proporcionar condiciones aeróbicas de forma pasiva en el fondo de los humedales, lo cual puede ayudar a mejorar los rendimientos de los humedales subsuperficiales de flujo vertical [19].



Figura 4. Sistema de drenaje perforado para extracción de muestra. (Fotografías tomadas el 05/10/2018 por el autor)

3.1.3. Diseño experimental

El diseño experimental cuenta con tres tratamientos, dos están plantados con una especie de planta diferente para cada uno y el tercer tratamiento (control) no está plantado, solamente está integrado por el sustrato. Cada tratamiento está conformado por tres réplicas, por lo que se cuenta con nueve humedales artificiales en total (Figura 5). Los humedales plantados están compuestos por 5 plantas colocadas en las cuatro esquinas y una en el centro del humedal, para una densidad de plantas de 15 plantas/m². Utilizando cada esquina como el origen de un plano cartesiano (X, Y), las plantas están ubicadas a 10,5 cm en el eje X y a 15,4 cm en el eje Y.



Figura 5. Sistema experimental de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical al inicio del estudio. (Fotografía tomada el 15/04/2019 por el autor)

3.1.4. Vegetación

El estudio se desarrolló con dos especies de plantas, la *Neomarica gracilis* conocida como lirio caminante y la *Heliconia psittacorum* conocida como avecilla, las cuales para efectos del documento serán mencionadas como lirio y heliconia, respectivamente (Figura 6).



Figura 6. Lirio (*Neomarica gracilis*) y heliconia (*Heliconia psittacorum*), respectivamente. (Fotografías tomadas el 09/11/2018 y 07/09/2018, respectivamente, por el autor)

Las plantas utilizadas fueron colocadas en los humedales 6 meses antes de iniciar la fase experimental, con el fin de asegurar su adaptación al espacio, a los factores climáticos que las afectarían y también para utilizar sus retoños como las plantas iniciales para el estudio. El riego para cada humedal fue de 3 l/día de lunes a viernes; los primeros 5 meses se realizó con agua potable y el último mes con aguas residuales, esto para su acondicionamiento. Finalizando los primeros 5 meses, se extrajeron las plantas y se seleccionaron los retoños para iniciar la fase experimental (estas plantas serán mencionadas en el texto como plantas madre). La selección de las plantas se realizó en función a la masa, para el caso del lirio se estableció un rango entre 3 a 17 gramos y para la heliconia entre 10 a 30 gramos.

3.1.5. Operación del sistema

El caudal requerido para cada humedal artificial se definió ajustando la carga orgánica en función de la capacidad de almacenaje en la unidad de refrigeración del laboratorio y realizando una visita semanal a la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR). En cuanto a la carga orgánica recomendada para humedales verticales, existen diferencias entre los estudios, algunos recomiendan un máximo de 20 g DQO/m²/d [17] y otros han utilizado valores entre 4,6 a 14 g DQO/m²/d con rendimientos de remoción de DQO entre 76-85% [35]. La carga orgánica para este estudio es de 3,22 g DQO/m²/d y mediante pruebas previas realizadas al agua residual de la PTAR se obtuvo una concentración de DQO (C_i) de 345,83 mg/l (mg/l = g/m³). Tomando en cuenta que el área de cada humedal es de 0,32 m², se calculó un caudal de 3 l/d y una carga hidráulica de 9,31 mm/d mediante las siguientes ecuaciones [35]:

$$Q = \frac{1000 * A * B_i}{C_i} \quad (7)$$

$$CH = \frac{1000 * B_i}{C_i} \quad (8)$$

Donde Q es el caudal diario (l/d), A es el área superficial del humedal artificial (m²), B_i es la carga orgánica superficial del contaminante i (g/m²/d), C_i es la concentración del contaminante i (g/m³) y CH es la carga hidráulica (mm/d).

El agua residual utilizada como afluente en el sistema de humedales artificiales se obtuvo de la sección superior del contactor anóxico de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

(PTAR) de la Facultad de Odontología. El contactor anóxico funciona como un espacio que permite la sedimentación de las partículas de mayor densidad, siendo este el pretratamiento requerido de las aguas residuales para ser tratadas por humedales artificiales. Durante 15 semanas (del 15 de abril al 22 de julio del 2019) se visitó semanalmente la PTAR para recolectar los 135 litros requeridos por semana. Estas aguas se almacenaron a 4°C inmediatamente al llegar al Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela de Ingeniería de Biosistemas.

La alimentación de los humedales constaba de retirar las aguas residuales de la cámara fría y se colocaban dentro del laboratorio, aproximadamente 15 horas antes de su aplicación (cerca de las 6:00 pm para ser aplicadas a las 9:00 am), con el fin de que alcanzaran la temperatura ambiente en el momento de su uso. En el caso de los lunes, los contenedores se retiraban de la cámara fría cerca de las 7:00 am y se colocaban en un punto donde el sol pudiera calentarlas. Como parámetro de operación se estableció una altura de lámina de agua de 16 cm para propiciar condiciones anaeróbicas y evaluar el proceso de desnitrificación en el sistema. Con este dato en cuenta y previo a la alimentación, se retiraban 3 litros (efluente) de cada humedal y se reponían los 3 litros (afluente) de agua residual, manteniendo aproximadamente el nivel de agua en los 16 cm establecidos.

El riego se realizó mediante un sistema de tubería de PVC de 12 mm de diámetro (1/2 pulgada) de 62 cm de largo y 30 cm de ancho. El sistema de riego está conformado por cuatro ramales perforados con orificios de 3,18 mm (1/8 pulgada) de diámetro, distanciados 4 cm para un total de 15 orificios por ramal. Este ramal está diseñado para alimentar los humedales

de manera uniforme, dejando espacio entre las líneas de suministro de agua para no interrumpir el paso de las plantas durante su desarrollo. Además, está compuesto de un volumen de almacenamiento en la parte superior para proveer de energía potencial al agua y una válvula de bola para regular el caudal (Figura 7).



Figura 7. Sistema de PVC para la aplicación del riego con aguas residuales. (Fotografía tomada el 22/03/2019 por el autor)

El tiempo que tarda el fluido en atravesar el humedal artificial se llama tiempo de retención hidráulico (TRH). Para calcular este parámetro se requiere de la porosidad (12,3%) y del caudal (3 l/d o $0,003 \text{ m}^3/\text{d}$) determinados anteriormente. Además, se requiere del volumen el cual se calcula con el área ($0,32 \text{ m}^2$) y la profundidad de agua del humedal (0,16 m). Con la Ecuación 9 [17,25] se obtiene un TRH de 2,1 días.

$$TRH = \frac{\varepsilon * V}{Q} \quad (9)$$

Donde TRH (d), ε es la porosidad (decimal), V es el volumen del humedal (m^3) y Q es el caudal diario (m^3/d).

3.2. Estudio del crecimiento de las plantas

Inicialmente se caracterizaron las 15 plantas de lirio y las 15 plantas de heliconia antes de ser trasplantadas a los HA. Se midió la masa mediante una balanza T-Scale ($\pm 0,1$ g), se contabilizó la cantidad de hojas y se midió la longitud de lámina foliar, tallo y raíz (Figura 8). Estas mediciones se repitieron durante las 17 semanas (semana 0 a semana 16) en las que se extendió el experimento para este rubro, excepto la medición de masa y la longitud de raíz, las cuales se realizaron solo en las semanas 0 y 16. Cada parámetro medido por semana fue promediado para las 15 plantas de cada tipo ($n=15$). Además, se registró la floración durante el periodo de experimentación y al pasar las semanas fueron apareciendo los retoños, a los que también se les midieron los diferentes rubros, mencionados anteriormente.

Para el análisis del crecimiento se dividieron las plantas en madre y retoño. La razón es evitar la distorsión en los promedios y el aumento de la desviación estándar de las mediciones de las plantas madre por efecto del crecimiento de los retoños. Por ejemplo, al promediar datos mayores de longitud de lámina foliar ya establecidos en el tiempo (plantas madre), con datos menores de longitud de lámina foliar con pocos días de crecimiento (retoños), provocaría la disminución en el promedio y el aumento en la desviación estándar de dicha medición. Las

plantas utilizadas en este estudio se propagan por rizomas, la particularidad del lirio es que también desarrolla una nueva planta mediante sus tallos florales. Posterior a la floración y una vez que el tallo haya tocado el suelo debido al peso de la flor, se origina una nueva planta que enraíza en el suelo; de ahí el nombre lirio caminante. Para esta investigación se tomaron en cuenta solo los retoños que emergieron de la base rizomática principal de la planta.

Con la información recolectada se determinó el crecimiento de las plantas mediante la diferencia de cada parámetro entre la semana 0 y 16. Además se determinó el crecimiento en el tiempo de la longitud de lámina foliar para los dos tipos de plantas. En cuanto a la longitud de lámina foliar se midió solamente la fracción viva (color verde) y la fracción marchita no fue tomada en cuenta, partiendo del supuesto de que en esa sección ya no ocurre ningún proceso de almacenamiento de nutrientes.

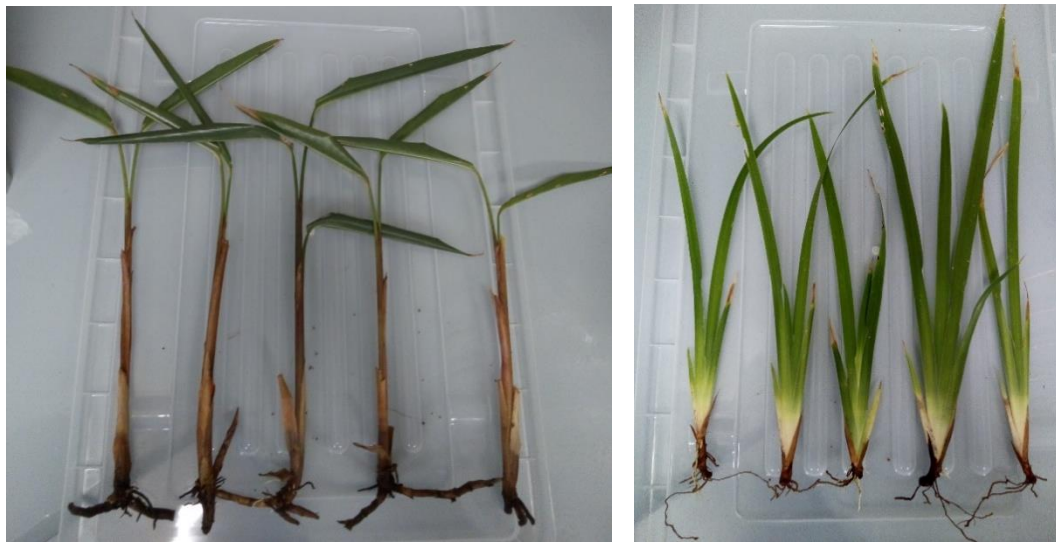


Figura 8. Aspecto inicial de las plantas heliconia (izquierda) y lirio (derecha), previo a la fase experimental. (Fotografías tomadas el 19/03/2019 por el autor)

3.3. Estudio sobre la retención de nutrientes por parte de las plantas

El estudio de la retención de nutrientes por parte de las plantas se generó a partir del análisis químico foliar realizado al inicio y al final del experimento. Este análisis se realizó en el Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica (CIA) mediante pruebas destructivas. El análisis químico foliar brinda como resultado la masa húmeda, masa seca, porcentaje de humedad y los contenidos de elementos químicos en las muestras. El porcentaje de humedad del lirio al inicio es de 82% y al final es de 84%. Para el caso de la heliconia el porcentaje de humedad al inicio es de 81% y al final de 91%.

Independiente al análisis químico foliar, se midió la masa húmeda de cada planta (como se mencionó en la sección 3.2) al inicio y al final del experimento; y con los porcentajes de humedad mencionados anteriormente se calculó la masa seca mediante la siguiente ecuación:

$$Ms = Mh - \left(\frac{Mh * h}{100} \right) \quad (10)$$

Donde Ms es la masa seca (g) y Mh es la masa húmeda (g); h es el porcentaje de humedad (%).

El cálculo de la masa seca permite determinar la ganancia en masa mediante la diferencia entre la masa seca final y la masa seca inicial (ΔMs). Seguidamente se utilizan los resultados promedio del porcentaje en masa de los análisis (inicial y final) de elementos químicos (C, N y P) para determinar la tasa de absorción:

$$Ta = \Delta Ms * \left(\frac{Me}{100}\right) * \frac{52,14}{Se * A} \quad (11)$$

Donde Ta es la tasa de absorción ($\text{g/m}^2/\text{año}$), ΔMs es la ganancia de masa seca (g), Me es el porcentaje de masa del elemento químico (%), Se es la cantidad de semanas del experimento, A es el área del humedal artificial (m^2) y 52,14 es el factor de conversión para pasar de semana a año.

3.4. Balance de masa

El balance de masa se realizó a partir del valor promedio de la concentración (mg/l) entrante y saliente del sistema, de los parámetros de calidad de agua medidos para el carbono (DQO, DBO_5 y SV), nitrógeno total (NT) y fósforo ($\text{PO}_4\text{-P}$). Dicha concentración es multiplicada por el caudal diario (3 l/d), el tiempo de la fase experimental relacionado a los parámetros de calidad de agua (15 semanas o 105 días) y la conversión de miligramos a gramos ($1\text{g}/1000\text{ mg}$). Con estos factores se obtiene la masa en gramos de entrada al sistema (M_{ent}) y la masa de salida del sistema (M_{sal}).

Además, se consideró la masa de carbono, NT y $\text{PO}_4\text{-P}$ almacenada en las plantas (M_{planta}). Esta se obtiene a partir de la tasa de absorción ($\text{g/m}^2/\text{año}$) calculada en la sección 3.3 y se considera como una masa saliente del volumen de control (recipiente con el sustrato). Para obtener el valor en gramos de la masa almacenada en las plantas se multiplicó el valor de la tasa de absorción por el área ($0,32\text{ m}^2$), el factor de conversión de años a semanas (1 año/52,14 semanas) y por las 15 semanas de la fase relacionada al estudio de la calidad de agua en los humedales.

El principio de conservación de la masa expresa que la transferencia neta de masa hacia ($M_{entrada}$) o desde el volumen de control (M_{salida}) es igual al cambio neto en la masa total dentro del volumen de control (ΔM_{VC}) (Ecuación 12) [51]. Establecidos los valores de entrada y salida de masa, y tomando en consideración el recipiente plástico y el sustrato como volumen de control (Figura 9), se aplica el principio de conservación de la masa para calcular cuanta masa es acumulada en el sustrato (M_{sust}) mediante la Ecuación 13:

$$M_{entrada} - M_{salida} = \Delta M_{VC} \quad (12)$$

$$M_{ent} - (M_{planta} + M_{sal}) = M_{sust} \quad (13)$$

Donde M_{ent} es la masa de entrada al sistema (g), M_{planta} es la masa almacenada en la planta (g), M_{sal} es la masa que sale del sistema (g) y M_{sust} es la masa acumulada en el sustrato (g).

