

**Humidais construídos para a depuración de augas  
residuais urbanas: eliminación de nitróxeno, ensaios  
biolóxicos e respirometría en diferentes configuracións  
híbridas.**

Autora: Verónica Torrijos Pérez

Tese de doutoramento UDC / 2017

Directores: Manuel Soto Castiñeira e Isabel Ruiz Bolaños

Programa oficial de doutoramento en Ciencia e Tecnoloxía Ambiental



**MANUEL SOTO CASTIÑEIRA**, catedrático de universidade, e **ISABEL RUIZ BOLAÑOS** contratada doutora, ambos pertencentes ó Departamento de Química da Universidade da Coruña,

#### **AUTORIZAN**

A **VERÓNICA TORRIJOS PÉREZ** a presentar a memoria titulada “Humidais construídos para a depuración de augas residuais urbanas: eliminación de nitróxeno, ensaios biolóxicos e respirometría en diferentes configuracións híbridas”, que foi realizada baixo a súa dirección no laboratorio de Enxeñaría Química da Facultade de Ciencias, para optar ao grao de Doutora pola Universidade da Coruña.

E para que así conste aos efectos oportunos firman a presente en A Coruña, a 6 de outubro de 2017.

Fdo. Manuel Soto Castiñeira

Isabel Ruiz Bolaños



## **AGRADECEMENTOS**

*Gustaríame agradecer a todas as persoas que estiveron preto de min estes anos e que, dun ou doutro modo, colaboraron no avance desta tese de doutoramento.*

*As colaboracións foron tan diferentes como enriquecedoras, grazas a todas estas persoas fun aprendendo ata chegar a estas últimas liñas, que son intensas como o resto do traballo, pois nesta situación, unha non sabe por onde comezar.*

*Por unha banda, agradecer ás persoas que forman parte da miña vida allea a esta andanza, pero que, coa súa paciencia e interese, foron escoitando (e aprendendo) todo o que lles ía contando dos humidais construídos. Aos meus pais, a miña avoa, os meus primos, as amigas e amigos, grazas por aturarme!.*

*Por outra banda, agradezo todas as experiencias das que aprendín. Moitas alegrías e motivacións ao comezar novos ensaios, ao ver que as horas se transforman en resultados, ao compartir todos estes momentos con compañeiras e compañeiros estupendos. E, por suposto, tamén se aprende deses resultados non tan bos que fan cultivar a persistencia e inquedanza da investigación. Sen estes momentos, creo que a tese de ningún doutorando tería sentido.*

*Tamén son moitas as vivencias, ter a sorte de dar con persoas ás que admirar, coas que se conecta e apetece pasar horas tamén ao saír do laboratorio e conversar largo e tendido.*

*A Pablo e Alberto, grazas por ensinarme como se pode ser serio e rigoroso no traballo mentres se fan chistes para comezar as mañás con alegría.*

*A Noela, María, Haris, Ruth, Ánxela, Borja, Martín, Oly, Rolando: Grazas por todos eses cafés, autoclaves, muflas, cámaras termostáticas, visitas ao químico-biolóxico... equipazo veciño!, se puidera escoller eu a compañía, escollería exactamente a súa.*

*Ao grupo co que tiven a sorte de compartir espazo e tempo gustaríame agradecerlles particularmente todos os bos momentos vividos:*

*A Alba e Gael, grazas por estar no día a día, por aprender xuntos, temos moito en común.*

*A David, agradecer todas as ensinanzas, un libro aberto do que aprender.*

*A Isabel, grazas por axudarme en todo, por ser desde co-directora da tese, ata compañeira de habitación de congresos.*

*E a Manolo, afortunada me sinto por ter un co-director ao que admirar, como profesional e como persoa. Grazas por transmitir a inmensa sabedoría, por ser guía, paciente, libro aberto, mestre.*

*Grazas pola confianza depositada en min e por terme dado a oportunidade de formar parte do grupo.*

## TÍTULO

Humidais construídos para a depuração de augas residuais urbanas: eliminación de nitróxeno, ensaios biolóxicos e respirometría en diferentes configuracións híbridas a escala de laboratorio.

## TÍTULO

Humedales construidos para el tratamiento de aguas residuales urbanas: eliminación de nitrógeno, ensayos biológicos y respirometría en diferentes configuraciones híbridas a escala de laboratorio.

## TITLE

Constructed wetlands for domestic wastewater treatment: nitrogen removal, biological assays and respirometry in different hybrid configurations at lab scale.

## RESUMO

Existen aínda moitas carencias na comprensión dos mecanismos de depuración e nos métodos de deseño dos humidais construídos (HC) para a depuración de augas residuais, especialmente en relación coa aplicación de sistemas híbridos. O obxectivo da presente investigación é contribuir a un mellor coñecemento dos HC, a través dos seguintes obxectivos específicos: a) o desenvolvemento de metodoloxías de laboratorio destinadas a describir os procesos e á obtención de parámetros cinéticos e estequiométricos, b) a obtención destes parámetros cinéticos e estequiométricos para un substrato sintético que simula augas residuais domésticas; c) o avance na concepción e deseño de sistemas HC híbridos. Desenvolvéronse ensaios aerobios, anóxicos e anaerobios, así como as técnicas respirométricas para a súa aplicación na caracterización destes sistemas. Os HC simuláronse a escala de laboratorio mediante columnas de fluxo descendente que permiten reproducir as condicións reais, tanto de saturación hidráulica como de non saturación, de sistemas híbridos constituídos por varias unidades en serie. Ademais, prestouse de atención aos parámetros relacionados coa obstrución do medio filtrante e as emisións de gases de efecto invernadoiro.

Os HC híbridos constituídos por unidades de fluxo horizontal (FH) e vertical (FV) subsuperficial buscan unha nitrificación e desnitrificación efectivas mediante a combinación de condicións anaerobias, anóxicas e aerobias. Foron estudadas a configuración de dobre etapa e paso único (FH + FH, FV + FV), a configuración Bp(VF + HF) (con bypass de alimentación) e o sistema R (FH + FV) (con recirculación de efluente).

A eliminación porcentual de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> foi en xeral superior ao 95% en todos os sistemas. Os sistemas de paso único mostraron unha eliminación de NT inferior ao 50% e baixas taxas de eliminación (0,6-1,2 g de NT/m<sup>2</sup>·d), se ben o sistema FV+FV alcanzou o 63% e 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d de eliminación a altas velocidades de carga. O sistema Bp (FV+FH) requiriu un ratio de by-pass de 40-50% e aumentou as taxas de eliminación de NT a un 50-60% de forma sostible. A recirculación do efluente mellorou significativamente a eficiencia e taxa de eliminación de NT. O sistema R(FH+FV) mostrou unha eliminación estable de NT de aproximadamente o 80% a taxas de carga que variaron de 2 a 8 g NT/m<sup>2</sup>·d.

## RESUMEN

Todavía hay muchas lagunas en la comprensión de los mecanismos de depuración y métodos de diseño de humedales construidos (HC) para aguas residuales, especialmente en relación con la aplicación de sistemas híbridos. El propósito de esta investigación es contribuir a un mejor conocimiento de la HC, a través de los siguientes objetivos específicos: a) el desarrollo de metodologías de laboratorio destinados a describir los procesos y la obtención de los parámetros cinéticos y estequiométricos, b) la obtención de estos parámetros para un sustrato sintético que simula aguas residuales domésticas; c) el avance en la concepción y diseño de HC híbridos. Se han desarrollado ensayos aerobios, anóxicos y anaerobios, así como técnicas respirométricos, para su aplicación en la caracterización de estos sistemas. Los HC se simulaban mediante columnas de flujo descendente a escala de laboratorio que reproducen las condiciones reales, tanto de saturación hidráulica como de no saturación. Además, se ha prestado atención a los parámetros relacionados con la obstrucción del medio filtrante y las emisiones de gases de efecto invernadero.

Los HC híbridos basados en unidades de flujo horizontal (FH) y vertical (FV) subsuperficial buscan una nitrificación y desnitrificación eficaz mediante la combinación de condiciones anaerobias, anóxicas y aerobias. Se estudiaron la configuración de doble etapa y paso simple (FH + FH, VF + VF), la configuración Bp(VF + HF) (con bypass) y la R(FH + FV) (recirculación de efluente).

El porcentaje de eliminación de SST, DQO y DBO<sub>5</sub> fue generalmente mayor al 95% en todos los sistemas. Los sistemas de paso único mostraron una eliminación de NT menor del 50% y velocidades de eliminación bajas (0,6-1,2 g NT/m<sup>2</sup>·d), aunque el sistema FV+FV alcanzó el 63% y 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d de eliminación a altas velocidades de carga. El sistema Bp(FV + FH) requiere un bypass de 40-50% y aumentó la eliminación de NT al 50-60% de forma sostenible. La recirculación del efluente ha mejorado significativamente la eficiencia y la tasa de eliminación de NT. El sistema R(FH+FV) mostró una eliminación constante de NT aproximadamente del 80% a velocidades de carga de 2 a 8 g NT/m<sup>2</sup>·d.



## SUMMARY

Nowadays there are still numerous lacks in the understanding of the mechanisms of depuration as in the methods of design of the constructed wetlands (CWs), especially in relation to the application of hybrid systems. The goal of the present research is to contribute to a better knowledge of treatment CWs, through the following specific goals: a) the development of laboratory methodologies aimed at describing the processes and obtaining kinetic and stoichiometric parameters, b) obtaining these kinetic and stoichiometric parameters for a synthetic substrate simulating domestic wastewater; and c) the advance in the conception and design of hybrid CW systems. Aerobic, anoxic and anaerobic essays, as well as respirometric techniques were developed and applied in order to characterize these systems. CWs were simulated at lab scale through down flow columns that allow reproducing the real conditions, both of hydraulic saturation and non-saturation, of hybrid systems constituted by several units in series. In addition, attention was paid to parameters related with medium clogging and greenhouse gas emissions.

Hybrid CWs including subsurface horizontal flow (HF) and vertical flow (VF) steps look for effective nitrification and denitrification through the combination of anaerobic/anoxic and aerobic conditions. Several CW configurations including single pass systems (HF+HF, VF+VF), the Bp(VF+HF) arrangement (with feeding by-pass) and the R(HF+VF) system (with effluent recirculation) were tested.

The percentage removal of TSS, COD and BOD<sub>5</sub> was usually higher than 95% in all systems. The single pass systems showed TN removal below the threshold of 50% and low removal rates (0.6-1.2 g TN/m<sup>2</sup>·d), except the VF+VF system which reached 63% and 3.5 g TN/m<sup>2</sup>·d removal but only at high loading rates. Bp(VF+HF) system required by-pass ratios of 40-50% and increased TN removal rates to approximately 50-60% in a sustainable manner. Effluent recirculation significantly improved the TN removal efficiency and rate. The R(HF+VF) system showed stable TN removals of approximately 80% at loading rates ranging from 2 to 8 g TN/m<sup>2</sup>·d.



# ÍNDICE

Resumo e obxectivos	
Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Materiais e métodos	89
Capítulo 3. Simulación de humidais construídos de fluxo vertical e horizontal de dobre etapa en laboratorio	131
Capítulo 4. Respirometrías como ferramenta para deseño e monitorización de humidais construídos	183
Capítulo 5. Operación dun sistema de humidais construídos de fluxo vertical e horizontal en serie con <i>bypass</i>	224
Capítulo 6. Operación dun sistema de humidais construídos de fluxo horizontal e vertical en serie con recirculación	260
Conclusións / Conclusions	295



## RESUMO E OBXECTIVOS

Existen aínda moitas carencias na comprensión dos mecanismos de depuración e nos métodos de deseño dos humidais construídos (HC), especialmente en relación coa aplicación de sistemas híbridos e o tratamento de efluentes industriais de elevada carga. O obxectivo da presente investigación é contribuír a un mellor coñecemento dos HC para o tratamento de augas residuais, a través dos seguintes obxectivos específicos: a) o desenvolvemento de metodoloxías de laboratorio destinadas a describir os procesos e á obtención de parámetros cinéticos e estequiométricos, b) a obtención destes parámetros cinéticos e estequiométricos para un substrato sintético que simula augas residuais domésticas; e c) o avance na concepción e deseño de sistemas HC híbridos. Desenvolvéronse ensaios aerobios, anóxicos e anaerobios, así como as técnicas respirométricas para a súa aplicación na caracterización destes sistemas. Os HC simuláronse a escala de laboratorio mediante columnas de fluxo descendente que permiten reproducir as condicións reais, tanto de saturación hidráulica como de non saturación, de sistemas híbridos constituídos por varias unidades en serie. Ademais, prestouse de atención aos parámetros relacionados coa obstrución do medio filtrante e as emisións de gases de efecto invernadoiro.

Os HC híbridos constituídos por unidades de fluxo horizontal (FH) e vertical (FV) subsuperficial buscan unha nitrificación e desnitrificación efectivas mediante a combinación de condicións anaerobias, anóxicas e aerobias. Foron estudadas varias configuracións de HC, desde os sistemas de dobre etapa e paso único (FH + FH, FV + FV), a configuración Bp(VF + HF) (con bypass de alimentación) e o sistema R (FH + FV) (con recirculación de efluente).

A eliminación porcentual de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> foi en xeral superior ao 95% en todos os sistemas. Os sistemas de paso único mostraron unha eliminación de NT debaixo do limiar do 50% e baixas taxas de eliminación (0,6-1,2 g de NT/m<sup>2</sup>·d), se ben o sistema FV+FV alcanzou o 63% e 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d de eliminación a altas velocidades de carga. O sistema Bp (FV+FH) requiriu un ratio de by-pass de 40-50% e aumentou as taxas de eliminación de NT a un 50-60% de forma sostible. A recirculación do efluente mellorou significativamente a eficiencia e taxa de eliminación de NT. O sistema R(FH+FV) mostrou

unha eliminación estable de NT de aproximadamente o 80% a taxas de carga que variaron de 2 a 8 g NT/m<sup>2</sup>·d.

### **Sistemas de dobre etapa FH+FH e FV+FV**

Empregáronse columnas de laboratorio para o estudo da eliminación de nitróxeno en sistemas de humidais construídos (HCs) de dobre etapa: FV, formado por dúas columnas FV+FV en serie que simularon a operación dos humidais de fluxo vertical (FV) con medio non saturado (alimentación por cargas, 6-8 pulsos/día, e drenaxe libre); FH, formado por dúas columnas FH+FH en serie que simularon a operación dos humidais de fluxo horizontal subsuperficial (FH) con medio saturado. As velocidades de carga hidráulica (VCH) e a velocidade de carga superficial (VCS) foron as características de cada tipoloxía, e os sistemas operáronse sen plantar e alimentados cun influente sintético que simulou a auga residual urbana.

O sistema FH (VCS de 4-5 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d) acadou eliminacións do 93-95% SST, 97% DBO<sub>5</sub> e 94-98% DQO e o sistema FV (18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d) acadou eliminacións do 93-96% SST, 98-99% DBO<sub>5</sub> e 95-99% DQO. Os niveis de oxíxeno disolto e potencial redox foron significativamente máis elevados no efluente FV (>6 mgO<sub>2</sub>/L e >100 mV) que no sistema FH (<4 mg/L e < -80 mV). Estas eficacias de eliminación, VCS e niveis de OD e POR son característicos de cada unha destas tipoloxías de HC, polo que son axeitadamente simulados polas columnas de laboratorio empregadas.

Os resultados de eliminación de NT foron mellores no sistema de FV, acadando preto da nitrificación completa e unha eliminación moderada de NT (1,7-3,5 gNT/m<sup>2</sup>·d), respecto ao sistema de FH con 0,6 gNT/m<sup>2</sup>·d. Mentres que o sistema de FH acadou o 35% de eliminación do NT, sistema de FV chegou ao 63% con alta VCS, aínda que esta eliminación descendeu até o 27% con baixas VCS.

A acumulación de sólidos volátiles totais (SVT) e extraíbles (SVE, biopelícula externa), foi maior no sistema FV que no FH. Os SVE resultaron 6,5 veces máis elevados en FV que en FH, factor que representa aproximadamente a capacidade de tratamento relativas de ambos sistemas. A actividade nitrificante potencial (ensaio en descontinuo) foi moi similar en ambos sistemas (0,21 – 0,30 mgN/kgST·h ou 2,6 - 3,2 gN/m<sup>2</sup>·d), mentres as

actividades nitrificantes específicas resultan moi superiores en FH (29 - 48 mgN/gSVE·d) en relación a FV (3,9-4,7 mgN/gSVE·d), o que indica unha maior presenza relativa de bacterias nitrificantes no biofilm do sistema FH. A actividade desnitrificante potencial foi sempre moi superior en FH (13-19 gN/m<sup>2</sup>·d.) que en FV (1-4 gN/m<sup>2</sup>·d). Porén, o sistema FV fixo un mellor aproveitamento tanto da actividade nitrificante como desnitrificante potencial, acadando velocidades de nitrificación e eliminación de nitróxeno superiores. A actividade metanoxénica dos sólidos concordou coas emisións de metano observadas.

### **Respirometría**

Usáronse dous métodos respirométricos diferentes para obter a taxa máxima de respiración para procesos heterótrofos e autótrofos en columnas de laboratorio que simulan unidades FH e FV. Os resultados indican que o uso de substratos individuais (acetato ou amonio) é mellor que o uso de augas residuais reais ou sintéticas. Ademais, obtéñense outros parámetros cinéticos de ambos procesos se as condicións operacionais son adecuadas. O método respirométrico é útil para describir as diferentes características operativas dos sistemas FH e FH e da primeira e segunda unidades dun sistema de dobre etapa FV. Observouse que a maiores concentracións de substrato facilmente degradable ( $S_s$ ), a velocidade de consumo de oxíxeno ( $V_{CO_2}$ ) diminuíu. A velocidade de crecemento específico ( $\mu$ ) aumentou coa  $S_s$  até valores arredor de 500 mg/L, a partir dos cales diminuíu. Os parámetros do modelo de Monod poden obterse par aos procesos de nitrificación pero non para os de degradación heterotrófica do acetato. Aplicada ao sistema VF1+VF2, a respirometría mostrou que a unidade FV1, que recibe maior carga orgánica e nitróxena, presentou velocidades máximas dos procesos heterotróficos e autotróficos superiores aos da unidade FV2.

### **Sistema Bp(FV+FH)**

A combinación de humidais construídos (HCs) de fluxo subsuperficial horizontal (FH) e vertical (FV) para dispoñelos en humidais híbridos, buscan a mellora na nitrificación e denitrificación grazas á combinación de condicións anaerobias/anóxicas e aerobias. No

presente estudo inclúese a configuración de unha primeira unidade de HC con FV e a continuación unha segunda unidade con FH, aplicando bypass de alimentación de auga residual sintética (ARS) cara a segunda unidade en distintas proporcións, co obxectivo de estudar o seu efecto e determinar a proporción óptima. O sistema estivo en funcionamento durante 254 días, distinguindo 6 períodos de operación. Aplicáronse taxas de carga de 7 – 11 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e de 2,1 – 3,4 gNT/m<sup>2</sup>·d (sistema global).

A eliminación de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> resultou moi elevada (>98%) no sistema global, acadando a eliminación do 95% de SST e DQO xa na primeira unidade de FV (agás para SST no período III, que foi do 88%). O caudal influente na segunda unidade FH aumentou de 0 a 50 % (respecto ao influente a unidade FV) por causa do bypass, acadando eliminacións > 90% de SST e DQO nesta unidade nos períodos IV – VI de carga máis elevada. A eliminación de NT seguiu a evolución marcada pola columna FH, acadando co bypass do 50% a mellora na eliminación desde o 31 ao 50% de NT, e sendo atribuíble a unidade de FV unha eliminación practicamente constante no rango do 13 – 16%.

A velocidade máxima de nitrificación ( $V_{SN_{max}}$ ) obtívose na columna de FV (5,5 gN/m<sup>2</sup>·d), mentres que na unidade de FH se obtivo a velocidade máxima de desnitrificación ( $V_{SD_{max}}= 1,8$  gN/m<sup>2</sup>·d), e para o sistema global a  $V_{SN}$  e  $V_{SD}$  foron de 2,2 e 1,6 gN/m<sup>2</sup>·d, respectivamente.

De todos modos, a nitrificación e desnitrificación potencial (ensaio batch) foi de 15,0 e 58,9 gN/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Incluso aplicando o 50% de bypass, as condicións de operación na unidade de FH (OD, POR, DQO/NT) non foron idóneas para acadar esta taxa de desnitrificación potencial. Por outra banda, non se detectaron emisións gasosas de metano e as de óxido nítrico foron relativamente baixas.

### **Sistema R(FH+FV)**

O efecto de varias taxas de recirculación (R), velocidades de carga superficial (VCS) e frecuencias de pulso foi verificado nun sistema híbrido de configuración R(FH+FV) consistente nunha primeira unidade de fluxo horizontal (FH) seguida dunha unidade de fluxo vertical (FV) e provisto de recirculación do efluente final á unidade FH.



A eliminación de SST e DQO oscilou entre o 94 e o 99%, mentres que a eliminación de  $\text{DBO}_5$  foi sempre superior ao 98%. A eliminación de NT variou do 71% ao 84% dependendo das condicións operativas, indicando unha eliminación elevada e fiable de NT, así como capacidade de auto-regulación do pH. O aumento de R (2,7-4,9) reduciu a concentración final de nitrato de efluentes. Ao aumentar a VCS (16-62 g DQO/m<sup>2</sup>·d, 2,0 a 8,0 g TN/m<sup>2</sup>·d), aumentou a concentración de nitrato no efluente FH pero non afectou a concentración de nitrato e amoníaco final. Nas condicións de funcionamento, a eficiencia óptima para eliminación de NT e amoníaco corresponderon a cargas de 20-40 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 2,7-5,2 g NT/m<sup>2</sup>·d, taxas de recirculación de 3,8-4,9 e 8-12 pulsos por día en FV. Nestas condicións, o sistema global alcanzou eliminacións de TN do 82-84% e concentracións por baixo de 15 g/L de NT e 5 g/L de nitróxeno amoniacal.

