El Colegio de la Frontera Sur

Remoción de contaminantes nitrogenados de las aguas residuales de café por diferentes sistemas de humedales artificiales

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de

Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

Aurora Quezada de la Cruz

2016

DEDICATORIA

A Dios por la vida, salud y las oportunidades que me ha regalado.

A mis padres Auria de la Cruz Escobar y Didier Quezada Vázquez por su dedicación y apoyo incondicional en cada faceta de mi vida.

A mi hermano Max Paul Quezada de la Cruz por ser el cómplice de mis travesías

A mi esposo Fernando Sánchez Villatoro por su amor, apoyo y comprensión en nuestra trayectoria juntos.

A mi hijo Fernando Alonso Sánchez Quezada por ser el motor de mi vida y la inspiración de mi existir.

.A mi abuelita Marina Vázquez Tercero (QED) por ser el angelito que me cuida y acompaña en mi caminar.

A todos y cada uno de ustedes los amo con todo mi corazón

AGRADECIMIENTOS

A ECOSUR por ser el centro de investigación que me brindó la oportunidad de cursar el posgrado.

A CONACYT por la beca otorgada (307976) para la realización del trabajo de investigación .

A mi tutor M. en C. Gamaliel Mejía González por la confianza, dedicación, empeño y apoyo recibido para la realización del proyecto de investigación

A mi comité tutelar integrado por: Dra. Griselda Karina Guillen Navarro, Dra. Dulce María Infante Mata y Dra. María de los Ángeles Calixto Romo, por su labor de fortalecer y mejorar el trabajo de investigación.

A mis sinodales, Dr. José Pablo Liedo Fernández, Dr. Jaime Gómez Ruíz y M. en C. David Herrera López, por el tiempo y la dedicación otorgada a la revisión de la tesis de manera extraordinaria.

A mis catedráticos del posgrado por sus enseñanzas y conocimientos impartidos hacia mi formación académica.

Al maestro Javier Francisco Valle Mora por su apoyo y cooperación para el análisis de los datos.

A mis amigas de la maestría Mayren Sánchez Rosario, Dámaris Cruz López, Ana Coutiño Cortés , Sofía Grimaldi Calderón, Alma López por ser cómplices de mis aventuras en esta linda etapa de mi vida.

A mis amigas de toda la vida Lizeth Noemí Velázquez Poncio, Karla Ruth Toledo Culebro y Ada García Becerra por ser esas hermanas que nunca tuve y apoyarme incondicionalmente en todo momento.

A mis compañeros del Laboratorio de Microbiología Ambiental, Kevin Ruíz Reyes y Obed Alonso Aguilar Najarro por su ayuda durante el periodo de muestreo.

A la Finca “Alianza” por permitirnos el acceso para la toma de muestra de las aguas residuales de café. A los señores: Elías Eleazar Rosales Ailon, Ramiro Bail Hernández, Rodolfo de León Jiménez por su cooperación y atención durante el periodo de muestreo.

A los estudiantes Beyli Madeleine Aguilar Velázquez y Jonathan David Baza Moreno por su ayuda en el procesamiento de las muestras y obtención de resultados.

ÍNDICE

DEDICATORIA ..... **II**
AGRADECIMIENTOS III
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS III
RESUMEN I
1.- INTRODUCCIÓN II
1.1.- Justificación ..... *xiii*
1.2.- Pregunta de investigación ..... *xiv*
1.3.- Objetivo general ..... *xiv*
1.4.- Objetivos específicos ..... *xiv*
1.5.- Hipótesis ..... *xiv*
2.- ARTÍCULO 1
2.1.- Resumen: 1
2.1.- Palabras clave: 1
2.3.- Introducción 2
2.4.- Materiales y métodos 3
2.4.1.- Diseño y operación de los humedales artificiales 3
2.4.2.- Estrategia de muestreo 4
2.4.3.- Métodos analíticos 4
2.4.4.- Análisis al material vegetativo 4
2.4.5.- Análisis estadístico 5
2.5.- Resultados y discusión 5
2.6.- Conclusión 8
2.7.- Agradecimientos 8
2.8.- Referencias 8
3.- TABLAS Y FIGURAS XVI
4. - CONCLUSIÓN XXVIII
5. - REFERENCIAS XXIX

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1.- Valores promedio de los parámetros medidos en el influente y efluente de los dos humedales (horizontal e híbrido) durante todo el periodo de muestreo (octubre-diciembre). vxxvi
Tabla 2.- Comparación de medias de los porcentajes de remoción contaminantes (DQO, NH_4^+ y NTK) entre los humedales horizontal e híbrido. xvxvii
Figura 1. Interacción de los components de un humedal artificial en el tratamiento de aguas residuales.. vi
Figura 2.- Tipos de humedales. ix
Figura 3.- Diseño de los humedales. XVII
Figura 4.- Porcentajes de remoción de los contaminantes por los dos sistemas de humedales artificiales**.** xviii
Figura 5.- Comportamiento de la DQO de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales. xix
Figura 6.- Análisis de correlación entre DQO y NO_3^-. xx
Figura 7.- Comportamiento de los contaminantes nitrogenados de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales..... xxi
Figura 8.- Análisis de correlación entre NO_3^- y NTK. xxii
Figura 9.- Análisis de correlación entre NH_4^+ y NTK. xxiii
Figura 10.- Comportamiento de los parámetros físicos de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales xxiv
Figura 11.- Datos generales (altura, diámetro del tallo y número de hojas) del crecimiento de las plantas *Saccharum officinarum L.* utilizadas en el humedal de flujo horizontal durante los tres muestreos. xxv
Figura 12.- Datos generales (altura, diámetro del tallo y número de hojas) del crecimiento de las plantas *Saccharum officinarum L.* utilizadas en el humedal de flujo híbrido durante los tres muestreos. xxvi
Figura 13.- Longitud de las raíces encontradas en las trampas de los humedales durante los tres muestreos. xxvii

RESUMEN

Las aguas residuales provenientes del beneficio húmedo del café, se ha convertido en un problema ambiental en la región del Soconusco, al ser descargadas a los ríos en grandes cantidades. Estas aguas presentan un alto contenido de materia orgánica, compuestos nitrogenados, fósforo y compuestos tóxicos, que dificultan su tratamiento. Los humedales artificiales, con una infraestructura tecnológica simple, económica y sustentable, son un ejemplo para el tratamiento de aguas residuales domésticas, agrícolas, industriales y agroindustriales. En el presente trabajo, se comparó la eficiencia de remoción de materia orgánica y compuestos nitrogenados de dos humedales artificiales con diferente tipo de alimentación (horizontal e híbrido), como sistemas de tratamiento primario de las aguas residuales de beneficio húmedo de café. Se midieron en el influente y efluente de los humedales, las concentraciones de Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK), NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+ y la Demanda Química de Oxígeno (DQO). Al influente y efluente de los humedales se midieron los parámetros ambientales: pH, conductividad eléctrica y potencial de óxido reducción (ORP). El humedal híbrido fue más eficiente en la remoción de materia orgánica mientras que el resto de los contaminantes fueron eliminados con la misma eficiencia por ambos sistemas. Los procesos biológicos fueron el principal mecanismo de degradación de contaminantes, donde bacterias aerobias y anaerobias los utilizan como fuente de carbono y energía. El flujo de alimentación de los humedales es un factor clave para su diseño.

Palabras clave: Eficiencia de remoción, flujo de alimentación, materia orgánica, procesos biológicos, tratamiento primario.

1.- INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, con el incremento de la población humana, la contaminación del agua se ha convertido en uno de los problemas ambientales de mayor importancia (Anupama *et al*., 2013, Hu *et al*., *2013*), haciendo imprescindible la búsqueda de alternativas tecnológicas económicamente viables y sustentables.

El agua puede contaminarse tanto por compuestos orgánicos como inorgánicos, convirtiéndola en una mezcla compleja que suele denominarse agua residual (Jern, 2006). Una de las maneras más frecuentes de clasificar a las aguas residuales es de acuerdo a su procedencia: drenaje, escorrentía, domésticas, industriales y agrarias (Hernández, 2000). Las características de las aguas residuales están determinadas por sus componentes físicos, químicos y biológicos, que generalmente se encuentran relacionados entre sí (Hong, 2003).

En los países subdesarrollados, alrededor del 80% de las aguas residuales son dispuestas sin tratamiento en el ambiente o usadas para fines agrícolas, lo que constituye un problema sanitario para muchas localidades (Von Sperling y Chernicharo, 2005). Es por ello que diversos países están invirtiendo en el saneamiento de sus aguas al considerarla un recurso valioso tanto ecológico como económico (CATHALAC, 2010).

Las tecnologías implementadas en el tratamiento de aguas residuales incluyen procesos físicos, químicos y biológicos, de forma individual o combinados con la intención de mejorar la eficiencia de remoción de los contaminantes (Torres, 2012). El éxito en el tratamiento de las aguas residuales radica en tomar en cuenta aspectos como las condiciones topográficas y climáticas de la zona, la caracterización del agua residual a tratar, la evaluación de la viabilidad económica, la cultura y las costumbres de los habitantes de la zona de estudio (Rodríguez, 2009; Chung, 2013).

La caracterización de las aguas residuales a tratar se realiza con mediciones de los parámetros físicos, químicos y biológicos, como la determinación del contenido de sólidos, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), la demanda química de oxígeno (DQO), el nitrógeno y fósforo total y el pH (Torres, 2012).

Dentro de los sistemas de tratamiento de aguas residuales, los procesos biológicos son los más destacados al tener costos de instalación y operación baratos. Los sistemas biológicos pueden tratar cualquier tipo de aguas residuales y los microorganismos son los encargados de la estabilización de la materia (Gallego *et al*., 2003) al convertir los nutrientes en tejido celular y diversos gases. Los microorganismos más utilizados en los tratamientos biológicos son: bacterias, hongos, algas, protozoos, rotíferos, crustáceos (Sans, 1999).

Los procesos biológicos que se llevan a cabo en el tratamiento de aguas, dependen de las condiciones físico-químicas y de los microorganismos presentes en el agua residual. Estos procesos pueden ser aerobios (presencia de oxígeno disuelto (OD), anóxicos (ausencia de OD y presencia de nitratos) y anaerobios (ausencia de OD y nitratos) (Nodal, 2001).

El estado en que se encuentran los microorganismos en el sistema, permite clasificar a los procesos biológicos en cultivos fijos, cultivos en suspensión o una combinación de ambos (Metcalf y Eddy, 1995). En los cultivos fijos los microorganismos responsables de la conversión de la materia están fijados a un material de soporte, por donde escurre el agua residual y la masa microbiana toma sus nutrientes. Los filtros percoladores y los biodiscos (filtros rotatorios de contacto) son ejemplos de cultivos fijos (Metcalf y Eddy, 1996).

En los cultivos en suspensión los microorganismos se encuentran dispersos en el líquido (Metcalf y Eddy, 1996). El tratamiento de lodos activados es un ejemplo de estos procesos, conformado por microorganismos vivos y muertos que se activan con oxígeno y estabilizan la materia orgánica presente en el agua residual (Delgadillo *et al.,* 2010).

Las alternativas de tratamiento de aguas que están resultando atractivas en la actualidad, son las que simulan los fenómenos que ocurren cotidianamente en la naturaleza. Estos sistemas son denominados sistemas naturales de tratamiento de

aguas residuales y su uso se ha hecho común al obtenerse efluentes de buena calidad con bajos costos de inversión, instalación y mantenimiento. Los sistemas representativos son los de infiltración, lagunaje y los humedales artificiales (Martinez-Castillo *et al.*, 2014).

Los humedales son sistemas inundados que albergan rica diversidad biológica al ser un enlace dinámico entre zonas acuáticas y terrestres (Lefeuvre *et al*., 2003). Son descritos como zonas amortiguadoras de contaminantes, ya que los microorganismos presentes en el agua del sistema asimilan compuestos químicos en solución (Delgadillo *et al*., 2010).

Entre los beneficios que ofrecen los humedales está crear y restaurar nichos ecológicos, mejorar la calidad paisajística y ambiental, capacidad de amortiguamiento y la remoción de contaminantes de las aguas residuales. Estas ventajas han contribuido para que sean tomados como modelos en la construcción de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales (Lara, 1999; Llagas y Gómez, 2006).

Los humedales artificiales son sistemas diseñados y construidos para el tratamiento de aguas residuales (Gerba *et al.,* 1999). Sus componentes principales son los microorganismos, un medio filtrante, el agua residual y las plantas, que al interactuar entre ellos permiten la depuración de los contaminantes presentes en las aguas (Vymazal, 2007).

En los humedales artificiales la remoción de los contaminantes depende de la optimización de los procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren dentro del sistema (Stottmeister *et al*., 2003). Los principales mecanismos que contribuyen a la acción depuradora de los contaminantes son la filtración, sedimentación, precipitación, fotooxidación, volatilización, absorción o adsorción de compuestos, entre otros (Crites y Tchobanoglous, 1998; Stearman *et al*., 2003). En la figura 1, se muestra el mecanismo de interacción de los componentes del humedal.