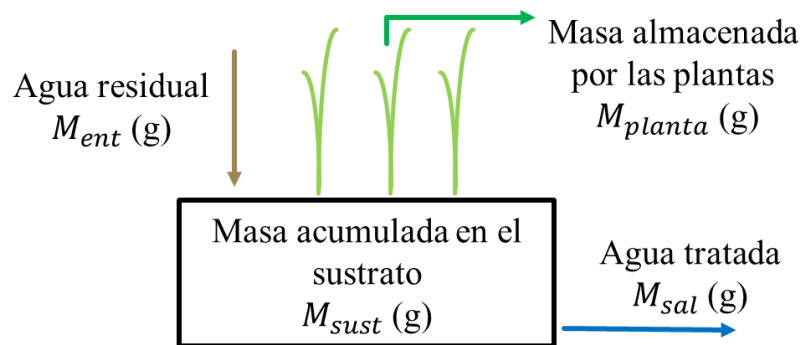


Figura 9. Diagrama del balance de masa del carbono (DQO, DBO₅ y SV), nitrógeno total (NT) y fósforo (PO₄-P) para los HFSSV.

3.5. Medición de parámetros de calidad de agua

Las mediciones de los parámetros de calidad de agua se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Ambiental y Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela de Ingeniería de Biosistemas, como en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Escuela de Ingeniería Civil. Semanalmente se extrajeron 3 litros de muestra de cada humedal artificial desde la semana 0 a la semana 14 (15 semanas). Las muestras están compuestas por una del agua residual proveniente de la planta de tratamiento (afluente) y nueve muestras del efluente (salida) de los humedales artificiales; para un total de 10 muestras por semana. Los diferentes parámetros de calidad de agua determinados fueron analizados para las aguas residuales entrantes con una repetición por semana (n=15) y para las aguas tratadas (salientes) se realizaron 3 repeticiones por semana (n=45).

Inmediatamente después del muestreo se midió la conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos (SDT), oxígeno disuelto (OD), pH y temperatura; utilizando el medidor multiparámetro modelo HI 9828 de la marca HANNA®. Además, se midió la turbiedad con el turbidímetro modelo 2100P de la marca HACH®.

Se realizaron pruebas para medir la concentración de contaminantes como Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅), Demanda Química de Oxígeno (DQO), nitrógeno amoniacal (NH₃-N), nitrito (NO₂-N), nitrato (NO₃-N), nitrógeno total (NT), fósforo (PO₄-P), sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF), sólidos volátiles (SV), sólidos filtrables (S. Filtra.), sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos sedimentables (S. Sedim.). Estas pruebas fueron elaboradas según lo descrito por los Métodos Normalizados para el Análisis de Agua Potable

y Agua Residual (*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*) de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA por sus siglas en inglés) [52]. La prueba de DBO se realizó durante 5 días a 20°C con el equipo BOD EVO Sensor de la marca VELP Scientifica® y para las demás pruebas químicas se utilizó un colorímetro Modelo DR900 de la marca HACH® para medir las concentraciones.

Las pruebas de Coliformes Fecales (CF) y Coliformes Totales (CT) se realizaron de manera puntual en la semana 14, para el afluente y para los efluentes de cada HA. Los ensayos fueron realizados por el Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, a través del Laboratorio de Microbiología Agrícola.

3.6. Remoción de contaminantes

La remoción o reducción en la concentración de los distintos contaminantes utilizados como parámetros de calidad de agua se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ remoción} = \left(\frac{C_a - C_e}{C_a} \right) * 100 \quad (14)$$

Donde C_a es la concentración del afluente (mg/l) y C_e es la concentración del efluente (mg/l).

3.7. Estadística

El análisis estadístico se realizó mediante el software InfoStat (versión estudiantil 2019), con el cual se procedió a verificar la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilks modificado. En la mayoría de las pruebas se determinó que los datos no son normales, por lo que se realizaron transformaciones para implementar pruebas paramétricas. Dichas transformaciones no fueron las adecuadas, por lo que se realizó un análisis de la varianza no paramétrica mediante la prueba llamada Kruskal Wallis. El análisis de los coliformes fecales y coliformes totales mostraron normalidad en los datos por lo que se realizó un análisis de la varianza paramétrico mediante la prueba de Tukey. Todas las pruebas anteriores se realizaron bajo un nivel de confianza del 95%.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Crecimiento y retención de nutrientes en las plantas

El estudio del crecimiento de las plantas se desarrolló a través de la medición semanal del número de hojas, longitud de lámina foliar y longitud de tallo entre la semana 0 y 16, además de la longitud de raíz y de la masa de las plantas, únicamente en la semana 0 y 16. Además, se presenta el crecimiento de la lámina foliar de las plantas en el tiempo, el registro de la floración y se determinó la tasa de absorción de nutrientes de ambas plantas. Finalmente se presenta un balance de masa de los HFSSV para determinar la masa de los contaminantes presentes en las plantas y en el sustrato, a partir de los análisis realizados a la entrada y a la salida de los humedales.

4.1.1. Crecimiento de las plantas madre

El Cuadro 2 muestra el promedio de las medidas de los diferentes parámetros estudiados en la semana 0, en la semana 16 y la diferencia entre estas semanas para estudiar el crecimiento en ese periodo. Es importante aclarar que en este cuadro las mediciones de la masa y longitud de raíz para la semana 16 incluyen el conjunto plantas madre y retoños.

Cuadro 2. Parámetros físicos promedio de las plantas madre en la semana 0, semana 16 y la diferencia entre las semanas (Δ). Número de hojas, longitud de lámina foliar, largo de raíz y masa (n = 15).

	Lirio			Heliconia		
	0 semanas	16 semanas	Δ	0 semanas	16 semanas	Δ
Número de hojas	3,93 \pm 0,70	9,13 \pm 2,07	5,20 \pm 2,77	2,20 \pm 0,41	1,87 \pm 0,52	-0,33 \pm 0,93
Longitud de lámina foliar (cm)	21,6 \pm 10,6	34,1 \pm 12,0	12,5 \pm 22,5	19,7 \pm 4,07	17,6 \pm 3,40	-2,11 \pm 7,47
Longitud de tallo (cm)	NA	NA	NA	22,0 \pm 3,28	21,3 \pm 2,11	-0,71 \pm 5,39
Longitud de raíz (cm)	8,14 \pm 3,61	33,3 \pm 5,37	25,1 \pm 8,97	2,33 \pm 2,60	28,6 \pm 12,5	26,3 \pm 15,1
Masa* (g)	6,58 \pm 3,78	57,2 \pm 26,5	50,6 \pm 30,3	21,2 \pm 7,06	180 \pm 95,8	159 \pm 103

*Masa húmeda del conjunto planta madre y retoño.

El lirio registró en la semana 16 un promedio de 9,13 \pm 2,07 hojas y 34,1 \pm 12,0 cm de longitud de lámina foliar. Con respecto a la semana 0 se registró un incremento de 5,20 \pm 2,77 hojas y 12,5 \pm 22,5 cm de longitud de lámina foliar. El lirio (planta madre) presentó un crecimiento esperado con el pasar del tiempo, por lo que su adaptación al sistema y su desarrollo general se da de forma óptima.

En contra parte, la heliconia (planta madre) registró en la semana 16 un promedio de 1,87 \pm 0,52 hojas, 17,6 \pm 3,40 cm de longitud de lámina foliar y 21,3 \pm 2,11 cm de longitud de tallo. En este caso la planta madre no muestra el incremento esperado con respecto a la semana 0, sino más bien se presenta un decrecimiento en el número de hojas (-0,33 \pm 0,93 hojas),

longitud de lámina foliar ($-2,11 \pm 7,47$ cm) y longitud de tallo ($-0,71 \pm 5,39$ cm). Esto fue comprobado mediante lo observado en campo donde se desarrolló un proceso natural de marchitamiento de las heliconias madre, generando pérdida de hojas y la reducción gradual, durante las semanas, de la fracción viva (tejido verde) de la lámina foliar.

En el caso de la longitud de raíz cabe recalcar que no hubo distinción entre plantas madre y retoños. En la semana 16, el lirio obtuvo un valor promedio de $33,3 \pm 5,37$ cm de longitud de raíz, para un incremento de $25,1 \pm 8,97$ cm con respecto a la semana 0. La heliconia en la semana 16, registró un valor promedio de $28,6 \pm 12,5$ cm de longitud de raíz y un incremento de $26,3 \pm 15,1$ cm con respecto a la semana 0. El crecimiento radicular en ambas plantas fue similar y adecuado, ya que logran abarcar gran parte de la profundidad del humedal e interactuar con las tres capas de sustrato.

Analizar el crecimiento de la biomasa en las plantas permite aproximar cuantos nutrientes de las aguas contaminadas son retenidos en los tejidos y así estimar cuanto es removido al cosechar este material vegetal [10]. Para la medición de masa no hubo distinción entre planta madre y retoño, en el caso del lirio, el promedio de la masa en la semana 0 es de $6,58 \pm 3,78$ g (82% de humedad) y en la semana 16 se registra un valor de $57,2 \pm 26,5$ g (84% de humedad) por lo que cada humedal plantado con lirio fue capaz de producir 50,6 g de biomasa en 16 semanas (aumentó 8,7 veces su masa en 16 semanas). En cuanto a la heliconia, en la semana 0 se obtuvo una masa promedio de $21,2 \pm 7,06$ g (81 % de humedad) y en la semana 16 se registró un valor de $180 \pm 95,8$ g (91% de humedad); por lo que cada humedal plantado

con heliconia fue capaz de producir 158,8 g de biomasa en 16 semanas (aumentó 8,5 veces su masa en 16 semanas).

Estos resultados indican que comparativamente el lirio madre tuvo mayor crecimiento (Δ) que la heliconia madre en número de hojas y longitud de lámina foliar. En cuanto a los parámetros de longitud de raíz y masa que contemplan las plantas madre y retoños, se obtuvo que la heliconia comparativamente creció más que el lirio. La Figura 10 muestra la apariencia de las plantas madre en la etapa inicial y el conjunto madre-retoño al final del experimento.

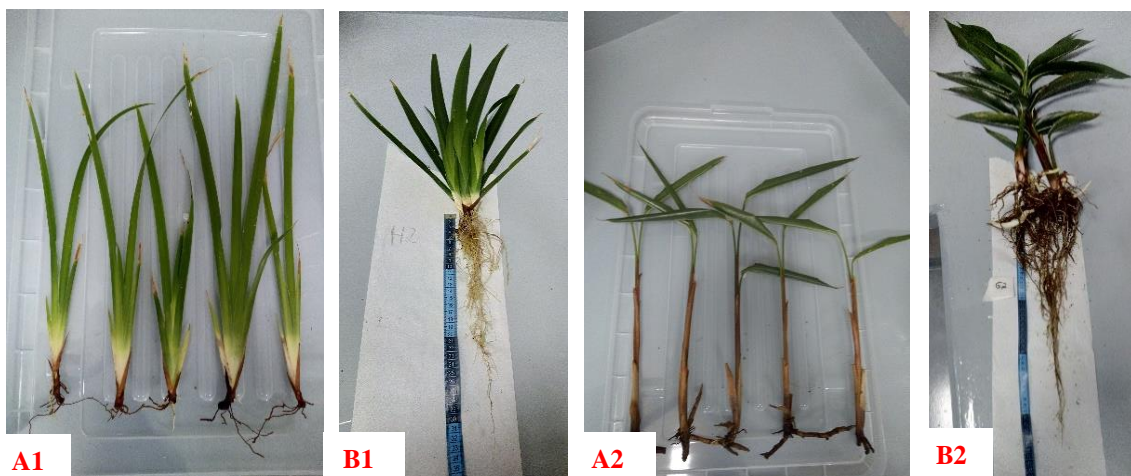


Figura 10. Cambio en la fisiología de las plantas estudiadas entre la semana inicial (A) y final (B), en Lirio (1) y Heliconia (2), respectivamente. (Fotografías tomadas el 19/03/2019 y el 08/08/2019 por el autor)

4.1.2. Crecimiento de los retoños

El desarrollo de nuevas plántulas indica la adaptabilidad de las plantas madre al sistema y al aprovechamiento de los nutrientes para la generación de nuevos tejidos. El Cuadro 3 muestra los promedios de las características fisiológicas de los retoños en la semana 0 y en la semana 16, para la planta lirio (n= 38) y para la heliconia (n=46).

Cuadro 3. Parámetros físicos promedio de los retoños en la semana 0 y semana 16. Número de retoños, número de hojas y longitud de lámina foliar ($n_{\text{lirio}}= 38$ y $n_{\text{heliconia}}= 46$) y longitud de tallo ($n = 46$).

	Lirio		Heliconia	
	0 semanas	16 semanas	0 semanas	16 semanas
Número de retoños	0	38	0	46
Número de hojas	$0,0 \pm 0,0$	$4,18 \pm 0,83$	$0,0 \pm 0,0$	$4,11 \pm 2,13$
Longitud de lámina foliar (cm)	$0,0 \pm 0,0$	$14,1 \pm 9,91$	$0,0 \pm 0,0$	$19,7 \pm 7,51$
Longitud de tallo (cm)	NA	NA	$0,0 \pm 0,0$	$18,6 \pm 9,13$

Las heliconias presentaron mayor crecimiento de retoños con respecto al lirio mostrando una respuesta más rápida de propagación con el desarrollo de nuevas plantas, ya que la aparición de retoños de heliconia surgió en la semana 2 y los retoños de los lirios hasta la semana 5. Las heliconias contabilizaron 46 retoños, $4,11 \pm 2,13$ hojas y $19,74 \pm 7,51$ cm de longitud de lámina foliar. Las heliconias pueden llegar a crecer entre 35 y 55 cm, por lo que los retoños aún están en etapa de crecimiento al término de este estudio [32]. Por otro lado, el lirio contabiliza 38 retoños, $4,18 \pm 0,83$ hojas y $14,07 \pm 9,91$ cm de longitud de lámina foliar. De igual manera estos retoños aún están en crecimiento, ya que la longitud de lámina foliar puede

llegar a medir entre 30 a 60 cm [28]. Comparativamente los retoños de ambas plantas mostraron un crecimiento promedio similar de hojas, pero la heliconia tuvo mayor longitud de lámina foliar y mayor cantidad de retoños.

4.1.3. Floración

El uso de plantas con floración en los humedales artificiales permite mejorar la estética y aumentar la aceptación de estos sistemas por parte del público. Además, el uso de flores comerciales, como las heliconias, genera una oportunidad para producir y comercializar las flores.

El presente estudio contabilizó las flores durante el periodo de experimentación (Cuadro 4). Las plantas madre de lirio florecieron en 10 ocasiones, mientras que los retoños del lirio no presentaron floración. Una razón de esta cantidad de flores es la opción de propagación de la planta a través de su tallo floral comentado en la sección 4.1.2.

Cuadro 4. Registro de floración para las plantas madre y retoños, para el lirio y la heliconia.

Fecha	Floración Plantas Madre		Floración Retoños	
	Lirio	Heliconia	Lirio	Heliconia
Semana 0	1	0	0	0
Semana 2	2	0	0	0
Semana 4	1	0	0	0
Semana 5	5	0	0	0
Semana 13	0	0	0	1
Semana 16	1	0	0	1
Total	10	0	0	2

Nota: Solamente se muestran las semanas en las que se contabilizó la aparición de flores.

Las heliconias madre no florecieron durante las semanas de estudio, pero si lo hicieron en dos ocasiones los retoños en ese mismo periodo. Las floraciones de los retoños de heliconia se dieron en la semana 13 y 16 del periodo de análisis, lo que equivale a la semana 17 y semana 20 posterior al trasplante, respectivamente.