A actividade específica de nitrificación presentou valores similares en ambas as unidades, mentres que a actividade específica de desnitrificación mostrou valores moito maiores na unidade FH que en FV. As taxas de nitrificación e desnitrificación potencial total (sistema híbrido) foron 11,2 e 66,1 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Os resultados indican que o sistema aproveitou de forma máis eficiente o potencial de nitrificación que o de desnitrificación, e que o tamaño relativo de ambas as unidades (relación de áreas FH/FV = 1.9) estaba preto do óptimo. Os resultados de ensaios de actividade metanoxénica e as medicións de emisión de metano foron coincidentes. Contabilizáronse baixas taxas de emisión de gases de efecto invernadoiro.

# **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

# INTRODUCCIÓN

1. TRATAMIENTO DE AUGAS RESIDUAIS MEDIANTE HUMIDAIIS CONSTRUÍDOS
  - 1.1. A depuración: garantía para a protección da saúde pública e do medioambiente
  - 1.2. Marco legislativo
  - 1.3. Sistemas de depuración de augas residuais en Galiza
  - 1.4. Tecnoloxía dos Humidais Construídos
    - 1.4.1. HC de Fluxo Superficial
    - 1.4.2. HC de Fluxo Subsuperficial
      - 1.4.2.1. Fluxo Subsuperficial Horizontal
      - 1.4.2.2. Fluxo Subsuperficial Vertical
    - 1.4.3. HC Híbridos
    - 1.4.4. HC Intensificados
    - 1.4.5. Dixestión anaerobia como pretratamento
  - 1.5. Mecanismos de eliminación de contaminantes en humidais
    - 1.5.1. Materia en suspensión
    - 1.5.2. Materia orgánica
    - 1.5.3. Nutrientes: nitróxeno e fósforo
    - 1.5.4. Patóxenos
    - 1.5.5. Contaminantes emerxentes
    - 1.5.6. Metais pesados
  - 1.6. Emisión de gases de efecto invernadoiro
2. NITRIFICACIÓN E DENITRIFICACIÓN EN HUMIDAIIS CONSTRUÍDOS DE FLUXO SUBSUPERFICIAL
  - 2.1. Ciclo do nitróxeno nos humidais construídos
  - 2.2. Procesos de eliminación de nitróxeno: rutas clásicas e novidasas
  - 2.3. Factores na eliminación de nitróxeno total
    - 2.3.1. Biolóxicos: vexetación, miñocas
    - 2.3.2. Físicoquímicos: pH, temperatura, oxíxeno, adsorción biomasa
    - 2.3.3. Deseño e operación: carbono, carga contaminante, carga hidráulica, recirculación, modo de alimentación
  - 2.4. Eficiencia de eliminación de amonio e nitróxeno total
  - 2.5. Medidas de actividade microbiana
3. TÉCNICAS RESPIROMÉTRICAS EN TRATAMENTO DE AUGAS E HUMIDAIIS CONSTRUÍDOS
  - 3.1. Concepto e utilidade da respirometría
  - 3.2. Aplicación de técnicas respirométricas en humidais construídos
    - 3.2.1. Respirometrías en columnas simulando HCs
    - 3.2.2. Respirometría en estado sólido para HCs FV
  - 3.3. Aplicación directa da respirometría a augas residuais
  - 3.4. Aplicación da respirometría en lamas biolóxicas
4. REFERENCIAS



## 1. TRATAMENTO DE AUGAS RESIDUAIS MEDIANTE HUMIDAIAS CONSTRUÍDOS

### 1.1. A DEPURACIÓN: GARANTÍA PARA A PROTECCIÓN DA SAÚDE PÚBLICA E DO MEDIOAMBIENTE.

A depuración das augas residuais é unha necesidade ineludible, que debe garantir a protección do medioambiente, a saúde humana e o desenvolvemento económico. É unha responsabilidade de toda a cidadanía e unha obriga legal a cumprir por parte das Administracións Públicas.

Acadar este obxectivo, sen embargo non é sinxelo. As limitacións técnicas e económicas, agravadas pola dispersión da poboación, comprometen a eficacia dos sistemas de tratamento das augas residuais urbanas (ARU), polo menos a dos sistemas tecnolóxicos tradicionais (Huertas et al., 2013). Non obstante, conseguir con éxito a depuración destes efluentes en núcleos rurais non é hoxe en día un problema técnico: dispoñemos das chamadas tecnoloxías non convencionais ou de baixo custo, que xa foron probadas con éxito e disponse de referencias tanto a nivel internacional como a nivel galego dos mecanismos máis axeitados para cada tipo de poboación, terreo, e características contaminantes das augas residuais a tratar.

Con este obxectivo, o estudo pretende obter información para facilitar, mellorar e seguir avanzando na implantación de tecnoloxías limpas, sustentables e económicas, non só desde o punto de vista do custo de inversión, senón tamén, e o que é máis importante, desde o punto de vista do mantemento. Resulta necesario escoller solucións de tratamento das augas residuais que sexan viables e sustentables tanto para as xeracións actuais como para as futuras, que cumpran con criterios como a economía circular, a integración no espazo e o tratamento axeitado en todos os sectores (agrícola, industrial, etc.) para garantir a súa dispoñibilidade no futuro.

As variábeis que determinan a composición e o caudal das ARU son os hábitos da poboación en canto a alimentación, hixiene, utilización dos recursos, etc., a recollida ou non de pluviais na rede de sumidoiros e a maior ou menor achega de efluentes industriais e do comercio. As ARU presentan unha serie de contaminantes, entre os que se atopan (Huertas et al., 2013):

- a) Materia flotante: aceites e graxas, plásticos, celulosas (cueiros, compresas...), cabichas...
- b) Materia coloidal e disolvida: ouriños e feces disolvidas, aceites e graxas en emulsión, tensioactivos e deterxentes, microorganismos patóxenos, substancias nitroxenadas (proteínas, urea...), hidratos de carbono (azucres, fibra...), sales (fosfatos, silicatos, sulfatos ...).
- c) Materia sedimentable: restos de alimentos, pelos, uñas, areas...

A vertedura directa ás augas destes contaminantes causa importantes efectos negativos:

- Aparición de lamas e flotantes: impacto visual, malos olores e degradación do leito dos ríos.

- Diminución do contido de oxíxeno das augas: por degradación da materia orgánica, prexudicando a flora e fauna propia dos ecosistemas acuáticos.
- Acheга excesiva de nutrientes: principalmente nitróxeno e fósforo, que provocan crecemento excesivo de algas e outras plantas (eutrofización).
- Fomento da propagación de organismos patóxenos: poden causar problemas de saúde pública e transmitir enfermidades, tanto ao home como á fauna e flora do lugar.
- Limitación dos usos da auga: os contaminantes dificultan a posterior aplicación da auga para outros usos, comprometendo o uso racional e sustentable dun recurso limitado.

Para medir estes contaminantes, úsanse unha serie de parámetros, os máis habituais son os seguintes, e a súa caracterización é a que aparece na Táboa 1:

- DQO (Demanda Química de Oxíxeno) e DBO<sub>5</sub> (Demanda Biolóxica de Oxíxeno aos 5 días): cuantifican a cantidade de materia orgánica presente na auga residual, medida en mgO<sub>2</sub>/L. Estes parámetros supoñen unha medida do impacto que tería a vertedura sobre os niveis de oxíxeno na canle receptora.
- SS (Sólidos en Suspensión): cuantifican o impacto dos sólidos na canle receptora, cuxa acumulación da lugar á turbidez e á formación de lamas.
- NT (Nitróxeno Total) e PT (Fósforo Total): medida de nutrientes responsables da eutrofización na canle receptora.

Nunha poboación, para calcular a contaminación das augas residuais, emprégase a unidade de habitante – equivalente (h.e.), que fai referencia non só aos habitantes, senón tamén á industria, gandería, etc. A unidade de h.e. corresponde á carga orgánica biodegradábel con DBO<sub>5</sub> de 60 g de oxíxeno por día.

Táboa 1. Caracterización de contaminantes nunha ARU de carga media (Huertas et al., 2013).

Parámetro	Dotación e carga contaminante por h.e. e día	Concentración
Caudal	200 L	-
DQO	125 g O <sub>2</sub>	400 – 600 mg O <sub>2</sub> /L
DBO <sub>5</sub>	60 g O <sub>2</sub>	250 – 300 mg O <sub>2</sub> /L
SS	90 g	300 – 450 mg/L
NT	12 g	40 – 60 mg/L
PT	3 g	10 – 15 mg/L

Cada efluente particular presenta unhas características propias que deben ser analizadas en cada caso, tanto para determinar o seu impacto ambiental como para definir, deseñar e operar as instalacións de depuración. Un exemplo en Galiza poden ser os efluentes residuais da área de A Coruña, que presentan unha concentración orgánica media - alta, mentres que os efluentes de Santiago de Compostela son diluídos ou moi diluídos, debido ao maior peso das augas pluviais e a infiltración desde o terreo á rede de sumidoiros. Neste último caso, o caudal global é moi superior ao que correspondería

polo consumo de auga (Álvarez e Soto, 2005). Os efluentes residuais de núcleos e áreas rurais mostran características máis variábeis tanto no tempo como dun lugar a outro. O contido en nutrientes e metais pesados aparece en xeral baixo, agás casos concretos. As verteduras de polígonos industriais mostran características de concentración moi variábeis, baixo contido en nutrientes e toxicidade media - alta.

En xeral as ARU presentan unha DQO inferior aos 1000 mg O<sub>2</sub>/L que as sitúa dentro dos efluentes diluídos ou de baixa carga, fronte aos denominados efluentes de alta carga, que serían aqueles con DQO superiores aos 2000 mg O<sub>2</sub>/L. Porén, a súa composición é moi variada e contan cun elevado contido en sólidos en suspensión (SST), entre un 30 e un 70% da DQO, polo que se consideran efluentes complexos. A demanda biolóxica de oxíxeno (DBO<sub>5</sub>) destes efluentes sitúase entre o 40 e o 60 % da DQO.

A temperatura das augas residuais urbanas é unha característica que incide de forma importante nos tratamentos biolóxicos. Galiza posúe un clima moderado, onde o rango de temperatura da auga se atopa entre 10 e 20 °C (Álvarez e Soto, 2005).

## 1.2. MARCO LEXISLATIVO

A depuración das augas residuais é unha obriga legal e unha responsabilidade compartida. O Estado Español, como Estado membro da Unión Europea, está na obriga de cumprir a normativa comunitaria. Na actualidade atopámonos no Sétimo Programa Ambiental da Unión Europea (2013 – 2020): «*Vivir ben, respectando los límites do noso planeta*» (Fernández, 2013). A Directiva 91/271/CEE do Consello, de 21 de maio de 1991, regula o tratamento das augas residuais urbanas, modificada posteriormente pola Directiva 98/15/CEE, que estableceu os requirimentos mínimos para a recollida, tratamento e vertedura das augas residuais urbanas.

Esta Directiva foi trasposta ao ordenamento xurídico español mediante o Real Decreto Lei 11/1995, desenvolvido por outros decretos posteriores. Segundo esta normativa, xa no ano 2006 deberíanse ter acadado uns niveis de depuración que aínda hoxe en día se atopan como un obxectivo pendente. Isto fai que a calidade das augas non sexa a adecuada, comprometendo tamén a obriga dos Estados de cumprir o establecido na Directiva Marco da Auga (Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeo e do Consello, do 23 de outubro do 2000), pola que se establece un marco comunitario de actuación no ámbito da política de augas.

A Directiva establece a obriga de depurar todos os vertidos de augas residuais, independentemente do tamaño da aglomeración urbana que o produce e o lugar ao que se verta. Os tipos de tratamentos contemplados pola Directiva son:

- Tratamento Axeitado (T.A.): sistema de eliminación no que se cumpre o obxectivo de calidade das augas receptoras e as Directivas Europeas.
- Tratamento Primario (T.1): proceso físico e/ou químico no que se reduce a materia orgánica (DBO<sub>5</sub>) e os SS da auga residual de entrada no grao requirido pola lexislación.
- Tratamento Secundario (T.2): proceso, xeralmente biolóxico, no que se reduce a materia orgánica (DQO e DBO<sub>5</sub>) e os SS no grao requirido pola lexislación.

- Tratamento avanzado (T.AV.) ou terciario (T.3): aquel que se fai a maiores do T.1 e T.2, necesario para eliminar nutrientes e/ou cumprir outra Directiva (por exemplo desinfección).

O grao de tratamento esixido pola Directiva aos vertidos de augas residuais urbanas depende do tipo de medio acuático ao que se verta (augas costeiras, augas doces, estuarios), da zona na que está instalada a depuradora de augas residuais (zona normal, sensible, de montaña) e do tamaño da aglomeración urbana que xera o vertido, como se indica na seguinte Táboa 2.

Táboa 2. Tratamento esixido segundo o RDL 11/1995 para vertidos en augas continentais.

Tamaño de poboación	Tipo de tratamento	Data límite
0 – 2000 h.e.	Tratamento axeitado	31/12/2005
2000 – 15000 h.e.	Tratamento secundario	31/12/2005
>15000 h.e.	Tratamento secundario *	31/12/2000

h.e.: habitante equivalente.

\*en poboacións de máis de 10000 h.e. en zonas sensibles esíxese o tratamento avanzado (terciario).

En canto á obriga de depurar, é competencia dos Concellos o que se refire a prestación dos servizos de rede de sumidoiros, tratamento e depuración de augas residuais, aplicándolle ademais o disposto na lexislación de réxime local. Outras administracións públicas teñen competencias en materia de auxilio técnico e financeiro aos concellos, como as Deputacións Provinciais e as Administracións Autonómicas. A Administración Xeral do Estado pode intervir ben executando obras declaradas de interese xeral ou ben participando no financiamento de actuacións en virtude de acordos asinados coas outras administracións.

A depuración das augas residuais é unha obriga do Estado español para cumprir os compromisos adquiridos no marco da UE. Para conseguilo, todas as Administracións Públicas deben colaborar e exercer as súas competencias de xeito responsable, co obxectivo de depuración que establece o RD 509/1996, de límites de verteduras e diferentes parámetros que se recollen na Táboa 3.

A prestación destes servizos por parte dos Concellos pode facerse mediante xestión directa ou indirecta. En calquera caso, en concellos pequenos con escasos recursos, pode ser conveniente adoptar formas de xestión mancomunada ou asociada entre varios, o que resulta máis eficiente tanto desde un punto de vista técnico como económico.

En canto ao control das verteduras, a autorización das producidas aos colectores municipais (chamadas verteduras indirectas) é competencia dos Concellos. Sen embargo, as verteduras producidas aos ríos, lagoas e encoros (verteduras directas) e as augas subterráneas, son competencia da Confederación Hidrográfica. Verter sen autorización constitúe unha infracción administrativa e pode ser obxecto de sanción.



Táboa 3. Obxectivos de calidade do vertido.

Parámetro (uds.)	VERTIDO BRUTO Concentración	SAÍDA DEPURADA (MÍNIMO)	
		Límite de vertido *	% Redución
DQO (mg O <sub>2</sub> /L)	400 – 600	125	75
DBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)	250 – 300	25	90
SS (mg/L)	300 – 450	60	70
NT (mg/L)	40 – 60	10 – 15	70 – 80
PT (mg/L)	10 – 15	1 – 2	80

\* Requisitos esixibles as ARU de acordo co Anexo I do RD 509/1996, de 15 de marzo, de desenvolvemento do RDL 11/1995, de 28 de decembro. A eliminación de N e P esíxese para vertidos en zonas sensibles. Algúns límites son máis rigorosos en poboacións de máis de 10000 h.e.

Mais non abonda co establecemento de leis para liquidar a problemática das augas residuais, senón que a solución require dunha concienciación clara da poboación. Dentro de núcleos de pequena poboación a aplicación de tecnoloxías axeitadas para grandes núcleos non é satisfactoria, polo que se propoñen tecnoloxías alternativas para zonas rurais (menos de 2000 h.e.) que cumpran coa normativa vixente ao tempo que resulten eficaces e axeitadas en función dos requirimentos de custo económico e espazo (Carballeira, 2014).

### 1.3. SISTEMAS DE DEPURACIÓN DE AUGAS RESIDUAIS EN GALIZA

A característica principal do modelo de asentamento galego é a forte dispersión xeográfica; de feito, esta Comunidade Autónoma é a que máis entidades de poboación rexistra de todo o territorio peninsular. Con respecto ao número de habitantes, case o 53 % das entidades de poboación de Galiza contan con un censo menor aos 1000 habitantes, e destas entidades, unha boa parte (o 59 %) non supera os 50 habitantes (Augas de Galicia, 2000).

A poboación galega concéntrase principalmente en toda a súa fachada costeira, e mais concretamente no denominado “Eixo Atlántico” que vai desde a cidade de Ferrol ata a de Vigo, pasando pola Coruña, Santiago de Compostela e Pontevedra. Fóra desta grande zona de concentración de poboación atopamos un interior galego marcado polo envellecemento da poboación e polo descenso poboacional, xerados ámbolos dous pola emigración cara ós principais núcleos da comunidade. Nesta zona interior atopamos dous núcleos concentradores de poboación, as cidades de Lugo e Ourense.

Na Figura 1 móstrase a distribución das EDAR para mais de 2000 h.e. que se atopan en funcionamento na actualidade en Galiza, sumando un total de 169, ás que nun curto prazo de tempo se lle sumarán outras 7 que se atopan en construción, segundo os datos oficiais de Augas de Galicia (2016). As EDAR son os sistemas convencionais centralizados, que recollen e transportan a auga residual a través dun sistema colector de gran tamaño e distribúeno ata a estación de tratamento. Requiren de altos custos económicos de instalación de infraestruturas, así como do seu mantemento e operación, incluíndo o elevado consumo enerxético, o que limita a súa aplicación en núcleos rurais afastados. Moitas das 169 depuradoras non funcionan adecuadamente ou teñen unha capacidade insuficiente. A isto hai que sumar a transferencia de contaminación a outros medios (vía

atmosfera ou a través dos lodos) e a falta de flexibilidade para adaptarse ás fluctuacións de caudais. Expertos en hidrobioloxía afirman que entre o 80 e 90% dos leitos fluviais galegos reciben verteduras contaminantes de forma esporádica ou permanente. O consumo de oxíxeno, a saturación dos leitos por partículas e a acumulación de substancias non biodegradábeis, xunto coa contaminación por amoníaco e por microorganismos patóxenos, son as principais ameazas da contaminación das augas en Galicia (Carballeira, T., 2014).



Figura 1. Localización das EDAR de máis de 2000 h.e. en funcionamento. Augas de Galicia (2016).

Diferente ao tratamento centralizado das EDAR, dispoñemos dos tratamentos descentralizados, entre os que se atopan os humidais construídos, que en principio son máis viábles porque a súa operación é independente de infraestruturas complexas e, polo tanto, de altos custos económicos. En pequenas poboacións, os requisitos que deben cumprir as tecnoloxías de depuración de augas residuais son os seguintes (Huertas et al., 2013):

- Adecuadas aos recursos técnicos e económicos: tecnoloxías que requiran un mantemento sinxelo. Custos mínimos de implantación e explotación, prescindindo no posible do consumo enerxético, elementos electromecánicos e reactivos químicos.
- Sistemas robustos: os sistemas de tratamento deben ser quen de autorregularse de xeito eficaz nun amplo rango de caudal e carga para obter un efluente de calidade suficiente.
- Integración ambiental: as instalacións deben adecuarse ao entorno coa maior integración ambiental posible, buscando incluso proporcionar un valor engadido de carácter educativo, turístico ou recreativo.

As tecnoloxías de depuración de augas residuais urbanas que reúnen estas características coñécense como tecnoloxías non convencionais de baixo custo, entre as que se atopan os humidais, pois conforman un sistema de depuración de augas que se

basea no coñecemento do funcionamento dos sistemas naturais, polo tanto trátase dunha tecnoloxía moi adecuada para aplicalo en zonas rurais e en proxectos de cooperación, dado que non xera dependencia tecnolóxica (García e Corzo, 2008).

#### 1.4. OS HUMIDAIIS CONSTRUÍDOS

Os Humidais Construídos (HC) son sistemas pasivos de depuración constituídos por lagoas ou canais pouco profundos (normalmente de menos de 1 m) plantados con especies propias de zonas húmidas (macrófitas acuáticas) e nos que os procesos de depuración son executados simultaneamente por compoñentes físicos, químicos e biolóxicos. Estes humidais tamén se poden utilizar para restaurar ecosistemas, e entón a depuración pode ser un obxectivo secundario.

Os HC están a usarse de forma crecente nas últimas décadas como sistemas de tratamento secundario ou terciario das augas residuais, permitindo polo tanto acadar unha depuración avanzada. O avance no deseño destas tecnoloxías e a maior experiencia no seu uso, permiten unha grande redución da área requirida (ata 1 – 2 m<sup>2</sup>/h.e.) e unha eficacia e versatilidade elevadas.

Os humidais construídos clasifícanse en dúas tipoloxías en función de que a auga a tratar circule superficialmente (por riba do substrato): humidais construídos de fluxo superficial (HCFS), ou de forma subterránea (a través do substrato): humidais de fluxo subsuperficial (HCFSS).