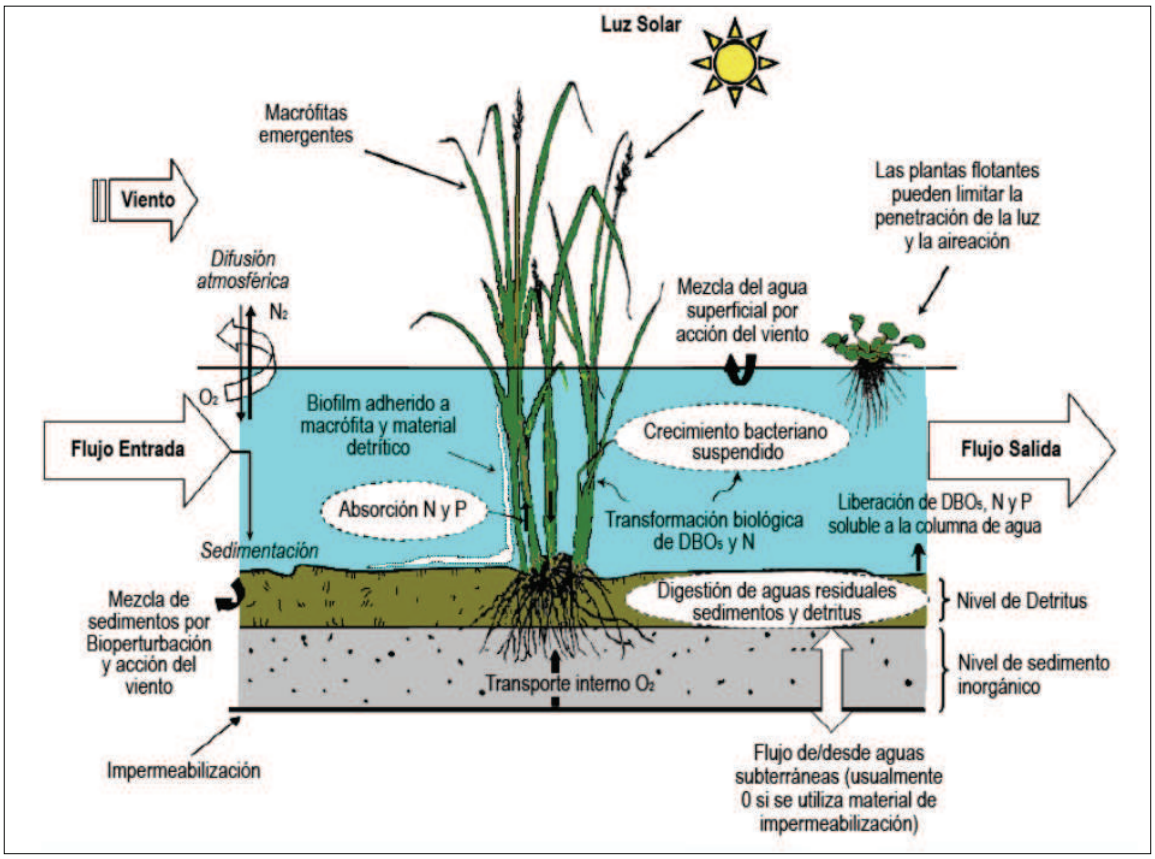


Figura 1. Interacción de los components de un humedal artificial en el tratamiento de aguas residuales. (Fuente: Vidal G., *et al.,* 2009; adaptado de Wallace 2007).

Desde hace dos décadas, los humedales artificiales se han considerado una opción reconocida y recomendada para el tratamiento de aguas residuales (Cooper, 1999) al ser efectivos en la reducción de la materia orgánica, eliminación y retención de sustancias tóxicas y transformación de nutrientes (Miranda, 2000). Los tipos de aguas tratadas por humedales artificiales incluyen aguas residuales domésticas, municipales, agrícolas, agropecuarias, de escorrentía, industriales y agroindustriales (García, 2004; Vymazal, 2005).

Algunas de las ventajas que ofrece frente a otros sistemas mecanizados son: la simplicidad en su operación, mínimo o nulo costo energético, escasa producción de residuos, costos de mantenimiento baratos, buena remoción de contaminantes y bajo impacto ambiental (Gris *et al*., 2006). Sin embargo, las limitantes que se han descrito durante su puesta en marcha incluyen la necesidad de utilizar grandes extensiones de terreno (entre 20-80 veces superior a un sistema convencional de lodos anaerobios), el arranque suele ser tardado y existe poco control durante la operación del sistema (Zurita *et al*., 2009; Pangala *et al.,* 2010).

Los humedales artificiales son clasificados de acuerdo a la vegetación que emplean o por la manera en como circula el flujo del agua dentro del sistema (Vymazal y Kröpfelová, 2008). En esta última clasificación se encuentran los humedales de flujo superficial y flujo sub-superficial que a su vez pueden ser de alimentación horizontal, vertical o híbrida (IWA, 2000; Vymazal, 2005).

Los humedales de flujo superficial (Figura 2A), son construidos con una apariencia similar a la de los humedales naturales (García, 2004). En ellos el agua circula a través de la superficie siendo expuesta a la atmósfera y la eliminación de los contaminantes se produce con las reacciones que se desarrollan en el agua y en la zona superior del sustrato. Tienen como desventajas la proliferación de mosquitos, requieren extensiones grandes de terreno y algunos estudios han demostrado baja eliminación de nutrientes (N y P), debido a la hidráulica del sistema (Verhoeven y Meuleman, 1999).

En los humedales de flujo sub-superficial (Figura 2B, C y D), el agua circula a través de un medio soporte (arena y/o grava) que sostiene a la vegetación. Cuando esto ocurre se desarrollan procesos biológicos de descomposición de la materia orgánica, el nitrógeno puede ser desnitrificado y el fósforo junto con los metales pesados son fijados en soporte. En estos procesos las plantas juegan roles importantes al suministrar oxígeno a los microorganismos por medio de su rizosfera incrementando y estabilizando la conductividad hidráulica del suelo (Brix *et al*., 2001).

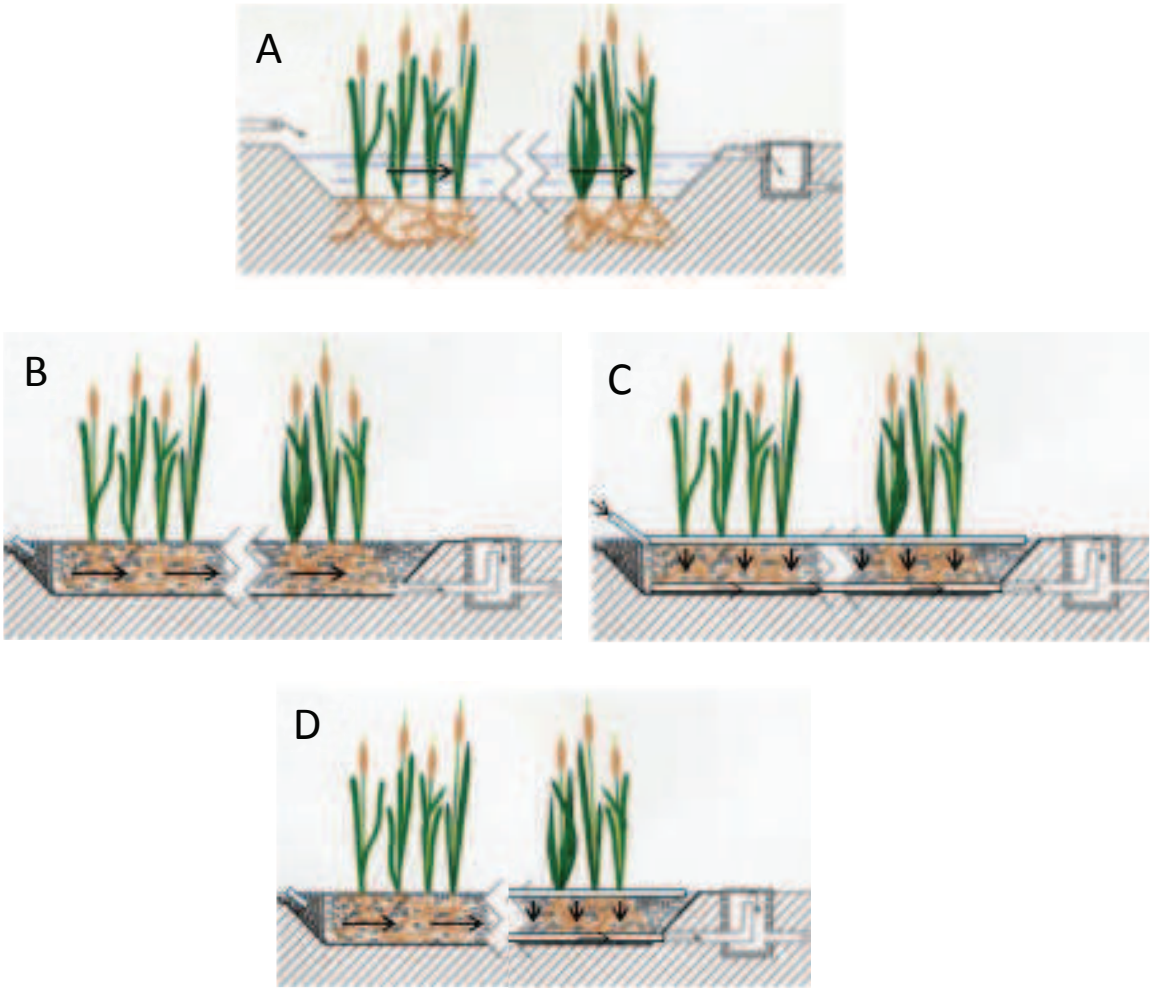


Figura 2.- Tipos de humedales. A) Humedal de flujo superficial. B) Humedal de flujo sub-superficial horizontal. C) Humedal de flujo sub-superficial vertical. D) Humedal de flujo sub-superficial híbrido. (Fuente:http://es.slideshare.net/chewacca1/presentacin-fvf-badajoz-).

Los humedales de flujo sub-superficial son los más usados para el tratamiento de aguas residuales, ya que la circulación del agua a través del soporte es más efectiva para la remoción de los contaminantes que la realizada en la superficie.

En los humedales sub-superficiales, el agua se desplaza de forma horizontal (Figura 2B) o vertical (Figura 2C) a través de las raíces de las plantas. Cuando se hace de manera vertical, el lecho se encuentra insaturado de agua y es mayor el contacto aire-agua, produciéndose prioritariamente los mecanismos aerobios como la nitrificación. Pero, si el agua fluye de forma horizontal, el lecho se satura de agua impidiendo el contacto aire-agua, dando lugar a procesos anaeróbicos, de fermentación, desnitrificación, reducción de sulfato, entre otros (Langergrabel *et al.,* 2007).

Con la finalidad de aumentar los porcentajes de remoción de los contaminantes, se combinan las ventajas de cada tipo de humedal dando origen a los sistemas de humedales híbridos (Kadlec y Wallace, 2009) (Figura 2D). En ellos se aprovechan las ventajas de los dos tipos de alimentación (horizontal y vertical), para obtener mejores rendimientos en la remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), fósforo, metales pesados, patógenos y principalmente en la eliminación de nitrógeno al favorecerse los procesos de nitrificación-desnitrificación (Cooper 1999, 2001).

La región del Soconusco Chiapas, es el área agrícola más productiva del estado, en ella se cultiva mango, plátano, papaya, maíz, cacao, soya, rambután y café. Siendo el

café uno de los cultivos de mayor derrama económica y beneficios sociales para el estado.

Chiapas ocupa uno de los primeros lugares a nivel nacional en el cultivo de café, siendo la variedad “arábica” (*Coffea arabica*) la que más se produce en el estado (Barrera *et al*., 2004). El cultivo de café es realizado principalmente por pequeños productores, que siembran superficies menores a dos hectáreas, convirtiéndolo en un cultivo de interés social.

Para comercializar y exportar el café, se llevan a cabo procesos que permiten remover el fruto maduro del grano. El beneficiado de café es el proceso en el que se transforma el fruto (café en fruta) en producto comercial (café en oro) (Alvarado y Rojas, 1998). Los métodos de beneficio conocidos son el beneficio seco y húmedo, siendo el beneficio húmedo el más utilizado para la obtención de granos de calidad, ya que permite conservar las características organolépticas del grano mejorando su precio en el mercado. En este proceso se usan grandes cantidades de agua para remover el mucílago del café, por cada kilogramo de café se utilizan ocho litros de agua (Orozco *et al*., 2006).

Las aguas residuales de café se caracterizan por la dificultad de su tratamiento, ya que tienen pH ácido (3-4), fósforo, polifenoles, taninos y elevadas concentraciones de materia orgánica (5000- 10000 mg/l DQO) (Sokolov, 2002), y nitrógeno (80 mg/l) (Sokolov, 2002). La descarga de estas aguas sin ningún tratamiento a los ríos genera

serios problemas de contaminación al contener altas concentraciones de pulpa y mucílago (Sokolov, 2002; Von Enden y Calvert, 2002).

Debido a los altos costos que tienen los sistemas de tratamiento convencionales, en la región del Soconusco Chiapas, aun no logra controlarse la descarga de aguas residuales de café. Además, son escasos los trabajos de investigación que proponen alternativas de solución para dicha problemática.

El tratamiento de las aguas residuales de café utilizando humedales artificiales podrían ser una opción viable y sustentable, al ser sistemas de menor costo que los tratamientos convencionales como los reactores anaerobios (Vymazal, 2010).

La factibilidad de remoción de contaminantes de las aguas residuales de café utilizando humedales artificiales en la región del Soconusco, fue demostrada por Moreno-Ortíz (2012), quien utilizó un sistema de flujo horizontal sub-superficial obteniendo una remoción de nitrógeno del 90% con tiempos de retención hidráulica de seis días.