Con estos resultados se determina la distinta dinámica de floración que poseen ambas especies de plantas, en el caso de los lirios la floración se da desde el inicio de la fase experimental pero solamente en las plantas madre. En el caso de las heliconias, la floración se da cuando los retoños alcanzan la madurez adecuada.

4.1.4. Crecimiento de la lámina foliar durante el periodo de experimentación

El crecimiento de la lámina foliar desde la semana 0 a la semana 16 se graficó para describir la tendencia generada por parte de ambas plantas. La Figura 11 describe dos comportamientos muy diferentes entre la lámina foliar de las plantas madre de lirio y heliconia. El lirio madre creció cerca de $12,5 \pm 22,5$ cm durante todo el periodo y la heliconia madre decreció $2,11 \pm 7,47$ cm. Esto es producto del estrés generado por el trasplante, el cual consistió en el secado gradual del tejido foliar desde el ápice (punta de la hoja) hasta el peciolo (base de la hoja).

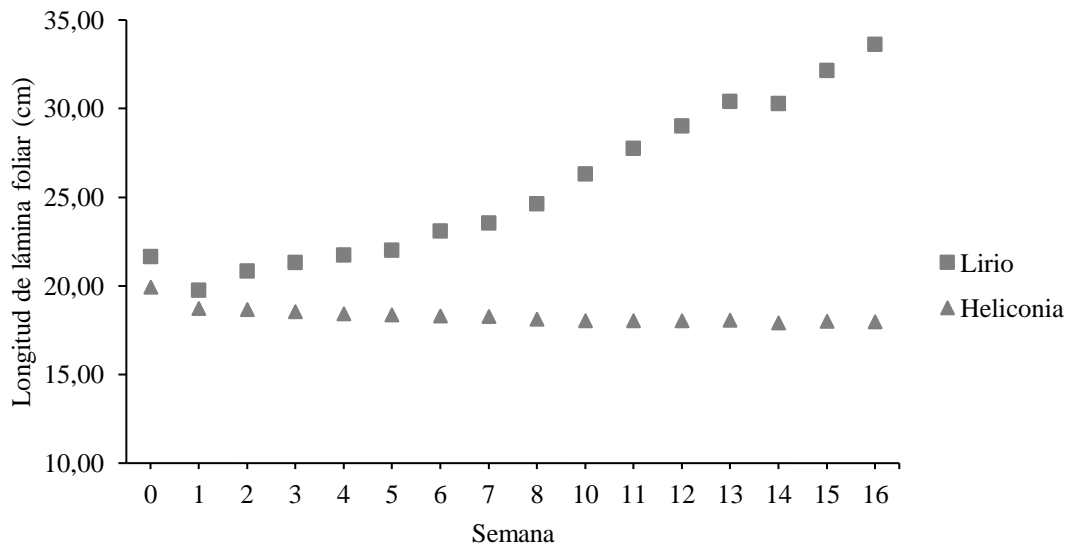


Figura 11. Comportamiento de la lámina foliar de las plantas madre de lirio y heliconia con respecto al tiempo de estudio, desde la semana 0 a la semana 16.

La Figura 12 muestra el crecimiento de la lámina foliar de los retoños de las plantas de lirio y heliconia. A partir de la semana 2 las heliconias desarrollan sus primeros brotes y en la semana 16 se obtuvo un crecimiento promedio de $19,7 \pm 7,51$ cm. Los retoños de los lirios aparecen hasta la semana 6 y se generaron menor cantidad en comparación a los de la heliconia. En la semana 16 la lámina foliar de los retoños del lirio creció en promedio $14,1 \pm 9,91$ cm.

El trasplante pudo haber tenido un efecto en las plantas, en donde las heliconias madre desaceleran su crecimiento para enfocar sus nutrientes en el desarrollo de rizomas y nuevos tejidos (retoños). En el caso de los lirios, son plantas que se establecen bien desde un inicio, creciendo considerablemente y aumentando su número de hojas, pero multiplicándose en

menor medida desde su base rizomática (aunque este no es su único mecanismo de propagación).

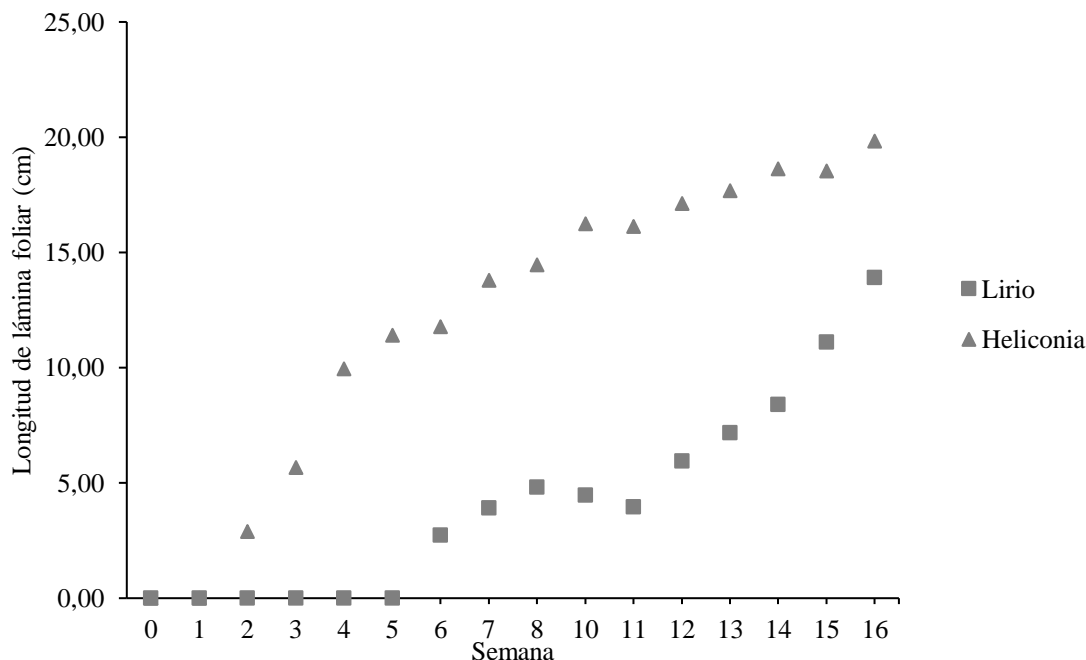


Figura 12. Comportamiento de la lámina foliar de los retoños de lirio y heliconia con respecto al tiempo de estudio, desde la semana 0 a la semana 16.

4.1.5. Absorción de nutrientes en las plantas y balance de masa

En esta sección se estudió el efecto de las plantas en la retención de contaminantes a través de la determinación de las tasas de absorción y además se realizó un balance de masa para mostrar la distribución de las masas de contaminantes en la planta y en el sustrato. Mediante los análisis químicos foliares realizados en el Centro de Investigaciones Agronómicas se obtuvieron los porcentajes de masa de los distintos elementos que componen a la planta (Anexo B y Anexo C). Con esta información se determina la tasa de absorción de carbono,

nitrógeno y fósforo de las plantas. El Cuadro 5 muestra a la heliconia como la planta con mayor absorción de cada elemento por área de humedal artificial, el cual se obtuvo aplicando la Ecuación 11 de la Sección 3.3.

Cuadro 5. Tasas de absorción de carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P), de las plantas lirio y heliconia, a partir de la ganancia de masa seca entre la semana 0 y la semana 16.

	Lirio	Heliconia
C g/m ² /año	37,1 ± 10,4	55,7 ± 13,9
N g/m ² /año	1,93 ± 0,54	2,93 ± 0,73
P g/m ² /año	0,13 ± 0,04	0,23 ± 0,06

Con las tasas de absorción presentadas en el Cuadro 5 se determina la masa total de cada elemento presente en el lirio y en la heliconia a la semana 16. El balance de masa en cada humedal artificial tiene como entrada el agua residual y como salida se tienen las aguas tratadas por cada humedal artificial. Las masas de los contaminantes a la entrada y a la salida de los humedales artificiales, junto a la masa de los nutrientes en las plantas, permiten calcular cuánto de estos nutrientes son retenidos en el sustrato de los HA mediante sedimentación o adsorción, quedando disponibles para ser metabolizados por los microorganismos.

Los balances de masa para cada tratamiento (lirio, heliconia y sin plantas) se presentan en los cuadros 6, 7 y 8, respectivamente. Los valores en la columna rotulada como entrada corresponden al promedio de las mediciones de los parámetros de las 15 semanas (n=15) del agua residual. Las columnas rotuladas como heliconia y lirio corresponden a la masa de cada elemento presente en las plantas y la columna rotulada como salida corresponde al promedio

total del agua tratada por los humedales, durante las 15 semanas de análisis incluyendo 3 repeticiones por semana (n=45). Finalmente, la columna rotulada como sustrato está calculada mediante la Ecuación 13.

Cuadro 6. Balance de masa (g) en los humedales artificiales con lirio.

Contaminantes	Entrada	Ubicación		
		Lirio	Sustrato	Salida
DQO (g)	81,5 ± 16,2	3,41 ± 0,96	25,3 ± 35,6	52,8 ± 18,5
DBO ₅ (g)	18,7 ± 16,1	3,41 ± 0,96	13,0 ± 18,5	2,32 ± 1,45
SV (g)	330 ± 101	3,41 ± 0,96	58,6 ± 202	268 ± 100
NT (g)	24,5 ± 5,56	0,18 ± 0,05	1,11 ± 10,6	23,3 ± 4,99
PO ₄ -P (g)	1,79 ± 0,99	0,01 ± 0,00	1,76 ± 1,00	0,02 ± 0,01

Cuadro 7. Balance de masa (g) en los humedales artificiales con heliconia.

Contaminantes	Entrada	Ubicación		
		Heliconia	Sustrato	Salida
DQO (g)	81,5 ± 16,2	5,13 ± 1,28	25,2 ± 32,5	51,2 ± 15,1
DBO ₅ (g)	18,7 ± 16,1	5,13 ± 1,28	11,3 ± 18,9	2,33 ± 1,53
SV (g)	330 ± 101	5,13 ± 1,28	43,4 ± 208	281 ± 106
NT (g)	24,5 ± 5,56	0,27 ± 0,07	1,66 ± 9,76	22,6 ± 4,14
PO ₄ -P (g)	1,79 ± 0,99	0,02 ± 0,01	1,76 ± 1,00	0,02 ± 0,00

Cuadro 8. Balance de masa (g) en los humedales artificiales control.

Contaminantes	Entrada	Ubicación		
		Sin planta	Sustrato	Salida
DQO (g)	81,5 ± 16,2	0,0 ± 0,0	30,7 ± 34,4	50,8 ± 18,2
DBO ₅ (g)	18,7 ± 16,1	0,0 ± 0,0	16,3 ± 17,6	2,41 ± 1,45
SV (g)	330 ± 101	0,0 ± 0,0	51,7 ± 200	278 ± 99,7
NT (g)	24,5 ± 5,56	0,0 ± 0,0	0,45 ± 11,2	24,1 ± 5,67
PO ₄ -P (g)	1,79 ± 0,99	0,0 ± 0,0	1,78 ± 0,99	0,02 ± 0,01

Primero se destaca que la heliconia y el lirio retienen 5,13 g y 3,41 g de carbono, respectivamente. Estos valores hacen que el balance de masa presente valores ligeramente menores en el sustrato del humedal con heliconia con respecto al del lirio. El mismo comportamiento se da con los parámetros de nitrógeno y fósforo. Estadísticamente no hay diferencias significativas entre los valores de salida entre los humedales con plantas y el control. Esto fue determinado en el análisis estadístico que se desarrolló para la sección 4.2 que se explicará posteriormente.

Para interpretar y discutir de mejor forma los resultados de los cuadros 6, 7 y 8, se determinaron las cargas orgánicas y los porcentajes asociados a cada valor, tomando como referencia el 100 % de la masa de los diferentes contaminantes en la entrada. De la Ecuación 7 (Sección 3.1.5), se despeja la carga orgánica superficial del contaminante (B_i) para calcular este parámetro, asociado a la concentración promedio ($n=15$) de la DQO, DBO₅, SV, N y PO₄-P, del agua residual (afluente) (Cuadro 9); dando como resultado 2,41 g m⁻²d⁻¹, 0,55 g m⁻²d⁻¹, 9,76 g m⁻²d⁻¹, 0,73 g m⁻²d⁻¹ y 0,05 g m⁻²d⁻¹, respectivamente. La literatura menciona que las plantas retienen cerca de un 5% o menos de los contaminantes que entran al sistema [53]. En esta investigación la retención de carbono (utilizando DQO como aproximación), nitrógeno y fósforo, fueron de 4,19% (0,10 g m⁻²d⁻¹), 0,72% (0,01 g m⁻²d⁻¹) y 0,67% (0,0004 g m⁻²d⁻¹) por parte del lirio. En el caso de la heliconia fue de 6,29% (0,15 g m⁻²d⁻¹), 1,10% (0,01 g m⁻²d⁻¹) y 1,16% (0,0006 g m⁻²d⁻¹), (C, N y P); siendo la heliconia la de mayor absorción.

El sustrato es el que contiene la mayor cantidad de masa de contaminantes, los cuales se retienen por medio de sedimentación, adsorción o metabolización bacteriana [54]. El HA con lirio retuvo 31,0%, 4,52% y 98,2%, de C, N y P, respectivamente. En el caso del HA con heliconias, los porcentajes de retención fueron de 30,9%, 6,77% y 97,9%. Finalmente, el HA sin plantas retuvo 37,7%, 1,82% y 99,0% de C, N y P.

Los porcentajes anteriores evidencian la dinámica de los distintos contaminantes en los humedales artificiales. El carbono presente en las aguas residuales entrantes puede sedimentar en el sustrato o también puede ser aprovechado por los microorganismos que se encuentran en el medio. Además, el efecto de las plantas al movilizar el oxígeno de sus hojas a las raíces promueve las condiciones necesarias para las reacciones de descomposición del carbono, mostrando una diferencia de un 6,70% de carbono menos en el sustrato de los humedales artificiales con plantas en comparación a los de sin plantas.

La medición de nitrógeno total determina el grado de transformación que sufre este contaminante por procesos de amonificación, nitrificación y desnitrificación, en el sustrato como medio de interacción entre los contaminantes, los microorganismos y las plantas. El sustrato de los HA con plantas retiene entre 2,70% (lirio) a 4,95% (heliconia) más NT que el sustrato del HA sin plantas. La razón de esto se podría atribuir a que el sistema radicular de la vegetación provee de oxígeno y proporciona mayor superficie de contacto para que se desarrollen los procesos que transforman del nitrógeno.

El nitrógeno es el nutriente común en diferentes estudios relacionados con humedales artificiales. Autores como Gutiérrez *et al.* [55], obtuvieron en su balance de masa para el HA

con heliconias 0,19% de nitrógeno ($0,01 \text{ g N m}^{-2}\text{d}^{-1}$) en la planta, 6,16% ($0,35 \text{ g N m}^{-2}\text{d}^{-1}$) en el sustrato y 4,97% en el sustrato de los humedales sin plantas. En la presente investigación el nitrógeno retenido en la heliconia fue mayor (1,10%) y el obtenido para el sustrato fue de 6,77%, similar al resultado anterior. Además, en el presente estudio, el nitrógeno retenido en el sustrato de los HA sin plantas fue de 1,82%, menor al 4,97% obtenido en la literatura citada.