O medio granular, o tallo e raíces das plantas realizan unha primeira función de retención por filtración e decantación das partículas sólidas. Este proceso ten lugar de forma predominante na zona de entrada ou cabeceira do humidal. Unha vez retidos, os sólidos orgánicos van sufrindo un proceso paulatino de degradación, orixinando materiais solubles, que á súa vez serán utilizadas como fonte de carbono e enerxía para distintos tipos de microorganismos aerobios e anaerobios. Estes mesmos procesos actúan sobre unha parte dos nutrientes presentes, como o nitróxeno e o fósforo. O crecemento da vexetación favorece o proceso de degradación por diferentes vías: as plantas axudan a manter a estrutura filtrante do leito granular, capturan nutrientes e achegan oxíxeno ata a zona das raíces, creando microambientes aerobios. O contraste entre ambientes oxidantes e redutores favorece o conxunto de procesos depurativos por parte da microbiota. A figura 2 representa os factores internos e externos que afectan á estrutura da actividade da microbiota nos HCs. A retención e filtración, a oxixenación, os procesos térmicos e fotoquímicos contribúen á eliminación de xermes patóxenos. Os metais pesados e outros elementos retéñense nos humidais na forma de precipitados sulfurosos ou doutro tipo.

De forma xeral, os humidais construídos son sistemas de depuración naturais que se caracterizan pola súa simplicidade de operación, un baixo ou nulo consumo enerxético, unha nula produción de lodos, un baixo impacto ambiental sonoro e unha boa integración no medio ambiente rural.

Estes sistemas requiren unha superficie de tratamento superior á dos sistemas convencionais de depuración, polo que a súa aplicación en países que contan cun uso intensivo do territorio límitase a pequenas poboacións, ata uns 2.000 h.e., e en casos concretos tamén para vilas ou aglomeracións de ata 20.000 h.e. O máis común nas

últimas décadas foi deseñar os humidais cunha dotación de 5 m<sup>2</sup>/h.e., se ben na actualidade configuracións máis avanzadas permiten rendementos excelentes con dotacións que van de 1 a 3 m<sup>2</sup>/h.e. (García et al., 2005).

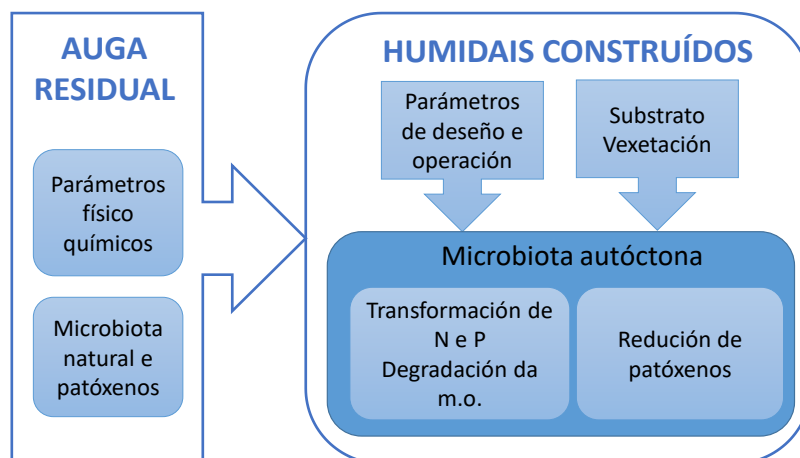


Figura 2. Factores internos e externos que poden afectar á estrutura da comunidade microbiana en humidais construídos. Modificado de Truu et al., 2009.

#### 1.4.1. HUMIDAIS DE FLUXO SUPERFICIAL (HCFS).

Coñécense en inglés *Surface Flow Constructed Wetlands* ou *Free Water Surface Constructed Wetlands*. Nestes sistemas a auga está exposta directamente á atmosfera e circula preferentemente a través dos tallos das macrófitas (Figura 3 A). Este tipo de humidais pódese entender como unha modificación das lagoas convencionais, coa diferenza de que operan con menores profundidades de lámina de auga (inferiores a 0,4 m), e de que as balsas se atopan colonizadas con plantas acuáticas emerxentes.

Os HCFS adoitan instalarse para depurar efluentes procedentes de tratamentos secundarios, e para restaurar ecosistemas acuáticos. A alimentación destes humidais faise de modo continuo e a depuración ten lugar no tránsito das augas a través dos tallos, raíces e follas somerxidas das plantas que serven de soporte para a fixación da película bacteriana responsable dos procesos de biodegradación, mentres que as follas da superficie dan sombra á masa de auga, limitando o crecemento de microalgas.

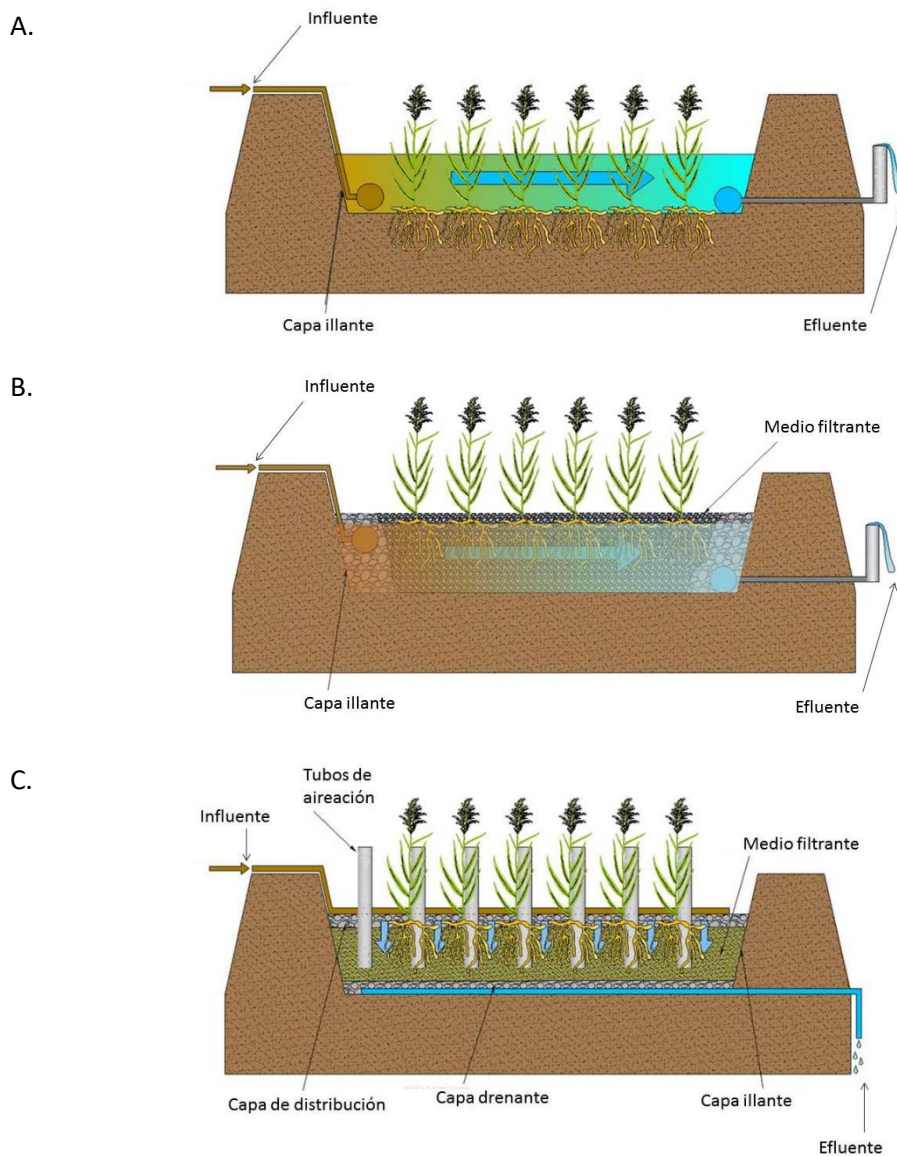


Figura 3. Tipos de Humidais Construídos. A. HC con fluxo superficial. B. HC con fluxo subsuperficial horizontal. C. HC con fluxo subsuperficial vertical.

#### 1.4.2. HUMIDAIIS DE FLUXO SUBSUPERFICIAL (HC FSS).

En inglés *Subsurface Flow Constructed Wetlands*. Nestes humidais a auga a tratar circula a través dun material granular, que pode ser area, gravilla, grava... con porosidade suficiente e con unha profundidade da lámina de auga de arredor de 0,6 m (García et al., 2005), confinado nun recinto impermeabilizado, e que serve de soporte para o enraizamento da vexetación (Figura 2 B), que habitualmente son especies características de zonas húmidas, principalmente carrizos (*Phragmites australis*), e tamén xuncos (*Scirpus lacustris*), espadanas (*Typha latifolia*) e lirios (*Iris pseudoacorus*). Este tipo de humidais poderían entenderse como unha modificación dos sistemas clásicos de infiltración no terreo.

Así pois os humidais de fluxo subsuperficial forman parte dos sistemas naturais de depuración baseados na acción do terreo (como os filtros verdes e os sistemas de infiltración – percolación), mentres que os de fluxo superficial pertencen ao grupo dos

baseados na acción de mecanismos que suceden na auga, como as lagoas (Táboa 4). Na Figura 4 recóllese a clasificación de humidais construídos proposta por Stefanakis et al. (2014).

Táboa 4. Clasificación dos sistemas naturais de tratamento de augas residuais (García e Corzo, 2008).

Baseados na aplicación de auga no terreo		Baseados nos procesos que suceden na masa de auga		
Aplicación subsuperficial	Aplicación superficial			
Leitos filtrantes	Filtros verdes	Sistemas con plantas flotantes	Lagoaxe natural	HC Fluxo Superficial
<b>HC Fluxo Subsuperficial</b>	Infiltración-Percolación			
	Filtros de area			

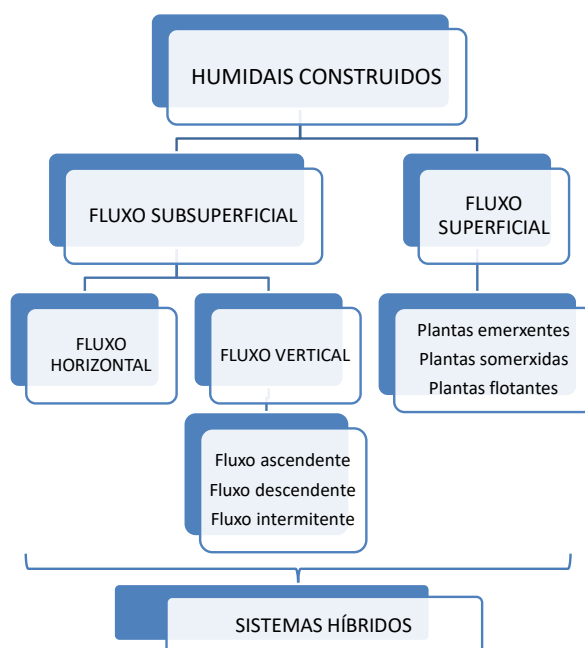


Figura 4. Clasificación de Humidais construídos para tratamento de augas residuais. Modificado a partir de Stefanakis et al., 2014.

Os HC FSS son xeralmente instalacións de menor tamaño que os HC FS, e na maior parte dos casos empréganse para o tratamento de augas residuais de núcleos de poboación de menos de 2000 habitantes. Este tipo de humidais presenta certas vantaxes con respecto aos de FS, ao precisar menos superficie de terreo para a súa localización e ao evitar os problemas de aparición de malos olores e mosquitos, ao circular a auga subsuperficialmente. Igualmente presentan unha menor resposta ante os descensos da temperatura ambiente. Como desvantaxe cabe citar o seu maior custo construtivo, motivado principalmente polo custe de adquisición e colocación do substrato filtrante, e dos maiores riscos de colmatación de dito substrato.

A terminoloxía aplicada aos humidais de fluxo subsuperficial é particularmente confusa, atopando termos como: filtros con plantas, leitos de plantas, leitos de xuncos ou biofiltros. Inclusive é frecuente a utilización do termo inglés *wetland* en forma de

neoloxismo cando existe un equivalente perfecto: humidal. A terminoloxía pode resultar confusa inclusive en inglés, xa que tamén se utilizan termos como *vegetated submerged beds* e *reed beds* entre outros. En galego, o termo máis correcto probablemente sexa o de filtro de plantas, xa que en definitiva trátase de filtros plantados, e a palabra filtro ten un significado moi ben delimitado en tecnoloxía de augas. Porén, un filtro verde, que é un sistema de tratamento moi ben coñecido no Estado español (en comunidades como Madrid, por exemplo), tamén é un filtro de plantas. Un filtro verde é un sistema de infiltración no terreo con aplicación superficial constituído por chans con baixa permeabilidade plantados con árbores como chopos. Por outra parte, un filtro de plantas tamén é un biofiltro. Os filtros percoladores, que son sistemas convencionais de depuración con biomasa fixa, tamén se acostuma a denominalos biofiltros. Á vista de todas estas dificultades, a Táboa 4 recolle a clasificación proposta por García e Corzo (2008), da cal empregaremos o termo humidal construído de fluxo subsuperficial (HC FSS), que tamén é o que está a empregar a comunidade científica na actualidade.

Os humidais de fluxo subsuperficial clasifícanse segundo o sentido de circulación da auga en horizontais ou verticais. Os humidais con fluxo horizontal (HC FHSS) funcionan permanentemente inundados. Os humidais con fluxo vertical (HC FV) deséñanse con funcionamento intermitente, é dicir, teñen fases de enchido, reacción e vertido. A intermitencia fronte ao asolagamento permanente confiren propiedades moi diferentes aos sistemas verticais e horizontais respectivamente, afectando de forma especial á transferencia de oxíxeno e polo tanto ao estado de oxidación – redución do humidal.

Dende fai uns trinta anos os sistemas de humidais construídos (HC) utilízanse en determinadas zonas, principalmente centro e norte de Europa, para tratar augas residuais de pequenos municipios. Na actualidade estes sistemas están aplicándose de xeito crecente, tanto en países do Norte como do Sur, para tratar Augas Residuais de todo tipo (García et al., 2005).

Nos países do Sur os humidais construídos constitúen unha alternativa viable para abordar o problema do saneamento. Sen dúbida algunha, o desencadeamento do gran éxito destas tecnoloxías é o cambio de mentalidade progresivo das sociedades cara ao concepto de desenvolvemento sustentable.

Os humidais son tecnoloxías de tratamento simples de operar, con baixa produción de lodos residuais e sen consumo enerxético. Non requiren da adición de reactivos químicos nin de enerxía para a aireación da auga ou a recirculación da mesma. As infraestruturas necesarias son simples e alcanzables, e o seu mantemento é sinxelo e viable economicamente falando.

Vantaxes dos humidais construídos (García e Corzo, 2008; Barros, 2011; Carballeira, 2014; de la Varga, 2014):

- ✓ Son tecnoloxías de operación simple, con unha escasa produción de lodos residuais e sen apenas consumo enerxético (pode requirirse a instalación de unha bomba de subministro para levar a auga ata a cabeceira da planta se a orografía non permite o aproveitamento da forza da gravidade).
- ✓ Non precisan da adición de reactivos químicos e de enerxía para airear a auga.

- ✓ A infraestrutura necesaria para a súa construción é sinxela e alcanzable economicamente, e o seu mantemento é relativamente sinxelo e tamén económico.
- ✓ Dependendo da actividade, o efluente pode ser reutilizado e utilizado por exemplo, en agricultura.
- ✓ Segundo a tipoloxía da auga residual que traten, a biomasa vexetal que se colleita anualmente pode ter diferentes aproveitamentos (ornamentación, alimentación animal, compostaxe...)
- ✓ É un sistema que se basea no coñecemento do funcionamento dos sistemas naturais, non xera dependencia tecnolóxica.
- ✓ Perfecta integración ambiental, permiten tamén restauración de zonas húmidas, aptas para potenciar a vida salvaxe, a educación ambiental e zonas de recreo.

O uso de humidais construídos para o tratamento de augas residuais incrementouse na última década, particularmente para aplicacións de pequena escala tales como casas individuais, núcleos rurais e vilas de ata 2.000 h.e.. Con todo, estes sistemas non se atopan moi estendidos en Galiza, algunhas das razóns poden ser (de la Varga, 2014):

- Son sistemas extensivos, requiren unha elevada superficie para a súa instalación.
- A área requirida é maior canto maior sexa a carga orgánica da auga a tratar, e teñen un límite de contaminación a partir do cal non son aplicables.
- Non son a mellor solución para tratar cargas maiores de 2000 h.e.

A continuación profundaremos no coñecemento dos humidais baseados na aplicación subsuperficial de auga no terreo, que son o obxecto deste estudo.

#### 1.4.2.1. FLUXO SUBSUPERFICIAL HORIZONTAL (HC FSSH)

Nestes sistemas a alimentación efectúase de forma continua, atópanse permanentemente inundados. As augas atravesan horizontalmente o substrato filtrante de gravilla e/ou grava de uns 0,6 m de espesor, no que se fixa a vexetación. Á saída dos humidais dispónse de unha tubería que permite controlar o nivel de encharcamento, que adoita manterse uns 5 – 10 cm por debaixo do nivel de áridos, o que impide que as augas sexan visibles. Admiten cargas de deseño de arredor de 6 g DBO/m<sup>2</sup>-día e os tempos de retención hidráulica adoitan ser de varios días.

Estes humidais están compostos polos seguintes elementos: (1) estruturas de entrada do influente, (2) estruturas de saída do efluente, (3) capa impermeable, (4) medio filtrante, (5) vexetación (Figura 2 B).

- (1) Estruturas de entrada do influente: a auga residual procedente do pretratamento chega a unha arqueta onde se divide o caudal en varios canais de entrada ao humidal, a través de distintas tubarías que descargan sobre unha zona de grava grosa/rochas, facilitando así o reparto equitativo do caudal influente, co obxectivo de que todo o volume do humidal permaneza activo, evitando a aparición de camiños preferentes.



- (2) Estructuras de saída do efluente: a auga residual tratada recóllese mediante unha tubaría perforada localizada no fondo do humidal unida a un sistema de L invertida que permite regular o nivel de auga, e tamén drenar o humidal en operacións de mantemento.

Os rendementos de depuración estimados para os humidais dependen en grande medida do correcto deseño e construción destas estruturas, polo que son un punto chave para o éxito da tecnoloxía.

- (3) Capa impermeable: é necesaria unha barreira que asegure o confinamento do sistema e evite filtracións ao medio e ás augas subterráneas. A impermeabilización do fondo e dos laterais pode facerse con substrato do propio terreo (se as condicións locais o permiten, por exemplo, en terreos arxilosos), e noutros casos será necesario engadir arxila ou empregar láminas sintéticas, como un xeotextil ou caucho-butilo. Esta impermeabilización pode supor o 40% do orzamento total da instalación do humidal.

- (4) Medio filtrante: A zona de entrada ao humidal énchese con materiais de tamaño de partícula duns 50 – 100 mm, diferenciándose do medio filtrante principal, con obxecto de facilitar distribución homoxénea do influente. A continuación sitúase o medio filtrante, que conforma a parte esencial do sistema de tratamento, duns 6 – 12 mm de tamaño de partícula, no que ocorrerán os múltiples procesos de depuración. O medio debe ser limpo, homoxéneo, duro e estable a longo prazo. Tamén debe permitir a formación de biopelícula e o crecemento de plantas, e deberase coñecer a súa conductividade hidráulica (que diminuírá co tempo) xa que dela depende a cantidade de auga que pode circular a través del.

A selección de substratos para medio filtrante determínase en termos de permeabilidade hidráulica e a capacidade de adsorción de contaminantes. Cando se usa un material con baixa condutividade hidráulica, pode resultar na colmatación do sistema, e os substratos con baixa capacidade de adsorción poden afectar á capacidade de eliminación de contaminantes. Sen esquecer que a colmatación é un proceso progresivo e inherente aos HC, e que un certo grao de colmatación co tempo é inevitable (De la Varga et al., 2013; Nivala et al., 2012).

- (5) Vexetación: plántanse especies características de zonas húmidas, principalmente carrizos (*Phragmites australis*), e tamén xuncos (*Scirpus lacustris*), espadanas (*Typha latifolia*) e lirios (*Iris pseudoacorus*). Estas especies teñen unha perfecta adaptación ás condicións hídricas dos humidais: presentan boa transferencia de oxíxeno desde as partes aéreas ata os rizomas e raíces (o que favorece a aparición de microambientes aerobios, onde medran bacterias nitrificantes), boa resistencia á alternancia de períodos de alimentación e de repouso, os seus tallos favorecen a infiltración e reducen os riscos de colmatación, hai variedades adaptadas a diferentes climas e altitudes. Ao mesmo tempo, as plantas asimilan nutrientes (N e P fundamentalmente), e crean unha capa amortecedora da temperatura (dando sombra e diminuindo a intensidade de luz no verán, e protexendo da conxelación no inverno).

#### 1.4.2.2. FLUXO SUBSUPERFICIAL VERTICAL (HC FV)

Nos HC FV a alimentación faise de modo intermitente, para o que se recorre xeralmente ao emprego de sifóns de descarga controlada. A auga circula en sentido vertical a través dun medio filtrante de area e/ou gravilla (máis fino que nos HC FHSS) de ata 1 m de profundidade, no que se fixa a vexetación. A diferenza dos HC FSSH, o medio non se atopa permanentemente inundado. No fondo dos humidais dispónse unha rede de tubarias de drenaxe para a recollida dos efluentes depurados. A esta rede de drenaxe súmanse un conxunto de chemineas, que sobresaen do medio filtrante, co obxectivo de aumentar a oxixenación do interior do medio.