A nivel regional, no ha sido posible el establecimiento de humedales artificiales como sistemas de tratamiento primario de aguas residuales. Aun es necesario optimizar los procesos de remoción de contaminantes, principalmente cuando se encuentran en altas concentraciones, para cumplir con las normas de descarga de las aguas a los bienes nacionales.

1.1.- Justificación

Por la compleja composición de las aguas residuales de café, es conveniente combinar las ventajas de diferentes tipos de humedales para aumentar los porcentajes de remoción de contaminantes como un tratamiento primario y de bajo costo.

La utilización de humedales artificiales como sistemas de tratamiento primario para aguas residuales de café, debe asegurar la obtención de efluentes que cumplan con las normas de calidad de descarga a ríos, lo que puede lograrse a partir de los procesos biológicos de degradación.

La concentración de oxígeno disuelto es un parámetro ambiental que determina la presencia o ausencia de diferentes grupos microbianos en el medio. En los humedales con alimentación de flujo híbrido se generan zonas aeróbicas y anaeróbicas, permitiendo que las concentraciones de oxígeno disuelto sean diferentes a las propiciadas por una alimentación convencional de tipo vertical u horizontal (Vymazal 2005). Esto conlleva al crecimiento de diferentes grupos microbianos que mejoran los procesos de remoción de contaminantes como el nitrógeno (Vymazal 2010).

En este trabajo se evaluaron a los humedales artificiales como sistemas de tratamiento primario, lo que permitiría a futuro que pequeños productores puedan tener acceso a una tecnología viable y económica de tratamiento de aguas. Esto podría contribuir a la

disminución de la contaminación de ríos de las zonas productoras de café, que es ocasionada por la descarga anual de grandes cantidades de aguas residuales de café.

1.2.- Pregunta de investigación

¿El tipo de alimentación híbrido en humedales artificiales favorece los mecanismos de remoción de compuestos nitrogenados de las aguas residuales de café?

1.3.- Objetivo general

Comparar los porcentajes de remoción de contaminantes nitrogenados por humedales artificiales con dos tipos de alimentación, híbrido y horizontal.

1.4.- Objetivos específicos

Comparar los porcentajes de remoción de NO_2^-, NO_3^-, NH_4^+ y Nitrógeno Total por Kjeldahl (NTK) entre dos humedales con diferente tipo de alimentación.

1.5.- Hipótesis

Si la remoción de nitrógeno se ve afectada por procesos aeróbicos y anaeróbicos, entonces la utilización de un sistema de humedales híbrido mejorará la eficiencia de remoción de los contaminantes nitrogenados.

2.- ARTÍCULO

Enviado a la Revista Mexicana de Ingeniería Química

Autores: A. Quezada-Cruz, M.A. Calixto-Romo, K. Guillén-Navarro, D. Infante-Mata, J. Valle-Mora, J.J. Morales-López y G. Mejía-González*

Título: Remoción de contaminantes nitrogenados de las aguas residuales de café por diferentes sistemas de humedales artificiales.

El Colegio de la Frontera Sur Unidad Tapachula. Carretera antiguo aeropuerto km 2.5, C.P. 30700. Tapachula, Chiapas, México.

Autor correspondiente**:** Gamaliel Mejía-González

E-mail: gmjia@ecosur.mx

Tel: (962)6289800 Ext.5441

REMOCIÓN DE CONTAMINANTES NITROGENADOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE CAFÉ POR DIFERENTES SISTEMAS DE HUMEDALES ARTIFICIALES.

REMOVAL OF NITROGEN POLLUTANTS PRESENT IN WASTEWATER COFFE BY DIFFERENT CONSTRUCTED WETLANDS

A. Quezada-Cruz, M.A. Calixto-Romo, K. Guillén-Navarro, D. Infante-Mata, J. Valle-Mora, J.J. Morales-López y G. Mejía-González*

El Colegio de la Frontera Sur Unidad Tapachula. Carretera antiguo aeropuerto km 2.5, C.P. 30700. Tapachula, Chiapas, México.

Fecha de envío: 27 de junio 2016

Email: auquezada@ecosur.edu.mx

* Autor correspondiente gmjia@ecosur.mx

2.1.- Resumen:

En el presente trabajo se evaluó la eficiencia de remoción de compuestos nitrogenados y materia orgánica de aguas residuales de benéfico húmedo de café en humedales artificiales sub-superficiales con dos diferentes tipos flujo de alimentación: horizontal e híbrido. Se utilizó caña de azúcar como material vegetativo. Ambos sistemas fueron operados a 8 días de tiempo de retención hidráhulica a temperatura ambiente durante 80 días continuos. Se evaluaron los siguientes parámetros: DQO, NTK, NH_4^+, NO_3^- y NO_2^- así como los parámetros de pH, conductividad eléctrica y ORP. Se obtuvieron altos porcentajes de remoción de DQO (97 y 95%), NTK (97 y 95%) y NO_3- (100 y 97%) por el humedal de flujo horizontal e híbrido respectivamente. La disponibilidad de materia orgánica no fue una limitante para que se desarrollaran los procesos de desnitrificación. En cambio, las altas concentraciones de NTK favorecieron el mecanismo de amonificación obteniendo bajos porcentajes de remoción de NH_4+. La nitrificación pudo verse afectada por el bajo pH de las aguas residuales de café desfavoreciendo la conversión de NH_4+. El flujo de alimentación es un factor clave en el diseño de humedales. Estos sistemas resultan viables para el tratamiento de aguas residuales de café.

2.2.- Palabras clave: Aguas residuales de café, humedales artificiales, remoción de nitrógeno, *Saccharum officinarum L.,* flujo horizontal, flujo híbrido

Abstract:

The removal efficiency of nitrogen compounds and organic matter in coffee wastewater was evaluated by two sub-superficial constructed wetlands with hybrid and horizontal flow. Sugar cane was used as vegetal component. Both constructed wetlands were operated at eight days of retention time during 80 consecutive days. Enviromental conditions were 24-30 ºC temperature, and 60-70 % RH. The parameters evaluated were DQO, NTK, NH_4^+, NO_3^- y NO_2^-. Also we measure pH, electric conductivity, and ORP. We obtained high percentages of removal of DQO (97 and 95%), NTK (97 and 95%) and NO_3^- (100 and

97%) on the horizontal system and hybrid system, respectably. The availability of organic matter was not limitant factor for the desnitrification processes. However, the high concentrations of NTK favored the ammonification processes, getting low NH_4^+ removal. The nitrification process could be affected by the low pH of the residual coffee wastewater, reducing the NH_4^+ conversion. The flow of the wetlands is a key factor in wetlands design. These systems could be an efficient solution in the treatment coffee wastewater.

Keywords: coffee wastewater, constructed wetlands, nitrogen removal, *Saccharun officinarum L.,* horizontal flow, hybrid flow.

2.3.- Introducción

Los humedales artificiales son sistemas de tratamiento de aguas residuales caracterizados por su bajo costo, facilidad de acceso a las personas y su eficiencia en la remoción de contaminantes (Shipin *y col*. 2005; Dong y Sun 2007; Zhang y co*l*. 2009; Mejia-González *y col. 2013*). Tienen la particularidad de imitar las condiciones de un humedal natural, por lo que dentro de sus componentes principales están los microorganismos, las plantas, un soporte para el enraizamiento de las plantas y el agua residual a tratar (Stottmeister *y col*. 2003). La interacción de todos los componentes del humedal permiten la remoción de los diferentes contaminantes (Vymazal, 2007).

En la remoción de nitrógeno por humedales artificiales se desarrollan procesos físicos, químicos y biológicos, como la volatilización del amonio, el mecanismo de nitrificación-desnitrificación, la amonificación y el consumo de nitrógeno por las plantas (Dong y Sun, 2007). Sin embargo, son los procesos microbianos (nitrificación-desnitrificación) los que remueven el mayor porcentaje de nitrógeno en estos sistemas (Kadlec y Knight, 1996; Tanner y co*l*. 2002; Vymazal, 2005; Tanita y Kimberly, 2006; Tjasa, 2006).

La eficiencia de remoción de nitrógeno por humedales artificiales ha sido reportada con valores entre 70 y 99% (Kadlec *y col*. 2000; Stewart, 2005; Sardón, 2006; Mustafa *y col*. 2009), del cual, entre un 5-8% es removido por las plantas (Wang y Li, 2014), que se encargan de liberar exudados por sus raíces favoreciendo el crecimiento de las comunidades bacterianas (Stottmeister *y col.* 2003).

Los humedales artificiales son usados principalmente como sistemas de tratamiento secundario o terciario (Orozco *y col*. 2006), al tratar aguas residuales con cargas orgánicas de 800 a 1000 mg/l de demanda química de oxígeno (DQO) y de nitrógeno total entre 20-40 mg/l. En este estudio se propone el uso de los humedales artificiales como sistemas de tratamiento primario para la depuración de aguas residuales de café que se caracterizan por tener cargas orgánicas hasta de 12,000 mg/l.

En el tratamiento de aguas residuales de café se han utilizado tecnologías como tanques estabilizadores o procesos biológicos anaerobios (Gathuo, 1995; Chanakya *y col.* 1998; Chanakya y De Alwis, 2004). Estas aguas se consideran de difícil tratamiento por su

naturaleza tan compleja ya que tienen pH ácido (3-4), altas cargas de carbono en forma de DQO (10,000 mg/l) y nitrógeno (>30 mg/l) (Sokolov, 2002) y contener compuestos tóxicos como ácido clorogénico, taninos, cafeína, polifenoles, ácidos orgánicos reducidos (Mohanpuria *y col*. 2010; Von Enden y Calvert, 2002).

Selvas (2012), al utilizar humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales de café, identificó valores de oxígeno disuelto (OD) de 0.5-1 mg de O_2/l y valores de potencial óxido reducción (ORP) de 40-90 mV dentro del humedal. Bajo estas condiciones, obtuvo valores de remoción del 80% para nitrógeno total y 50% de amonio. Sin embargo, no fue medida la remoción de nitrito (NO_2^-) y materia orgánica además el tiempo de retención hidráulica (12 días) que demostró mayores porcentajes de remoción fue largo.

Los humedales híbridos tiene la particularidad de combinar las ventajas de los humedales de flujo horizontal (FH) y de flujo vertical (FV), lo que permite obtener efluentes con valores bajos en la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y con mayores porcentajes de remoción de nitrógeno, al ser totalmente nitrificados y parcialmente desnitrificados (Vymazal, 2005). En los sistemas híbridos se ha reportado hasta 78% de remoción de nitrógeno total (Haberl *y col.* 1995) mientras que en la remoción de amonio han sido reportados porcentajes de hasta 78.3% (Vymazal y Kropfelova, 2011). Los procesos aeróbicos y anaeróbicos afectan la remoción de nitrógeno por lo tanto, es probable que al utilizar una alimentación híbrida en humedales artificiales se aumenten sus porcentajes de remoción. En el presente trabajo se comparó la eficiencia en la remoción de contaminantes nitrogenados [nitrógeno total por Kjeldahl, (NTK), amonio (NH_4^-), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-)] y materia orgánica presentes en las aguas residuales de café por humedales artificiales con dos tipos de alimentación horizontal e híbrido.

2.4.- Materiales y métodos

2.4.1.- Diseño y operación de los humedales artificiales

El estudio se realizó en el Colegio de la Frontera Sur, donde se construyeron dos humedales artificiales (HA) sub-superficiales a escala piloto, con dos diferentes tipos de alimentación: flujo híbrido y flujo horizontal.

Los humedales construidos fueron en forma de trapecio invertido, con dimensiones y características similares a las reportadas por Selvas (2012): 2 m de largo, 0.4 m de profundidad con una base mayor de 1 m y base menor de 0.7 m, con pendiente del 1% (Fig. 1). Para el humedal de flujo híbrido (combinación de la alimentación de flujo vertical-horizontal), el sistema se dividió por la mitad con una placa de madera (Fig.1A). Donde la primera fase se alimentó de forma vertical y la segunda de forma horizontal.

El volumen de trabajo del humedal híbrido fue de 150 l, y se alimentó con un caudal de 13.02 ml/min, mientras que el humedal horizontal tuvo un volumen de trabajo de 200 l y su

caudal fue de 17.36 ml/min. Ambos mantuvieron un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 8 días.

Se usaron plantas de *Saccharun officinarum L.* como material vegetativo, que fueron trasplantadas a los humedales con un tamaño promedio de 30 cm y a una densidad de 4 plantas/m^2. El soporte de las plantas estuvo constituido de una capa de 10 cm de arena, seguida de 20 cm de grava de ¾ y finalmente otra capa de 10 cm de arena.

2.4.2.- Estrategia de muestreo

Los humedales operaron durante el periodo de octubre-diciembre de 2015 y se alimentaron de manera continua con aguas residuales provenientes del beneficio húmedo del café a temperatura promedio de 35 ºC. Las aguas residuales se obtuvieron de la finca cafetalera "La Alianza" en Cacahotan, Chiapas, México.

Para la medición de los parámetros físico-químicos, se colectaron muestras de agua por triplicado (30 ml) cada seis días desde la puesta en marcha del sistema. Las muestras fueron colectadas del influente y el efluente.