Konnerup *et al.* [25], reportaron $12,2 \text{ g m}^{-2}\text{año}^{-1}$ de consumo de nitrógeno por parte de las heliconias ($9,27 \text{ g m}^{-2}\text{año}^{-1}$ más que lo obtenido en la presente investigación) y $84,7 \text{ g m}^{-2}\text{año}^{-1}$ en la planta canna. En otro artículo investigaron el nitrógeno y fósforo retenido por la planta llamada canna, pero en dos HA distintos. En el HFSSH se obtuvo una retención en planta del 1,66 % de N ($0,38 \text{ g N m}^{-2}\text{d}^{-1}$) y 0,43% de P ($0,098 \text{ g P m}^{-2}\text{d}^{-1}$). En el HFSSV la retención en planta fue 2,28 % de N ($0,97 \text{ g N m}^{-2}\text{d}^{-1}$) y 0,51% de P ($0,215 \text{ g P m}^{-2}\text{d}^{-1}$) [46]. Comparando los resultados anteriormente mencionados con los obtenidos en la presente investigación, se obtiene que tanto el lirio y la heliconia retienen menor porcentaje de nitrógeno, 0,72% y 1,10% respectivamente, con respecto a la canna. En cuanto al fósforo, el lirio y la heliconia retienen mayor porcentaje de este nutriente, 0,67% y 1,16% respectivamente, en contraste con la canna.

Finalmente, el fósforo es un nutriente que se retiene en mayor medida por sedimentación e interacción iónica con los componentes del sustrato. El efecto de la planta en la remoción de fósforo es mucho menor al 10% de lo que indica la literatura [21,23,39], el lirio retuvo 0,56% y la heliconia 1,12%, por lo que cerca del 98% es retenido en el sustrato.

4.2. Evaluación de la eficiencia del sistema de humedales artificiales

La eficiencia de remoción del sistema de humedales artificiales está relacionada con factores ambientales y de diseño, que influyen en las concentraciones de salida de los diferentes parámetros de calidad de agua, estas eficiencias fueron calculadas mediante la Ecuación 14. Durante las semanas de experimentación se registró una temperatura ambiental promedio de $22,4 \pm 4,08^{\circ}\text{C}$, con mínimas de $16,0^{\circ}\text{C}$ en algunas noches y máximas de $44,4^{\circ}\text{C}$ en algunas horas cercanas al medio día. La humedad relativa promedio registrada fue de $75,3 \pm 14,7 \%$. Mediante corroboraciones en campo se determinó que la precipitación no causó afectación considerable en la medición de los contaminantes, ya que se registró en promedio $2,97 \pm 16,1$ mm, en 17 eventos de lluvia distribuidos durante las 15 semanas.

Mediante el caudal establecido de 3 l/d, se calcularon los factores de diseño en el sistema de humedales artificiales. La carga hidráulica (CH) dio como resultado $9,31$ mm/d (Ecuación 8) y el tiempo de retención hidráulica fue de 2,1 días (Ecuación 9). La evaluación del sistema se refleja en el Cuadro 9, en donde se muestran los promedios generales de los distintos parámetros de calidad de agua analizados durante las 15 semanas de experimentación. El análisis estadístico se realizó a partir de los datos semanales para los distintos parámetros de calidad de agua en el agua residual (AR) de entrada y en los efluentes (salida) de los HA con heliconia, lirio y sin plantas (control). Este análisis se realiza con base en las medianas para identificar las diferencias significativas, pero en el siguiente cuadro se muestran los promedios para facilitar la consulta y comparación en un futuro por parte de otras personas, ya que la literatura normalmente reporta los promedios.

Cuadro 9. Concentración de contaminantes (mg/l) y eficiencias de remoción (% , valores entre paréntesis) en los humedales artificiales a escala de laboratorio, (Prom. \pm Desv. Est.), AR (n = 15), Lirio/Heliconia/Control (n = 45).

Parámetro	Agua Residual (AR)	Lirio	Heliconia	Control	Alcantarillado Sanitario ¹	Cuerpo Receptor ¹
DBO ₅ (mg/l)*	59,5 \pm 51,1	7,36 \pm 4,62 (86,7 \pm 12,3)	7,38 \pm 4,87 (77,1 \pm 24,4)	7,66 \pm 4,61 (86,1 \pm 11,8)	300	50
DQO (mg/l)*	259 \pm 51,3	168 \pm 58,6 (37,7 \pm 19,3)	162 \pm 47,9 (38,4 \pm 18,8)	161 \pm 57,9 (35,4 \pm 25,1)	750	150
NH ₃ -N (mg/l)**	0,52 \pm 0,39	0,22 \pm 0,14 (60,6 \pm 21,1)	0,18 \pm 0,12 (65,5 \pm 27,3)	0,27 \pm 0,14 (54,6 \pm 21,0)		
NO ₂ -N (mg/l)**	0,52 \pm 0,69	0,02 \pm 0,02 (90,8 \pm 8,23)	0,01 \pm 0,00 (93,7 \pm 8,18)	0,02 \pm 0,01 (89,9 \pm 8,29)		
NO ₃ -N (mg/l)	15,0 \pm 5,89	17,4 \pm 3,82 (-41,6 \pm 84,2)	16,5 \pm 4,14 (-35,0 \pm 83,0)	16,4 \pm 4,08 (-33,6 \pm 84,3)		
NT (mg/l)	77,9 \pm 17,6	73,8 \pm 15,9 (16,5 \pm 15,3)	71,8 \pm 13,1 (16,6 \pm 14,1)	76,5 \pm 18,0 (17,5 \pm 17,6)	50	50
PO ₄ -P (mg/l)*	5,69 \pm 3,14	0,06 \pm 0,02 (98,6 \pm 0,74)	0,06 \pm 0,01 (98,8 \pm 0,46)	0,06 \pm 0,02 (98,8 \pm 0,57)	8,2	8,2
ST (mg/l)	2293 \pm 670	1848 \pm 457 (28,3 \pm 23,5)	1889 \pm 489 (26,4 \pm 24,4)	1886 \pm 466 (30,4 \pm 23,2)		
SF (mg/l)*	1246 \pm 403	988 \pm 198 (24,9 \pm 22,3)	996 \pm 212 (26,3 \pm 22,3)	1003 \pm 195 (27,7 \pm 22,6)		
SV(mg/l)	1047 \pm 320	850 \pm 319 (45,2 \pm 27,7)	893 \pm 335 (40,4 \pm 29,4)	883 \pm 317 (38,7 \pm 27,0)		
S. Filtra. (mg/l)	2024 \pm 731	1757 \pm 460 (34,7 \pm 23,8)	1785 \pm 477 (33,2 \pm 24,9)	1732 \pm 453 (36,6 \pm 23,6)		
SST (mg/l)*	269 \pm 163	114 \pm 116 (63,4 \pm 25,4)	127 \pm 112 (59,8 \pm 20,3)	155 \pm 102 (49,6 \pm 22,4)	300	50
S. Sedim. (ml/l)	3,82 \pm 0,78	NA	NA	NA	5	1
SDT (mg/l)	1288 \pm 504	1128 \pm 313 (35,7 \pm 21,4)	1142 \pm 333 (29,7 \pm 24,0)	1153 \pm 333 (29,8 \pm 23,9)		
Turbiedad (NTU)**	244 \pm 62,8	0,96 \pm 0,33 (99,6 \pm 0,21)	1,16 \pm 0,40 (99,5 \pm 0,31)	1,15 \pm 0,48 (99,5 \pm 0,31)		
CF (NMP/100 ml)*	> 2400	37,3 \pm 7,51 (98,4 \pm 0,31)	101 \pm 73,9 (95,8 \pm 3,08)	128 \pm 192 (94,7 \pm 8,01)		1000
CT (NMP/100 ml)*	> 2400	141 \pm 126 (94,1 \pm 5,27)	197 \pm 142 (91,8 \pm 5,91)	244 \pm 266 (89,8 \pm 11,1)		
Conductividad (μ S/cm)	2576 \pm 1008	2255 \pm 626	2282 \pm 666	2304 \pm 665		
OD (mg/l)	1,53 \pm 2,05	1,33 \pm 2,23	1,55 \pm 2,21	1,49 \pm 2,27		
pH*	6,92 \pm 0,55	4,38 \pm 0,41	4,33 \pm 0,37	4,31 \pm 0,38	6 a 9	5 a 9
Temperatura (°C)	22,7 \pm 1,58	22,3 \pm 1,04	22,5 \pm 1,12	22,1 \pm 0,89	15 a 40	15 a 40

*Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el agua residual (afluente) y los efluentes (Lirio, Heliconia y control).

** Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el afluente y los efluentes, y también entre efluentes (Lirio, Heliconia y control).

DBO: AR (n = 6), Lirio/Heliconia/Control (n = 18).

CF y CT fueron pruebas realizadas mediante un muestreo puntual al final del experimento. AR (n = 1), Lirio/Heliconia/Control (n = 3)

¹Referencia: [44]

La obtención de los resultados de esta investigación permite analizar el cumplimiento de la concentración de los efluentes con respecto a la normativa costarricense para el vertido de las aguas en alcantarillado sanitario y en cuerpos receptores. En el Cuadro 9 se puede apreciar que la concentración de DBO₅, PO₄-P, S. Sedim., Temperatura y CF cumplen para ser vertidos en alcantarillado sanitario y en cuerpos receptores. La concentración DQO y SST solamente cumplen para ser vertidos en el alcantarillado sanitario; mientras que el NT y el pH no cumplen para ser vertidos en el alcantarillado sanitario ni en cuerpos receptores. Sin embargo, al aplicar las recomendaciones que se explicarán más adelante, los resultados podrían mejorar e incluso hasta cumplir el mínimo para el vertido en el alcantarillado sanitario, o incluso en cuerpos receptores.

El Cuadro 10 muestra el análisis de resultados con base en los ocho tipos de reúso de agua que plantea el Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales. Los parámetros que cumplen para todos los tipos de reúso son la DBO₅ y los CF. La DQO cumple para los Tipos 2, 4, 5 y 7. Por otra parte, los SST no cumplen para ningún tipo de reúso, pero es importante notar que la diferencia es de 13,6 mg/l a 54,7 mg/l para cumplir con los tipos de reúso más próximos (Tipo 5 y Tipo 7). Para que esto suceda deben de hacerse algunas modificaciones que se mencionarán más adelante, que incluso podrían hacer que el efluente cumpla para más tipos de reúso.

Cuadro 10. Cumplimiento de límites máximos para los diferentes tipos de reúso de agua, (Prom. \pm Desv. Est.) [44].

Parámetro	Lirio	Heliconia	Control	Límite máximo según Tipo de Reúso							
				1	2	3	4	5	6	7	8
DBO ₅ (mg/l)	7,36 \pm 4,62	7,38 \pm 4,87	7,66 \pm 4,61	50	75	50	75	100	50	100	50
DQO (mg/l)	168 \pm 58,6	162 \pm 47,9	161 \pm 57,9	150	225	150	225	300	150	300	150
SST (mg/l)	114 \pm 116	127 \pm 112	155 \pm 102	50	75	50	75	100	50	100	50
CF (NMP/100 ml)	37,3 \pm 7,51	101 \pm 73,9	128 \pm 192	1000	10000	1000	10000		10000		1000

*Los valores en negrita indican que los parámetros cumplen para el respectivo tipo de reúso de agua.

El Cuadro 9 muestra las concentraciones de los contaminantes a la entrada y a la salida de los HFSSV y sus respectivos porcentajes de remoción. A continuación, se detallarán los resultados obtenidos para los siguientes parámetros: DBO₅, DQO, NH₃-N, NO₂-N, NO₃-N, PO₄-P, ST, SF, SV, SST, Turbidez, CT y CF.

Los resultados obtenidos en esta investigación para DBO₅ presentaron eficiencias de remoción entre el 77,1-86,7% (Cuadro 9). Este resultado se encuentra dentro del rango de remoción de 85-95% de DBO para humedales de flujo subsuperficial [21] y dentro del 50-98% en la remoción de materia orgánica en los humedales artificiales verticales [39]. Estadísticamente no hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos (Lirio, Heliconia y Control), pero si lo hubo entre el afluente y el efluente del sistema ($p=0,0055$). El efecto de las plantas no es de gran relevancia en la remoción de materia orgánica, ya que la mineralización es realizada en mayor medida por las bacterias de la biopelícula adherida en el sustrato [56].

En Colombia, un estudio realizado con un humedal artificial vertical a escala de laboratorio, obtuvo una remoción del 37% en DBO₅ (58,04 mg/l de entrada) [57], por lo que en la presente investigación se obtuvo mayor remoción de DBO₅ (77,1-86,7%). En México, se realizó un experimento con HA a escala piloto para el tratamiento de aguas residuales con una concentración de 115,5 mg/l de DBO₅ y obteniendo una remoción entre 80,4-83,3% en los HFSSV, similar a lo que se obtuvo en la presente investigación [26]. En Grecia se desarrolló un estudio utilizando HFSSV a escala piloto para el tratamiento de aguas sintéticas, con una

concentración de 400 mg/l de DBO₅ y una remoción de 64,8-81,5%, similar a lo obtenido en la presente investigación. [58].

Para alcanzar remociones iguales o mayores a 90% de DBO₅, se recomienda aumentar la profundidad del HFSSV, utilizar sustratos con menor tamaño de partícula y reducir los tiempos entre dosificaciones de agua residual [26]. En el caso de la presente investigación, la altura del humedal estaba limitada por el contenedor utilizado, pero aun así las eficiencias de remoción alcanzadas fueron favorables. Otro aspecto positivo según lo recomendado por la literatura fue el uso del granito de río, ya que por su reducido tamaño de partícula tiene mayor capacidad de filtración en comparación a sustratos de mayor tamaño. Sería recomendable para futuras investigaciones aumentar la profundidad de esta capa para ampliar el espacio de filtrado y de la biopelícula. Con lo anterior se permitiría que los microorganismos degraden en mayor medida la materia orgánica debido al aumento del volumen de contacto [59].

En la presente investigación se esperaba que los humedales verticales redujeran considerablemente el DQO, pero no fue así, el porcentaje de remoción como máximo fue de 38,4% (Cuadro 9). De igual forma que en la DBO₅, estadísticamente solo hay diferencias significativas entre el afluente y el efluente ($p < 0,0001$). Por lo general, la literatura indica que los HFSSV generan remociones del 68-81% [35], 77,2-83,3% [26] y 73-93% [59]. Para mejorar este parámetro se debe seguir la misma recomendación para la DBO₅, ya que al aumentar las profundidades de las capas de sustrato se mejorarían los procesos físicos de filtración, sedimentación y adsorción en la remoción de materia orgánica [10].

Por medio de la relación entre la DBO₅ y la DQO se puede determinar la biodegradabilidad de las aguas residuales. Valores superiores o iguales a 0,4 clasifican las aguas como muy biodegradables, 0,2-0,4 como aguas biodegradables y valores menores e iguales a 0,2 como aguas poco biodegradables [21]. Las aguas entrantes al sistema presentan una relación de 0,23 siendo clasificada como aguas biodegradables. Es importante comprender que este valor es básicamente el límite inferior de esta categoría, por lo que también debe considerarse que estas aguas tienen una fracción no biodegradable a considerar. Los HFSSV eliminan mayormente la materia orgánica biodegradable (contemplada en la DBO) debido a la oxigenación que ocurre en el sustrato. Mientras que la materia orgánica no biodegradable (contemplada en la DQO) se reduce en menor medida debido a que solamente circula en el sustrato [41], esto explicaría la menor remoción de la DQO por parte de los humedales artificiales utilizados en el presente estudio.