Os humidais de FV operan con cargas superficiais orgánicas superiores (arredor de 20 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d) e tempos de retención máis curtos (horas) con respecto ás que se empregan nos horizontais, e xeran efluentes nitrificados e con maior grao de oxixenación. Por outra banda, estes humidais son máis susceptibles á colmatación que os horizontais.

De forma similar aos HC FSSH, os elementos que compoñen un HC FV son os seguintes (Figura 3C): (1) estruturas de entrada do influente, (2) estruturas de saída do efluente, (3) capa impermeable, (4) medio filtrante, (5) vexetación, (6) tubarias de aireación. Os aspectos relativos á capa impermeable e a vexetación son os mesmos que para os HC FHSS, polo que non se detallan de novo neste apartado.

- (1) Estruturas de entrada do influente: Nos HC FV recórrase ao emprego de tubarias perforadas ou canaletas, que descargan as augas a pulsos, de modo uniforme, por toda a superficie dos humidais. Neste tipo de humidais a velocidade de alimentación debe ser superior á velocidade de infiltración sobre o medio filtrante, co obxecto de acadar o reparto do influente sobre a maior parte da superficie do humidal. Debido ao fluxo descontinuo, en climas fríos adoitan colocarse a 5 – 10 cm baixo a superficie para evitar a conxelación. (Brix e Arias, 2005).
- (2) Estruturas de saída do efluente: A recollida realízase mediante tubarias perforadas situadas no fondo e ao longo do leito, inmersas nun medio drenante de maior tamaño de partícula que o filtrante.
- (3) Lámina impermeable.
- (4) Medio filtrante: Ao igual que nos sistemas FHSS, debe ser un medio limpo, duro, durable e capaz de manterse a longo prazo. Nos humidais FV o medio filtrante principal sitúase sobre unha capa drenante (de maior granulometría), e sobre el pode dispoñerse outra capa de material mais fino, quedando como resultado unha disposición heteroxénea en capas de distinto diámetro de partícula que aumenta coa profundidade do leito co fin de asegurar que o paso de auga teña o tempo de retención correcto. Comunmente úsase area de tamaño de partícula de 0,25 – 1,2 mm para o medio filtrante principal, con menos do 0,5 % de partículas <0,125 mm, para o cal, na práctica só poden usarse areas lavadas (Brix e Arias, 2005). O medio filtrante debe separarse da capa de drenaxe, con un xeotextil ou outra graduación de grava, co fin de evitar a mestura da area dentro da capa de drenaxe. Outra consideración é evitar a compactación do medio filtrante no momento da súa colocación, para iso debe evitarse o uso de maquinaria pesada.

(5) Vexetación.

(6) Tubarias de aireación: estes elementos dispóñense cada 4m<sup>2</sup>, sobresaíndo uns 30 cm sobre a superficie do humidal (Kadlec et al., 2000). Serven para airear o leito en profundidade: os humidais de FV posúen características aerobias, e con estas tubarias favorécese os procesos de degradación aerobia e a nitrificación.

#### 1.4.3. HC HÍBRIDOS (HCHs)

Foi nos anos 50 cando a alemá Käte Seidel fixo o primeiro intento de combinación de varios HCs, concretamente un HC FV seguido de un HC FS, e nas seguintes décadas dos 60 e 70 leváronse a cabo experimentos e aplicación ás augas residuais (Wu et al., 2015). Pero o seu emprego non aumentou ata finais dos anos 90, e especialmente a partir do 2000 debido aos límites legais máis esixentes, especialmente na descarga de nitróxeno (Vymazal, 2013), por iso é que aínda quedan áreas de estudo que requiren ser optimizadas.

Os HCs de etapa única non son capaces de manter simultaneamente condicións aerobias e anaerobias, non chegan a acadar unha elevada eliminación de nitróxeno (Vymazal, 2007). O deseño de HCHs foi proposto para explorar as áreas anóxicas para a denitrificación (Mietto et al., 2015). Así, a combinación dos sistemas verticais e horizontais para construír HCHs permite aproveitar as vantaxes de cada un, complementándose entre eles de modo que se sucedan os procesos de nitrificación e denitrificación, e mellorando a eficiencia xeral do sistema.

Por unha banda, os HC de FHSS teñen boas condicións anóxicas (denitrificación) e anaerobias (redución do sulfato, fermentación...), debido ao menor contacto aire – auga, ao estar o leito sempre saturado, a súa capacidade nitrificante é moi limitada. A pesar das limitacións inherentes derivadas da restrición da osixenación, Tanner et al. (2012) concluíron que os HC FHSS con tamaño e deseño axeitado poden acadar con seguridade a normativa para efluentes secundarios, chegando a reducir o nivel de Nitróxeno total (NT) ata o 30 – 50 % dependendo da temperatura.

Por outra banda, os HC de FV teñen éxito na nitrificación, pero raramente se pode dar a denitrificación nestes sistemas. Nos HC FV hai maior contacto aire – auga nas zonas insaturadas do leito, por iso predominan os procesos aerobios (respiración aerobia, nitrificación). O éxito da nitrificación depende do pH, pois vese inhibida cando cae o pH ata 4,5, debido ao consumo de alcalinidade asociado, rexistrándose unha baixada de  $220 \pm 45 \text{ g/m}^3 \text{CaCO}_3$  no influente ata 9 e  $2 \text{ g/m}^3$  no efluente de HC FV de grava e de area, respectivamente (Tanner et al., 2012).

Segundo isto, os HCH consisten en combinar estes HC clásicos distribuídos en serie co obxectivo de mellorar o tratamento das AR, o cal pode ser especialmente interesante para acadar mellores taxas de eliminación de nitróxeno. Dentro dos HC clásicos, diversas combinacións son posibles (Fig. 3) con FHSS, FV e FHS, e calquera de estes engadindo outras etapas e melloras, entre elas a recirculación, multialimentación, aireación, e os módulos mostrados na Figura 5.

Na actualidade dispoñemos de unha gama de sistemas de tratamento aerobio que poden encargarse dos tratamentos secundario e terciario. Con todo, moitos sistemas non están optimizados para a eliminación de NT, e o seu deseño na práctica non se fai

con esta expectativa (Oakley et al., 2010; Tanner et al., 2012). Estas pequenas e compactas plantas de tratamento teñen un relativamente alto custo de inversión e mantemento, tenden a manexarse mal co uso intermitente e flutuante, e requiren un mantemento regular por técnicos cualificados para conseguir un bo rendemento do tratamento.

Os sistemas de HCHs poden ser aplicados ao tratamento de diferentes tipoloxías de augas residuais, os máis estudados son os HCHs para tratamento de ARU (Carballeira, 2014;; Ávila et al., 2013; Sohair et al., 2013), mais tamén teñen aplicación para o tratamento de AR agrícolas e agro – industriais (Serrano, 2011; Borin et al., 2013) e lixiviados de vertedoiro (Yalcuk e Ugurlu, 2009), entre outras.

De modo xenérico, atópanse dous tipos comúns de sistemas híbridos de fluxo superficial con subsuperficial: (a) unha primeira unidade de FV seguida de unha segunda unidade de FHS e (b) unha primeira unidade de FHS seguida de unha unidade de FV. Hoxe en día o primeiro sistema é mais amplamente usado (Stefanakis, 2011).

A combinación de HCs de fluxo subsuperficial para formar humidais híbridos mais frecuente e mais estudada en países Europeos é a FV-FHSS (Vymazal, 2007). Entre os anos 2003 e 2012, Vymazal (2013), enquisou 60 HCHs de 24 países, e atopou que o sistema híbrido máis común é un FV-FHSS que se estivo usando para tratar tanto AR urbana como industrial. Por outra banda, o uso de sistemas FHSS-FV foi rexistrado só para tratamento de AR urbanas. Neste estudo, atopouse que os HCH FV-FHSS son lixeiramente máis eficientes na eliminación de amonio que outras configuracións híbridas, incluíndo os sistemas FHSS-FV. Todos os tipos de HCHs son comparables con HC FV de etapa única en termos de eliminación de  $N-NH_4^+$ . Os resultados indican que, se o  $N-NH_4^+$  é o parámetro obxectivo para a eliminación, a combinación de diferentes tipos de HC nos que se inclúe unha etapa de FV, non ofrece mellora na eliminación de  $N-NH_4^+$  comparado con un HC FV único. Sen embargo, a taxa de eliminación de NT resultou con un patrón diferente ás taxas de eliminación de  $N-NH_4^+$ : os resultados indicaron que os HCHs eliminan substancialmente máis NT que os HCs de etapa única, tanto FHSS como FV, e que se ademais se engade unha unidade de FS a eliminación de NT aumenta.

Ayaz et al. (2012) estudaron un sistema HCH con recirculación e concluíron que se trata de un método efectivo para obter concentracións baixas de N en augas residuais domésticas pretratadas en rexións climáticas temperadas.

A disposición de alimentación en etapas foi adoptada algunhas veces nos HCs co obxectivo de usar a área do HC de forma efectiva a través de distribución uniforme da carga e dos sólidos en suspensión (SS), obténdose antes a colmatación e en maior porción do humidal (Wu et al., 2014).

#### 1.4.4. HC INTENSIFICADOS

Tamén coa finalidade de acadar mellores resultados no tratamento das AR, estúdanse os HC de etapa única mellorados, que xorden de diferentes modificacións feitas a partir dos HCs clásicos (HC FHSS, HC FV) de etapa única.

Outro obxectivo destas melloras é pasar da cuestión actual de *factoría de efluentes* (reutilización da auga, enerxía, nutrientes fertilizantes para plantas...) a un estado de

*instalar e esquecer* (Jefferson et al., 2015), no que as innovacións na tecnoloxía de HC prometen simplificar os traballos en HC para menos de 2000 h.e. Neste sentido, os estudos deben ir orientados cara a obtención de maior robustez e resiliencia, para minimizar custos enerxéticos, de instalación e mantemento. Por exemplo, a redución das visitas á área de tratamento pode acadarse con maior capacidade de retención de sólidos (orgánicos e inorgánicos), tanto os HC FV como as lagoas anaerobias permiten almacenamento dos lodos de máis de 3 anos; e a instalación de infraestruturas que traballen de forma autónoma con enerxías renovables (paneis solares, muíños de vento, xeotérmica...) (Jefferson et al., 2015). Estas actuacións evitan a necesidade de ter infraestruturas permanentes de camiños, e minimizan gastos de enerxía, os seus custos asociados e tamén o efecto contaminante.

Unha modificación pode ser a formación de unha capa saturada na base do HC FV coa intención de aumentar o Tempo de Retención Hidráulico (TRH), xa que a eficiencia de eliminación de contaminantes en HC depende moito do tempo de retención (Foladori et al., 2013). Así mesmo, esa capa saturada da base actúa como zona de denitrificación, acadando unha eliminación de NT considerablemente maior que no sistema FV simple, como se observou no estudo de Langergraber et al. (2011) nun sistema de dous HC FV en serie, dos cales a primeira etapa dispuxo de unha capa de drenaxe inundada, e obtiveron resultados de eliminación de nitróxeno maiores e máis estables a partir do terceiro ano de operación, chegando aos 3,8 g N/m<sup>2</sup>·d (media anos 3 – 5) e eliminación de N >60 %.

Outra modificación nos HC de etapa única é a referente ao recheo. O tipo de substrato é un parámetro crítico no deseño dos HC FSS, porque é o que pode permitir o crecemento das plantas e o movemento da AR, a adsorción de contaminantes e a mellora no proceso de nitrificación – denitrificación. Con este obxectivo, probáronse diferentes materiais, como residuos vexetais, que actúan como fonte de carbono e enerxía para os microorganismos denitrificantes. Chen et al. (2014) rexistraron que a adición de follaxe de espadana no medio filtrante non ten impacto directo significativo nos xenes da microbiota denitrificante, senón que afectan a estes vía alteración do oxíxeno disolto e das fontes de carbono, de modo que a adición de follaxe ten un impacto positivo: diminuíndo a concentración de OD mellora o crecemento das bacterias con enzima reductasa  $N_2O \rightarrow N_2$ , sendo o resultado que a emisión de  $N_2O$ , de efecto invernadoiro, pode ser inhibida na presenza deste tipo de material engadido ao medio filtrante.

No estudo de Wu et al. (2014) recóllense diferentes estratexias para mellorar os humidais convencionais considerando as características redox para a súa configuración. Estas melloras (Fig. 5) teñen como obxectivo a intensificación do funcionamento e do rendemento, e refírense ao modo de operación (recirculación, aireación, operación discontinua, cambio direccional no fluxo, integración de miñocas), e a deseños innovadores (HC de fluxo circular, HC con módulos apilados).

Meng et al. (2014) publicaron un estudo sobre humidais de fluxo intermitente ou mareal, rexistrando que esta modificación sobre os HC convencionais permite optimizar o sistema de aireación e a biodegradación de contaminantes. Zhao et al. (2004) desenvolveron un sistema multi-etapa de humidais de fluxo intermitente con elevadas cargas hidráulicas e orgánicas (0,43 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·d e 1055 g DQO/m<sup>2</sup>·d), e os resultados

mostraron que as eficiencias de eliminación de DQO, DBO<sub>5</sub>, SS, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e P foron do 77, 78, 66 e 68 % respectivamente.

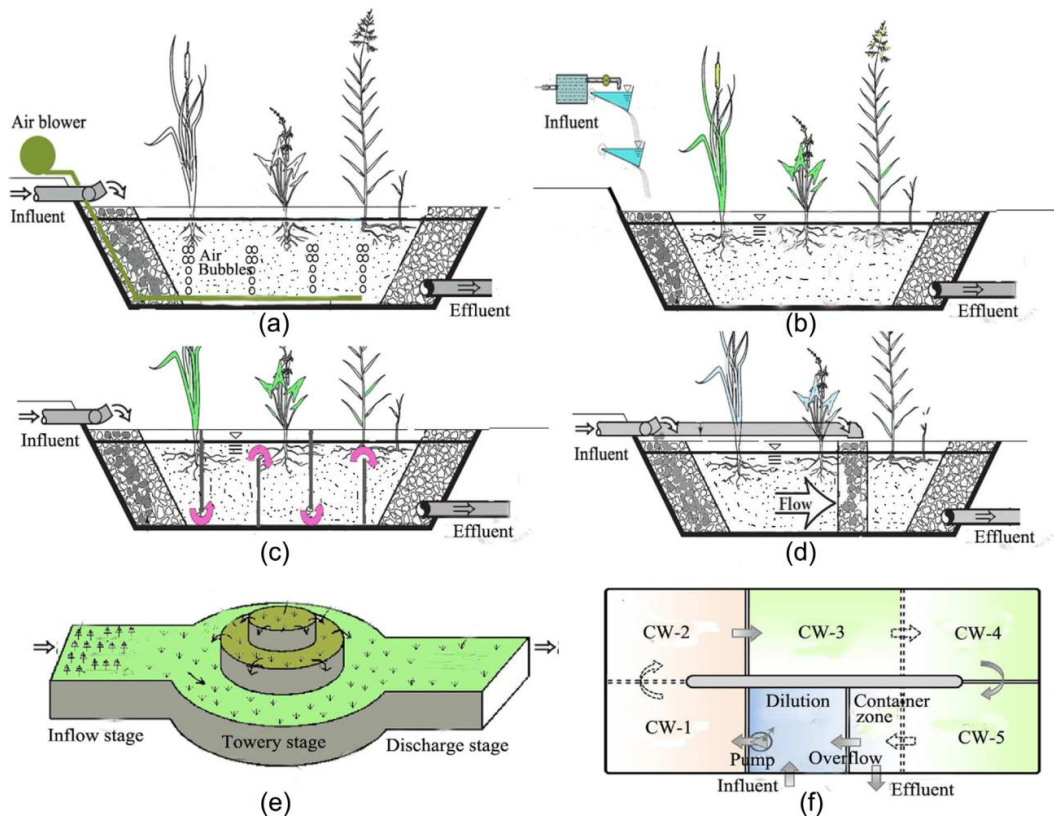


Figura 5. Exemplos de HC Mellorados: (a) HC con aireación artificial; (b) HC con influente aireado; (c) HC con fluxo sinuoso ; (d) HC con alimentación en etapas; (e) HC con módulos apilados; (f) HC de fluxo circular. Modelos a, b, c, d, adaptados de Wallace and Knight (2006), modelo b, adaptado tamén de Zou et al. (2012); modelo e, adaptado de Ye and Li (2009); modelo f, adaptado de Peng et al. (2012). Fonte: Wu et. al (2014).

#### 1.4.5. DIXESTIÓN ANAEROBIA COMO PRETRATAMENTO

A eficacia na tecnoloxía de depuración dos humidais construídos depende fortemente do seu tempo de vida, é dicir, do tempo de operación continuada sen problemas de colmataxe. A deposición de sólidos nos espazos intersticiais da grava diminúe a capacidade de infiltración, o cal acurta o tempo de funcionamento do humidal. Por este motivo é moi importante dotar ao sistema de humidais construídos con un pretratamento adecuado. No presente estudo, propónse para isto a dixestión anaerobia (DA), que concorda co sistema de HC na súa ecoloxía e economía, complementándoo para o adecuado funcionamento.

Na DA non se require o consumo de oxíxeno, xéranse lodos en menor cantidade e con maior grado de mineralización respecto ao tratamento aerobio (Fig. 6), segundo se veu demostrando en diversos estudos e experiencias desde os anos 70 ata a actualidade, o cal confirma que este sistema de tratamento é unha alternativa eficaz e económica aos tratamentos aerobios convencionais, presentándose como o camiño ideal para a protección sostible do medio ambiente, debidamente integrado con métodos biolóxicos e físicos complementarios.

Con todo, a boa execución e procesos innovadores na depuración anaerobia non avanzan ao ritmo que cabería esperar desde o punto de vista científico e de protección do medio ambiente, e aínda hai potencial para mellorar estes sistemas, pois a presente visión do saneamento público atópase altamente centralizada, e debera ser substituída por un concepto de descentralización e autosuficiencia, permitindo prevención de problemas e recuperación e reutilización de recursos, combinando, por exemplo, con prácticas agrícolas. (; Lettinga et al., 1983, 1993, 2005; Lema and Omil, 2001; Ruíz, I., 2004).

A colmataxe prodúcese de forma natural nos HC, antes ou despois o medio filtrante diminuíra a súa capacidade de infiltración, obstruírase, ou poderán aparecer camiños preferenciais, entre outros motivos. Pero poderemos pospoñer este momento dotando o HC dun axeitado pretratamento.

No presente apartado describiremos as dúas tecnoloxías de DA de mellor acollida e aplicacións.

En primeiro lugar, os reactores UASB (das súas siglas en inglés *Up-flow Anaerobic Sludge Blanket*) son reactores de fluxo ascendente de leito de lodos, desenvolvéronse nos anos 70 en Holanda. Caracterízanse por conter unha grande cantidade de biomasa activa que forma flóculos e favorece a sedimentación, atopándose unha estratificación que localiza aos agregados máis grosos no fondo e os máis finos e dispersos na parte superior.. Opera TRH de 12 – 24 horas, permitindo a metanoxénese para a posterior recuperación enerxética.

A segunda tecnoloxía de DA son os reactores HUSB (das súas siglas en inglés *Hydrolytic Up-flow Sludge Blanket*), con características similares aos UASB pero con menor TRH, entre 2 e 5 horas, de xeito que se evita a metanoxénese, pero o TRS (tempo de retención de sólidos) mantense máis de 15 días para acadar a hidrólise dos sólidos das AR, co obxectivo de conseguir unha maior retención de sólidos en suspensión.

Os reactores de fluxo ascendente de leito de lodos UASB resultan unha boa alternativa para o tratamento de ARU, foron estudados como alternativa ás fosas sépticas, obtendo bos resultados e unha serie de vantaxes, como a produción de biogás, a baixa produción de lodos, o baixo custo enerxético, e o baixo requerimento de superficie, pois en xeral os DA-UASB ocupan unha área menor de 0,1 m<sup>2</sup>/h.e. (Van Haandel e Lettinga, 1994; Steen et al., 1999; Kivaisi, 2001). Mais este sistema non consegue cumprir por si mesmo a normativa de vertedura en canto a materia orgánica, nutrientes e microorganismos fecais (Van Haandel e Lettinga, 1994), o que fai necesario o acople de un tratamento secundario ou postratamento, presentándose como boa alternativa DA-HC.

Esta combinación permite que os HC estean operativos durante máis tempo, diminuindo a entrada de sólidos ao humidal e polo tanto, pospoñendo de forma significativa a súa colmataxe, e o efluente final cumpre os parámetros establecidos pola normativa (Caselles-Osorio et al., 2007; ; Barros et al., 2008; Mbuligwe, 2004). Os sistemas DA-HC acadan eficacias de eliminación de contaminantes moi elevadas, do 94% e superiores para sólidos (especialmente no DA), DQO e DBO<sub>5</sub>, ata o 52% de nutrientes e diminúen en 2 uds. Log. os microorganismos fecais.

Ademais de alongar a vida útil dos humidais, o pretratamento de DA optimiza os requirimentos de superficie necesaria para a depuración por humidal, que se ve

reducida nun 30 % cando se dispón de DA como pretratamento aos HCs (Barros et al., 2008).

No presente estudo con columnas de laboratorio suponse a disposición deste sistema, empregando unha alimentación sintética aos HC que simula a composición da ARU de media carga á saída de un pretratamento UASB.