2.4.3.- Métodos analíticos

Los parámetros físico-químicos que se determinaron fueron: potencial de Hidrógeno (pH), oxígeno disuelto (OD), conductividad y potencial de óxido reducción (ORP) con el equipo multiparamétrico ORION 4 STAR. Se utilizaron los métodos analíticos del equipo HACH Modelo DR890 para determinar Nitritos (NO_2^- -N) (método 8507), nitratos (NO_3^- -N) (método 817), amonio (NH_4^+-N) (método 10023). El nitrógeno total fue determinado por la técnica de Kjeldahl (NTK) de acuerdo al Standard Methods (APHA-AWWA-WPCF, 1998). Mientras que la materia orgánica, como DQO, se determinó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-AA-030-SCFI-2001).

2.4.4.- Análisis al material vegetativo

A cada una de las plantas de cada humedal se les hicieron mediciones de diámetro del tallo, altura de la planta, número de hojas y tamaño de raíces al principio, a la mitad y al final del experimento, esto para determinar crecimiento y desarrollo. Para no sacrificar material vegetativo, la medición del crecimiento de las raíces se hizo con trampas atrapa-raíces (cuatro en cada humedal), que se colocaron al principio del experimento. Todas las mediciones se hicieron con vernier.

2.4.5.- Análisis estadístico

El comportamiento de los parámetros físico-químicos (pH, conductividad y ORP) se analizó mediante análisis descriptivo. Se comparó la eficiencia de remoción de los contaminantes entre los dos sistemas con pruebas paramétricas (t-student pareada) en el caso de la DQO, y no paramétricas (Wilcoxon) en NH_4^+ y NTK, utilizando un valor de significancia del 95%. Asimismo se realizaron análisis de correlaciones entre las variables (valor de significancia del 95%). Para determinar si existieron diferencias en las variables de crecimiento de las plantas entre los dos sistemas, se realizó una prueba Manova. En el caso de nitrito y nitrato no se realizaron pruebas estadísticas debido a la contundencia de los resultados en los porcentajes de remoción (Remoción del 100% del nitrato en el humedal horizontal). Todos los análisis y gráficos se hicieron mediante el programa estadístico Core Team R (2016).

2.5.- Resultados y discusión

Los dos sistemas de humedales demostraron eficiencia en la remoción y estabilización de los contaminantes de las aguas residuales de café (Fig. 2).

El humedal horizontal tuvo una remoción de DQO del 95% mientras que en el humedal híbrido fue del 97%. La degradación de la materia orgánica en humedales artificiales es dependiente de la disponibilidad de oxígeno disuelto (Stottmeister *y col*. 2003), al permitir el desarrollo de procesos aeróbicos o anaeróbicos y con ello el crecimiento de los microorganismos. Al ser sistemas ricos en nutrientes favorecen la proliferación de diferentes grupos microbianos que utilizan carbono como fuente de energía, convirtiéndolo a gases como bióxido de carbono (CO_2) o metano (CH_4).

La materia orgánica presente en el influente de los humedales tuvo fluctuaciones en todo el experimento (rangos entre 5,000 a 11,000 mg/l DQO) (Fig. 3), que es una característica de este tipo de aguas residuales, debido al proceso de despulpado y lavado no estandarizado en los beneficios húmedos de café de la región, sin embargo, en los efluentes de ambos sistemas las concentraciones fueron relativamente estables (Tabla 1). En el humedal híbrido se obtuvieron menores concentraciones en el efluente, esto dio como resultado un porcentaje significativamente mayor (p=0.0008812) de remoción, comparado con el humedal de flujo horizontal (Tabla 2). Li *y col.* (2014a) reportaron que una aireación en las aguas de alimentación mejora los porcentajes de remoción de materia orgánica, este proceso justo se da en sistemas híbridos donde la difusión de oxígeno se realiza de manera más eficiente. Bajo estas condiciones los actores primarios en la degradación de la materia orgánica son las bacterias aerobias heterótrofas que compiten por sustrato con bacterias amonificantes (Cooper *y col*. 1996).

En humedales artificiales, la disponibilidad de carbono es un factor clave para los procesos de eliminación de nitrógeno vía nitrificación-desnitrificación (Kadlec y Wallace 2008; Vymazal y Kröpfelová 2008; Warneke *y col*. 2011). En este estudio, las concentraciones de materia orgánica medida en forma de DQO fueron elevadas, permitiendo una remoción del 100% del NO_3- en el humedal horizontal y del 97% en el humedal híbrido. En el análisis de correlación del NO_3- vs DQO se observa con el humedal híbrido que a mayor

concentración de DQO la concentración de NO_3- disminuye (Fig. 4). Con el humedal horizontal, no fue posible determinar el valor de correlación al no detectar NO_3^+ en el efluente.

La desnitrificación es el principal proceso microbiológico implicado en la remoción de nitrato, se realiza en ausencia de oxígeno disuelto (o con una concentración <2% de saturación) utilizando nitratos o nitritos como aceptores finales de electrones (Mateju *y col.* 1992; Zumft, 1997) y liberando gas nitrógeno a la atmósfera (Paul y Clark, 1996; Jetten *y col*. 1997). Este proceso pudo favorecerse en ambos humedales al no detectarse nitrato y nitrito en el efluente (Fig. 5), sugiriendo la eliminación completa de estos contaminantes. Otra vía que pudo estar implicada en la remoción de nitrato fue la del consumo por las plantas, ya que este compuesto es una de las formas de nitrógeno que utilizan dichos organismos para el proceso de asimilación (Vymazal, 2007). El nitrógeno es un elemento indispensable para los microorganismos, al ser utilizado en la formación de aminoácidos, ácidos nucleicos, azúcares aminadas etc. (Stanier *y col.* 1996). Al correlacionar los valores de NO_3^- vs NTK se observó en el humedal híbrido, que a mayor concentración de NTK menor es la concentración de NO_3^- (Fig. 6), lo que indicaría que el nitrógeno orgánico es utilizado en el crecimiento de las bacterias desnitrificantes.

La transformación de nitrógeno orgánico (NTK) por microorganismos, es la vía de eliminación más común en humedales artificiales (Vymazal, 2005; Tanita y Kimberly, 2006; Tjasa, 2006). Los porcentajes de remoción del nitrógeno orgánico (NTK) fueron del 95% para el humedal horizontal y del 96% para el híbrido (Fig. 2), mayores a los reportados por Li *y col*. (2014b) (88.1%), Fan *y col.* (2013)(82%), y Ayaz *y col.* (2012) (79%). Los humedales son ejemplo de sistemas de remoción biológica, al permitir la transformación del nitrógeno orgánico a compuestos reducidos (NH_4^+) u oxidados (NO_2^- y NO_3^-) por acción microbiana. Las altas concentraciones de nitrógeno orgánico que se alimentaron a los humedales (100-300 mg/l) (Tabla 1) pudieron favorecer la amonificación (conversión de N orgánico en amonio), proceso esencial para el catabolismo de los aminoácidos en bacterias (Savant y De Datta, 1982). Al realizar el análisis de correlación del NTK vs NH_4^+ se observó correlación positiva significativa (0.63) con el humedal híbrido, es decir, a mayor concentración del NTK hubo un aumento del NH_4^+ (Fig. 7), demostrándose el proceso de amonificación. Vymazal y Kröpfelová (2009), mencionan que en humedales la amonificación ocurre bajo condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas, y es realizada cuando las relaciones C/N son superiores a 50 (Rustrian *y col.*1997). Las aguas residuales de café se caracterizan por su alto contenido de materia orgánica y nitrógeno, en este estudio se demostró que la relación C/N del influente en la mayoría de los casos estuvo por arriba de 40, propiciando la acumulación de amonio en el efluente de los dos humedales. Kadlec y Knight (1996) describen que en humedales los procesos de amonificación ocurren más rápido que los de nitrificación, fenómeno que pudo provocar bajos porcentajes en la remoción de NH_4^+, 21% para el humedal híbrido y -21% en el humedal horizontal, al encontrarse mayor concentración de amonio en la salida del sistema que en la entrada.

La remoción de amonio en humedales artificiales, se lleva a cabo por volatilización, consumo de plantas y nitrificación (IWA 2000), siendo este último, un proceso dependiente de las concentraciones de oxígeno disuelto presentes en el medio (Vymazal 2007; Kadlec y

Wallace 2008). En humedales de flujo horizontal, la nitrificación se desarrolla con mayor dificultad al ser limitada la difusión de oxígeno, favoreciéndose los procesos anaeróbicos (Vymazal 1999). Esta condición pudo originar que la remoción de amonio por el humedal de flujo horizontal fuera menor que la del humedal híbrido, donde son promovidas condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Los valores de remoción obtenidos en este trabajo fueron más bajos a los reportados por Li *y col.* (2014b) (99.1%) quienes utilizaron humedales de flujo horizontal.

Selvas (2012) al tratar aguas residuales de café en un humedal con alimentación horizontal, obtuvo efluentes con pH de 6 a 6.5 y porcentajes de remoción de amonio del 37%, valores similares a los de este trabajo. Estos bajos porcentajes de remoción de amonio podrían estar relacionados con la concentración elevada de materia orgánica presente en las aguas residuales de café.

El pH pudo ser otro factor que afectó la remoción de amonio, ya que la nitrificación ha sido reportada en ambientes con pH neutro a alcalinos (7-8) (van Dongen y col. 2001) y los valores de pH en los dos sistemas fueron de 6-7 unidades (Fig. 8).
En el humedal de flujo híbrido, los mayores valores de remoción de amonio se obtuvieron en los dos últimos muestreos (Fig. 5), cuando los valores de pH fueron de 6.8-7.

Las aguas residuales alimentadas tuvieron un pH de 3.4 a 4.4 (Tabla 1) mientras que a su salida los valores de pH fueron entre 6.0-7.0 con el humedal de flujo horizontal y entre 6.2 a 7.3 para el humedal de flujo híbrido (Fig. 8). Los dos sistemas de humedales tuvieron la capacidad de regular el pH de las aguas residuales, obteniendo valores cercanos a la neutralidad. La regulación de pH por estos sistemas se debe principalmente al medio filtrante, al permitir el intercambio catiónico entre el agua residual con la grava y/o arena (Moreno, 2012; Selvas, 2012).

Los valores de pH no fueron los mismos en los efluentes de los dos humedales, característica que no ha sido reportada cuando son comparados sistemas de humedales artificiales con diferentes flujos de alimentación. Para el tratamiento de aguas residuales de café, el humedal de flujo híbrido podría ser el más indicado al cumplir las normas de calidad (NOM-127-SSA1-1994) respecto a los criterios de pH (6.5-8-5).

El ORP de las aguas residuales del influente tuvo valores más positivos (300-420 mV) que los efluentes en casi todo el experimento, a excepción del séptimo muestreo donde decayó hasta -100, justo cuando los valores de materia orgánica fueron más altos al alimentar los humedales con agua de despulpado. La tendencia de la conductividad fue similar en los efluentes de los dos sistemas a pesar que los valores de las aguas residuales de entrada oscilaron (500-1600 μs/cm) en todo el experimento (Fig. 8).

Respecto al crecimiento de las plantas, la especie (*Saccharun officinarum L.)* utilizada en el experimento pudo desarrollarse pese a las condiciones de inundación, pH, temperatura y concentraciones de contaminantes de las aguas residuales de café. La remoción de nitrógeno por consumo de las plantas ha sido reportada por diferentes autores. En este

trabajo no se determinó la cantidad de nitrógeno removido por las plantas, sin embargo, el aumento de biomasa en los tallos, hojas y raíces (Fig. 9, 10 y 11), es una medición indirecta de la asimilación de nitrógeno, ya que las plantas absorben el nitrato a través de sus raíces (Dong y Sun, 2007) para incorporarlo a sus células en la formación de aminoácidos, nucleósidos, fosfatos y clorofila. Asimismo, no hubo diferencia significativa en el crecimiento de las plantas en los dos sistemas de humedales (valor de F: 0.474070; valor de significancia: **P < 0.01, ***P < 0.001).

2.6.- Conclusión

Los contaminantes nitrogenados de las aguas residuales de café fueron removidos por ambos sistemas con la misma eficiencia. También se logró la remoción de la materia orgánica en los dos humedales, sin embargo, el humedal de flujo híbrido fue más eficiente al obtener mayores porcentajes de remoción de DQO. El tipo de alimentación, es un factor clave durante el diseño de humedales artificiales, en este trabajo se pudo demostrar su efecto únicamente en la eliminación de DQO.

2.7.- Agradecimientos

A CONACYT por la beca (307976) otorgada para la realización del trabajo de investigación.

A la Finca “La Alianza” por permitirnos el acceso para la toma de muestra de las aguas residuales de café.

2.8.- Referencias

APHA-AWWA-WPCF. 1998. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 20th Ed. American Public Health Association, Washington.

Ayaz, S.Ç., Aktasß, Ö., Findik, N., Akça, L. y Kinaci, C. (2012). Effect of recirculation on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system. *Ecological. Engineering 40*, 1-5.

Chanakya, H.N., Srivastava A.K. y Amita A. (1998). High rate biomethanation using digested biomass as bacterial support. *Current Science, 74*, 77-81.

Chanakya, H.N. y De Alwis A.P. (2004). Environmental issues and management in primary coffee processing. *Process Safety and Environmental Protection* 82(4), 291-300.

Cooper, P. A., Job, G. D., Green, M. B. Y Shutes, R. B. E. (1996). Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment, WRc Publications, Swindon, UK.

Dong, Z. y Sun, T. (2007). A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands-promoting coexistence of partial-nitrification and anammox. *Ecological Engineering 31*, 69-78.