El nitrógeno es un contaminante que requiere transformarse para poder ser liberado a la atmósfera en forma de gas o por medio de la cosecha de las plantas. Para que esto suceda deben de cumplirse ciertas condiciones como la presencia de microorganismos, pH, temperatura y la presencia (nitrificación) o ausencia (desnitrificación) de oxígeno. El proceso de nitrificación se da por medio de la oxidación de compuestos inorgánicos a través de las bacterias autótrofas llamadas Nitrosomas y Nitrobacter [21]. Estas bacterias dividen el proceso de nitrificación en dos etapas.

La primera etapa está definida por las nitrosomas, las cuales toman el NH₃-N y lo oxidan en NO₂-N. La concentración de NH₃-N en las aguas de entrada fue de 0,52 mg/l y después de

su paso por los humedales artificiales de tipo heliconia, lirio y control, disminuyeron a $0,18 \pm 0,12$ mg/l, $0,22 \pm 0,14$ mg/l y $0,27 \pm 0,14$ mg/l, respectivamente (Cuadro 9). Los porcentajes de transformación del $\text{NH}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ fueron de 65,5%, 60,7% y 54,6%, para los humedales artificiales de tipo heliconia, lirio y control, respectivamente. Esta transformación, como se describió anteriormente, es producto de la interacción de las bacterias nitrosomas y en menor medida a través de la asimilación del amonio (NH_4^+) por parte de las plantas (15-20%) [21]. Las plantas evaluadas (lirio y heliconia) tuvieron un efecto significativamente mayor ($p=0,0004$) con respecto al control, pero no entre ellas. Lo que puede indicar, que el uso de plantas en humedales artificiales genera un ambiente en el sustrato que propicia significativamente la transformación del $\text{NH}_3\text{-N}$ a $\text{NO}_2\text{-N}$.

La segunda parte de la nitrificación es generada por los Nitrobacter, estas bacterias toman el $\text{NO}_2\text{-N}$ y lo transforman en $\text{NO}_3\text{-N}$. La concentración de $\text{NO}_2\text{-N}$ en las aguas de entrada fue de $0,52 \pm 0,69$ mg/l y por medio de la actividad microbiana en el sustrato las concentraciones de salida fueron de $0,01 \pm 0,00$ mg /l, $0,02 \pm 0,02$ mg /l y $0,02 \pm 0,01$ mg /l, en los HA de tipo heliconia, lirio y control, respectivamente. Los porcentajes de transformación de $\text{NO}_2\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ fueron de 93,7% (HA heliconia), 90,8% (HA lirio) y 89,9% (HA control) (Cuadro 9). Se puede considerar que el ambiente generado en el sustrato plantado con heliconia promueve significativamente la segunda etapa de la nitrificación con respecto a los humedales artificiales plantados con lirio y al control ($p<0,0001$). La heliconia tiene la capacidad de generar zonas aeróbicas en sus raíces y rizomas, por medio de la traslocación

del oxígeno desde las hojas. Esto permite el desarrollo de microorganismos que degradan la materia orgánica y benefician la nitrificación [34].

La transformación de $\text{NO}_2\text{-N}$ a $\text{NO}_3\text{-N}$ en la segunda etapa del proceso de nitrificación tuvo porcentajes de transformación superiores a 89%. En el Cuadro 9 se puede observar que la concentración de $\text{NO}_3\text{-N}$ en el AR es de $15,0 \pm 5,89$ mg/l y las concentraciones de salida de los HA se encuentran entre 16,4 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /l y 17,4 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /l. Esto indica que se generó entre 33,6% y 41,6 % más de $\text{NO}_3\text{-N}$ en el sistema de humedales artificiales. La razón del aumento de $\text{NO}_3\text{-N}$ en los HA se debe a que las condiciones necesarias para la desnitrificación no fueron las adecuadas. La desnitrificación requiere de condiciones anaerobias para que las bacterias facultativas heterótrofas puedan descomponer el nitrógeno y liberarlo en forma de gas. Esto confirma que los humedales de flujo vertical son efectivos en los procesos de nitrificación, pero no tanto en la desnitrificación [36].

El proceso de nitrificación es efectivo cuando se proporcionan las condiciones necesarias de oxígeno disuelto ($\text{OD} > 1\text{mg/l}$), temperatura estable y pH (7,5-8,6) [21]. En el presente estudio las concentraciones de OD y temperatura fueron las adecuadas para la nitrificación, entre 1,33-1,55 mg/l y 22 °C, respectivamente, tanto en el AR como en los efluentes de los HA. Es importante hacer la salvedad en el pH, el agua de entrada tiene un pH de 6,92 y por los procesos descritos anteriormente se consume alcalinidad [35], generando que el agua se vuelva más ácida (pH: 4,31-4,38), tal como ocurrió (Cuadro 9). Esto fue un factor limitante para el siguiente proceso en la transformación del nitrógeno (desnitrificación). Para prevenir esta condición en investigaciones futuras, sería recomendable agregar al sistema una capa de

sustrato de piedra caliza (carbonato de calcio, CaCO_3) para equilibrar el pH. La cantidad de piedra caliza o profundidad de la capa debería definirse mediante futuras investigaciones que evalúen esas condiciones.

La efectividad del proceso de desnitrificación depende de condiciones anaeróbicas ($\text{OD} < 1$ mg/l), ya que el OD en las aguas inhibe el proceso de desnitrificación. Además, se requiere un pH entre 7-8, temperatura estable y es necesario 3 g de DBO_5 para consumir 1 g de nitrato [21]. Por lo tanto, el aumento del $\text{NO}_3\text{-N}$ en la salida de todos los humedales artificiales indica que no hubo capacidad en el sistema para generar las reacciones de desnitrificación. Las razones fueron que la concentración de OD en el agua fue mayor a 1 mg/l, pH cercanos a 4 y la limitada cantidad de materia orgánica biodegradable presente en las AR, definida por la relación DBO_5/DQO .

En los párrafos anteriores se ha explicado la transformación que sufrió el nitrógeno en el sistema de humedales artificiales. En el presente estudio, la nitrificación fue efectiva, pero no la desnitrificación. La literatura menciona que estos sistemas verticales tienden a remover cerca de un 30% de NT [36]. Los resultados de NT confirman que la desnitrificación es solo de un 17% (Cuadro 9), lo que indica que se debe aumentar el nivel del agua para propiciar las condiciones anaeróbicas y favorecer las reacciones químicas necesarias.

El $\text{PO}_4\text{-P}$ obtuvo concentraciones en las aguas de entrada de $5,69 \pm 3,14$ mg/l y después de ser tratadas por los humedales artificiales se obtuvieron concentraciones de 0,06 mg/l en los tres tipos de humedales artificiales en estudio (Cuadro 9). Algunos autores coinciden en que la remoción del fósforo por medio de las plantas se da en un 10% o menos [21,23,39].

Mediante el balance de masa se determinó que para este experimento las plantas remueven entre 0,6-1,1% de $\text{PO}_4\text{-P}$, sin diferencias significativas entre los tres tratamientos, pero si con el AR ($p < 0,0001$). Lo anterior indica que el mayor porcentaje de remoción se da por efecto del sustrato, posiblemente por el sustrato de origen volcánico utilizado en los humedales. El origen del sustrato volcánico es de la colada de lava de Cervantes (sureste del volcán Irazú) y según un estudio realizado por otro autor, es posible que esté compuesto por 16,9-18,2% de Al_2O_3 , 3,2% de Fe_2O_3 y 6,8-11,2% de CaO [48]. Los componentes mencionados anteriormente participan en reacciones de adsorción con el fósforo, lo que podría explicar el 98% de remoción en los tres tipos de HA del estudio (Cuadro 9).

En la Ciudad de México, se realizó una investigación con HFSSV a escala de laboratorio con un sustrato de origen volcánico. El objetivo principal fue determinar la remoción de fósforo de las aguas residuales con los HA y como resultado obtuvieron una eficiencia promedio de remoción del 90% [60], similar a lo obtenido en la presente investigación. Es importante tener en cuenta que en la fase inicial, estos porcentajes llegan a ser mayores debido a que existen más zonas disponibles para la adsorción y con el tiempo la capacidad va disminuyendo [21].

Los sólidos en el agua de entrada de los humedales tienden a removerse por procesos como sedimentación, filtración y descomposición por medio de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos presentes en el sustrato [26]. La concentración de ST en las aguas entrantes al sistema es de 2293 ± 670 mg/l, con un porcentaje de remoción de los HA del 26,4 a 30,4%

(Cuadro 9). Mediante la prueba de Kruskal Wallis no se determinaron diferencias significativas entre tratamientos ni entre el AR ($p=0,1820$).

Los ST están conformados por los SF los cuales están relacionados a los contaminantes inorgánicos. La concentración de SF en el AR fue de 1246 ± 403 mg/l y fueron removidos por los HA entre un 24,9-27,7% (Cuadro 9); sin diferencias entre tratamientos, pero si con respecto al AR. La otra fracción de los ST son los SV que representa a los contaminantes orgánicos. La concentración de SV del AR fue de 1047 ± 320 mg/l y fueron removidos por los HA entre un 38,7-45,2% (Cuadro 9); estadísticamente no se presentaron diferencias entre tratamientos ni entre el AR ($p=0,6227$).

Un parámetro de interés en los sistemas de humedales artificiales son los SST. de las aguas residuales. La concentración de SST del AR en el presente estudio fue de 269 ± 163 mg/l y las aguas de salida presentaron concentraciones entre 114-155 mg/l (Cuadro 9). Estos resultados no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, pero si con respecto al agua de entrada ($p=0,0017$). Los porcentajes de remoción del presente estudio se encuentran entre 49,6-63,4%, lo cual está por debajo de algunos reportes, los cuales indican remociones entre un 90-99% [36] y 85-95% [21]. Por otra parte, un estudio realizado en México con humedales verticales, obtuvo porcentajes de remoción entre 53,2-69,8% [26], similares a los obtenidos en la presente investigación.

Los sólidos sedimentables fueron medidos únicamente en las AR, ya que las primeras muestras de las aguas de salida de los HA no presentaron sólidos sedimentables que se pudieran medir en el cono Imhoff. Además, por la cantidad de muestras y la cantidad de

conos disponibles, se tomó la decisión de no medir este parámetro en las aguas de salida. El AR presentó una concentración de $3,82 \pm 0,78$ ml/l, mientras que en las aguas de salida no fueron detectables por lo que cumplen con el vertido mínimo de 1 ml/l.

En general, la remoción de sólidos no fue eficiente y se sospecha que se deba al tamaño de partícula del sustrato. En una investigación utilizaron un diámetro de partícula en el sustrato de 1,2 cm, lo que provocó que el agua atravesara el sustrato rápidamente, generando poca remoción de sólidos [26]. En comparación con la presente investigación, se utilizó piedra cuarta volcánica de 0,95-2,22 cm de tamaño de partícula, similar a lo utilizado por los autores anteriores. La diferencia radica en el granito de río (0,12-0,24 cm de diámetro) el cual es el primer material filtrante y se podría considerar que los 10 cm que lo conforman podrían aumentarse para generar mayor volumen de filtrado. Otros factores que afecta la retención de sólidos es la maduración de la biomasa del humedal, de la biopelícula y de las plantas. Conforme pasa el tiempo la porosidad del sustrato se reduce debido a la obstrucción generada por los factores mencionados anteriormente y esto produce mayor retención de los sólidos, pero consecuentemente llegan a bloquear el sistema y será necesario un mantenimiento. [61]

Los SST definen el grado de turbidez en el agua, a mayor concentración de SST mayor turbidez y viceversa. Garantizar un efluente con turbidez baja permite un ambiente acuático saludable al tratarse de descargas en cuerpos receptores naturales. [62]

El parámetro de turbidez es un resultado importante en esta investigación ya que se logró el 99% de reducción, pasando de 244 NTU en el AR, a un intervalo de 0,96-1,16 NTU en las aguas de salida de los HA (Cuadro 9 y Figura 13). La remoción alcanzada se comporta mejor

que la obtenida en otros estudios, la cual expone remociones entre 81 y 89 % en humedales artificiales verticales [63]. Estadísticamente se obtuvieron diferencias significativas con un intervalo del 95% entre el afluente y los efluentes ($p < 0,0001$); pero también se obtuvo diferencias entre los humedales plantados con heliconia y lirio, siendo los humedales con lirio el de mayor remoción.



Figura 13. Comparación de la turbidez entre el afluente (AR) y los efluentes del sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical en la semana 0. (Fotografía tomada el 17/04/2019 por el autor)

Dentro de los parámetros investigados, los patógenos son muy importantes y de mucha curiosidad para las personas interesadas en estos sistemas. Estos deben ser estudiados a través de los organismos indicadores, los cuales tienen un comportamiento similar a los patógenos, siendo rápidamente evaluables y entregando resultados fiables [40].

La remoción de CF en esta investigación fue del 94,7-98,4% (Cuadro 9), pasando de valores mayores a 2400 NMP/100 ml en las aguas residuales a valores entre 37,3-128 NMP/100 ml (Cuadro 9 y Anexo D). Estos resultados son relativamente similares a los obtenidos por la

autora Sarai (CF 99,99%) y dentro del rango establecido por la Alianza por el Agua (90-99%) [21,40].

Además, la remoción de CT se mantuvo en un rango entre 89,8-94,1% (Cuadro 9), ligeramente menor a lo obtenido por Zurita *et al.*, 96,8-97,0% [26], y entre 5-10% menor a lo reportado por Sarai (99,99%) [40]; ambas investigaciones en zonas de clima caliente y en HFSSV, la única diferencia es que Sarai utilizó dos humedales en serie, potenciando los porcentajes de remoción.

Los humedales artificiales verticales tienen la capacidad de remover mayor cantidad de patógenos en comparación con los de flujo horizontal [40]. Las razones que favorecen esta remoción se deben a la mayor concentración de oxígeno presente dentro de los HFSSV y a las temperaturas cálidas. Las condiciones anaerobias prolongan la supervivencia de los patógenos y las aeróbicas realizan el efecto contrario, debido a la abundancia de depredadores en esas condiciones [26]. En cuanto a la temperatura, se tiene que a temperaturas altas los coliformes sobreviven menor tiempo en comparación con temperaturas más bajas, esto debido a que las reacciones metabólicas se aceleran proporcionalmente con el aumento de la temperatura [26], por lo que en los momentos en donde se registraron máximas de 44,4°C en el presente estudio, la tasa de mortalidad tuvo que ser considerablemente mayor.

Al igual que Zurita *et al.* [26], las plantas no tienen efecto significativo dentro del sistema analizado, pero si encuentran diferencias significativas entre el afluente y el efluente. Algo importante a mencionar es que autores han concluido que a mayor temperatura del agua

residual y a menor tamaño de partícula tenga el sustrato, será más efectiva la eliminación de coliformes en los HFSSV.