### 1.5. MECANISMOS DE ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN HUMIDAI S

A continuación descríbense os principais mecanismos de eliminación dos contaminantes nos HC FSS. Estes sistemas foron deseñados fundamentalmente para a eliminación de materia en suspensión e materia orgánica, mais co tempo foron adaptados e optimizados para a eliminación outros contaminantes específicos. Neste apartado revisaranse os principais mecanismos de eliminación de (1) materia en suspensión, (2) materia orgánica, (3) nutrientes, (4) microorganismos patóxenos, (5) contaminantes emerxentes e (6) metais pesados. Un resumo dos principais mecanismos de depuración recóllese na Táboa 5, mais, tendo en conta a complexidade destes mecanismos, para descrições máis detalladas pódense tomar as referencias (Kadlec et al., 2000; Kadlec e Wallace, 2009).

**Táboa 5.** Mecanismos de depuración predominantes en humidais construídos (Mena, 2008).

Contaminantes		Mecanismo de eliminación
Materia en suspensión		- Sedimentación
		- Filtración
Materia orgánica		- Degradación microbiana aerobia
		- Degradación microbiana anaerobia
Nutrientes	Nitróxeno	- Amonificación + nitrificación + desnitrificación bacterianas
		- Asimilación por parte das plantas
	Fósforo	- Adsorción por parte do leito
		- Volatilización do amoníaco
	- Adsorción por parte do leito	
	- Asimilación por parte das plantas e microbiota	
Patóxenos		- Sedimentación
		- Filtración
		- Morte natural
		- Irradiación ultravioleta
Contaminantes emerxentes		- Sedimentación
		- Filtración
		- Adsorción polo medio granular e das plantas
		- Fotodegradación
Metais pesados		- Degradación e asimilación microbiana
		- Asimilación por parte das plantas
	- Intercambio iónico	

#### 1.5.1 MATERIA EN SUSPENSIÓN.

Na eliminación de materia en suspensión (MES) interveñen os seguintes procesos:

- Sedimentación: a materia en suspensión sedimentable (principalmente de natureza orgánica) presente nas augas a tratar, decanta pola acción exclusiva da gravidade.



- Filtración: prodúcese a retención de materia en suspensión ao pasar as augas a través do conxunto que forma o substrato, os rizomas, as raíces e os tallos da vexetación.
- Floculación: permite a sedimentación de partículas de pequeno tamaño, ou de menor densidade que a auga, ao producirse agregados das mesmas con capacidade para decantar.

A eliminación de MES ten lugar principalmente polos fenómenos físicos de sedimentación e filtración. A tecnoloxía dos HC foi inicialmente desenvolvida para a eliminación de materia en suspensión, polo que, os rendementos de eliminación tanto en HC FSSH como FV, é superior ao 90% producindo efluentes con concentracións menores de 20 mg/L de forma sistemática. Cando se aplica unha alta carga de tipo inorgánico ou orgánico recalcitrante (>50mg/L), a colmatación do humidal producírase antes, facéndose necesario un pretratamento para eliminar a area.

É importante que os humidais dispoñan de zonas para a eliminación de MES, con baixa velocidade de circulación da auga, para prolongar a súa vida útil sen colmatación. Estas zonas localízanse na entrada do HC, e o gradiente de eliminación de MES é decrecente no sentido de fluxo da auga tratada, sendo maior a eliminación na entrada do humidal e moi baixa na saída. En xeral, case toda a eliminación da materia en suspensión ocorre en  $\frac{1}{4}$  -  $\frac{1}{3}$  da lonxitude total do sistema, en sentido horizontal nos HC FSSH e en sentido vertical nos HC FV (Figura 6).

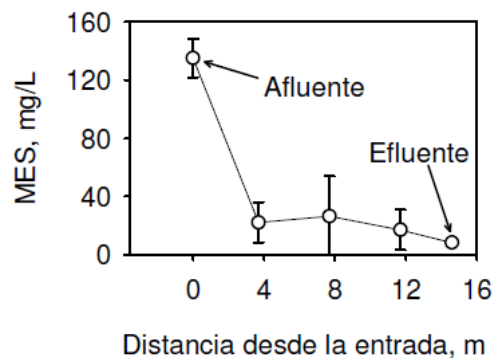


Figura 6. Evolución da concentración de materia en suspensión (MES) ao longo dun HC FSSH (Piriz, 2000)..

### 1.5.2 MATERIA ORGÁNICA.

A materia orgánica (MO) está presente nas augas residuais a tratar de diferentes formas, e a súa eliminación pode levarse a cabo de distintas formas (física, química e biolóxica) que ocorren simultaneamente, sendo este polo tanto un proceso complexo. Pódense distinguir tres fraccións de materia orgánica:

- MO presente en forma de MES sedimentable: irá decantando paulatinamente por procesos físicos de filtración nos humidais e experimentará tamén procesos de degradación biolóxica.
- MO presente en forma particulada, que igual que a anterior, quedará retida por filtración ao pasar a auga polo entramado substrato – raíces. Esta materia particulada é degradada abioticamente en partículas máis pequenas que poden ser hidrolizadas por encimas extracelulares excretadas por bacterias

heterótrofas aerobias e fermentativas facultativas. O resultado desta hidrólise da lugar a substratos sinxelos (como glicosa e aminoácidos) que poden ser asimilados pola fauna microbiana.

- MO presente en forma disolvida, sobre a que actúan os microorganismos presentes no humidal, principalmente bacterias, que utilizarán esta MO a modo de substrato.

Xa que hai distintas modalidades de HC, a acción das bacterias sobre a materia orgánica ten lugar a través de procesos biolóxicos aerobios, anóxicos ou anaerobios, segundo a zona do HC teña presenza ou ausencia de oxíxeno molecular.

Ao mesmo tempo cabe ter en conta que moitas sustancias disolvidas poder ser retidas por adsorción sobre a propia materia orgánica ou sobre o medio granular, podendo ter lugar a continuación unha liberación, readsorción e degradación microbiana.

A degradación da MO por vía aerobia nos HC FSSH sucede cerca da superficie da auga, nos primeiros 0,05 m de profundidade e nas zonas preto das raíces (García e Corzo, 2008). Pero en sistemas horizontais a degradación aerobia non é unha vía importante, xa que prevalece a degradación anóxica e anaerobia. As bacterias heterótrofas aerobias en ausencia de oxíxeno poden degradar a materia orgánica por vía anóxica utilizando o nitrato como aceptor de electróns (denitrificación). Está bastante claro que a vía anóxica opera en fluxo horizontal xa que en moitos estudos observouse a eliminación de amoníaco e en cambio a ausencia de nitrato, o que suxire que o nitrato formado é eliminado rapidamente por denitrificación. Os balances de masa efectuados así como a información recente dispoñible sobre o ciclo do xofre indican que a sulfatoredución é unha vía moi importante de degradación da materia orgánica en sistemas horizontais (Aguirre et al., 2005). Observouse que nos humidais as bacterias sulfatoredutoras e as metanoxénicas poden competir polo substrato, e en presenza de sulfato e alta carga orgánica as bacterias sulfatoredutoras medran con máis éxito (Baptista et al., 2003).

Pola contra, en sistemas verticais a desnitrificación parece que non opera xa que non poden eliminar nitrato. Nos humidais de FV hai condicións aerobias en toda a profundidade do leito, que impiden a denitrificación. A escaseza de condicións aerobias nos sistemas horizontais fai que nunha parte importante do leito as bacterias fermentativas facultativas crezan orixinando ácidos graxos como o acético e o láctico, alcohois como o etanol e gases como o H<sub>2</sub>. Estes compostos representan substratos para as bacterias sulfatoredutoras e metanoxénicas, todas elas anaerobias. Tamén para heterótrofas aerobias se é que estes substratos están dispoñibles nas zonas aerobias. Nos sistemas verticais a presenza de oxíxeno en todo o leito inhibe as reaccións de tipo anaerobio.

O rendemento de eliminación da MO en sistemas de humidais FHSS e FV é óptimo se están ben deseñados, construídos e explotados. Tanto para a DQO como para a DBO alcánzanse rendementos que oscilan entre o 75 e o 95 %, producindo efluentes con concentracións de DQO menor de 60 mg/L e de DBO menor de 20 mg/L (Kadlec et al., 2000).

Polo tanto, a eliminación desta materia nos HC é complexa, xa que interveñen procesos de tipo físico, químico e biolóxico. Ó mesmo tempo cabe ter en conta que moitas sustancias poden ser retidas por adsorción sobre a propia materia orgánica ou sobre o

medio granular, podendo ter lugar a continuación unha liberación, reabsorción e degradación microbiana.

### 1.5.1 NUTRIENTES

A eliminación de nutrientes nos HC varía co tipo de HC, a vexetación, o clima, a estación, a rexión xeográfica, e as condicións de operación. Os nutrientes máis estudados son o Nitróxeno e o Fósforo.

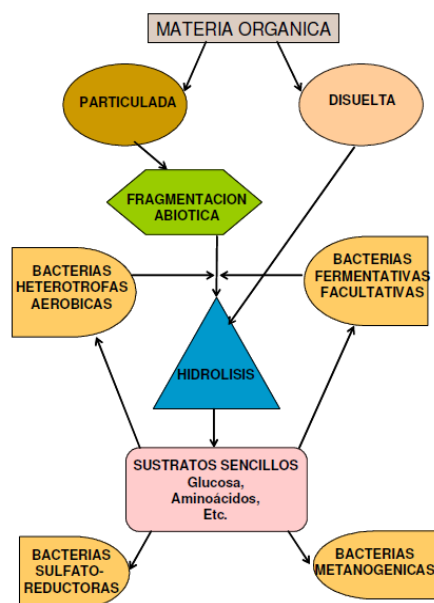


Figura 7. Esquema simplificado dos procesos que interveñen na degradación da materia orgánica nos humedais (García e Corzo, 2008).

#### 1.5.1.1 NITRÓXENO.

Nas augas residuais urbanas o nitróxeno atópase principalmente en forma de amonio e nitróxeno orgánico, e raramente en forma de nitrato e nitrito. O principal mecanismo de eliminación de nitróxeno, unha vez se atopa o nitróxeno en forma de amonio (amonificación), é a nitrificación, seguida de denitrificación (Táboa 5), ambos procesos de tipo microbiano. Mais, hai outros mecanismos de eliminación do nitróxeno, que a pesar de non ser os principais, caben mencionar e ter en conta para os balances de eliminación de nutrientes, como son a adsorción por parte do leito e a asimilación por parte das plantas, e tamén a volatilización do amoníaco. Nos últimos tempos tamén se teñen demostrado outras rutas de eliminación de nitróxeno, as chamadas rutas novidasas, entre as que se inclúen os procesos ANAMMOX (Anaerobic Ammonium Oxidation), CANON (Completely Autotrophic Nitrite removal Over Nitrate) e nitrificación-denitrificación parcial (Táboa 6, apdo. 1.7.2).

A amonificación é o paso de nitróxeno orgánico a amonio, non se trata de unha etapa limitante, pois este mecanismo faino a microbiota tanto en zonas aerobias como anaerobias.

A nitrificación é realizada polas bacterias autótrofas aerobias que, aproveitando o poder reductor do amonio, convérteno a nitrato. Para esta conversión precísase de 4,6 mg de oxíxeno por cada mg de nitróxeno amoniacal, razón pola que a nitrificación ocorre principalmente en humidais de fluxo vertical, sendo nos humidais de fluxo horizontal unha etapa limitante.

A denitrificación é realizada polas bacterias heterótrofas anaerobias, que converten o nitrato en nitróxeno gas, con presenza de materia orgánica e en condicións de anoxia, motivo polo cal é o mecanismo que se leva a cabo nos humidais de fluxo horizontal principalmente, e nos de FV atópanse dificultades para eliminar o nitrato formado.

Tendo isto en cota, para finalizar a eliminación do nitróxeno mediante o mecanismo de nitrificación – denitrificación en humidais construídos, o resultado mellora considerablemente cando se combinan etapas de humidais de fluxo horizontal e vertical, formando humidais híbridos sobre os que se aplica recirculación, multialimentación e outras melloras.

Dada a importancia que teñen estes procesos de nitrificación e denitrificación, e pola profundidade de estudo na presente tese, este tema enfócase de modo independente no apartado 1.7 desta introdución.

#### 1.5.1.2 FÓSFORO.

Os mecanismos de eliminación de fósforo funcionan de modo similar aos de nitróxeno en canto á asimilación e adsorción, por parte das plantas e microbiota, e do leito, respectivamente. O aumento da capacidade de adsorción por parte do medio granular é o factor no que se estuda a mellora na eliminación de fósforo, xa que, como ocorre nos sistemas biolóxicos convencionais de depuración de augas residuais, nos humidais construídos tamén é complicada a eliminación de fósforo. Así mesmo, como no caso do nitróxeno, o fósforo adsorbido pode liberarse de novo ao medio cando cambian as condicións que así o manteñen, ou ben cando o medio granular esgota a súa capacidade de adsorción, que se vai perdendo co tempo, máis ou menos rapidamente en función do material escollido. Na actualidade o rendemento de eliminación de fósforo chega ata o 20% sen grandes diferenzas entre sistemas horizontais e verticais (Arias e Brix, 2005), levando a cabo procesos de precipitación ligados á adición de reactivos como as sales de aluminio, que poden traer problemas de contaminación asociados. Sen embargo, nun estudo máis actual do 2013, levado a cabo en Exipto (Sohair et al., 2013), si se atopou maior taxa de eliminación de fósforo nun humidal de fluxo vertical, con respecto ao horizontal, sendo o rendemento do 68% e do 63%, respectivamente, cunha concentración de 3,2 mgP-PO<sub>4</sub><sup>-</sup>/L no influente, do cal se pode deducir que tanto a vexetación como a presenza de oxíxeno teñen un papel á hora de eliminar fósforo.

#### 1.5.2 PATÓXENOS.

Son axentes de orixe humano que están presentes nas excretas, inclúen, entre outros, coliformes (totais e fecais), salmonellas e virus. Son unha das razóns máis importantes para tratar as augas residuais para evitar a contaminación biolóxica e cortar o ciclo epidemiolóxico de transmisión é a eliminación de patóxenos, para garantir as boas condicións sanitarias, especialmente se os efluentes se van a reutilizar, descargar a

augas de uso recreativo, ou empregar en acuicultura, por exemplo. A eliminación de microorganismos patóxenos é un proceso complexo xa que depende de factores como a filtración, a adsorción e a depredación. En canto á filtración, hai estudos que demostran que canto menor é o diámetro de partícula do medio granular, maior é a eficacia de eliminación, tanto en sistemas de fluxo horizontal como vertical (García et al., 2003).

En función do destino dos efluentes, o obxectivo de eliminación de patóxenos será máis ou menos estrito, precisando a súa eliminación total ou a redución da súa concentración. Segundo isto, se existe unha contaminación microbiana excesiva, ou ben o destino dos efluentes require eliminación total de patóxenos, pode ser necesario un sistema de desinfección posterior. O método máis usado é a cloración (outros métodos son a ozonización e a radiación ultravioleta) pola súa economía e efectividade, sen embargo o cloro é tóxico para a vida acuática, polo que é necesario un tratamento de dechloración posterior, previo a vertedura do efluente. Unha ARU de carga media contén de 10.000 a 100.000 coliformes totais e de 1.000 a 10.000 coliformes fecais por 100 mL de auga, e para a verter con criterios de saúde pública a concentración debe ser menor a 1.000 coliformes totais en 100 mL de auga.

O grao de eliminación de coliformes fecais obtido en humidais construídos de fluxo horizontal e vertical é similar, e oscila entre 1 e 2 unidades logarítmicas por 100 mL de auga (Rivera et al., 1995; Ottová et al., 1997). Este nivel de eliminación en xeral non chega a ser suficiente para obter efluentes aptos para o rego agrícola ou a reutilización, por exemplo, concluíndo que a tecnoloxía de humidais construídos por si mesma non pode considerarse como idónea para o tratamento de patóxenos, precisándose dispor dun sistema de desinfección.

### 1.5.3 CONTAMINANTES EMERXENTES.

Na actualidade estanse a levar a cabo diferentes e diversos estudos no referente a contaminantes emerxentes, que son contaminantes diferentes aos que normalmente se consideran nas tecnoloxías de depuración de augas residuais. Estes contaminantes inclúen produtos farmacéuticos, de hixiene e uso persoal (PPCPs, do inglés *Pharmaceutical and Personal Care Products*), produtos de limpeza, tensoactivos, hidrocarburos e produtos derivados do petróleo, e microorganismos non considerados no apartado anterior, como o *Cryptosporidium*.

A tecnoloxía dos humidais construídos para o tratamento de contaminantes convencionais está ben documentada, non así para este tipo de contaminantes (Zhang et al., 2014). A súa eliminación, ademais de pouco coñecida, é complexa, incluíndo diversos procesos físicos, químicos e biolóxicos, como a filtración, adsorción (polo medio granular e polas plantas), fotodegradación, degradación e asimilación microbiana, precipitación e sedimentación; procesos complexos que poden afectar aos parámetros operacionais e de deseño dos humidais construídos.

Unha característica dos contaminantes emerxentes é que moitos deles son persistentes, dificilmente biodegradábel, que permanecen no medioambiente e non se coñece o efecto que poden provocar neste e na saúde humana.

Para estes tratamentos parece ser que o mellor resultado de eliminación se obtén en humidais construídos híbridos, que acadan rendementos similares ao obtidos nos tratamentos convencionais de augas residuais. Nestes sistemas alternanse ambientes aerobios e anaerobios, con diferentes condicións físico – químicas, permitindo maiores opcións de eliminación (Hijosa-Valsero et al., 2010; Ávila et al., 2010). Mentres que nos sistemas únicos, horizontais ou verticais, con medio granular e características homoxéneas, as vías de degradación son mais reducidas. Segundo isto, o estudo de combinacións híbridas e melloras nos humidais construídos é un eido prometedor para a eliminación de esta tipoloxía de contaminantes. Hijosa-Valsero et al. (2010), estudaron tres combinacións diferentes de HCHs (compostos por lagoaxe, FS e FSSH) e de unha planta convencional de depuración de augas residuais (EDAR), e atoparon que os sistemas de humidais eran tan eficientes na eliminación de PPCPs como as EDAR, e que as eficiencias de eliminación superaron o 70%. Ademais, o estudo de eliminación de ibuprofeno indicou que se fai por vía predominante microbiana e aerobia, polo que os HC poden ser tecnoloxías de éxito para eliminar os PPCPs das augas residuais.

#### 1.5.4 METAIS PESADOS.

Os mecanismos de eliminación destes contaminantes están pouco documentados no tratamento de ARU, pois non son os contaminantes principais a tratar neste tipo de augas residuais. Entre os sistemas de eliminación de metais pesados nas augas residuais, pódense diferenciar dúas tendencias: a primeira delas está orientada cara as máis modernas tecnoloxías, que implican un alto custo enerxético e de mantemento, e a segunda oriéntase aos mecanismos naturais, sendo de operación máis económica e de mantemento máis sinxelo tecnoloxicamente. Entre esta segunda tendencia atópanse os HC, que se presentan como unha boa opción para a eliminación de metais pesados en AR.

Nos primeiros estudos sobre o tema, recoñeciase a sedimentación como o principal proceso de eliminación de metais pesados nas AR, sen embargo non só se trata dun proceso físico, senón tamén químico e biolóxico. En canto a factores químicos, o pH e o potencial redox das AR e sedimentos son factores responsables da mobilidade dos elementos traza, entre eles os metais pesados (Koretsky et al. 2008). Entre os procesos biolóxicos, Calijuri et al. (2010) definiron aos HC como unha grande promesa para a biorremediación de AR con respecto aos metais pesados, no seu estudo feito nun humidal natural que recibía augas de esorrenta e drenaxe dunha área aeroportuaria do Brasil, analizaron augas, sedimentos e macrófitas emerxentes, e compararon os seus datos con resultados de outros estudos, e atoparon que os humidais acumularon unha cantidade significativa dos contaminantes provenientes das drenaxes do aeroporto mediante sedimentación, precipitación e asimilación polas plantas (especialmente acumulados nas raíces). A translocación dos metais pesados desde as raíces aos tecidos aéreos non foi eficiente, polo que prácticas como a sega de macrófitas podería permitirse. Este comportamento suxire as intervencións que se poderían facer para mellorar a capacidade do humidal de inmovilizar contaminantes: aumento do tempo de retención hidráulico, permitirá maior contacto entre as augas de drenaxe, os sedimentos e as macrófitas acuáticas; e instalación de lagoas de sedimentación. Mellorando estas condicións, os sistemas de humidais naturais poden permitir o tratamento de AR con altas cargas contaminantes de metais pesados.

## 1.6. EMISIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADOIRO

Os humidais construídos funcionan como sumidoiros de carbono, por asimilación fotosintética do dióxido de carbono da atmosfera e por secuestro do carbono orgánico mediante a asimilación bacteriana e a formación de sedimentos. Sen embargo tamén actúan como fonte de gases de efecto invernadoiro, emitindo a atmosfera dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) e óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), que son produtos resultantes dos procesos que se levan a cabo nos humidais, como son a respiración aerobia, a denitrificación, a sulfatoredución e a metanoxénese. A importancia destas reaccións bioquímicas relacionadas coa degradación da materia orgánica están apenas estudadas, pero teñen importancia porque aumentan a emisión de gases de efecto invernadoiro (García et al., 2007; Brix et al., 2001). Sábese que estes compostos gasosos emítense segundo sexa a tipoloxía do humidal, onde predominen ambientes aerobios ou anaerobios. Tamén ten influencia sobre a emisión de gases a concentración orgánica da AR a tratar, que determina en boa medida a VCO que se aplica ao humidal. Por exemplo, os humidais de tratamento terciario operan con baixas cargas orgánicas, mentres que os humidais que tratan directamente as ARU procedentes dun pretratamento ou dun tratamento primario, operan a maiores velocidades de carga, atopando nestes maiores áreas anaerobias dentro do humidal. As reaccións anaerobias lévanse a cabo con potencial redox negativo, segundo o estudo de García et al. (2003) a media de todo o leito adoita estar por debaixo de  $E_h = -100\text{mV}$ , con gradiente en profundidade, atópanse valores máis altos cerca da superficie (maior osixenación), e máis negativos no fondo do humidal. O principal mecanismo de liberación de  $\text{CH}_4$  á atmosfera é o transporte interno de gas nas plantas, sobre todo polo fluxo de gas convectivo presurizado. Os prazos de fixación de C e de liberación de  $\text{CH}_4$  varían estacionalmente e diariamente (Brix et al., 2001).