Fan, J., Liang, S., Zhang, B. y Zhang, J. (2013). Enhanced organics and nitrogen removal in batch-operated vertical flow constructed wetlands by combination of intermittent aeration and step feeding strategy. *Environmenta Science Pollution Research.* 20, 2448-2455.

Gathuo, B. (1995). Anaerobic treatment of coffee wastes in Kenya, PhD thesis, Helsinki University of Technology.

Haberl, R., Perfler, R. y Mayer, H. (1995). Constructed wetland in Europe. *Water Science and Technology 32*(3), 305-315.

IWA Special Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control. (2000). Constructed Wetlands for Pollutant Control. *Scientific and Technical Report*, 8. IWA Publishing, London, England.

Jetten M.S.M., Logemann S., Muyzer G.M., Robertson L.A., DeVries S., van Loosdrecht M.C.M. y Kuenen J.G. (1997) Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds. *Antonie van Leeuwenhoek 71*, 75-93.

Kadlec, R. H. y Knight, R. L. (1996). *Treatment Wetlands.* Lewis Publishers 248, Boca Raton, La Florida, Pp. 373-440.

Kadlec R.H., Knight R.L., Vymazal J., Brix H., Cooper P. y Haberl R. (2000). Constructed wetlands for pollution control in: Processes, Performance, Design and Operation. IWA Specialist Group on the Use of Macrophytes in Water Pollution Control, IWA Scientific and Technical Report No. 8, IWA Publishing, London.

Kadlec, R. H. y S. D. Wallace. (2008). *Treatment Wetlands*, second edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Li, F.M., Lu, L., Zheng, X. y Zhang, X.W. (2014a). Three-stage horizontal subsurface flow constructed wetlands for organics and nitrogen removal: effect of aeration. *Ecological Engineering 68*, 90-96.

Li, F. M., Lu, L., Zheng, X., Ngo H.H., S, Liang, Guo, W.S. y Zhang, X.W. (2014b). Enhanced nitrogen removal in constructed wetlands: effects of dissolved oxygen and step-feeding. *Bioresourse Technology 169*, 395-402.

Mateju, V., S. Cizinská, J. Krejeí y Janoch, T. (1992). Biological water denitrification A review. *Enzyme Microbiology Technology 14*, 170-183.

Mejia-González, G., Herrera-López, D., Bello-Mendoza, R. y Sokolov, M.Y. (2013) "Los humedales artificiales" En *Manual de construcción y manejo de humedales artificiales para el tratamiento de agua residual de beneficio de café*, 1st ed., Pp. 17-21. El Colegio de la Frontera Sur: Tapachula.

Mohanpuria, P., Kumar, V. y Kumar, S.Y. (2010). Tea Caffeine: Metabolism, Functions, and Reduction Strategies. *Food Science Biotechnology 19*(2), 275-287.

Moreno-Ortiz., H. I. (2012). Eficiencia de humedales artificiales aplicados al tratamiento de aguas residuales del beneficiado del café. Tesis de Licenciatura de Ingeniero

Biotecnólogo, Centro de Biociencias Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula Chiapas, México.

Mustafa, A., Scholz, M., Harrington, R. y Carroll, P. (2009). The long-term performance of a representative integrated constructed wetland for treating farmyard runoff. *Ecological Engineering 35*(5), 1-7.

Norma oficial mexicana (NOM-AA-030-SCFI-2001). Análisis de agua. Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Diario Oficial de la Federación.

Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA-1994). Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación.

Orozco, C., Cruz, A. M., Rodríguez, M. A. y Pohlan, A. J. (2006). Humedal sub-superficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café. *Higiene y Sanidad Ambiental 6*, 190-196.

Paul, E.A y Clark, F.E. (1996). *Soil microbiology and biochemistry*. 2nd ed. San Diego, California: Academic Press.

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL.

Rustrian E, Delgenes J.P, Bernet N y Moletta R. (1997). Nitrate reduction in acidogenic reactor: Influence of wastewater COD/N-NO3 ratio on denitrification and acidogenic activity. *Environmental Technology* 18(3), 309-315.

Sardón N., Salas J.J., Pidre J.R. y Cuenca I. (2006). Vertical and horizontal subsurface flow constructed wetlands in the experimental plant of Carrión de los Céspedes (Seville). En: *Proceedings of the 10th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, Pp. 729-739. MAOTDR Lisbon, Portugal.

Savant N.K y De Datta S.K. (1982). Nitrogen transformations in wetland rice soils. *Advances in Agron. 35*, 241-302.

Selvas, W.I. (2012). Remoción de nitrógeno en humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales del beneficiado húmedo del café. Tesis de Licenciatura de Ingeniero Biotecnólogo, Centro de Biociencias Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula Chiapas, México.

Shipin, O., Kootatep, T., Khanh, N. T. T. y Polprasert, C. (2005). Integrated natural treatment systems for developing communities: low-tech N-removal through the fluctuating microbial pathways. *Water Science and Technology 51*, 299-30.

Sokolov, M., 2002. Contaminación ambiental por las aguas residuales del procesamiento húmedo del café: prevención y tratamiento. *En México y la cafeticultura Chiapaneca. Reflexiones y alternativas para los cafeticultures*.(Pohlan, J., Ed.), Pp. 321-332. Tapachula, Chiapas.

Stanier, R., Ingraham, J., Wheelis, M. y Painter, P. (1996). *Microbiología*. 2da ed, Editoral Reverté, S.A. Barcelona, España.

Stewart E. (2005). Evaluation of septic tank and subsurface flow wetland for Jamaican Public School Wastewater Treatment. MSc Thesis, Michigan Technological University.

Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschk, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M y Bederski O. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment, *Biotechnology Advances 22*, 93-117.

Tanita, S. y Kimberly, A.G. (2006). Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: field and laboratory studies. *Ecological Engineering 26*(2), 167–181.

Tanner, C.C., Kadlec, R.H., Gibbs, M.M., Sukias, J.P.S.M. y Long, N. (2002). Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands influence of wastewater characteristics. *Ecological Engineering 18*, 499-520.

Tjasa, G.B. (2006). Long term performance of a constructed wetland for landfill leachate treatment. *Ecological Engineering 26*(4), 365-374.

van Dongen L.G. J. M., Jetten, M. S. M. y van Loosdrecht, M. C. M. (2001). The SHARON-Anammox process for the treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology 44*(1), 153-160.

Von Enden, Jan C.; Calvert, Ken C., 2002. Limit environmental damageby basic knowledge of coffee waste waters. "Improvement of coffee quality and sustainability of coffee production in Vietnam".GTZ – PPP Project, p. 1-4.

Vymazal, J. (1999). Nitrogen removal in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow, can we determine the key process? En: *Nutrient Cycling and Retention in Natural and Constructed Wetlands*. Backhuys Publishers,(Vymazal, J., Ed.). Pp. 1-17. Leiden, The Netherlands,

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

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

Vymazal, J. y Kröpfelová L. (2008). Wastewater treatment in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Vymazal, J. y Kröpfelová L. (2009). Removal of nitrogen in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: a review. *Wetlands 29*(4), 1114-1124.

Vymazal J. y Kröpfelová L. (2011). A three-stage experimental constructed wetland for treatment of domestic sewage: first 2 years of operation. *Ecological Engineering 37* (1), 90-98.

Wang, L. y Li, T. (2014). Vegetation effects on anammox spatial distribution and nitrogen removal in constructed wetlands treated with domestic sewage. *Water Science and*

492 *Technology 70*(8), 1370-1375.

493 Warneke, S., Schipper, L.A., Matiasek, M.G., Scow, K.M., Cameron, S., Bruesewitz, D.A.,
494 et al., 2011. Nitrate removal, communities of denitrifiers and adverse effects in
495 different carbon substrates for use in denitrification beds. *Water Resourse 45*, 5463-
496 5475.

497 Zhang D. Q., Gersberg M. R. y Keat T. S. (2009). Constructed wetlands in China.
498 *Ecological Engineering 35*, 1367-1378.

499 Zumft, W. G. (1997). Cell Biology and Molecular Basis of Denitrification. *Microbiology*
500 *and Molecular Biology Reviews,* 61(4), 533-616.

501

3.- TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Valores promedio de los parámetros medidos en el influente y efluente de los dos humedales (horizontal e híbrido) durante todo el periodo de muestreo (octubre-diciembre).

	Influente (muestreo 1-3)	Efluente del humedal horizontal (muestreo 1-3)	Efluente del humedal híbrido (muestreo 1-3)	Influente (muestreo 4-6)	Efluente del humedal horizontal (muestreo 4-6)	Efluente del humedal híbrido (muestreo 4-6)	Influente (muestreo 7-10)	Efluente del humedal horizontal (muestreo 7-10)	Efluente del humedal híbrido (muestreo 7-10)
DQO(ppm)	4968 ppm ± 933	167 ppm ± 64	76 ppm ± 47	5281 ppm ± 1876	195 ppm ± 113	133 ppm ± 96	10195 ppm ± 1851	390 ppm ± 97	231 ppm ± 93
NTK (ppm)	187 ± 104	4.86 ± 3.4	8.7 ± 6.08	177 ± 32	4.66 ± 1.6	4.6 ± 1.6	200 ± 27	14.9 ± 9.5	7.9 ± 3.09
NO_{3-} (ppm)	17.58 ± 15.3	0 ± 0	0.91 ± 1.3	4.99 ± 6.6	0 ± 0	0.03 ± 0.05	12.09 ± 11.5	0 ± 0	0 ± 0
NO_{2-} (ppm)	3.03 ± 4.02	0 ± 0	0 ± 0	0.76 ± 1.3	0 ± 0	0 ± 0	3.97 ± 6.9	0 ± 0	0 ± 0
NH_{4+} (ppm)	1.43 ± 0.75	1.1 ± 0.77	2.54 ± 4.1	4.6 ± 4.5	2.76 ± 0.69	0.53 ± 0.9	13.8 ± 10.6	4.68 ± 4.6	1.3 ± 0.42
pH (unidades)	3.9 ± 0.5	6.25 ± 0.12	6.8 ±0.69	4.1 ± 0.57	6.7±0.11	7.1± 0.08	3.66 ± 0.23	6.4 ± 0.09	6.85±0.36
Conduc-tividad (µS/cm)	762 ± 160	1389 ± 260	869 ± 124	692 ±144	729 ± 77	536 ±149	1257 ± 469	1149 ± 282	1074 ± 376
ORP (mV)	410 ± 67	200 ± 17	254 ± 19	368 ± 58	170 ± 40	319 ± 27	304 ± 260	215 ± 42	250 ± 71

Tabla 2.- Comparación de medias de los porcentajes de remoción contaminantes (DQO, NH_4^+ y NTK) entre los humedales horizontal e híbrido.

Variable	Prueba de Wilcoxon		Prueba de medias pareadas	
	Valor de *p*	Ho	Valor de *t*	Valor de *p*
NTK	0.4772	No hubo diferencias en los porcentajes de remoción de NTK	-	-
NH_4+	0.1834	No hubo diferencias en los porcentajes de remoción de NH_4+	-	-
DQO	-	-	-4.8719	0.0008812

Figura 3.- Diseño de los humedales. A) Humedal de flujo híbrido. B) Humedal de flujo horizontal.

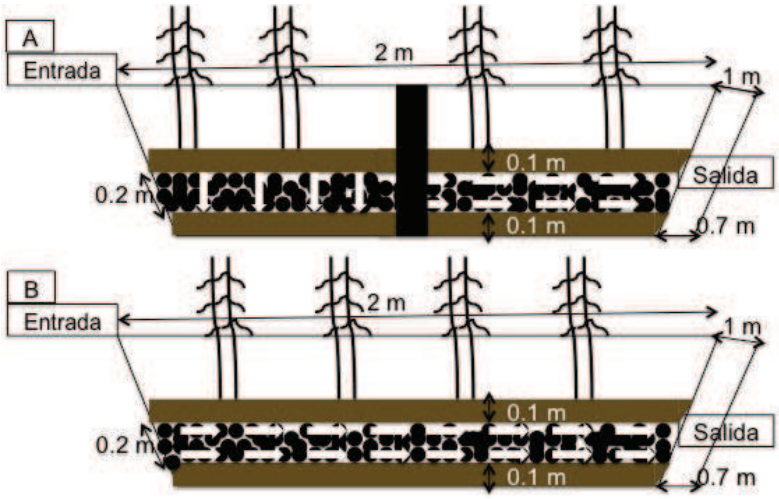
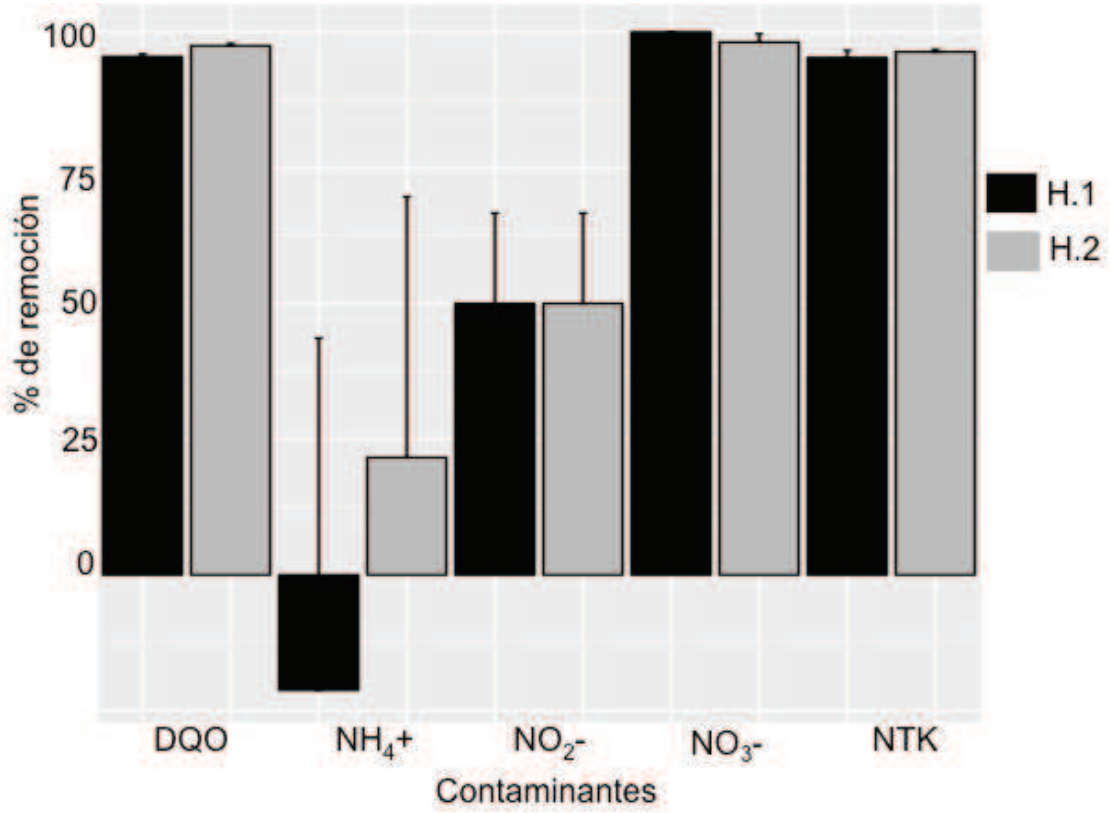