4.3. Constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área (k)

Esta sección consta del cálculo de las k asociadas a los parámetros más comunes en el diseño de humedales artificiales. Las k están determinadas en función al caudal del 3 l/d, a la porosidad de 12,3% del sustrato, a la profundidad de 35 cm de los humedales artificiales, al área de 0,32 m² y a una temperatura ambiental promedio de $22,4 \pm 4,1^{\circ}\text{C}$. El Cuadro 11 presenta los resultados de las k para los tres tratamientos (lirio, heliconia y control), mediante los dos modelos estudiados, Flujo de tapón y Flujo de tapón modificado. Es importante aclarar que no se analizó estadísticamente esta sección debido a que las constantes calculadas dependen de las concentraciones de entrada y de salida de los humedales (sección 4.2) a las cual se les realizó dicho análisis.

Cuadro 11. Constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área para HFSSV.

	<i>k</i> Flujo de tapón (m/d)			C* (mg/l)	<i>k</i> Flujo de tapón Modificado (m/d)		
	Lirio	Heliconia	Control		Lirio	Heliconia	Control
DBO₅	0,191 ± 0,098	0,154 ± 0,098	0,184 ± 0,093	6,7	0,217 ± 0,078	0,168 ± 0,081	0,207 ± 0,073
DQO	0,041 ± 0,032	0,041 ± 0,029	0,041 ± 0,042	17,4	0,046 ± 0,038	0,046 ± 0,034	0,048 ± 0,051
NT	0,015 ± 0,017	0,015 ± 0,015	0,016 ± 0,021	1,5	0,015 ± 0,017	0,015 ± 0,015	0,017 ± 0,020
NH₃-N	0,080 ± 0,040	0,100 ± 0,055	0,067 ± 0,037	0			
PO₄-P	0,337 ± 0,045	0,343 ± 0,034	0,342 ± 0,041	0			
ST	0,031 ± 0,034	0,029 ± 0,036	0,033 ± 0,034	52,3	0,035 ± 0,041	0,033 ± 0,043	0,037 ± 0,040
SST	0,081 ± 0,041	0,077 ± 0,038	0,059 ± 0,036	17,8	0,095 ± 0,051	0,091 ± 0,048	0,068 ± 0,044
CF	0,316 ± 0,015	0,262 ± 0,080	0,302 ± 0,138	0			
CT	0,240 ± 0,081	0,204 ± 0,061	0,222 ± 0,121	0			

Mediante la Ecuación 3 se calcularon las constantes de concentración base (C^*) para el modelo de flujo de tapón modificado para DBO₅, DQO y SST, las cuales corresponde a 6,7 mg/l, 17,4 mg/l y 17,8 mg/l, respectivamente. La concentración base para ST se calculó mediante la Ecuación 4, dando como resultado 52,3 mg/l. En el caso del NT se utilizó 1,5 mg/l y para NH₃-N, PO₄-P, CF y CT, 0 mg/l; según lo recomendado por Kadlec y Wallace [10]. Los espacios sin datos para el modelo de flujo de tapón modificado se deben a que la C^* es 0 mg/l y por lo tanto los datos son iguales a los obtenidos para el modelo de flujo de tapón.

En el Cuadro 11 se refleja el resultado obtenido en la sección 4.2, donde los parámetros con mayor porcentaje de remoción muestran los valores mayores de k en comparación con los otros parámetros. Esto se debe a que los modelos de caja negra utilizados se basan

propriadamente en las concentraciones de entrada y de salida, además del efecto que genera la temperatura en el sistema. Entre los dos modelos utilizados, el modelo de flujo de tapón modificado ($k-C^*$) es más cercano a lo que sucede en la realidad, ya que contempla la variable de concentración residual de contaminantes en el sistema. Para el modelo $k-C^*$ se obtuvo respectivamente las k para DBO₅, PO₄-P, CF y CT, para el lirio: 0,217 m/d, 0,337 m/d, 0,316 m/d y 0,240 m/d; para la heliconia: 0,168 m/d, 0,343 m/d, 0,262 m/d y 0,204 m/d; y para el control: 0,207 m/d, 0,342 m/d, 0,302 m/d y 0,222 m/d.

De los resultados presentados en el Cuadro 11 solamente el parámetro de nitrógeno amoniacal (NH₃-N) presentó diferencias significativas en la sección 4.2 entre los tratamientos con planta con respecto al control (sin planta). Los tratamientos con planta presentaron mayor remoción de contaminantes y por lo tanto los valores de k son significativamente mayores con respecto al del control. La k para el lirio, heliconia y control es de 0,080 m/d, 0,100 m/d y 0,067 m/d, respectivamente. Con respecto al resto de parámetros analizados no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

UN-HABITAT establece una metodología para diseñar humedales artificiales a través de los parámetros de diseño del humedal [64]. Haciendo uso de esta metodología y a manera de ejemplo para comparar el uso de un valor teórico con respecto a un valor experimental en el diseño de humedales artificiales, se calculó la constante k para DBO₅ con los parámetros de diseño del presente estudio (35 cm de profundidad, 12,3% de porosidad y temperatura promedio de 22°C), dando como resultado el valor teórico de 0,053 m/d (Anexo F). El Cuadro 11 muestra los valores de k para DBO₅ de los humedales con lirio, heliconia y control;

con el k teórico y el k promedio determinado experimentalmente para el parámetro DBO_5 (ya que no hay diferencias significativas entre tratamientos), se realizó un ejemplo del requerimiento del área superficial del humedal artificial bajo los modelos de flujo de tapón y flujo de tapón modificado (Anexo F). Mediante el uso del modelo de flujo de tapón con la k teórica se obtuvo un área de $18,5 \text{ m}^2$ y con la k experimental se obtuvo $5,6 \text{ m}^2$, logrando una reducción del 70% del área. En cuanto al modelo de flujo de tapón modificado, para la k teórica se obtuvo un área superficial de $20,2 \text{ m}^2$ y con la k experimental se obtuvo $5,5 \text{ m}^2$, generando una reducción del 73% del área.

Con el fin de optimizar el área de diseño en los trópicos, el ejemplo anterior muestra la importancia de utilizar las k asociadas a las condiciones ambientales tropicales y de diseño de la zona donde se va a construir el humedal artificial. Ya que al utilizar parámetros o metodologías que fueron sustentadas con datos de otras zonas climáticas, se podría estar sobredimensionando los humedales en los trópicos y esto se traduce en menores costos de construcción.

Con respecto a otras investigaciones, Konnerup *et al.* [25], obtuvieron para la *Heliconia psittacorum*, un valor mayor de k para DQO ($0,271 \text{ m/d}$, $C^*=26,7 \text{ mg/l}$) y un valor menor para NT ($0,0093 \text{ m/d}$, $C^*=1,5 \text{ mg/l}$), con respecto a lo obtenido en la presente investigación para DQO y NT, $0,046 \text{ m/d}$ y $0,015 \text{ m/d}$, respectivamente (Cuadro 11). La diferencia recae en que estos datos provienen de un HFSSH afectado por temperaturas entre los $26\text{-}30,8 \text{ }^\circ\text{C}$, lo que explica la buena remoción de DQO y en el caso del NT los autores explican que posiblemente no se pueda modelar con los modelos de flujo de tapón.

Una investigación en el trópico determinó que la tasa de conductividad hidráulica o carga hidráulica (HLR por sus siglas en inglés) tiene un efecto en el sistema, pero no fue consistente al incrementar los HLR en el estudio (31 mm/d, 62 mm/d, 104 mm/d y 146 mm/d). Las constantes k determinadas por este autor fueron para DBO 0,068-0,260 m/d, DQO 0,058-0,082 m/d, NT 0,033-0,066 m/d y TSS 0,085-0,315 m/d [7]. Los resultados obtenidos en el presente estudio para DBO y SST se encuentran dentro del rango de los valores citados anteriormente, pero las constantes relacionadas con DQO y NT se encuentran por debajo de estos valores, esto asociado a la carga hidráulica de 9,31 mm/d.

En otro estudio [26], utilizaron humedales artificiales verticales con dimensiones de 1,8 x 1,8 x 0,7 m (largo, ancho y profundidad), para un área de 3,24 m², con un caudal de 128 l/d y a una temperatura de 18,8°C, se obtuvo una constante de 0,083 m/d para DBO y 0,070 m/d para SST, siendo menor a las obtenidos en la presente investigación. Caso contrario con las constantes para DQO y NT (0,075 m/d y 0,033 m/d), donde fueron mayores que los obtenidos con respecto a la presente investigación. Estas diferencias posiblemente puedan recaer en las temperaturas entre ambos estudios.

Finalmente, en el presente estudio la temperatura promedio ambiental y del agua fue de alrededor de 22°C, pero pudo ser mayor si la radiación solar hubiera sido constante a lo largo de todo el día, ya que se registraron en algunas ocasiones temperaturas ambientales de 44°C cercanas al medio día. Reubicar los HA en un área con mayor exposición solar aceleraría la actividad dentro del sistema y por lo tanto los porcentajes de remoción mejorarían; consecuentemente los valores de k aumentarían debido a la naturaleza de los modelos

matemáticos utilizados. Aun así, los resultados obtenidos con los modelos de flujo de tapón modificado para las k asociadas a DBO_5 , $\text{PO}_4\text{-P}$, CF y CT, fueron acordes a los resultados esperados en el trópico.

Además, es importante recordar que las k obtenidas en este estudio están sujetas a las condiciones climáticas y de diseño del experimento; y podrían utilizarse como parámetro de referencia si las condiciones del lugar son similares. También se debe considerar que las diferencias de lugar contienen variabilidad en el clima, crecimiento de las plantas e inclusive en la composición de las aguas residuales entrantes [7], por lo que se puede esperar variabilidad en los resultados al implementarse en otras zonas.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo realizado en humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical a escala de laboratorio se obtuvieron con base en las siguientes condiciones: un área de 0,32 m², una profundidad de 0,35 m, una porosidad promedio del granito de río y de la piedra cuarta de origen volcánico de 12,3%, un nivel de agua en el humedal de 0,16 m, una carga orgánica de 3,22 g DQO/m²/d, un tiempo de retención hidráulica de 2,1 días, una carga hidráulica de 9,31 mm/d, un caudal de 3 l/d y una temperatura ambiental promedio de 22,4°C.

En el objetivo específico 1, el crecimiento de las plantas madre fue analizado mediante el número de hojas y la longitud de lámina foliar. La planta madre de los lirios crecieron de forma adecuada con respecto a las plantas madre de heliconias, las cuales decrecieron debido al marchitamiento de sus tejidos. Con respecto a las plantas retoños, los lirios presentaron un total de 38 retoños y las heliconias 46 retoños; y se evidenció que las heliconias presentaron buen desarrollo de hojas y longitud de lámina foliar. La longitud de raíz y la masa fue medida para el conjunto planta madre-retoño, donde al final del periodo de estudio, la planta heliconia presentó mejor desarrollo radicular y aumento de masa (26,3 cm y 158,8 g), con respecto a la planta lirio (25,1 cm y 50,6 g).

La planta heliconia presentó la mayor tasa de absorción de C, N y P, lo que se ve reflejado en el balance de masa en las plantas, donde se obtuvo como resultado que del 100% proveniente de las aguas que entran al sistema, la heliconia absorbe en sus tejidos 6,29% C, 1,10% N y 1,16% P; y la planta lirio retiene en sus tejidos 4,19% C, 0,72% N y 0,67% P. Por

lo tanto, según la tasa de absorción de nutrientes y el aumento en masa hace que las heliconias sean más apropiadas en los humedales artificiales.

En cuanto al objetivo específico 2, la evaluación de la eficiencia de los humedales en la remoción de contaminantes determinó que no existen diferencias significativas entre tratamientos para la mayoría de los parámetros medidos, pero si se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones del afluente y los efluentes, para la DBO₅, DQO, PO₄-P, SF, SST, CF y CT.

Los humedales artificiales con los tratamientos lirio y heliconia fueron más eficientes en la transformación del NH₃-N, 60,6% y 65,5% respectivamente, con respecto al control (54,6%). La transformación más eficiente del NO₂-N fue obtenida mediante el tratamiento realizado con heliconia (93,7%) con respecto al lirio (90,8%) y al control (89,9%). En cuanto a la remoción de turbiedad, los humedales con lirio (99,6%) fueron significativamente más eficientes con respecto a los plantados con heliconia (99,5%) y al control (99,5%).

Con respecto al objetivo específico 3, las mayores constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área (k) están relacionadas a las mayores eficiencias de remoción de contaminantes. Las k asociadas a los parámetros de DBO₅ (0,168-0,207 m/d), PO₄-P (0,337-0,342 m/d), CF (0,262-0,316 m/d) y CT (0,204-0,240 m/d), fueron las que presentaron valores mayores y acorde a lo esperado al desarrollar el experimento en una zona tropical con una temperatura promedio de 22,4°C.

La realización de este trabajo permitió evaluar el crecimiento y retención de nutrientes de dos especies ornamentales del trópico costarricense, *Neomarica gracilis* (lirio) y *Heliconia psittacorum* (heliconia). De forma general, ambas especies mostraron un crecimiento adecuado, pero la tasa de absorción de nutrientes y la generación de masa de la heliconia hacen que esta planta sea más conveniente para ser utilizada en humedales artificiales. Además se demostró que el uso de humedales artificiales a escala de laboratorio para el tratamiento de aguas residuales permite evaluar de forma experimental la eficiencia de remoción de contaminantes. También se demostró que se pueden determinar previamente las constantes de velocidad de remoción de primer orden en función del área para las zonas específicas en donde se diseñarán y construirán los humedales artificiales. De esta forma se estaría optimizando el diseño de los humedales artificiales en el trópico al utilizar parámetros autóctonos y no de otras latitudes que poseen condiciones climáticas diferentes.

RECOMENDACIONES

Con el fin de mejorar la evaluación del sistema sin considerar el efecto lluvia, el experimento debe reubicarse en un área donde la luz y la radiación solar incidan durante todo el día, con el fin de potenciar la fotosíntesis y el calentamiento del sustrato. La nueva ubicación debe garantizar el resguardo de la lluvia como un toldo transparente con techo de plástico o un invernadero exclusivo para tratamiento de aguas residuales.

Además, sería importante analizar el efecto que genera la lluvia en estos sistemas, por lo que plantear un experimento bajo un escenario totalmente a la intemperie, considerando la incidencia solar durante todo el día, permitiría comparar ambos escenarios y enriquecer la información para el diseño de humedales artificiales en el trópico.

Aumentar la profundidad de la lámina de agua en el humedal artificial para aumentar las reacciones químicas anaeróbicas, necesarias para el proceso de desnitrificación y posterior remoción del nitrógeno en el sistema. Además, sería recomendable colocar una capa de sustrato de piedra caliza (CaO_3) para neutralizar el pH del agua y así poder cumplir con la reglamentación costarricense en cuanto al vertido de aguas residuales.

Considerar la extensión de la fase experimental por varios meses más podría propiciar una adecuada madurez del sistema, beneficiando el ciclo biogeoquímico y posiblemente mostrando diferencias entre tratamientos.

LIMITACIONES

Los humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical a escala de laboratorio están limitados por las dimensiones de las cajas, específicamente por los 35 cm de profundidad. Usualmente estos humedales se diseñan a 70 cm, por lo que los espesores de las capas de los sustratos tuvieron que adecuarse al espacio, por lo que son diferentes a lo recomendado por la literatura.