Debido ás distintas características de absorción de infravermellos e lonxevidade atmosférica do  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{CO}_2$ , o efecto de quentamento do  $\text{CH}_4$  e do  $\text{N}_2\text{O}$  na atmosfera é de 23 e 296 veces maior que o  $\text{CO}_2$  para un tempo de 100 anos. Isto significa que en 100 anos cada Kg de  $\text{CH}_4$  quenta 23 veces mais a Terra que esa mesma cantidade de  $\text{CO}_2$ , sen embargo hai aproximadamente 220 veces máis  $\text{CO}_2$  na atmosfera que  $\text{CH}_4$ , polo que o efecto é de menor contribución ao efecto invernadoiro.

O balance neto entre a asimilación do  $\text{CO}_2$  e a emisión do  $\text{CH}_4$  determinará se o humidal se vai a considerar un sumidoiro neto ou unha fonte neta de gases de efecto invernadoiro, e polo tanto, o seu comportamento en relación ao cambio climático global. Seguindo esta premisa, Brix et al. (2001) estudaron a emisión de gases en HC de FSS plantados con *Phragmites australis* e os seus resultados foron que só o 15% do carbono fixado anualmente foi emitido a atmosfera como  $\text{CH}_4$ , pero tendo en conta as diferentes características dos gases indicadas anteriormente, o balance neto indica que os humidais contribúen no aumento do efecto invernadoiro debido á emisión de  $\text{CH}_4$  para períodos de tempo  $<100$  anos (décadas). Para escalas de tempo máis longas ( $>100$  anos), tendo en conta que o forzamento radiativo do  $\text{CH}_4$  é menor en relación so do  $\text{CO}_2$  en zonas húmidas, poden actuar efectivamente disipando os gases de efecto invernadoiro, comportándose á larga como un sumidoiro.

Os resultados obtidos por Johansson et al. (2004) en Suecia indican que as emisións de metano varían fortemente segundo o caso, a estacionalidade e os factores ambientais, sendo frecuentes valores medios que van desde 0 ata 300 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, atopándose no rango de emisións de outras áreas naturais, pero con desviacións acusadas, desde máis de 300 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d consumidos, ata máis de 1700 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d emitidos.

A emisión gasosa nos humidais pode controlarse mediante os parámetros de deseño (por exemplo a profundidade da lámina de auga) e de operación (por exemplo VCO aplicadas). Apoian a tendencia a sumidoiro de C o seu baixo consumo enerxético e a plantación vexetal, sen embargo tenderán a ser fonte de gases invernadoiro cando se explota ao máximo a capacidade depurativa dos humidais, aplicando maiores VCO aumentando as zonas anaerobias. Para o balance ambiental desta tecnoloxía é positivo ter en conta estes factores á hora de deseñar calcular os parámetros de operación dos HC.

Nos humidais naturais con plantas vasculares, a emisión de gases débese a tres tipos de procesos: difusión e ebulición dos gases desde os sedimentos, e transporte interno ao través das plantas (Brix et al., 2001). Os principais gases de efecto invernadoiro son o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o metano (CH<sub>4</sub>), atopándose tamén o óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), en menor medida, pero importante ter en conta debido ao seu forte potencial invernadoiro. O principal proceso que favorece a emisión de metano é o transporte interno a través das plantas, chegando a acadar o 70% das emisións de CH<sub>4</sub> nos humidais naturais, mais tamén se detectou a oxidación microbiana do CH<sub>4</sub> (Van der Nat and Middelburg, 1998), polo que os procesos netos de emisións gasosas son complexos, tanto nos humidais naturais, como tamén ocorre nos humidais construídos (HC), motivo polo que se establece nestes a necesidade de estudo das características de operación.

As emisións de CH<sub>4</sub> poden variar fortemente, sendo frecuentes os valores que van desde 0 ata 300 mgCH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, como ocorre nos humidais naturais (Johansson et al., 2004), pero poden chegar a ser moi superiores. O maior Factor de emisión (FE) rexistrado na revisión bibliográfica de 158 artigos feita por Mander et al. (2014), chegou ao 18% CH<sub>4</sub>-C/TOC<sub>influyente</sub> de media para humidais de fluxo superficial (FHS) (4,0 mg/m<sup>2</sup>·d), seguido do 3,8% (6,4 mg/m<sup>2</sup>·d) en humidais de fluxo subsuperficial horizontal (FHSS) e 1,3% (3,0 mg/m<sup>2</sup>·d) en fluxo vertical (FV).

En canto ás emisións de CO<sub>2</sub>, os rexistros atopados nesta mesma revisión bibliográfica, indican que os humidais de fluxo subsuperficial (FHSS e FV) mostran emisións maiores que os FHS, de 137 a 96 mg/m<sup>2</sup>·d, respectivamente.

Nas emisións de N<sub>2</sub>O non se atoparon diferenzas significativas entre tipoloxías de HC, sendo os valores medios para FHS, FV e FHSS: 0,09, 0,12 y 0,13 mg/m<sup>2</sup>·d, respectivamente, sen embargo si diferiu o FE do N<sub>2</sub>O ((N<sub>2</sub>O-N/NT<sub>influyente</sub>)·100): 0,34%, 0,11% e 0,02% para FHSS, FHS e FV, respectivamente.

Os humidais FHS teñen baixas emisións de N<sub>2</sub>O e maiores de CH<sub>4</sub>, os FHSS e FV teñen maiores emisións de N<sub>2</sub>O e CO<sub>2</sub>, e mais baixas emisións de CH<sub>4</sub>. A vexetación de especies mixtas denota un mellor desenvolvemento que os monocultivos no aumento de carbono e retirada de nitróxeno, e diminuindo a emisión de gases de efecto invernadoiro (GEI), pero as evidencias empíricas seguen a ser escasas, pois sábese que as cargas hidráulicas baixas e os tempos de retención hidráulicos maiores, aumentan a



eliminación de nutrientes, pero para determinar o deseño óptimo dos HC é necesaria maior evidencia empírica.

Tamén se atopou unha correlación significativa entre o carbono orgánico total de entrada ( $COT_{in}$ ) e as emisións de  $CH_4$ , e entre o nitróxeno total de entrada ( $NT_{in}$ ) e as emisións de  $N_2O$  para todos os tipos de humidais estudados (Mander et al., 2014).

Os sistemas híbridos de humidais (combinacións de FV, FHSS e FHS), ademais de mellorar a depuración das augas residuais, tamén favorecen a minimización dos GEI.

## 2. NITRIFICACIÓN E DENITRIFICACIÓN EN HC FSS

O nitróxeno é un dos principais contaminantes das augas residuais, nas que pode atoparse como nitróxeno orgánico ou inorgánico. As formas orgánicas máis importantes de nitróxeno en HC para o tratamento de AR urbanas son aminoácidos, urea, ácido úrico, purinas e pirimidinas, e as formas inorgánicas son o amonio ( $NH_4^+$ ), nitritos ( $NO_2^-$ ), nitratos ( $NO_3^-$ ), óxido nitroso ( $N_2O$ ), nitróxeno elemental disolto ou nitróxeno gas ( $N_2$ ).

O exceso de nitróxeno na auga causa problemas entre os que se atopan a eutrofización das augas, a diminución de osíxeno disolto, a toxicidade para organismos acuáticos (segundo que forma de nitróxeno).

### NITRÓXENO ORGÁNICO.

O N orgánico está formado por unha variedade de compostos incluíndo aminoácidos, urea e ácido úrico, purinas e pirimidinas.

Os aminoácidos son os principais compoñentes das proteínas, que son un grupo de compostos orgánicos complexos esencial para todas as formas de vida. Están compostos por un grupo amina ( $-NH_2$ ) e un grupo ácido ( $-COOH$ ) ligado ao átomo de carbono terminal dunha variedade de compostos de carbono de cadea lineal e de compostos orgánicos aromáticos. Polo xeral os aminoácidos compoñen o 1 – 7% do peso seco de plantas e animais.

A urea ( $CNH_4O$ ) e o ácido úrico ( $C_4N_4H_4O_3$ ) están entre as formas máis simples de nitróxeno orgánico en sistemas acuáticos. A urea é producida polos mamíferos como un mecanismo fisiolóxico de conversión do amoníaco que resulta de utilizar os aminoácidos para a produción de enerxía. Como o amoníaco é tóxico, debe ser convertido nunha forma menos tóxica, a urea, mediante a adición de dióxido de carbono. O ácido úrico é producido por insectos e paxaros co mesmo propósito.

As purinas e pirimidinas son compostos orgánicos heterocíclicos nos que o nitróxeno substitúe dous ou máis átomos do carbono no anel aromático. As pirimidinas consisten nun único anel e as purinas conteñen dous aneis interconectados. Estes compostos son sintetizados a partir de ácidos aminos que compoñen os nucleóticos do ADN.

Cando se reciben nas depuradoras, as AR urbanas conteñen preto do 60% de amoníaco e 40% de N orgánico (Kadlec and Wallace, 2009), se ben estas proporción varían

dependendo do tempo de permanencia do vertido no sistema de transporte até a depuradora. AMONIO. O amonio aparece nas AR como amoníaco ( $\text{NH}_3$ , non ionizado) ou como ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en función da temperatura e o pH, sendo predominante a forma ionizada, pois a  $25^\circ\text{C}$  e pH 7 o  $\text{NH}_3$  é só o 0,6%. Sen embargo a  $30^\circ\text{C}$  e pH 9,5 a cantidade de  $\text{NH}_3$  chega ao 72%.



O amoníaco é tóxico para os peixes e outros organismos acuáticos, mesmo en baixas concentracións ( $>0,2 \text{ mg/L}$ ). Respecto a isto, os HC son útiles para modular o amoníaco, pois crean un pH próximo á neutralidade e permiten obter efluentes con menores temperaturas grazas ao amortecemento térmico da vexetación.

As concentracións típicas de amonio en AR urbanas están no rango de 20 – 60 mg/L (Kadlec and Wallace, 2009).

Os HC deste estudo foron alimentados con AR sintética composta nun 9,5% N- $\text{NH}_4^+$  e 83,6% N-orgánico, tendo en conta que é rapidamente hidrolizado no HC, química ou microbianamente, resultando en amonio.

## NITRÓXENO OXIDADO.

O nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) é un estado de oxidación intermedio entre o amonio e o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), é quimicamente inestable na maior parte de HC, atópase en moi baixas concentracións. O nitrato ten un estado de oxidación -5, é quimicamente estable, e polo tanto máis abundante e persistente nos HCs, que precisa de procesos de transformación biolóxicos, como ser nutriente para crecemento das plantas (pero en exceso conduce á eutrofización das augas). Nitratos e nitritos son importantes no control de calidade das augas porque tamén son potencialmente tóxicos (causa de metilglobanemia en cativos).

### 2.1. CICLO DO NITRÓXENO NOS HUMIDAI S CONSTRUÍDOS

O ciclo do nitróxeno en HCs é complexo (Fig. 8), o control das súas transformacións químicas é un reto na enxeñaría ecolóxica. Nos humidais construídos de fluxo subsuperficial (HC FSS) a eliminación de nitróxeno pode darse por diferentes rutas, entre as que atopamos as máis estudadas, rutas clásicas, ás que hai que engadirille outras rutas de recente descubrimento.

As diferentes formas químicas do nitróxeno que se mencionaron no anterior apartado, están interrelacionadas por secuencias de reaccións distribuídas no sedimento, a auga, a biomasa e o ar. Na figura 8 detállanse os principais procesos de transformación do nitróxeno nos humidais construídos, por vía física, química e biolóxica.

#### PROCESOS FÍSICOS.

O ciclo do nitróxeno inclúe procesos que non implican unha transformación molecular do nitróxeno, pero que si ten en conta entradas, saídas e movemento do N no sistema de HCs. Os principais procesos de transformación do nitróxeno por vía física son:

- (1) Deposición atmosférica: contribúe con cantidades de nitróxeno que se poden medir nas áreas receptoras. Afecta a todas as formas de N (orgánico e

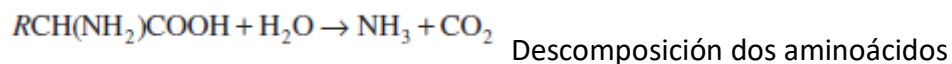
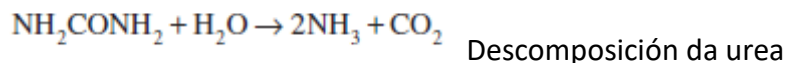
inorgánico), e está condicionado por condicións atmosféricas, contaminación do ar, localización xeográfica. A estima anual das cargas por deposición atmosférica é de 10 – 20 kg/ha·ano. É unha cantidade insignificante respecto ao balance global de N nos HCs, por iso estas fontes atmosféricas de entrada de N non se teñen en conta nos balances.

- (2) Sedimentación e resuspensión de partículas
- (3) Translocación na planta
- (4) Follaxe
- (5) Volatilización do amonio: o amoníaco (NH<sub>3</sub>) é volátil e pode retirarse da AR a atmosfera por difusión na auga ata a superficie, e por transferencia de masa desde a superficie cara a atmosfera.
- (6) Adsorción de nitróxeno en substratos: as formas oxidadas de N (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) non se unen a substratos sólidos, pero sí o fai o amonio, que se adsorbe tanto a substratos orgánicos como inorgánicos. O amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ten unha carga positiva que lle permite facer intercambio iónico, e deste xeito é eliminado da AR. Para isto son importantes as características do substrato, por exemplo as zeolitas teñen unhas 100 veces maior capacidade de intercambio que as gravas que comunmente se empregan nos HC FSS.

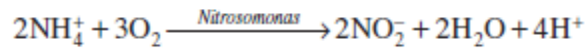
#### PROCESOS MICROBIOLÓXICOS.

Os HCs son un ambiente rico en flora microbiana que pode levar a cabo diversas reaccións químicas relacionadas co nitróxeno. As bacterias heterotróficas usan compostos orgánicos e producen carbono, e as autotróficas obteñen enerxía e carbono de fontes inorgánicas. Xeralmente (non sempre) a denitrificación é levada a cabo por microorganismos heterótrofos, e a nitrificación por autótrofos. As principais reaccións por vía microbiolóxica son:

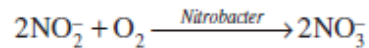
- (1) Amonificación do N orgánico: é o primeiro paso na mineralización do N orgánico, que consiste no paso a amonio. Trátase dun proceso tanto aerobio como anaerobio, e libera amoníaco a partir de células e tecidos mortos e en descomposición. As reaccións típicas de amonificación do N orgánico son:



- (2) Nitrificación do amonio: é o principal mecanismo que reduce a concentración de nitróxeno amoniacal nos HCs. Van de Graaf et al. (1996) definiu a nitrificación como a formación biolóxica de nitrito ou nitrato a partir de compostos con formas reducidas de N e co osíxeno como aceptor final de electróns. Tradicionalmente asóciase a nitrificación ás bacterias quimiautotróficas, e actualmente tamén se recoñece a nitrificación heterotrófica, todas elas son as AOB, do termo en inglés Ammonia Oxidizing Bacteria. Os dous pasos das reaccións de nitrificación son os seguintes:



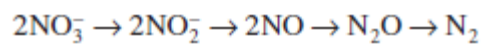
Nitrificación



Nitratación

Ademais dos xéneros quimiautótrofos *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* indicados, hai máis xéneros bacterianos envoltos na nitrificación, entre os que se inclúen *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* e *Nitrobacter*; e entre as bacterias nitrificantes heterotróficas atópanse os xéneros *Paracoccus denitrificans* e *Pseudomonas putida*.

- (3) Denitrificación (ou desasimilación do nitrato): defínese como o proceso no que o nitrato é convertido a dinitróxeno gas ( $\text{N}_2$ ), a través dos intermediarios nitrito, óxido nítrico (NO) e óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ). É levada a cabo por microorganismos heterótrofos facultativos, que poden usar tanto o osíxeno como o nitrato como aceptor final de electróns. Hai diversos grupos bacterianos que fan esta reacción, entre eles os organotrofos (p.ex. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Vibrio*), quimiolitotrofos (*Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Nitrosomonas*), fotolitotrofos (*Rhodopseudomonas*), diazotrofos (*Rhizobium*, *Azospirillum*), arqueas (*Halobacterium*).



Denitrificación

- (4) Asimilación

- (5) Descomposición

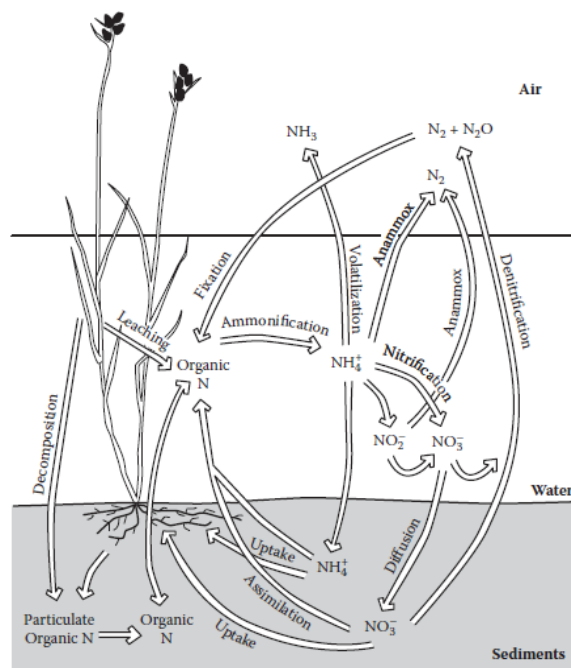


Figura 8. Ciclo do Nitróxeno en HC FS. Fonte: Kadlec e Wallace, 2009.

## 2.2. PROCESOS DE ELIMINACIÓN DE NITRÓXENO EN HC

Tradicionalmente elimínase o nitróxeno das augas residuais seguindo a secuencia biolóxica de nitrificación – denitrificación. A pesar de que tamén hai métodos non biolóxicos, por razóns tanto tecnolóxicas como económicas os máis empregados son os biolóxicos: en primeiro lugar nitrifícase o  $\text{N-NH}_4^+$  en presenza de osíxeno, e en segundo lugar denitrifícase o  $\text{N-NO}_3^-$ , en ausencia de osíxeno e con unha fonte de carbono.

Estes procesos poden ser post-anóxicos, como se acaba de describir, pero tamén é posible configurar o sistema de tratamento pre-anóxico ou de nitrificación-denitrificación simultánea (Fig. 9). Este é un esquema xeral que se aplica tanto a sistemas nos que o crecemento da flora bacteriana é libre (entre eles os humidais de fluxo superficial) ou medra adherida a un substrato (entre os que se atopan os humidais construídos de fluxo subsuperficial).

Algúns destes procesos requiren enerxía (que xeralmente deriva de unha fonte de carbono) e outros liberan enerxía (que é usada para o crecemento da microbiota).

En canto ás fontes de carbono empregadas en cada esquema, no caso dunha configuración pre-anóxica (Fig. 9a) na que a etapa anóxica se atopa en primeiro lugar, xusto despois do pretratamento/tratamento primario, a fonte de carbono para a denitrificación é a auga residual, e no caso da configuración post-anóxica (Fig. 9b) a primeira etapa aerobia recibe auga residual influente e dará un efluente nitrificado e eliminando a m.o. carbonosa, polo que fará falla unha fonte de carbono adicional para a segunda etapa de denitrificación, que pode ser, por exemplo, máis auga residual ou unha fonte externa como metanol, acetato, etanol ou astillas de madeira (Oakley et al., 2010). Os sistemas simultáneos (Fig. 9c) están compostos por unha única etapa onde ten lugar a nitrificación e a denitrificación, adaptando zonas de aireación/anóxicas e de carga orgánica, en xeral deséñanse para sistemas de crecemento bacteriano libre.

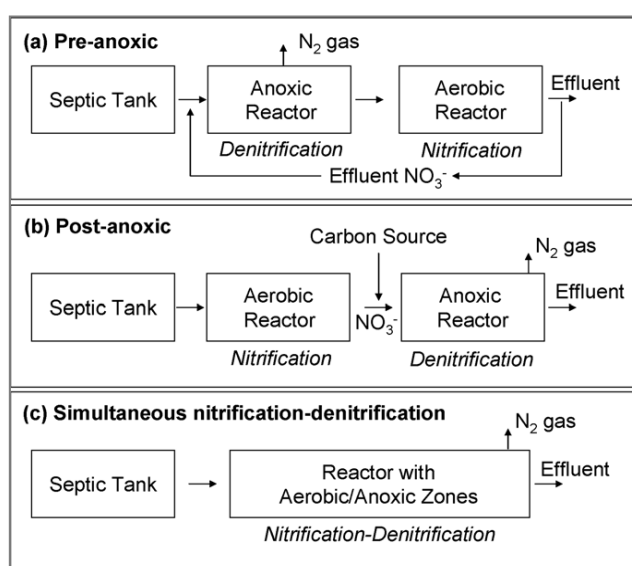


Figura 9 : Esquema dos procesos de nitrificación – denitrificación: pre-anóxico, post-anóxico e nitrificación-denitrificación simultánea. Fonte: Metcalf, Eddy, 2003.