Figura 4.- Porcentajes de remoción de los contaminantes por los dos sistemas de humedales artificiales.



Desviación estándar: DQO H.1. **0.45**; DQO H.2. **0.42**; NH_4+ H1. **64.89**; NH_4+ H.2. **48. 04**; NO_2- H.1. **16.66**; NO_2- H.2. **16.66**; NO_3- H.1. **0**; NO_3- H.2. **1.49**. H.1: Humedal de flujo horizontal; H.2: Humedal de flujo híbrido.

Figura 5.- Comportamiento de la DQO de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales (Influente; Efluente humedal horizontal; Efluente humedal híbrido). H.1. Humedal horizontal; H.2: Humedal híbrido.

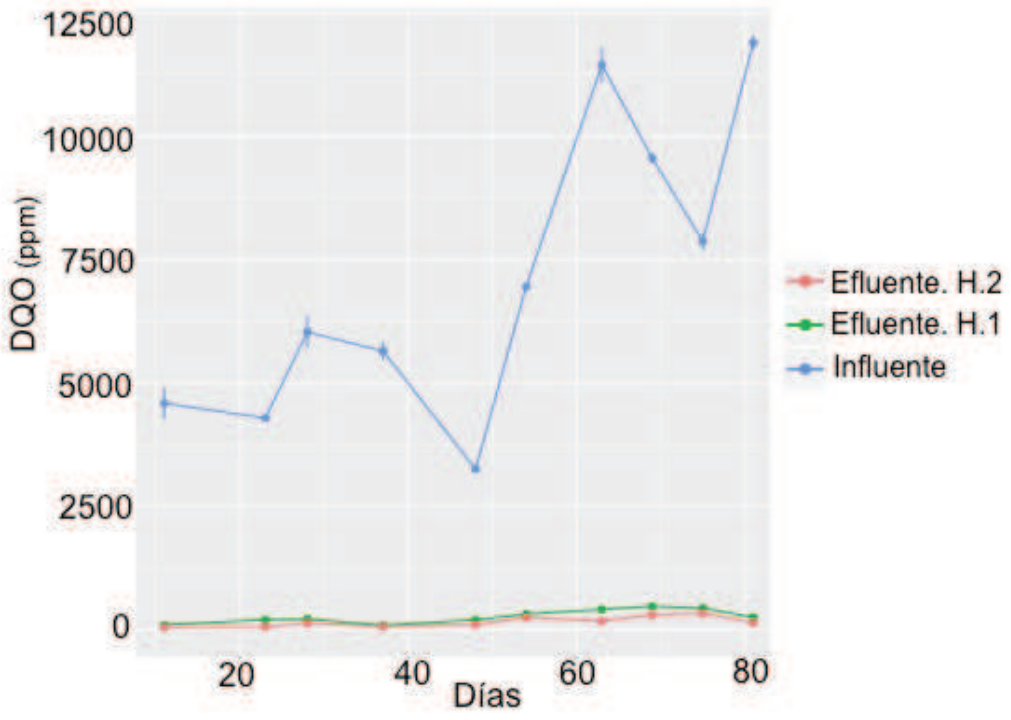
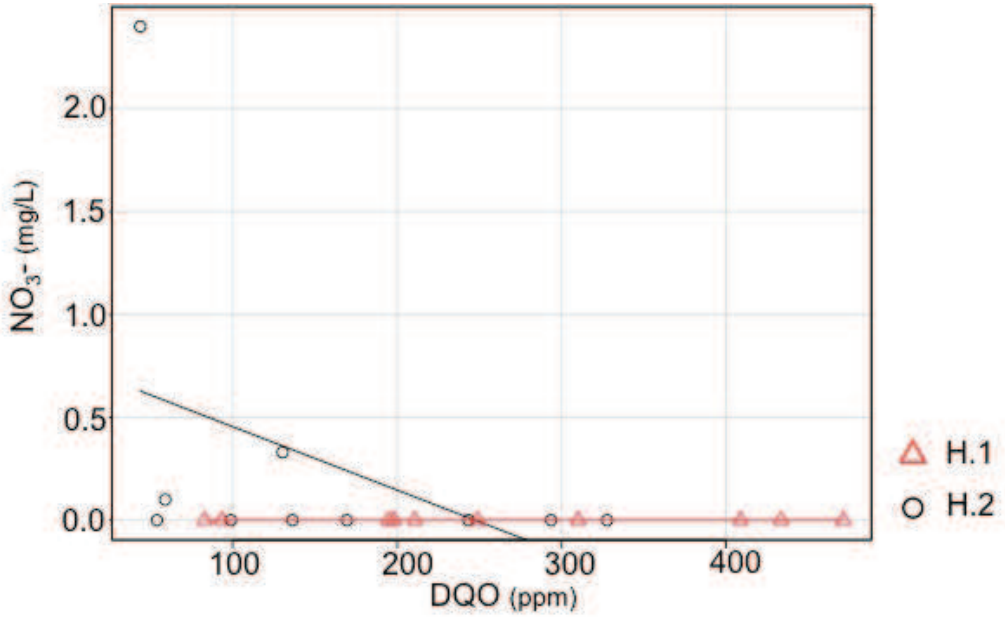


Figura 6.- Análisis de correlación entre DQO y NO_3^-.



Humedal horizontal (H.1): valor de correlación: NA; valor de *p*: NA.

Humedal híbrido (H.2): valor de correlación: -0.4170443; valor de *p*: 0.2305.

Valor de significancia de la prueba del 95%

Figura 7.- Comportamiento de los contaminantes nitrogenados de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales (Influente; Efluente humedal horizontal; Efluente humedal híbrido). H.1: Humedal horizontal: H.2: Humedal híbrido.

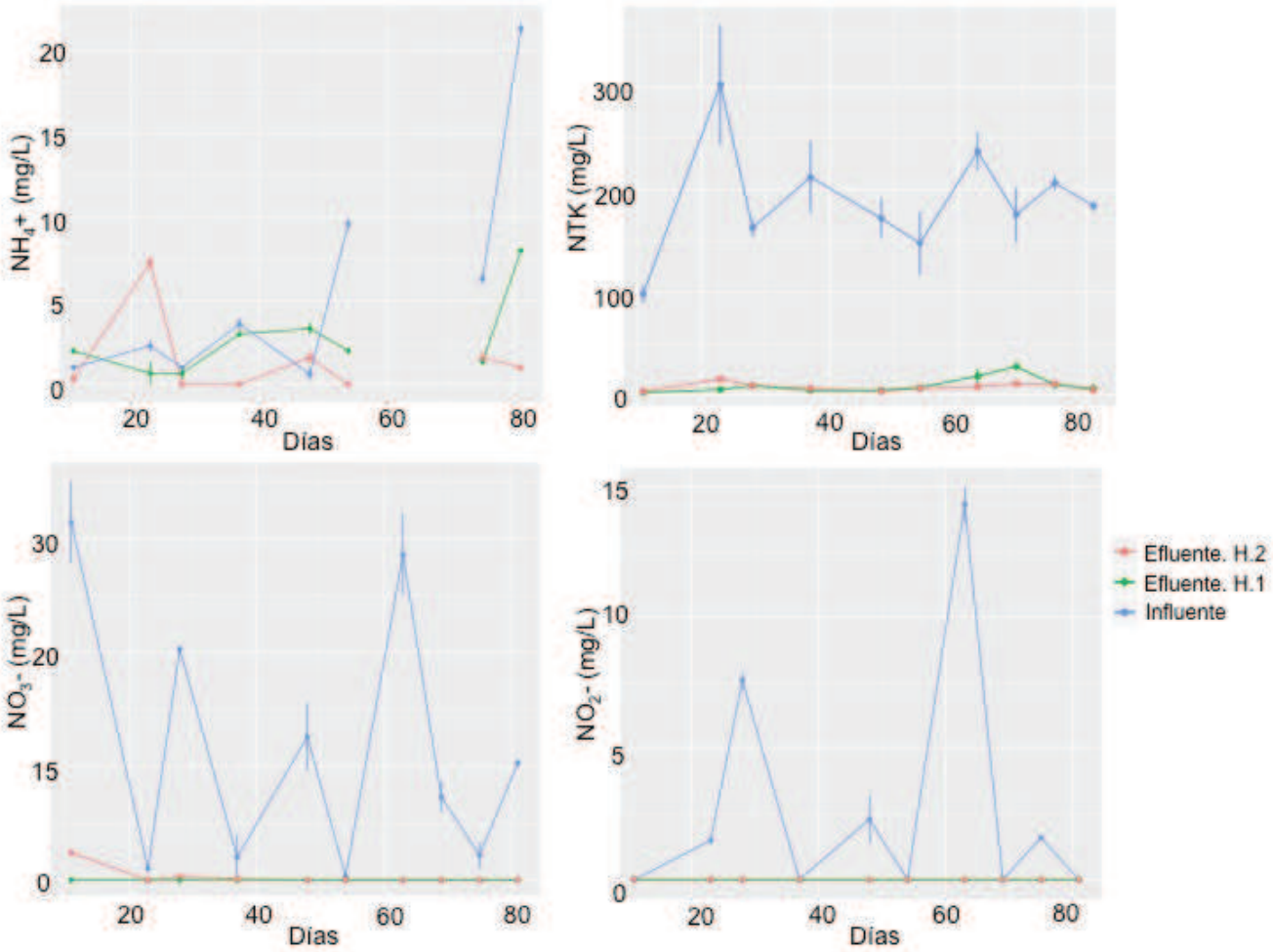
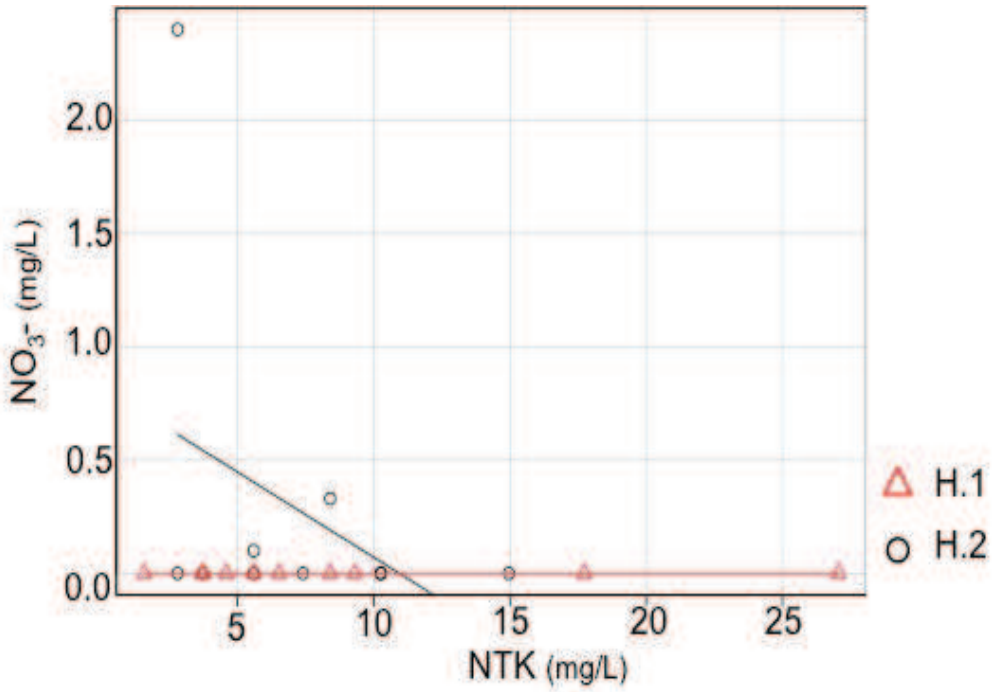


Figura 8.- Análisis de correlación entre NO_3^- y NTK.