La logística semanal para la obtención de las aguas residuales, la capacidad del equipo de DBO₅ para analizar cierta cantidad de muestras, la dificultad de conseguir papel filtro para las pruebas de sólidos filtrables y el cambio de ubicación del experimento a petición de la Facultad, fueron parte de los inconvenientes que se presentaron durante el proceso.

En cuanto a la ubicación del humedal se definió de tal forma para controlar específicamente la afectación que podrían causar las lluvias. Esto se convirtió en una limitante ya que se sacrificó la radiación solar que pudo haber incidido sobre los humedales artificiales en las horas de las tardes, por efecto de la sombra del edificio.

Otra de las limitantes fue el tiempo de experimentación, ya que posiblemente los humedales artificiales no alcanzaron su madurez óptima, por lo que no se presentaron diferencias significativas en la mayoría de los parámetros analizados entre las plantas y el control.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas (WWAP). Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado [Internet]. París: UNESCO; 2017. 16–28 p. Disponible en: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647>
2. Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas (WWAP). Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2018: Soluciones basadas en la naturaleza para la gestión del agua [Internet]. París: UNESCO; 2018. 1–23 p. Disponible en: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000261494>
3. Astorga Y. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados: Informe de Gestión 2014-2018 [Internet]. San José; 2018. Disponible en: [https://www.aya.go.cr/Noticias/Documents/Informe final de Gestión AyA 2014 2018.pdf](https://www.aya.go.cr/Noticias/Documents/Informe%20final%20de%20Gesti%C3%B3n%20AyA%202014%202018.pdf)
4. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AYA), Ministerio de Ambiente y Energía (MINAE), Ministerio de Salud (MS). Política Nacional de Saneamiento en Aguas Residuales 2016-2045 [Internet]. 1a ed. San José; 2016. Disponible en: [https://www.aya.go.cr/Noticias/Documents/Politica Nacional de Saneamiento en Aguas Residuales marzo 2017.pdf](https://www.aya.go.cr/Noticias/Documents/Politica%20Nacional%20de%20Saneamiento%20en%20Aguas%20Residuales%20marzo%202017.pdf)
5. Angulo F. Manejo, disposición y desecho de las aguas residuales en Costa Rica [Internet]. Vol. 19, Estado de la Nación en desarrollo humano sostenible. San José; 2013. Disponible en: <http://repositorio.conare.ac.cr/handle/20.500.12337/422>
6. Aguilar R. Engineering in the tropics: Evaluating a solar-powered anaerobic digestion and hybrid constructed treatment wetland system to treat agricultural wastes in Costa Rica [Dissertation]. [Michigan]: Michigan State University; 2018. 242 p.

7. Trang NTD, Konnerup D, Schierup H-H, Chiem NH, Tuan LA, Brix H. Kinetics of pollutant removal from domestic wastewater in a tropical horizontal subsurface flow constructed wetland system: Effects of hydraulic loading rate. *Ecol Eng* [Internet]. 2010;36(4):527–35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.11.022>
8. Lombard-Latune R, Pelus L, Fina N, L'Etang F, Le Guennec B, Molle P. Resilience and reliability of compact vertical-flow treatment wetlands designed for tropical climates. *Sci Total Environ* [Internet]. 2018;642:208–15. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.036>
9. Tran HD, Vi HMT, Dang HTT, Narbaitz RM. Pollutant removal by *Canna generalis* in tropical constructed wetlands for domestic wastewater treatment. *Glob J Environ Sci Manag* [Internet]. 2019;5(3):331–44. Disponible en: https://www.gjesm.net/article_35321.html
10. Kadlec R, Wallace S. *Treatment Wetlands*. 2a ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2009. 1048 p.
11. Organización de las Naciones Unidas. *Objetivos de Desarrollo Sostenible* [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/water-and-sanitation/>
12. Almeida CE, Guachamín G, Guerrero VH, Villamar C. *Heliconia stricta* Huber Behavior on Hybrid Constructed Wetlands Fed with Synthetic Domestic Wastewater. *Water* [Internet]. 2020;12(5):1373. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/5/1373>
13. Sandoval L, Marín JL, Zamora S, Sandoval F, Alvarado A. Evaluation of Wastewater Treatment by Microcosms of Vertical Subsurface Wetlands in Partially Saturated Conditions Planted with Ornamental Plants and Filled with Mineral and Plastic Substrates. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2019;16(2):167. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/16/2/167>

14. Balvanera P, Cotler H. Estado y tendencias de los servicios ecosistémicos. En: CONABIO, editor. Capital natural de México: Estado de conservación y tendencias de cambio [Internet]. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2009. p. 185–245. Disponible en: https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2018/03/II04_EdoTendenciasServiciosEcosistemicos.pdf
15. González E. Concepto y estrategias de biorremediación. *Inge@uan* [Internet]. 2011;1(2):20–9. Disponible en: <http://revistas.uan.edu.co/index.php/ingean/article/view/96/PDF>
16. Cruz M. La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales [Internet]. Sevilla: Universidad de Sevilla; 2007. 95–96 p. Disponible en: https://books.google.co.cr/books?id=KPcJItVcQRoC&pg=PA95&dq=biorremediación&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjH0vO4_v3fAhVHh-AKHVouDzEQ6AEINDAD#v=onepage&q=biorremediación&f=false
17. Dotro G, Langergraber G, Molle P, Nivala J, Puigagut J, Stein O, *et al.* Treatment Wetlands [Internet]. Vol. 16, Water Intelligence Online. London: IWA Publishing; 2017. Disponible en: <https://iwaponline.com/ebooks/book/330/>
18. Solórzano Y. Evaluación de un humedal artificial como sistema complementario de tratamiento y drenaje en suelos con baja capacidad de infiltración [Tesis de Licenciatura]. [San Pedro de Montes de Oca]: Universidad de Costa Rica; 2008. 293 p.
19. Tsihrintzis VA. The use of Vertical Flow Constructed Wetlands in Wastewater Treatment. *Water Resour Manag* [Internet]. 2017;31(10):3245–70. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11269-017-1710-x>
20. United States Environmental Protection Agency (EPA). Wastewater technology fact sheet wetlands: subsurface flow [Internet]. Washington, D.C.: Office of Water; 2000. 1–4 p. Disponible en: <https://nepis.epa.gov/>

21. Alianza por el Agua. Manual de depuración de aguas residuales urbanas [Internet]. Sevilla: Centro de las Nuevas Tecnologías del agua (CENTA); 2008. 264 p. Disponible en: <http://idiaqua.eu/web/wp-content/uploads/2018/07/monografico3.pdf>
22. Lu S, Zhang X, Wang J, Pei L. Impacts of different media on constructed wetlands for rural household sewage treatment. *J Clean Prod* [Internet]. 2016;127:325–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.03.166>
23. Crites RW, Middlebrooks J, Reed SC. *Natural Wastewater Treatment Systems*. Taylor & Francis Group, editor. Boca Raton, FL: CRC Press; 2005. 576 p.
24. Lara JA. *Depuración de Aguas Residuales Municipales con Humedales Artificiales [Tesis de Maestría]* [Internet]. Barcelona; 1999. 114 p. Disponible en: <https://agua.org.mx/biblioteca/depuracion-de-aguas-residuales-municipales-con-humedales-artificiales/>
25. Konnerup D, Koottatep T, Brix H. Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*. *Ecol Eng* [Internet]. 2009;35(2):248–57. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857408001092>
26. Zurita F, De Anda J, Belmont M. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecol Eng* [Internet]. 2009;35(5):861–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857409000111>
27. Hammel B, Grayum M, Herrera C, Zamora N. *Manual de Plantas de Costa Rica. Gimnospermas y Monocotyledóneas (Agavaceae–Musaceae)*. Missouri Botanical Garden Press, editor. Vol. 2. Missouri; 2003. 694 p.
28. Guevara L, Benítez C. Caracterización morfológica y relaciones fenéticas entre especies de los órdenes liliales y poales. *Bioagro* [Internet]. 2004;16(2):99–112. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/857/85716204.pdf>

29. Gao J, Wang W, Guo X, Zhu S, Chen S, Zhang R. Nutrient removal capability and growth characteristics of *Iris sibirica* in subsurface vertical flow constructed wetlands in winter. *Ecol Eng* [Internet]. 2014;70:351–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.06.006>
30. Sandoval L, Zamora S, Vidal M, Marín J. Role of wetland plants and use of ornamental flowering plants in constructed wetlands for wastewater treatment: A review. *Appl Sci* [Internet]. 2019;9(4):685. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2076-3417/9/4/685>
31. Jerez E. El cultivo de las heliconias. *Cultiv Trop* [Internet]. 2007;28(1):29–35. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193215858005.pdf>
32. Puccio P. Monaco Nature Encyclopedia [Internet]. Disponible en: <https://www.monaconatureencyclopedia.com/heliconia-psittacorum/?lang=es>
33. Von Sperling M. Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal. *Water Intell Online* [Internet]. 2007;6:292. Disponible en: <https://iwaponline.com/ebooks/book/72/>
34. Peña E, Madera C, Sánchez J, Medina J. Bioprospección de plantas nativas para su uso en procesos de biorremediación: Caso *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae). *Rev la Acad Colomb Ciencias Exactas, Físicas y Nat* [Internet]. 2013;37(145):469–81. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v37n145/v37n145a04.pdf>
35. Rodríguez M, Jácome A, Molina J, Suárez J. Humedal de flujo vertical para tratamiento terciario del efluente físico-químico de una estación depuradora de aguas residuales domésticas. *Ing Investig y Tecnol* [Internet]. 2013;14(2):223–35. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1405-7743\(13\)72238-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1405-7743(13)72238-8)

36. Hoffmann H, Platzer C, Winker M, Muench E von. Revisión técnica de humedales artificiales de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas grises y aguas domésticas [Internet]. Muench E von, editor. Eschborn: Agencia de Cooperación Internacional de Alemania (GIZ), Programa de Saneamiento Sostenible ECOSAN; 2011. 39 p. Disponible en: <https://sswm.info/es/node/12001>
37. Al-Isawi R, Ray S, Scholz M. Comparative study of domestic wastewater treatment by mature vertical-flow constructed wetlands and artificial ponds. *Ecol Eng* [Internet]. 2017;100:8–18. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.12.017>
38. Vymazal J. Subsurface horizontal-flow constructed wetlands for wastewater treatment: The Czech experience. *Wetl Ecol Manag* [Internet]. 1996;4(3):199–206. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF01879238>
39. Moncada A. Análisis del desempeño y operación de humedales construidos de flujo subsuperficial vertical para tratamiento de agua residual doméstica en países tropicales [Tesis de Doctorado] [Internet]. [Manizales]: Universidad Católica de Manizales; 2016. 108 p. Disponible en: <http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/handle/10839/1326?locale-attribute=en>
40. Sarai I. Cinética de decaimiento de coliformes fecales en un humedal artificial de flujo subsuperficial vertical [Tesis de Maestría] [Internet]. [Morelos]: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA); 2017. 97 p. Disponible en: http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/1606/T_063.pdf?sequence=1&isAllowed=y
41. Azcoitia E. Efecto de sobrecargas hidráulicas en el rendimiento de humedales construidos para la depuración de aguas [Tesis de Grado] [Internet]. Universidad Politécnica de Cataluña; 2012. 95 p. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/14592>

42. Tanaka N, Jern W, Jinadasa KBSN. Wetlands for Tropical Applications: Wastewater Treatment by Constructed Wetlands [Internet]. London: World Scientific Publishing Company; 2011. 164 p. Disponible en: <https://www.worldscientific.com/worldscibooks/10.1142/p599>
43. Kadlec R, Knight R. Treatment Wetlands. Boca Raton, FL: Lewis Publishers; 1996. 603–655 p.
44. Gobierno de la República de Costa Rica. Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales [Internet]. N°33601 Costa Rica; 2006. Disponible en: http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=59524
45. Kyambadde J, Kansime F, Gumaelius L, Dalhammar G. A comparative study of *Cyperus papyrus* and *Miscanthidium violaceum* based constructed wetlands for wastewater treatment in a tropical climate. Water Res [Internet]. 2004;38(2):475–85. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135403005517>
46. Konnerup D, Trang NTD, Brix H. Treatment of fishpond water by recirculating horizontal and vertical flow constructed wetlands in the tropics. Aquaculture [Internet]. 2011;313(1–4):57–64. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.026>
47. Alvarado GE, Vega AE. La geomorfología de la colada de Cervantes, volcán Irazú (Costa Rica): Descripción de uno de los campos de lava más grandes de América Central. Rev Geológica América Cent [Internet]. 2011;(48):99–118. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/geologica/article/download/12238/11507/>

48. Gass IG, Smith PJ, Wilson R. Introducción a las Ciencias de la Tierra [Internet]. 2a ed. Barcelona: Reverté, S.A.; 1980. 9–10 p. Disponible en: <https://books.google.co.cr/books?id=GAZs7W6IEKMC&pg=PA52&dq=composici3n+qu3mica+del+basalto&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiOqp2ntp7pAhXwYd8KHXesAAcQ6AEIJjAA#v=onepage&q=andesita&f=false>
49. ASTM International. ASTM C20-00(2015) Standard Test Methods for Apparent Porosity, Water Absorption, Apparent Specific Gravity, and Bulk Density of Burned Refractory Brick and Shapes by Boiling Water [Internet]. West Conshohocken, PA; 2015. Disponible en: www.astm.org
50. FAO. Materiales para sistemas de drenaje subterráneo. Estud FAO Riego y Dren [Internet]. 2009;60:5–19. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a0258s/a0258s00.htm>
51. Cengel Y, Boles M. Termodinámica. 7a ed. México: McGraw Hill; 2012. 1041 p.
52. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20a ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, editores. Washington, D.C.; 1999.
53. Tousignant E, Fankhauser O, Hurd S. Guidance manual for the design, construction and operations of constructed wetlands for rural applications in Ontario [Internet]. Ontario; 1999. 57 p. Disponible en: https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/bitstream/handle/10214/15203/FDMR_wetlands_manual.pdf?sequence=1&isAllowed=y
54. Quintero JA. Evaluación de humedales artificiales pilotos de flujo horizontal y tipo superficial y subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales. Ingenium Rev la Fac Ing [Internet]. 2014;15(29):85–112. Disponible en: <http://revistas.usb.edu.co/index.php/Ingenium/article/view/1347>

55. Gutiérrez H, Peña M, Aponte A. Estimación del balance de Nitrógeno en un humedal construido subsuperficial plantado con *Heliconia psittacorum* para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Rev Fac Ing Univ Antioquía [Internet]. 2010;(56):87–98. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-62302010000600009&script=sci_abstract&tlng=es
56. Suárez A, Agudelo N, Rincón J, Millán N. Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Rev Mutis [Internet]. 2014;4(1):8–14. Disponible en: <https://revistas.utadeo.edu.co/index.php/mutis/article/view/905>
57. Rodríguez Chaparro T, Ospina IM. Humedales artificiales de flujo vertical para mejorar la calidad del agua del río Bogotá. Cienc e Ing Neogranadina [Internet]. 2005;15(15):74–84. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rcin/article/view/1256>
58. Stefanakis AI, Tsihrintzis VA. Performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands treating simulated municipal wastewater: effect of various design parameters. Desalination [Internet]. 2009;248:753–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2009.01.012>
59. Zhao YJ, Hui Z, Chao X, Nie E, Li HJ, He J, *et al.* Efficiency of two-stage combinations of subsurface vertical down-flow and up-flow constructed wetland systems for treating variation in influent C/N ratios of domestic wastewater. Ecol Eng [Internet]. 2011;37(10):1546–54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.06.005>
60. Reyes MI, Guido A, Carrillo SG, Durán C. Remoción de Fósforo en un Sistema de Humedales Artificiales a Escala de Laboratorio. Química Cent [Internet]. 2011;2(1):25–32. Disponible en: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/QUIMICA/article/view/546>