O significado das rutas de eliminación de N foi revisado por Saeed e Sun (2012) e resumido na Táboa 6. Tamén se mostran as principais rutas de eliminación de nitróxeno, tanto as rutas clásicas (Fig. 10a), como as investigadas recentemente (Fig. 10b). Estes autores atoparon a necesidade de aprofundar o coñecemento na complicada interrelación entre as rutas de eliminación de nitróxeno e compostos orgánicos, que gobernan parámetros ambientais e de operación.

Táboa 6. Rutas metabólicas do nitróxeno. Significado das rutas clásicas e novidasas (Saeed and Sun, 2012).

	Ruta	Actividade	Proceso	Contido de NT na AR
Rutas clásicas	Amonificación	Microbiolóxica	N orgánico $\rightarrow$ N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Mantense
	Nitrificación	Microbiolóxica	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> $\rightarrow$ N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> $\rightarrow$ N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Mantense
	Denitrificación	Microbiolóxica	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> $\rightarrow$ N <sub>2</sub> gas	Diminúe
	Asimilación pola biomasa bacteriana	Microbiolóxica	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> pasa a formar parte da biomasa bacteriana.	Diminúe
	Redución desasimilatoria do nitrato	Microbiolóxica	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> $\rightarrow$ N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Mantense
	Asimilación pola biomasa vexetal	Biolóxica	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> pasa a formar parte da biomasa das plantas.	Diminúe
	Volatilización	Fisico-química	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> $\rightarrow$ NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> gas	Diminúe
	Adsorción	Fisico-química	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> queda retido na superficie dos materiais.	Diminúe <sup>1</sup>
Rutas novidasas	Nitrificación – denitrificación parcial	Microbiolóxica	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> $\rightarrow$ N <sub>2</sub> gas	Diminúe
	ANAMMOX	Microbiolóxica	Oxidación anaerobia do N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Diminúe
	CANON	Microbiolóxica	Eliminación autotrófica do nitrito.	Diminúe

<sup>1</sup>Porén, baixo condicións aerobias pode nitrificarse o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> adsorbido, tendo lugar a desorción e modificándose o contido de NT na AR.

Como se indicou arriba, os HC de etapa única non son capaces de manter simultaneamente condicións aerobias e anaerobias, non chegan a acadar unha elevada eliminación de nitróxeno (Vymazal, 2007). Por iso se está a empregar principalmente os HC Híbridos (HCH), xa que diferentes tipos de humidais con diferentes condicións, son axeitados para completar a nitrificación e a denitrificación (Vymazal e Kröpfelová, 2011).

Por unha banda, os HC de Fluxo horizontal subsuperficial (FHSS) teñen boas condicións anaerobias para a denitrificación, pero a súa capacidade nitrificante é moi limitada. A pesar das limitacións inherentes derivadas da restrición da osixenación, Tanner et al. (2012) concluíron que os HC FHSS con tamaño e deseño axeitado poden acadar con seguridade a normativa para efluentes secundarios, chegando a reducir o nivel de Nitróxeno total (NT) ata o 30 – 50% dependendo da temperatura.

Por outra banda, os HC de Fluxo vertical (FV) debido a súa condición aerobia teñen éxito na nitrificación, pero raramente se pode dar a denitrificación nestes sistemas (Vymazal, 2007). O éxito da nitrificación depende do pH, pois a nitrificación vese inhibida cando cae o pH ata 4,5 (Henze et al., 1995).

Os sistemas híbridos (HCH) consisten en combinar HC clásicos distribuídos en serie co obxectivo de mellorar o tratamento das AR, o cal pode ser especialmente interesante

para acadar mellores taxas de eliminación de nitróxeno. Dentro dos HC clásicos, diversas combinacións son posibles, incluíndo FHSS seguido de FV, FV seguido de FHSS, e calquera de estes engadindo outras etapas, como FHS, multi-alimentación, recirculación de unha etapa a outra.

Nos sistemas híbridos FHSS-FV, a nitrificación ten lugar ao final da secuencia, na unidade FV, proporcionando un efluente con  $\text{N-NO}_3^-$ , de forma que para conseguir a eliminación de NT, este efluente debe ser recirculado cara a primeira unidade FHSS, onde se está subministrando AR fresca como fonte de carbono e as condicións son anóxicas. Seguindo este esquema, Brix et al. (2003) fixeron un estudo comparativo con e sen recirculación, resultando o efluente final en 20mg/L de NT cando se aplicaba a recirculación, pero sen esta, a concentración de NT final era máis do dobre, 43mg/L.

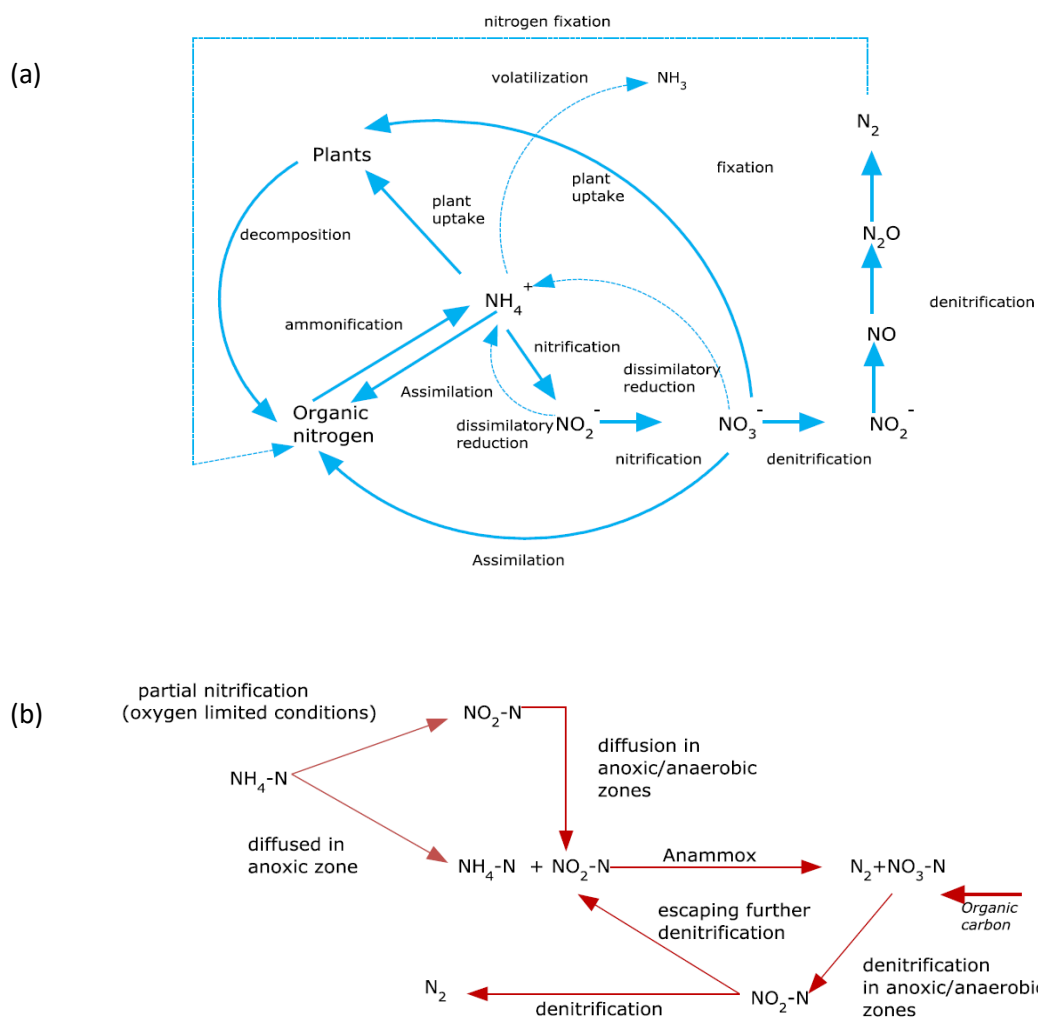


Figura 10. (a) Principais rutas clásicas de eliminación de nitróxeno en HC FSS, (b) Rutas novidasas: diagrama conceptual da eliminación simultánea de N via Anammox e denitrificación en HC FSS. Saeed e Sun (2012).

Nos sistemas híbridos FV-FHSS a nitrificación-denitrificación ocorre segundo a orde das etapas de HC, polo que se esperarían mellores resultados en termos de eliminación de nitróxeno xa que a segunda etapa recibe o influente nitrificado, mais para denitrificalo

precisa tamén de unha fonte de carbono. Molle et al. (2008) fixeron experimentos nun HC FV-FHSS en clima frío (estudo en Francia), e obtiveron resultados de 83% de eliminación de Nitróxeno no verán.

- Rutas clásicas de eliminación de nitróxeno en HC.

Na Figura 10(a) recóllese de forma esquemática as principais rutas de eliminación de N que ocorren en HCs. A vía principal para a eliminación de N nos HC (Fig. 3 a) é a amonificación (conversión de N orgánico disolto en  $\text{NH}_4^+$ ), seguido do acole da nitrificación (de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$  e a  $\text{NO}_3^-$ ) e a denitrificación (de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  a NO a  $\text{N}_2\text{O}$  e a  $\text{N}_2$ ). A nitrificación é un proceso microbiano quimiautotrófico aerobio e a dispoñibilidade de osíxeno para as bacterias nitrificantes é a etapa limitante na eliminación de N nos HC. A denitrificación é un proceso microbiano anóxico que tradicionalmente non se consideraba unha etapa limitante na eliminación de N nos HC, pero a denitrificación e entón a eliminación de N pode estar limitada pola falta de carbono estable ou por unha excesiva osixenación (Hu et al., 2012).

- Rutas novidosas de eliminación de nitróxeno en HC.

As rutas de eliminación de nitróxeno descubertas recentemente, inclúen procesos de nitrificación-denitrificación parcial, oxidación anaeróbica do amonio (Anammox), e procesos simultáneos de nitrificación parcial e Anammox (Figura 10b).

Os procesos de nitrificación-denitrificación parcial refírense á conversión de  $\text{N-NH}_4^+$  a  $\text{N-NO}_2^-$  seguido de denitrificación de  $\text{N-NO}_2^-$  a  $\text{N}_2$  gas. Como vantaxes, a nitrificación e denitrificación parcial demandan aproximadamente un 25% menos de osíxeno e teñen un 40% menos de requirimento de materia orgánica, comparado co metabolismo de nitrificación e denitrificación tradicional. Mellorando a alcalinidade da AR, haberá mais baixa concentración de osíxeno dentro dos sistemas e a  $T^a$  da AR arredor dos 25-30°C, fomenta o crecemento das bacterias amonio oxidantes por enriba das bacterias nitrito oxidantes.

A nitrificación e denitrificación simultánea (NDS) pode presentarse nos HC (Hu et al., 2012, Xu et al., 2013). Isto ocorre, por exemplo, cando ten lugar a eliminación do nitróxeno amoniacal pero a acumulación de  $\text{N-NO}_x$  é insignificante.

Por outra banda, nos procesos Anammox, o amonio é directamente oxidado a N gas pasando por nitrito na presenza de bacterias do grupo das plantomycetes baixo condicións anaeróbicas. O proceso Anammox non precisa de fonte de carbono, require baixa demanda de osíxeno e baixo consumo enerxético.

Estas rutas de eliminación foron identificadas en humidais de FHSS predominantemente anóxicos/anaeróbicos, e tamén en procesos simultáneos de nitrificación parcial, Anammox e Canon. O primeiro principio de este proceso é dependente da mutua coexistencia de oxidantes aeróbicos de amonio e de bacterias anaerobias Anammox en un reactor único no cal se mantén a estabilidade baixo condicións de limitación de osíxeno para permitir a inhibición do desenvolvemento das bacterias Anammox, e para acadar condicións apropiadas para a nitrificación parcial.



Desde que unha maior parte das novas rutas de eliminación do nitróxeno foron identificadas en HC FHSS (debido predominantemente a condicións anóxicas/anaerobias), pódese acadar a eliminación do nitróxeno en un humidal como reactor único. Con todo, para permitir tal bio-reacción é necesario identificar os parámetros óptimos ambientais (como pH, condicións de limitación de osíxeno,  $T^a$ ), e as condicións de carga (é dicir,  $N-NH_4^+$  no influente, taxa de  $N-NO_2^-$  e toxicidade do substrato), as cales requiren unha ampla investigación neste eido en futuros estudos. Especial interese débese prestar aos mecanismos detallados de rutas de biodegradación anaerobia nos sistemas FH, permitindo así a eliminación de N e compostos orgánicos en un reactor único de HC.

Ademais da oxidación aeróbica do amonio, a oxidación anaeróbica do amonio (Anammox) tamén ocorre de forma natural no ambiente, e nos sistemas de tratamentos de AR (Fig 10b). Baixo condicións anóxicas ou anaeróbicas, as bacterias anammox oxidan  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$  (ou  $NO_2^-$ ) a  $N_2$ , co  $NH_4^+$  como doador de electróns, e o  $NO_3^-$  ou  $NO_2^-$  como os aceptores de electróns. Ademais da fixación microbiana de nitróxeno, confirmouse a respiración en condicións aeróbicas para a nitrificación (Ji et al., 2012).

Por outra banda, algúns autores atoparon que a adsorción química xoga un papel chave na conversión do  $N-NH_4^+$  nos HC FV. O  $N-NH_4^+$  adsorbido é nitrificado durante a aireación do leito, e é recollido durante a drenaxe (Tanner et al., 1999, Hu et al., 2014). Frecuentemente a grava que forma o medio do HC ten baixa capacidade de adsorción, excepto algúns medios especiais (como a zeolita), que mostran unha capacidade de adsorción moi elevada (Saeed and Sun, 2012).

### 2.3. FACTORES NA ELIMINACIÓN DE NT

Nos HCs atopamos un abano de factores ambientais, biolóxicos e físico-químicos que inflúen na eliminación de NT da AR. Entre eles, a temperatura, o pH e a necesidade de manter a alcalinidade da AR, con condicións secuenciais aeróbicas-anaeróbicas, e a dispoñibilidade de C orgánico, son os maiores problemas para optimizar as rutas clásicas de nitrificación-denitrificación descritas anteriormente. Ademais, as rutas de eliminación de N nos HCs teñen unha dependencia crítica de outros factores de deseño e operacionais, como son o tempo de retención (TRH), a carga hidráulica (VCH), o modo de alimentación, recirculación, entre outros (Akratos e Tsihrintiz, 2007, Saeed e Sun, 2012). Así, optimizar estas condicións supón un proceso complexo. Nos seguintes apartados expóñense algúns dos factores que inflúen na eliminación de NT das AR nos HCs de fluxo subsuperficial, entre eles distinguimos factores biolóxicos, físico – químicos e de deseño e operación.

#### 2.3.1. FACTORES BIOLÓXICOS

##### VEXETACIÓN

O crecemento das plantas favorece o proceso de eliminación de NT das AR por diferentes vías:

Por unha banda, nos HCs FSS a circulación da auga ocorre a través dun medio granular que está en contacto coas raíces e rizomas das plantas, é en ambos onde medra

adherida a biopelícula que ten un papel fundamental nos procesos de descontaminación da auga. Nesta fracción subterránea as plantas tamén axudan a manter a estrutura filtrante do leito granular, capturan nutrientes (N, P) e achegan osíxeno ata a zona da rizosfera, creando microambientes aerobios adecuados para a degradación de materia orgánica e nutrientes.

Por outra banda, a fracción aérea das plantas acumula os nutrientes absorbidos polas raíces, amonio ou nitrato. Este nitróxeno asimilado incorpórase a biomasa e polo tanto elimínase da auga. Ao morrer as partes aéreas das plantas, durante a senescencia anual, o nitróxeno pode retornar ao humidal, polo que se recomenda a poda da vexetación xusto antes da senescencia. Sobre o rol das plantas na eliminación de nitróxeno nos HCs hai estudos con diferentes resultados, en xeral considérase que para ARUs de tipo medio as plantas eliminan entre un 10 e un 20 % de nitróxeno (García e Corzo, 2008). Saeed e Sun (2012) rexistraron estudos con rangos de eliminación de NT desde o 0,5 ao 40%. Dentro de ese rango de eliminación, atópanse os datos rexistrados por Tunçsiper et al. (2009), para *Phragmites spp.* acadouse o 7% de eliminación do NT influente e para *Iris spp.* só o 3%. Pelissari et al. (2014) nun HC FHSS onde as macrófitas foron responsables do 5,1% de eliminación do NT, traballando con auga residual de gando leiteiro. Tamén Vymazal e Kröpfelová (2015) rexistraron que a biomasa das plantas foi responsable da eliminación do 26% de NT, en un humidal híbrido de 3 etapas, composto por FV saturado + FV + FHSS con recirculación da segunda a primeira etapa.

Aínda que os resultados da comparación entre humidais con planta e sen plantar non é unánime, a maioría dos estudos realizados obteñen eficacia maiores nos sistemas con planta, tendo a vexetación un efecto importante na eliminación de compostos orgánicos e nutrientes como nitróxeno e fósforo (Brix, H., 1997; Vymazal, J., 2011).

As plantas que se poden empregar son moi diversas, sendo determinante que poidan vivir co sistema radicular permanentemente inundado, tolerando a anaerobiose e velocidades baixas. A maior ou menor tolerancia a estas condicións determinará a selección de plantas máis adecuadas para humidais de fluxo horizontal (superficial ou subsuperficial) ou vertical. Tamén é característica de moitas delas que teñan o talo oco (fistuloso), tipo cana, como son as gramíneas e as xuncáceas. Outro aspecto a considerar é se as plantas son autóctonas ou non, é dicir, se están presentes entre a flora e a vexetación natural do país, pois en caso de non estalo e facer plantación de especies exóticas nun HC isto podería converterse nun problema de EEI (Especies Exóticas Invasoras) que desprace a vexetación autóctona. Para facer as plantacións de HCs en Galiza úsanse polo xeral especies autóctonas de ampla distribución bioxeográfica, evitando as exóticas como *Sagittaria latifolia*, *Scirpus atrovirens*, *Scirpus acutus* e *Scirpus validus*. Como resumo das especies máis representativas para facer a plantación dos HCs en Galiza, atopamos as seguintes: *Phragmites australis* (carrizo), *Juncus effusus*, *Juncus conglomeratus*, *Juncus bulbosus* (xuncas), *Scirpus holoschoenus*, *Scirpus lacustris* (xuncos), *Typha latifolia*, *Typha domingensis* (espadanas), *Iris pseudacorus* (lirio).

## MIÑOCAS

O ciclo do nitróxeno está influenciado directamente polas miñocas (*Eisenia fetida*), xa que coa súa alimentación convirten o N orgánico mineralizándoo a formas inorgánicas, e tamén excretan  $\text{NH}_4^+$ . Xogan polo tanto un importante papel nos ecosistemas porque

son capaces de dixerir unha ampla variedade de compostos orgánicos, de aí a súa aplicación en vermicompostaxe e vermifiltración (Taylor et al, 2003). Tamén o ciclo do N se ve influenciado indirectamente polas miñocas, a través das reaccións redox que leva a cabo a microbiota e para as que é necesaria a dispoñibilidade de carbono e osíxeno gas, que proporcionan as miñocas.

As miñocas son de utilidade para mellorar os problemas de colmatación nos HCs, por iso se están a integrar nos humidais de fluxo subsuperficial (sendo nestes a colmatación potencial un dos maiores obstáculos na súa eficiencia e vida media) como unha alternativa natural de limpeza de substratos colmatados (Wu et al., 2014).

Varios estudos avaliaron o uso de miñocas para facer vermifiltración en tratamentos de ARU, concretamente en HCs de fluxo vertical. Li et al. (2011) presentaron un método para restaurar HCs FV colmatados, axudándose de miñocas, xa que son capaces de transformar o 80 – 90 % de partículas orgánicas non solubles en materia orgánica soluble. Ademais do estudo da colmatación, rexistraron que nos humidais que engadiron miñocas, se eliminaba o 2 – 5 % máis de nitróxeno e o 12 % máis de fósforo con respecto aos HCs sen miñocas engadidas, debido as condicións de aireación que proporcionan no medio filtrante. A cantidade óptima engadida foi de 0,5 Kg miñocas/m<sup>2</sup>.

Xu et al. (2013) estudaron a nitrificación e denitrificación potencial e a eficiencia de eliminación de nitróxeno en humidais de FV con e sen miñocas, e concluíron que a adición de miñocas ao HC FV aumenta a nitrificación e denitrificación potencial dos substratos ata o 105 – 268% e o 5 – 15%, respectivamente, resultando polo tanto que as miñocas teñen maior impacto na nitrificación potencial que na denitrificación.

### 2.3.2. FACTORES FISCOQUÍMICOS

#### pH

Os humidais naturais teñen un pH nun rango lixeiramente básico, entre 7 e 8, e os pantanos naturais de auga doce algo máis ácido, entre 6 e 7 (Kadlec e Wallace, 2009). As substancias orgánicas que se xeran no humidal debido ao crecemento, morte e descomposición son a fonte da acidificación natural. As substancias húmicas resultantes son moléculas complexas, algunhas con formas protonadas menos solubles en auga, que precipitan baixo condicións ácidas. Como consecuencia os sistemas de solo e auga dos humidais son tamponados evitando a entrada de substancias básicas. Os HCs de FHSS manteñen as variacións de pH próximas á neutralidade no efluente, sen observarse ou observándose moi lixeiramente ciclos anuais. Kadlec e Wallace (2009) recolleron os valores de pH no efluente de diversos humidais FHSS monitorizados en todo o mundo e obtiveron os seguintes resultados: No Reino Unido rexistrouse o pH de 24 HCs durante períodos de entre 1 e 9 anos, e obtívose pH medio =  $7,33 \pm 0,32$ ; en outros 18 humidais localizados en Noruega, Australia, Nova Zelandia e Estados Unidos o valor medio de pH foi de  $7,12 \pm 0,20$ , medido en períodos de 1 a 5 anos. Tamén na República Checa se fixo seguimento deste parámetro e obtívose para o efluente de 12 HCs un pH medio de  $7,43 \pm 0,30$ . Polo tanto, segundo a literatura cabe xeneralizar e esperar que nos efluentes dos humidais FHSS o pH estea próximo a neutralidade.