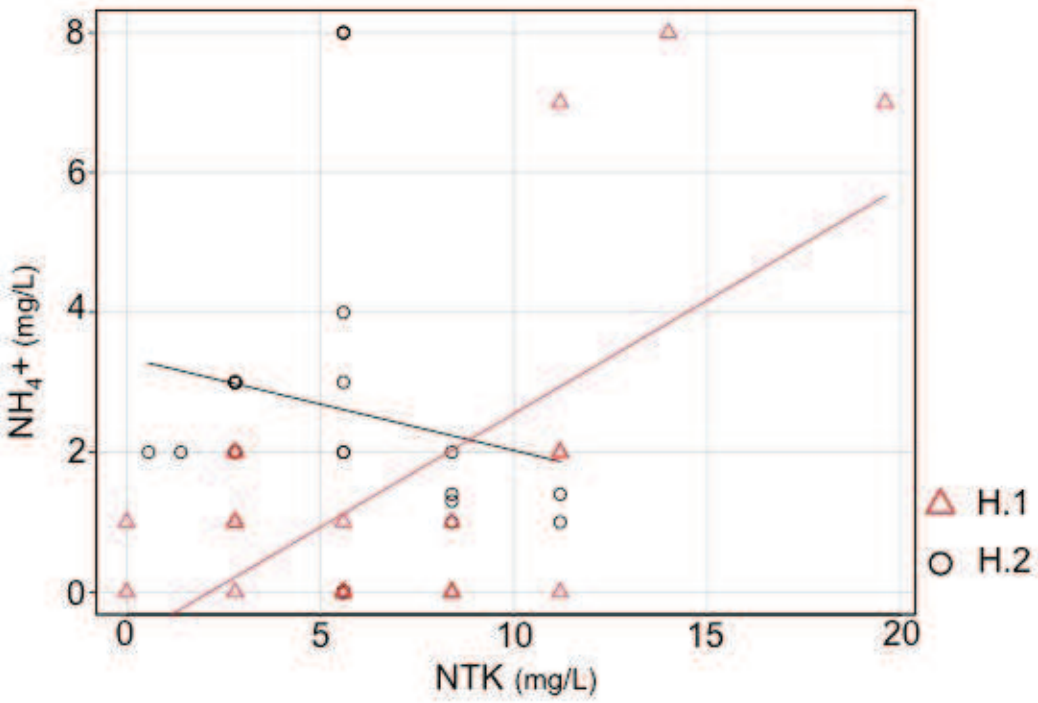


Humedal horizontal (H.1): valor de correlación: NA; valor de *p*: NA.

Humedal híbrido (H.2): valor de correlación: -0.3903751; valor de *p*: 0.2647

Valor de significancia de la prueba del 95%

Figura 9.- Análisis de correlación entre NH_4^+ y NTK.



Humedal horizontal (H.1): valor de correlación: -0.4450834; valor de *p*: 0.0293.

Humedal híbrido (H.2): valor de correlación: 0.6366966; valor de *p*: 0.0008221

Valor de significancia de la prueba del 95%

Figura 10.- Comportamiento de los parámetros físicos de las aguas residuales de café en la entrada y salida de los dos humedales (Influente; Efluente humedal horizontal; Efluente del humedal híbrido) H.1: Humedal horizontal: H2: Humedal híbrido.

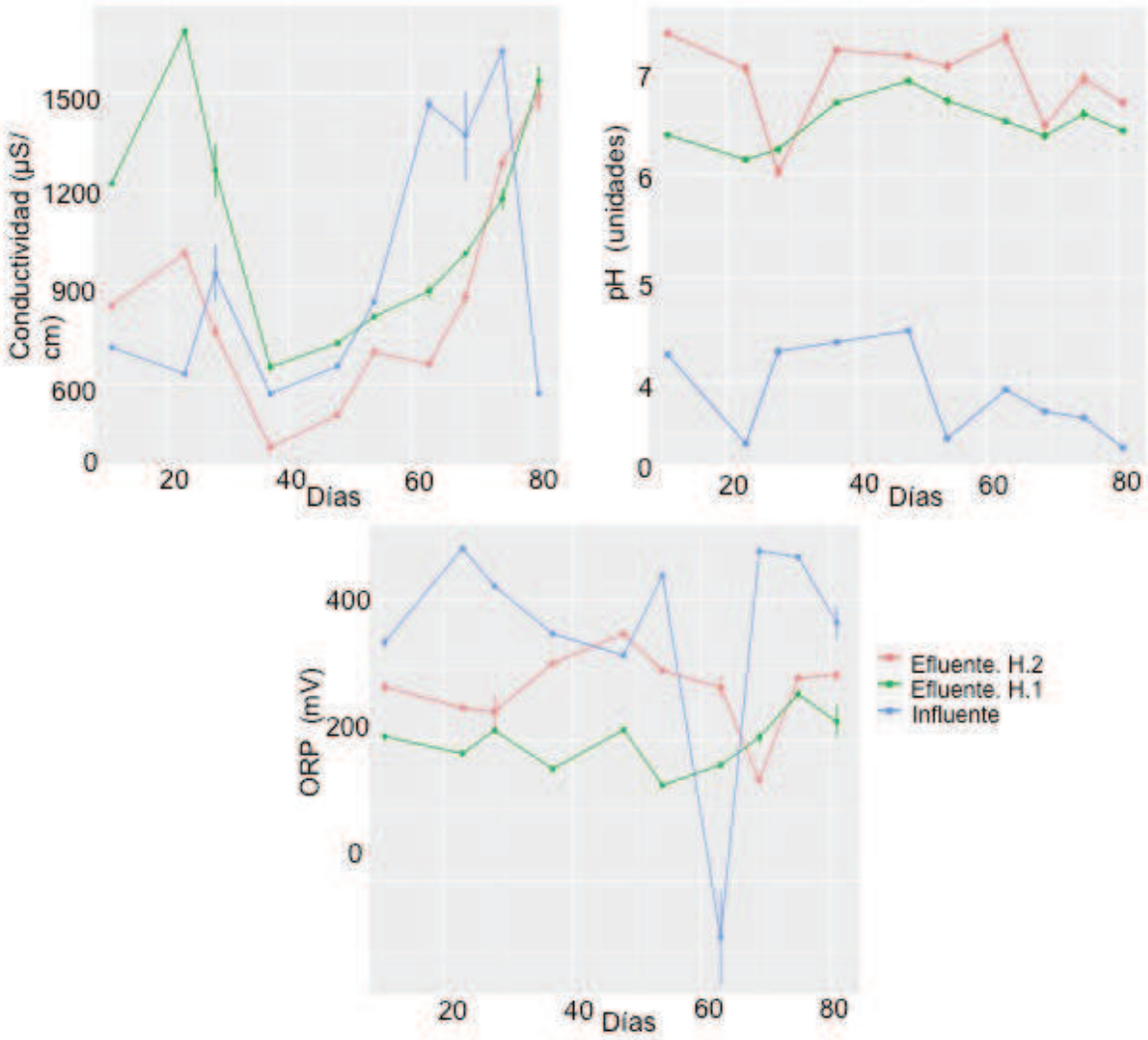
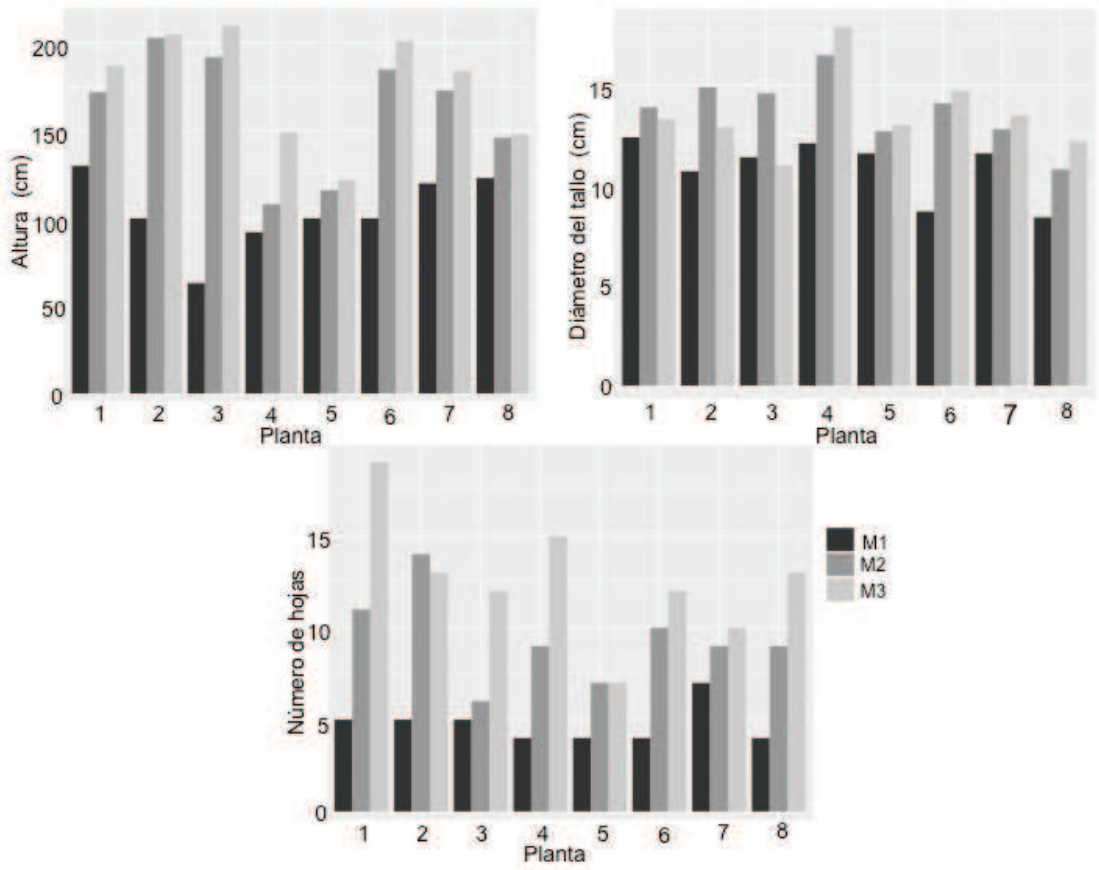


Figura 11.- Datos generales (altura, diámetro del tallo y número de hojas) del crecimiento de las plantas *Saccharum officinarum L.* utilizadas en el humedal de flujo horizontal durante los tres muestreos. M1: muestreo 1; M2: muestreo 2; M3: muestreo 3.

.



.

Figura 12.- Datos generales (altura, diámetro del tallo y número de hojas) del crecimiento de las plantas *Saccharum officinarum L*. utilizadas en el humedal de flujo híbrido durante los tres muestreos. M1: muestreo 1; M2: muestreo 2; M3: muestreo 3.