61. Sani A, Scholz M, Babatunde A, Wang Y. Impact of Water Quality Parameters on the Clogging of Vertical-Flow Constructed Wetlands Treating Urban Wastewater. *Water, Air, Soil Pollut* [Internet]. 2013;224(3):1488. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1488-2>
62. Naipal E. Critical design parameters of subsurface flow constructed wetlands for the removal of organic micro pollutants from wastewater [Thesis] [Internet]. [Wageningen]; 2014. 56 p. Disponible en: https://www.saniwijzer.nl/media/stowa_saniwijzer_v2/org/1/documents/verwijdering_mps_in_helofytenfilters_e_naipal_-_thesis_report_2.pdf
63. Sousa WTZ, Panitz CMN, Thomaz SM. Performance of pilot-scale vertical flow constructed wetlands with and without the emergent macrophyte *Spartina alterniflora* treating mariculture effluent. *Brazilian Arch Biol Technol* [Internet]. 2011;54(2):405–13. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132011000200024&lng=en&tlng=en
64. UN-HABITAT. *Constructed Wetlands Manual* [Internet]. Nepal, Kathmandu: UN-HABITAT Water for Asian Cities Programme; 2008. 90 p. Disponible en: <https://unhabitat.org/constructed-wetlands-manual>
65. Castillo O, Ortega A. Propiedades petrofísicas: análisis, interpretación y aplicación en un pozo petrolero al noreste de la República Mexicana [Tesis de Licenciatura] [Internet]. [México, D.F.]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2016. 62-63 p. Disponible en: <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/9809/Tesis.pdf?sequence=1>

ANEXOS

Anexo A: Determinación de la porosidad mediante la norma ASTM C20-00(2015)

- 1) Selección del volumen de trabajo de sustrato.
- 2) Secado del sustrato a 105°C por 24 horas, en un horno de convección forzada de la marca Jeio Tech, modelo OF-22.
- 3) Colocar lo que quepa de sustrato dentro de un recipiente de 1 litro y medir la masa.
 - Masa seca de granito de río ($M_{s_{gr}}$): 1395,63 g; 1391,04 g; 1397,11 g
 - Masa seca de piedra cuarta volcánica ($M_{s_{pcv}}$): 1109,60 g, 1110,12 g; 1100,13 g
- 4) El sustrato debe colocarse en un beaker de 1 litro con agua, para hervir por 2 horas, evitando que el sustrato quede descubierto de agua.
- 5) Enfriar el sustrato a temperatura ambiente y sumergido por 12 horas.
- 6) Extraer el agua y secar con una toalla levemente la superficie del sustrato. Debido al tamaño de partícula del sustrato se utilizó un escurridor de cocina.
- 7) Medición de masa húmeda
 - Masa húmeda de granito de río ($M_{h_{gr}}$): 1507,57 g; 1501,62 g; 1510,20 g
 - Masa húmeda de piedra cuarta volcánica ($M_{h_{pcv}}$): 1305,10 g; 1300,23 g; 1299,82 g
- 8) Sustituir y determinar el porcentaje de porosidad en la siguiente ecuación:

$$P(\%) = \frac{Mh - Ms}{Mh} * 100$$

$$P_{gr} \text{ promedio: } 7,43 \pm 0,06 \%$$

$$P_{pcv} \text{ promedio: } 14,98 \pm 0,37 \%$$

La porosidad promedio ponderada por espesor para el conjunto de sustratos se determina mediante la siguiente ecuación [65]:

$$\phi = \frac{\sum_1^n \phi_i * h_i}{\sum_1^n h_i}$$

Donde ϕ (%) es la porosidad promedio ponderada, ϕ_i (%) es la porosidad en cada sustrato y h_i (cm) es el espesor asociado a la capa del sustrato.

$$\phi = \frac{(7,43 \% * 10 \text{ cm}) + (14,99 \% * 18 \text{ cm})}{(10 \text{ cm} + 18 \text{ cm})}$$

$$\phi = 12,3 \pm 0,3 \%$$

Anexo B: Reporte de ensayo del análisis químico foliar inicial.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES
REPORTE DE ENSAYO
RE-R01 (V2)

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas



N° DE REPORTE: **70406**

USUARIO: JOHEL VENEGAS CASTILLO
SUBCLIENTE: TESIS DE LICENCIATURA INGENIERIA AGRICOLA
RESPONSABLE: JOHEL VENEGAS CASTILLO
CORREO: johel.venegas@gmail.com
TELÉFONO: 8583-0373

ANÁLISIS: QC,B,S+C,PF,PS
FECHA RECEPCIÓN: 20/03/2019
EMISIÓN DE REPORTE: 28/03/2019
N° DE MUESTRAS TOTAL: 2
PÁGINA: 1/1

PROVINCIA: SAN JOSE
CANTÓN: MONTES DE OCA
LOCALIDAD: INVERNADERO INGENIERIA
CULTIVO: PLANTAS ORNAMENTALES

ANÁLISIS QUÍMICO FOLIAR																
ID USUARIO	IDLAB	% masa							mg/kg				g		%	
		N*	P*	Ca*	Mg*	K*	S*	C**	Fe*	Cu*	Zn*	Mn*	B*	P.Fresco**		P.Seco**
LIRIO CAMINANTE	P-19-01851	1,96	0,18	1,41	0,14	3,44	0,21	42,73	376	7	21	36	16	289,2	50,9	82
HELICONIA	P-19-01852	1,45	0,20	0,42	0,23	2,50	0,19	43,29	245	13	23	50	9	181,9	35,0	81

-----ULTIMA LINEA-----

OBSERVACIÓN: *ENSAYO ACREDITADO, ver alcance en www.eca.or.cr **ENSAYO NO ACREDITADO

B.G. Marghela Blanco M.
N.I. 2488
Gestoría de Calidad

Ing. Agr. Mifónel González A.
N.I. 7827
Gestoría Técnica

1. Las unidades están expresadas en base seca, en masa/ masa. 2. Procedimiento: N por combustión seca en Autoanalizador de acuerdo al M-N; P, Ca, Mg, K, S, Na, Fe, Cu, Zn, Mn, B y Al por digestión húmeda con HNO₃ y determinación por Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma (ICP) de acuerdo al M-ICP. 3. El muestreo es responsabilidad del usuario. 4. Los resultados se refieren únicamente a las muestras ensayadas. 5. El tiempo de custodia de las muestras es de 45 días a partir del ingreso de la muestra. 6. El Reporte de Ensayo con validez legal es el original firmado y sellado que se imprime a solicitud expresa del usuario; cuando el usuario solicita el envío del reporte por correo electrónico o por fibra al Laboratorio de resguardar la integridad y confidencialidad de sus resultados.

Anexo C: Reporte de ensayo del análisis químico foliar final.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES
REPORTE DE ENSAYO
RE-R01 (V2)

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas



N° DE REPORTE: **71851**

USUARIO: JOHEL VENEGAS CASTILLO

RESPONSABLE: JOHEL VENEGAS CASTILLO

CORREO: johel.venegas@gmail.com

TELEFONO: 8583-0373

PROVINCIA: SAN JOSE

CANTÓN: MONTES DE OCA

LOCALIDAD: INGENIERIA AGRICOLA

CULTIVO: ORNAMENTALES

ANÁLISIS: QC,B,S+C,PF,PS

FECHA RECEPCIÓN: 07/08/2019

EMISIÓN DE REPORTE: 14/08/2019

N° DE MUESTRAS TOTAL: 2

PÁGINA: 1/1

ANÁLISIS QUÍMICO FOLIAR																
ID USUARIO	IDLAB	% masa							mg/kg					g		%
		N*	P*	Ca*	Mg*	K*	S*	C**	Fe*	Cu*	Zn*	Mn*	B*	P.Fresco**	P.Seco**	
HELICONIA	P-19-03909	2,97	0,14	0,61	0,24	2,70	0,20	40,63	210	30	52	374	11	612,4	56,6	91
LIRIO CAMINANTE	P-19-03910	2,50	0,11	1,18	0,14	1,95	0,17	42,92	406	31	28	46	19	375,3	59,0	84

ULTIMA LINEA

OBSERVACIÓN: *ENSAYO ACREDITADO, ver alcance en www.eca.or.cr **ENSAYO NO ACREDITADO

B.G. Margareth Biano M.
N.I. 2488
Gectoria de Calidad

Ing. Agr. Michael González A.
N.I. 7827
Gectoria Técnica

1. Las unidades están expresadas en base seca, en masa/masa. 2. Procedimiento: N por combustión seca en Automatizador de acuerdo al M-N; P, Ca, Mg, K, S, Na, Fe, Cu, Zn, Mn, B y Al por digestión húmeda con HNO₃ y determinación por Espectrometría de Emisión Atómica con Plasma (ICP) de acuerdo al M-ICP. 3. El muestreo es responsabilidad del usuario. 4. Los resultados se refieren únicamente a las muestras ensayadas. 5. El tiempo de custodia de las muestras es de 45 días a partir del ingreso de la muestra. 6. El Reporte de Ensayo con validez legal es el original firmado y sellado que se imprime a solicitud expresa del usuario; cuando el usuario solicita el envío del reporte por correo electrónico o fax libera al Laboratorio de resguardar la integridad y confidencialidad de sus resultados.

Anexo D: Reporte de resultados de ensayo de coliformes totales y coliformes fecales.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas

Reporte de Resultados de Ensayo

Número de Solicitud: 72121 Fecha de emisión del reporte: 09/09/19
Información del Usuario:
Nombre: ESCUELA INGENIERÍA DE BIOSISTEMAS (RONALD AGUILAR)
Subsede: Universidad de Costa Rica
Dirección: Montes de Oca, San José
Contacto: Johel Venegas Castillo
Teléfono: 2511-5681

Resultados del ensayo

Para la ejecución de los ensayos de coliformes se usó el procedimiento Determinación de Coliformos Totales, Coliformos fecales y *Escherichia coli* en aguas metodología desarrollada de acuerdo al Standard Methods for the examination of water and wastewater. 20ª Edición, 1998 y Test Methods for the Examination of Composting and Compost, 2002

ID. Lab.	ID. Cliente	Coliformes Fecales NMP/100 ml	Coliformes totales NMP/100 ml
MI-379-19	AR	>2400	>2400
MI-380-19	A	33	33
MI-381-19	B	170	350
MI-382-19	C	11	170
MI-383-19	D	110	170
MI-384-19	E	350	540
MI-385-19	F	46	280
MI-386-19	G	23	70
MI-387-19	H	33	110
MI-388-19	I	23	23

Lidíeth Uribe

Dra. Lidíeth Uribe Lorio
M.Q.C. - cod 664
Coordinadora
Laboratorio de Microbiología Agrícola



Teléfono: (506) 2511-2070 Fax: (506) 2234-1627 Correo electrónico: cia@ucr.ac.cr
Página web: www.cia.ucr.ac.cr

Anexo E: Reporte visual de los cambios en plantas entre la fase inicial y final del experimento.



Anexo F: Ejemplo comparativo entre el uso de una constante teórica determinada mediante la metodología de UN-HABITAT [64] y una constante experimental, para el cálculo del área de un humedal vertical.

Inicialmente se calcula la constante K_T para la temperatura de 22°C mediante la siguiente ecuación:

$$K_T = K_{20} * (1,06)^{T-20}$$

Donde $K_{20} = 1,1 \text{ d}^{-1}$, constante a 20°C.

$T = 22^\circ\text{C}$, temperatura operativa del sistema.

$$K_T = 1,1 \text{ d}^{-1} * (1,06)^{22-20}$$

$$K_T = 1,236 \text{ d}^{-1}$$

Ahora se debe de calcular la k_{DBO} mediante la siguiente ecuación:

$$k_{DBO} = K_T * d * n$$

Donde $d = 0,35 \text{ m}$, profundidad del humedal.

$n = 0,2241$, porosidad del sustrato en decimales.

$$k_{DBO} = 1,236 \text{ d}^{-1} * 0,35 \text{ m} * 0,2241$$

$$k_{DBO} = 0,096 \text{ m/d}$$

Para el cálculo del área, UN-HABITAT asume en su ejemplo un afluente con una concentración (C_a) de 350 mg/l de DBO y un efluente con una concentración (C_e) de 30 mg/l de DBO. Además, se asume un caudal (Q) de 0,4 m³/d, el cual es equivalente al caudal generado por una familia de 5 personas que generan 80 litros de aguas residuales por persona por día. El área se calcula mediante la siguiente ecuación del modelo de flujo de tapón:

$$A = \frac{Q}{k} \ln \left(\frac{C_a}{C_e} \right)$$

Para la k_{DBO} teórica de 0,096 m/d:

$$A = \frac{0,4 \text{ m}^3/\text{d}}{0,096 \text{ m/d}} \ln \left(\frac{350 \text{ mg/l}}{30 \text{ mg/l}} \right)$$

$$A = 18,5 \text{ m}^2$$

Para la k_{DBO} experimental se determinó el promedio (0,176 m/d) de los valores obtenidos para los tres humedales, ya que no existen diferencias significativas entre ellos:

$$A = \frac{0,4 \text{ m}^3/d}{0,176 \text{ m/d}} \ln \left(\frac{350 \text{ mg/l}}{30 \text{ mg/l}} \right)$$

$$A = 5,6 \text{ m}^2$$

Ahora se determinará el área bajo el modelo de flujo de tapón modificado utilizando la concentración base C^* de 6,65 mg/l obtenida en los resultados del presente estudio.

$$A = \frac{Q}{k} \ln \left(\frac{C_a - C^*}{C_e - C^*} \right)$$

Para la k_{DBO} teórico de 0,053 m/d:

$$A = \frac{0,4 \text{ m}^3/d}{0,053 \text{ m/d}} \ln \left(\frac{350 \text{ mg/l} - 6,7 \text{ mg/l}}{30 \text{ mg/l} - 6,7 \text{ mg/l}} \right)$$

$$A = 20,2 \text{ m}^2$$

Para la k_{DBO} experimental se determinó el promedio (0,197 m/d) de los valores obtenidos para los tres humedales, ya que no existen diferencias significativas entre ellos:

$$A = \frac{0,4 \text{ m}^3/d}{0,197 \text{ m/d}} \ln \left(\frac{350 \text{ mg/l} - 6,7 \text{ mg/l}}{30 \text{ mg/l} - 6,7 \text{ mg/l}} \right)$$

$$A = 5,5 \text{ m}^2$$

Por lo tanto, en este caso se puede evidenciar que al utilizar un valor experimental de k se generan requerimientos menores de área con respecto al valor teórico de k ; mejorando aun cuando se utiliza el modelo de flujo de tapón modificado.

Anexo G: Concentración de los parámetros analizados de calidad de agua con respecto al tiempo, de los afluentes (Agua residual AR) y efluentes (lirio, heliconia y control), del sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical.