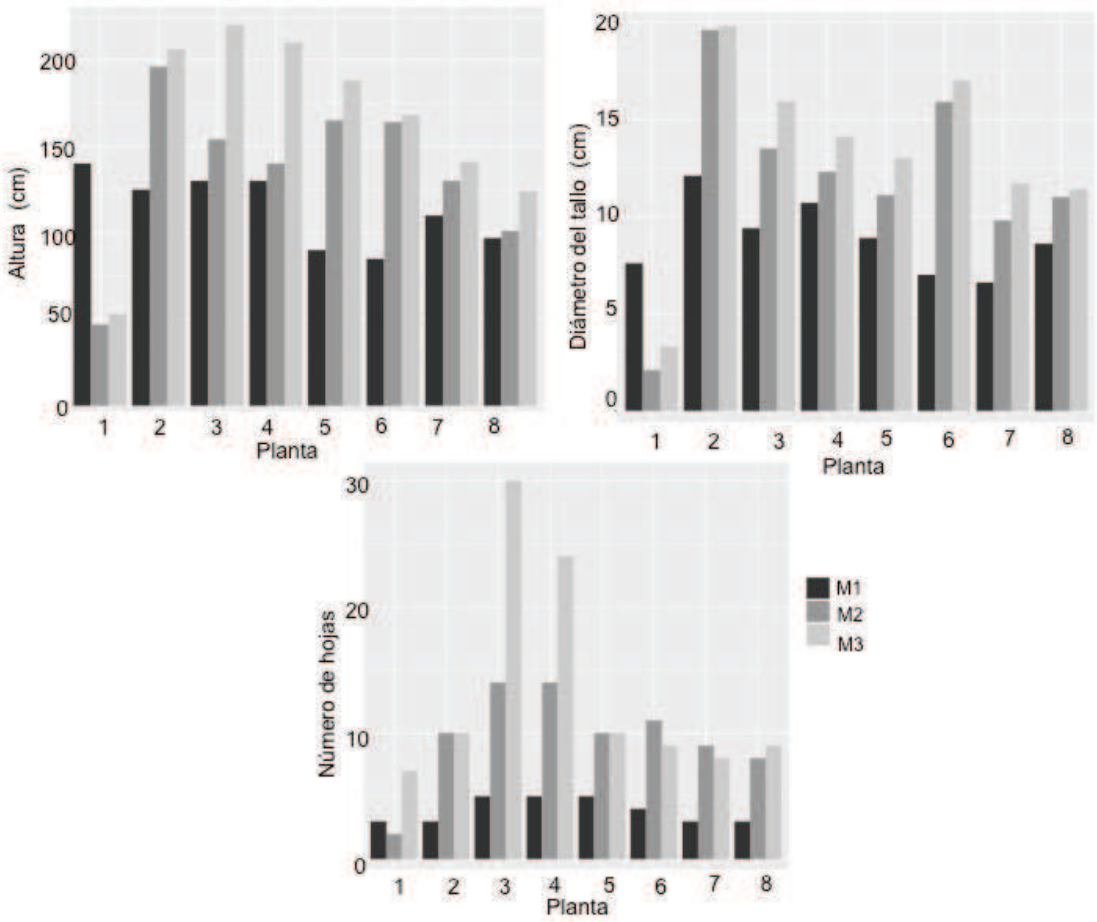
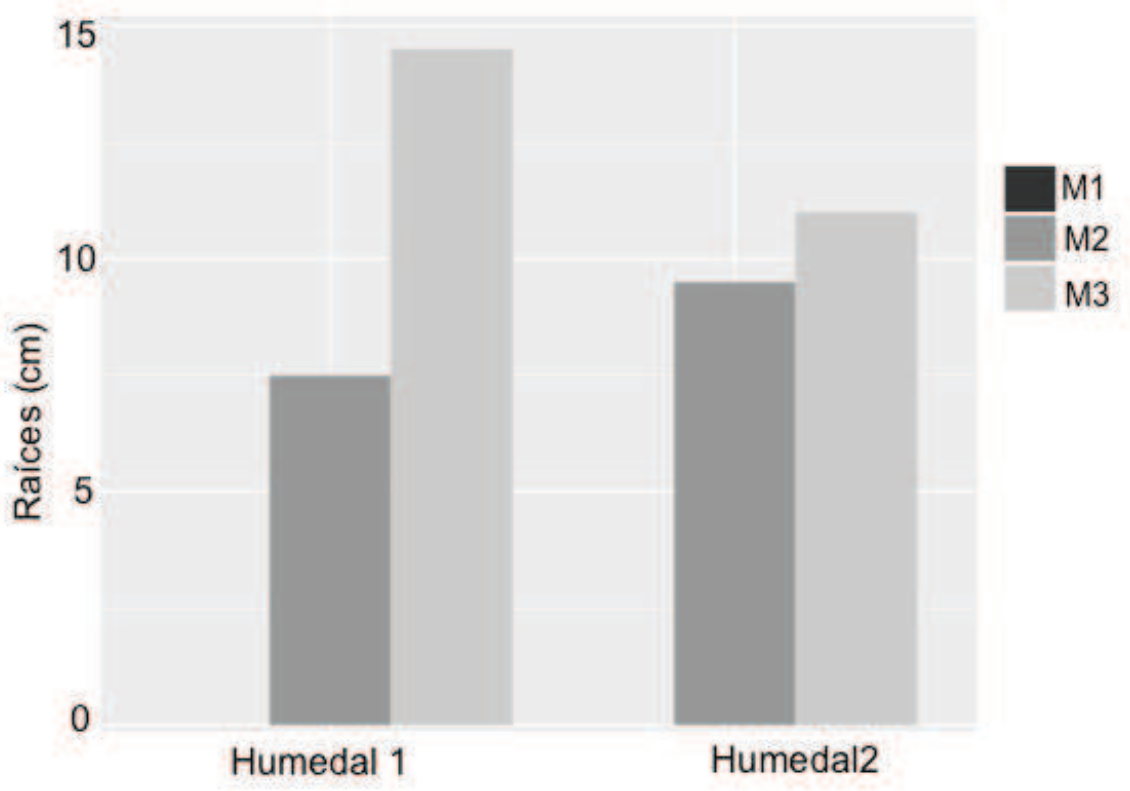


Figura 13.- Longitud de las raíces encontradas en las trampas de los humedales durante los tres muestreos. H.1: Humedal horizontal: H.2: Humedal híbrido. M1: muestreo 1; M2: muestreo 2; M3: muestreo 3



4. - CONCLUSIÓN

Los porcentajes de remoción de los contaminantes fueron similares en los dos sistemas de humedales. La eliminación de la materia orgánica estuvo por arriba del 90% en ambos sistemas, sin embargo, el humedal de flujo híbrido fue más eficiente en la remoción de DQO.

La remoción de amonio por los dos humedales no fue la esperada ya que hubo acumulación de amonio en el efluente, disminuyendo los porcentajes de eliminación.

Los humedales artificiales pueden ser una tecnología viable para utilizarse como sistemas de tratamiento primario de las aguas residuales de café, ya que tienen la capacidad de remover materia orgánica y compuestos nitrogenados. Sin embargo, se recomienda seguir realizando investigaciones para optimizar los valores de degradación de los diferentes contaminantes en aguas residuales con altas cargas orgánicas como las aguas residuales de café.

Es necesario conocer con claridad el efecto de cada una de los componentes de los humedales para entender su funcionamiento y rediseñar los sistemas de tratamiento de aguas, tomando en cuenta las características específicas del agua residual a tratar y las condiciones del sitio.

5. - REFERENCIAS

Alvarado, M., Rojas, G., 1998. El cultivo y beneficiado del café. Editorial Universidad Estatal a Distancia, San Jose, Costa Rica. 160 p.

Anupama S., Pradeep N.V., Hampannavar US., 2013. Anaerobic followed by aerobic treatment approaches for Spentwash using MFC and RBC. *Sugar Tech* 15(2): 192–202.

Barrera J., Parra V., Herrera H., Jarquín G., Pohlan J., 2004. Plan Rector para el Manejo Agroecológico del café en Chiapas. ECOSUR y la Comisión para el Desarrollo y Fomento del Café de Chiapas. Informe técnico. Noviembre de 2004. Tapachula, Chiapas, México. 236 pp.

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

Centro del Agua del Trópico Húmedo para América Latina y el Caribe (CATHALAC). 2010. Tratamiento de Aguas Residuales. Disponible en: /www.cathalac.org/Programas-Viejo/Agua-y-Saneamiento/Tratamiento-de-Aguas-Residuales. Consultado en Marzo 2016.

Chung J., 2013. Assessment and selection of best available technology (BAT) for wastewater facilities in the leather tanning and finishing industry. *Resources, Conservation and Recycling*, 70: 32-37.

Cooper P.F., 1999. A review of the design and performance of vertical flow and hybrid reed bed treatment systems. *Water Sci Technol* 40:1-9.

Cooper P. F., 2001. Nitrification and denitrification in hybrid constructed wetlands systems. In: Vymazal J (ed) Transformations on nutrients in natural and constructed wetlands. Backhuys, Leiden, 257-270.

Crites, R., Tchobanoglous, G., 1998. Small and Decentralized Wastewater Management Systems. International Edition. McGraw-Hill, Boston. 1104 p.

Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L.F., Andrade, M., 2010. Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba Bolivia. ISBN: 978-99954-766- 2-5. 99 p.

Gallego A, Fortunato MS, Foglia J., 2003. Biodegradation and detoxification of phenolic compounds by pure and mixed indigenous cultures in aerobic reactors. *Int Biodeterior Biodegrad* 52: 261–267.

García J., 2004. Humedales construidos para controlar la contaminación: perspectiva sobre una tecnología en expansión. En: García, J., Morato, J., Bayona, J. M. (eds). Nuevos criterios para el diseño y operación de humedales construidos. Barcelona : Ediciones CPET. 100 p.

Gerba C.P., Thurston J.A., Falabi J.A., Watt P.M., Kar- piscak M.M., 1999. Optimization of artificial wetlands design for removal of indicator microorganisms and pathogenic protozoa. *Wat. Sci. Tech*. 40: 363-368.

Gris, A., Pastor, R., Subirana, A., Carneiro, A., Morató, J., 2006. Tecnologías sostenibles para la potabilización y el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de Investigación*, 3(18): 19-29.

Hernández, A., 2000. “Manual de depuración Uralita”. España. Thompson Learning.429 p.

Hong Y.S., 2003. Evolutionary self-organising modelling of a municipal wastewater treatment plant. *Water Research*. 37: 1199–1212.

Hu, X., Murgovski, N., Johannesson, L., Egardt, B., 2013. Energy efficiency analysis of a series plugin hybrid electric bus with different energy management strategies and battery sizes. *Appl. Energy* 111: 1001-1009.

IWA Special Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control, 2000. Constructed Wetlands for Pollutant Control. Scientific and Technical Report No 8. IWA Publishing, London, England. 171 p.

Jern, N.W., 2006. Industrial wastewater treatment. In: Wei, T.K. (Ed.), World Scientific Publishing Company. Imperial College Press, London. 147 p.

Kadlec, R., Wallace, S., 2009. Treatment Wetlands, second ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL 33487-2742, USA. 965 p.

Langergrabel, G., Prandtstetten C.A,, Pressl R., Rohrhofer, R., Haberl, R. 2007. Optimization of Subsurface Vertical flow Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. *Water Science and Technology*, 55 (7): 72-78.

Lara B.J.A., 1999. Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales, Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Cataluña Instituto Catalán de Tecnología, Barcelona. 122 p.

Llagas, W., Gómez, E., 2006. Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales de la UNMSN. Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG 15 (17): 85-96.

Lefeuvre, J.C, Laffaille, P., Feunteun, E., Bouchard, V., Radureau, A., 2003. Biodiversity in salt marshes: from patrimonial value to ecosystem functioning. The case study of the Mont-Saint-Michel bay. *C. R. Biol.* 326: 125-131.

Martínez-Castillo, J., Escarola-Rosas, M A., Martinez-Lopez, A., Elvira-Hernández, E.A.,Rodríguez-Bernal, O.F. Méndez, G.A., Padrón-Hernández, W., Hernández-Lara, J., Chiquito-Coyotl, O Tinoco-Magaña, J., 2014. Alternativas actuales del manejo de lixiviados. *Avances en Química,* 9: 37-47.

Metcalf y Eddy, INC., 1995. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización, 3a ed. McGraw-Hill, New York. 1485 p.

Metcalf y Eddy., 1996. Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento y reutilización. McGraw Hill: México. 1485 p.

Miranda R.M., 2000. Desarrollo, situación actual y aplicaciones potenciales de los humedales artificiales de flujo horizontal de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 96 p.

Moreno-Ortiz., H. I. (2012). Eficiencia de humedales artificiales aplicados al tratamiento de aguas residuales del beneficiado del café. Tesis de Licenciatura de Ingeniero Biotecnólogo, Centro de Biociencias Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula Chiapas, México. 22 p.

Nodal B. E., 2001. Procesos biológicos aplicados al tratamiento de agua residual. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental* 22 (4): 52-56.

Orozco, C., Cruz, A. M., Rodríguez, M. A., Pohlan A. J., 2006. Humedal sub-superficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 6: 190-196.

Pangala, S., Reay, D., Heal, K., 2010. Mitigation of methane emissions from constructed farm wetlands. *Chemosphere* 78: 493-499.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Rodríguez, J. P., 2009. Selección técnico económico del sistema de depuración de aguas residuales. Aplicando la evaluación de la descontaminación hídrica. *Tecnología del agua*, 306 (29): 22–21.

Sans, R., 1999. Ingenieria ambiental: Contaminación y tratamientos. México: Alfaomega. 148 p.

Sokolov, M., 2002. Contaminación ambiental por las aguas residuales del procesamiento húmedo del café: prevención y tratamiento. En México y la cafeticultura Chiapaneca. Reflexiones y alternativas para los cafeticultures. (Pohlan J.) (p. 321-32). Tapachula, Chiapas. México, 386 p.

Stearman, G.K., George D.B., Carlson K.y Lansford S. 2003. Pesticide removal from container nursery runoff in constructed wetalnd cells. *Journal of Environmental Quality*, 32:1548-1556.

Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschk, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M y Bederski O., 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment, *Biotechnology. Advances, 22*: 93-117.

Torres, P., 2012. Perspectivas del tratamiento anaerobio de aguas residuales domésticas en países en desarrollo. *Revista EIA*, 18: 115-129.

Verhoeven, T.A., Meuleman, F.M., 1999. Wetlands for wastewater treatment: Opportunities and limitations. *Ecological Engineering,* 12: 5-12.

Vidal, G., Jarpa, M., Plaza R. C., Belmonte, M., Marianel L., 2009. Sistemas de tratamiento convencionales vs sistemas naturales in: MANUAL DE TECNOLOGÍAS SOSTENIBLES EN TRATAMIENTO DE AGUAS. p.39.

Von Enden, Jan C.; Calvert, Ken C., 2002. Limit environmental damageby basic knowledge of coffee waste waters. “Improvement of coffee quality and sustainability of coffee production in Vietnam”.GTZ – PPP Project, 1-4.

Von Sperling, M., Chernicharo, C. A. L., 2005. Biological wastewater treatment in warm climate regions. London: IWA, 452 p.

Vymazal, J., 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25(5): 478–490.

Vymazal, J., 2007. Removal of Nutrients in Various Types of Constructed Wetlands. *Sci. Total Environ*. 380: 48-65.

Vymazal, J. y Kröpfelová, L., 2008. Wastewater treatment in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow. *Enviromental Pollution*. 566 p.

Vymazal, J., 2010. Constructed wetlands for wastewater treatment. *Water.*, 2: 530-549.

Wallace, S., 2007. The wetland wastewater alternative. *Water. 21(*2): 38-44.

Zurita, F., De Anda, J., Belmont M.A., 2009. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 32: 861-869.