A química e a bioloxía da auga dos HCs está afectada polo pH. Para que un sistema acuático funcione ben, o pH debe estar dentro de un rango, pois os procesos microbianos son sensibles ao pH (Meng et al., 2014). A maior parte de actividade bacteriana ocorre dentro do rango de pH entre 4,0 e 9,5 (Kadlec e Wallace, 2009). As taxas de produción heterotróficas son maiores nas AR con pH neutro que ácido. Os autores recollidos na Táboa 7 rexistraron os pH óptimos para a microbiota que desenvolve os procesos de nitrificación, desnitrificación e amonificación, que en xeral se ven favorecidas a pH próximo á neutralidade, e inhibidas cando o pH é ácido.

A nitrificación depende do pH, vese inhibida cando cae o pH ata 4,5 (Henze et al., 1995), debido ao consumo de alcalinidade asociado, rexistrándose unha baixada de  $220 \pm 45 \text{ g/m}^3 \text{ CaCO}_3$  no influente ata 9 e  $2 \text{ g/m}^3$  no efluente de HC FV de grava e de area, respectivamente (Tanner et al., 2012). Este consumo de alcalinidade na nitrificación é de  $7,1 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$  por cada  $\text{mg/L}$  de N-nitrificado a partir de N-amónico, e nesta reacción libéranse 2 moles de  $\text{H}^+$  por cada mol de N-amoniacal consumido (Kadlec e Knight, 1996).

O efecto do pH é importante nos humidais construídos xa que afecta ao crecemento microbiano e modifica o equilibrio ácido-base  $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$  e  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ . O efecto directo do pH nas bacterias nitrito oxidantes foi estudado por Grunditz e Dalhammar (2001) e os seus resultados indicaron que o pH óptimo para estas bacterias era 7,9, e que a súa actividade se reduce nun 20% a pH 6,5 e 9,0.

A desnitrificación tamén se ve entorpecida cando o pH cae por debaixo de 5,0 (Vymazal, 2007), mais nesta reacción prodúcese alcalinidade, aproximadamente 3g de bicarbonato (como  $\text{CaCO}_3$ ) son producidos por cada gramo de  $\text{N-NO}_3^-$  reducido.

O proceso de volatilización do amonio implica a transferencia de un protón, e polo tanto un descenso teórico do pH.

Táboa 7 . Rangos de pH óptimos e inhibidores para os procesos de nitrificación e desnitrificación.

		pH	Referencia
Nitrificación	Óptimo	7,0 – 8,0	Paredes et al., 2007
		> 7,2	Kadlec and Wallace, 2009
	inhibidor	< 4,5	Henze et al., 1995
		< 6,5; > 9,0	Grunditz e Dalhammar, 2001
Desnitrificación	óptimo	6,0 – 8,0	Vymazal, 2007
		6,5 – 7,5	Kadlec and Wallace, 2009
	inhibidor	< 5,0	Vymazal, 2007
Amonificación	óptimo	6,5 – 8,5	Saeed and Sun, 2012

## TEMPERATURA

A temperatura ten un forte efecto na eficiencia de eliminación de nitróxeno. Tanto a nitrificación como a desnitrificación avanza lentamente a baixas temperaturas.

En climas temperados, Avila et al. (2013) traballaron nun sistema híbrido de tres etapas (FV + FHSS + FHS) e os resultados de nitrificación na primeira etapa FV foron bos e constantes no ano (74% eliminación de  $\text{N-NH}_4^+$ ) pero esa cantidade non diminuíu nas seguintes etapas FH, o cal atribuíron os autores a falta de materia orgánica para a desnitrificación e tamén a estacionalidade, pois no inverno si viron afectada a

denitrificación con un descenso de actividade nos humidais FH (FHSS e FHS), o cal indica que a denitrificación está influída pola temperatura, máis que a nitrificación ou a eliminación de m.o.

Tamén Caselles-Osorio and García (2007) viron que as taxas de eliminación de nitróxeno se incrementaban de modo significativo con temperatura da auga superior a 15°C con respecto as augas con máis baixas temperaturas.

En climas fríos, Molle et al. (2008) estudaron humidais híbridos (FV + FV + FHSS) en Francia e atoparon que só no verán se obtiñan taxas elevadas de denitrificación, acadando o 83%, aínda que Brix et al. (2003) rexistraron que a nitrificación si se produce a baixas temperaturas, acadando o 40% de taxa de nitrificación tanto a 10°C como a 2°C, polo que concluíron que un HC FV é capaz de nitrificar incluso a baixas temperaturas.

O estudo que levaron a cabo Mietto et al. (2015) nun humidal híbrido a escala real (FV + FHSS) ao NE de Italia, serviu para demostrar a dependencia da temperatura na eficiencia de eliminación de nitróxeno. Estes autores atoparon dependencia da temperatura tanto na produción de  $N-NO_3^-$  como na eliminación de NT, mais con diferentes pendentes na recta de regresión. Con baixas temperaturas (<14°C) a eliminación de N aumentou entre 1,7 e 2,0 % por aumento de °C, e con temperaturas maiores a 14°C a maior eliminación de N foi máis estreita cada °C, especialmente para o  $N-NO_3^-$ . Ng and Gunaratne (2011) estudaron a volatilización do amonio e a denitrificación, e viron que cada 10°C de aumento da temperatura (no rango 0 – 30 °C) aumentaban 1,3 - 3,5 veces, e 1,5 – 2,0 veces, respectivamente.

Segundo a bibliografía consultada pódese concluír que para que ocorra a nitrificación a temperatura óptima atópase entre 25 e 35 °C nos cultivos e entre 30 e 40 °C nos substratos (Vymazal, 2005).

Labella et al. (2015) estimaron o efecto de quecemento do leito para prever a colmatación, e atoparon que con só o quecemento do 8% da superficie do humidal a 21°C, a pesar de non ter efectos inmediatos sobre o rendemento do tratamento, a longo prazo amosáronse resultados positivos na taxa de acumulación de sólidos no medio filtrante, o cal está moi relacionado co avance da colmatación. Demostrouse que quentando 10 días/ano durante 20 anos, atrásase o momento de colmatación en 1 ano.

## OXÍXENO

A cantidade de osíxeno disolto (OD) na auga depende da transferencia física, que varía segundo a temperatura, sales en disolución, actividade microbiana e áreas expostas a atmosfera. Tamén depende da transferencia polas plantas, e aínda que é certo que ocorre en taxas modestas, a cantidade é variable segundo os estudos e a especie. En terceiro lugar a cantidade de OD tamén depende do consumo químico e biolóxico, que produce a aparición de gradientes lonxitudinais e verticais.

A relación entre OD e temperatura en auga pura exposta ao aire ven dada pola ecuación

de Elmore-Hayes:  $C_{DO}^{sat} = 14.652 - 0.41022 T + 0.007991 T^2 - 0.00007777 T^3$

onde:  $C_{DO}^{sat}$  : equilibrio do OD (mg/L) na disolución a 1 atm, T: temperatura (°C).

Segundo esta relación obtemos que a a 25°C o OD é de 8,2 mg/L e a 5°C o OD=12,8 mg/L.

Na actualidade dispónse de distintas alternativas para proporcionar osíxeno suficiente para a actividade microbiana, xa sexa mediante aplicación directa por aireación artificial, ou mediante correntes de recirculación, adaptación de humidais de fluxo mareal, alimentación en etapas, entre outras. Entre elas, a aireación artificial está a ser moi estudada para mellorar as condicións redox dos HCs construídos, de modo que con equipamentos de aireación pode estimularse a actividade microbiana e os mecanismos nitrificantes, aínda que non os denitrificantes, que diminúen coa aireación (Foladori et al., 2013, Ding et al., 2014, Labella et al., 2015). Por iso, a aplicación de aireación artificial é unha operación complexa, que ademais require achega de enerxía e polo tanto un custo adicional.

A pesar da habilidade da microbiota denitrificante para utilizar os nitratos como aceptores de electróns, o osíxeno é máis preferido se está presente no volume da auga e na práctica a concentración de OD debe manterse por baixo dos 0,3 – 0,5 mg/L para favorecer a denitrificación (Saeed e Sun, 2012).

Labella et al. (2015) empregaron o parámetro do osíxeno disolto para estudar o fenómeno de colmatación nos humidais, e desta forma poder prevela e mellorar a eficiencia de tratamento. Fixeron experimentos nunha planta piloto con ARU de 40 – 60 g DQO/m<sup>2</sup> de carga orgánica e aplicaron aireación intermitente desde a base do humidal, dando lugar a diferentes concentracións de OD, desde 0,2 a 5 mgO<sub>2</sub>/L. Como resultado obtiveron que cando aplicaron aireación continua acadábase a eliminación do 56% de m.o. (DQO) e do 69% de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Deste xeito tamén a aplicación de OD pode diminuír a superficie necesaria para o tratamento da AR, de modo significativo tal que o custo do consumo enerxético (debido a aplicación de aireación continua) está cuberto pola redución da superficie, tal e como se demostrou neste estudo.

## ADSORCIÓN POLA BIOMASA

Nas ARUs o nitróxeno atópase fundamentalmente en forma de amonio e tamén como N-orgánico. Segundo isto, o principal mecanismo de eliminación de N é de tipo microbiano e trátase da nitrificación e denitrificación. Porén, tamén hai outros procesos que contribúen á eliminación, como é a adsorción do amonio. Este é un proceso reversible, e cando cambian as condicións que o estabilizan, o amonio pode regresar á auga (Kadlec et al., 2005). De este modo a dinámica do nitróxeno nos HCs pode ter alongado o seu tempo de residencia, resultando en demoras na resposta ao tratamento de eliminación de NT.

Hu et al. (2014) atoparon que preto do 50% do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> do influente pode ser adsorbido no período de contacto, e Foladori et al. (2013) rexistraron descenso de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> durante o paso da AR en sentido descendente dun HC FV, aínda que indicaron que podería deberse principalmente á dilución na auga retida nos poros na capa inferior saturada hidáulicamente.

Narváez et al. (2011) comentaron que a pesar de tratarse de un proceso insuficiente, hai algunhas especies de macrófitas que teñen a habilidade de producir compostos carbonados por exudados da raíz, que estimulan a denitrificación nos HC.

### 2.3.3. FACTORES DE DISEÑO E OPERACIÓN

Nos HCs é posible acadar bos rendementos na depuración de ARs, sempre e cando o deseño e a operación do HC se axuste ás características da propia AR e ás condicións climáticas do lugar onde estea situado. Entre os parámetros importantes para facer un bo deseño dos HCs co obxectivo de eliminación de NT, é de utilidade ter en conta a carga de entrada, tanto de NT como de m.o., así como a carga hidráulica, e tamén o modo de alimentación, facer recirculación e gradientes, entre outros. Hu et al. (2012) desenvolveron un modelo de HC con alternancia de diferentes estratexias nun sistema en batch, incluíndo pre-denitrificación, aireación intermitente e alimentación en etapas, de modo que incluso con altas cargas de N (46,7 g NT/m<sup>2</sup>-d) o sistema acadou eficiencia de eliminación do 90% NT despois de 280 días de operación.

Táboa 8. Impacto de parámetros ambientais e operacionais para optimizar a depuración en termos de nitróxeno e materia orgánica en humidais construídos. Modificado de Saeed e Sun, 2012.

Parámetro	Referencias	Significado e comentarios
Temperatura OD	Akratos e Tsihrintzis (2007), Tuncsiper, (2009), Langergraber et al. (2009), Molle et al. (2008), Zhang et al. (2011), Wu et al. (2011), Rivas et al. (2011), Mietto et al. (2015).	A eliminación de m.o. e nitróxeno inhíbense con baixas temperaturas e falta de OD. Esta cinética de eliminación pode contrarrestarse engadindo aireación artificial ou proporcionando unha capa de illamento.
Carbono	Masi et al. (2002), Wu et al. (2009), Zhao et al. (2011), Yan et al. (2012), Saeed e Sun (2012), Foladori et al. (2013), Avila et al. (2013), Zhu et al. (2014), Bai et al. (2014), Hu et al. (2014), Meng et al. (2014).	O ciclo do carbono está acolado ao do nitróxeno a través da denitrificación, polo que a adición de carbono orgánico mellora as taxas de denitrificación. Se é posible xerar C internamente por medio da materia orgánica, ademais de ser beneficioso para o sistema, reduce os custos da adición externa de C.
Carga contaminante	Zhao et al. (2004), Vymazal (2007), Schipper et al. (2010), Wu et al. (2011), Foladori et al. (2013).	O aumento de VCO e VCN mellora a eficacia do sistema, ata acadar a capacidade máxima. Porén, un exceso de carga N e orgánica pode provocar stres nas macrófitas, aumentar a acumulación de sólidos, e con alta VCO tamén se pode inhibir a nitrificación.
Carga hidráulica	Tanner et al. (1999), Akrotos e Tsihrintzis (2007), Stefanakis e Tsihrintzis (2011), Brix et al. (2011), Bai et al. (2014), Hu et al. (2014), Kim et al. (2015).	O aumento da VCH reduce a eficiencia de eliminación de N e m.o. especialmente nos humidais de FHSS. Polo que, para sistemas híbridos con VCH variables, é preferible colocar a unidade FV na primeira etapa.
Recirculación	Sun et al. (2003), Brix et al. (2003), Zhao et al. (2004), Stefanakis et al. (2009), Sklarz et al. (2009), Serrano et al. (2011), Ayaz et al. (2012), Prost-Boucle et al. (2012), Foladori et al. (2013).	É especialmente efectiva para tratar AR de alta carga. Dilúe a concentración do influente, xera contacto adicional entre a AR e o biofilm, mellorando a eliminación de N e m.o. Tamén ten efecto de control do pH e de proporción de substratos nitrificados no caso do paso desde FV a FHSS.
Modo de alimentación	Zhao et al. (2004), Sun et al. (2003), Wu et al. (2011), Stefanakis et al. (2011), Hu et al. (2012), Foladori et al. (2013), Ding et al. (2014), Wang et al. (2014), Labella et al. (2015).	Optimizar o modo de alimentación xeralmente aumenta o OD no medio, mellora o contacto entre a AR e o biofilm. As melloras que poden aplicarse son aireación artificial, alimentación intermitente, en batch, gradual, mareal, multialimentación, entre outras.

Na Táboa 8 resúmense algúns parámetros ambientais e operacionais que se poden axustar mediante o deseño dos HCs para mellorar a súa operación na depuración das augas.

#### CARBONO: COCIENTE DQO/NT NA DENITRIFICACIÓN

Nos HCs o ciclo do nitróxeno está acolado ao do carbono (materia orgánica) fundamentalmente a través da denitrificación. Segundo a configuración do HC, o TRH aplicado, a súa plantación, e a composición da AR, entre outros factores, é diferente a proporción C/N óptima para acadar a maior eliminación de NT, a pesar que en xeral a eliminación de NT mellora cando unha fonte de carbono, externa ou interna, é fornecida (Saeed e Sun, 2012; Zhu et al., 2014). Polo tanto, a eficiencia de eliminación de contaminantes varía en resposta as taxas C/N aplicadas.

Zhu et al. (2014) observaron que a eficiencia na eliminación de NT,  $\text{N-NO}_3^-$  e DQO aumentaba coa relación C/N de 1 a 7, sendo a mellor eficiencia de eliminación con ratio entre 5 e 7, e Zhao et al. (2011) atoparon óptimas as taxas de eliminación aplicando a relación C/N de 10, sen embargo un ratio baixo/medio beneficia a reducir as emisións de gases de efecto invernadoiro (Yan et al. (2012). Unha elevada taxa C/N promove a actividade dos microorganismos denitrificantes, porén, a degradación da materia orgánica tamén consume o OD do sistema e isto inhibe a nitrificación do  $\text{N-NH}_4^+$ , que limita a posterior denitrificación (Zhu et al., 2014).

A influencia do cociente DQO/NT na denitrificación foi estudado por varios autores (Táboa 10), xa que a dispoñibilidade de DQO limita a denitrificación. Este factor é interesante a ter en conta nos humidais de fluxo vertical, Saeed e Sun (2012) atoparon que cando a relación DQO/NT é menor que 1, a denitrificación é practicamente desprezable.

Bai et al. (2014) aplicaron diferentes TRH en dous tipos de HC FV. Empregaron AR de potabilizadoras como substrato nos HCs FV, de dous tipos: i) fluxo ascendente continuo, ii) fluxo intermitente; para o tratamento de efluentes secundarios con TRH curto (1 – 3 días), resultando en baixas VCOS (3 – 6 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 0,6 – 2,4 g N/m<sup>2</sup>·d). Os resultados amosan unha taxa de eliminación media de 0,7 – 0,9 g N/m<sup>2</sup>·d e unha eficiencia de eliminación de NT <54% para TRH = 1 día e DQO/NT = 2,5; pero mellores resultados de eliminación NT do 75% con TRH = 2 – 3 d. e DQO/NT = 3,2 – 5,5.

Hu et al. (2014) estudaron HCs de fluxo intermitente e viron que cando a relación DQO/NT se atopa entre 3,3 – 3,7 o influente non ten carbono suficiente e a denitrificación atópase limitada ao 60% de eliminación de NT. Sen embargo, aumentando a relación DQO/NT a 7 – 9, o sistema acadaba unha eliminación de NT do 86%.

Wu et al. (2009) concluíron que a relación óptima DQO/N para acadar a eliminación efectiva de nitróxeno, era 5 en humidais de fluxo superficial, e Foladori et al. (2013) probaron a relación DQO/NT de 6, obtendo resultados de denitrificación parcial, aínda que este ratio podería ser suficiente para obter unha nitrificación e denitrificación eficiente no caso dunha maior mestura, debido ao reforzo do contacto entre DQO e  $\text{NO}_3^-$ .



Meng et al. (2014), atoparon que coa relación  $\text{DBO}/\text{N-NO}_3^-$  de 2,86 se conseguía a denitrificación completa.

Avila et al. (2013) traballaron nun sistema híbrido de tres etapas (FV + FHSS + FHS) en áreas de clima temperado, os resultados de nitrificación na primeira etapa FV foron bos (74% eliminación de  $\text{N-NH}_4^+$ ) pero esa cantidade mantívose nas seguintes etapas FH, o cal atribuíron os autores a falta de materia orgánica para a denitrificación, polo que suxeriron a mellora de un bypass desde o tanque imhoff ao humidal FHSS para prover este con unha fonte de carbono necesaria para levar a cabo a denitrificación, en definitiva aumentar a relación DQO/NT. Outra opción que suxeriron os autores foi a operación da planta a maiores VCHs.

No outro extremo atópase o estudo feito por Masi et al. (2002), que traballaron con ARs de bodegas con moi elevada carga orgánica, aplicando a un humidal híbrido composto por unha unidade FHSS seguida de unha FHS cargas medias de 329 Kg DQO/ha·d, e unha relación DQO/NT de 275, mais o resultado de operación foi bo en termos de nitróxeno, acadou o 82,3% de eliminación do NT.

#### CARGA CONTAMINANTE: VCO E VCN

As cargas orgánicas aplicadas comunmente nos HCs para tratar ARUs en climas temperados atópanse arredor dos 20 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$  nos FV e dos 6 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$  nos FH (García e Corzo, 2008), sendo polo tanto os sistemas verticais que teñen maior capacidade de tratamento que os horizontais (requiren menor superficie para tratar unha determinada carga orgánica), porén son mais susceptibles á colmatación.

En termos de sólidos as ARUs de carga media conteñen entre 1 e 10 g SST/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$  (Kadlec e Knight, 1996), pero estas recomendacións non son igualmente aplicables para outros tipos de efluentes como os procedentes da agricultura e gandería ou con características concretas como ARs con salinidade, xa que se pode modificar o comportamento do humidal e a súa lonxevidade (Kadlec e Wallace, 2009).

Unha excesiva carga contaminante pode reducir notablemente os espazos intersticiais e obturar o medio granular antes do previsto, conducindo á colmatación do HC antes do fin da vida útil da instalación para a que se deseñou o HC, polo que, a VCO é un factor importante a ter en conta no dimensionamento dos HCs.

As cargas de nitróxeno que se tratan nos HCs atópanse entre 0,1 e 3,0 g NT/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$  para o tratamento de ARUs procedentes de un tratamento primario, e con maior carga, ata arredor de 50 g NT/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$  cando se trata de efluentes específicos tales como os procedentes de producións agrícolas e gandeiras (Carballeira et al., 2016).

Carballeira et al. (2016) levaron a cabo un estudo a longo prazo en 5 HCs FH facendo a comparativa con baixas (2,5 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ) e altas (4,7 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ) velocidades de carga superficial, e atoparon que para as baixas VCO as taxas de eliminación de SST (89 – 93%), DQO (83 – 88%) e  $\text{DBO}_5$  (90 – 95%) non mostraban diferenzas entre as 5 unidades de humidais, sen embargo con altas VCO as porcentaxes de eliminación de  $\text{DBO}_5$  oscilaban no rango de 69 a 94% nas distintas unidades, que estaban diferenciadas segundo a especie vexetal plantada. Segundo isto as plantas tiveron efecto na eficiencia de eliminación de m.o. en función da VCO aplicada.

## CARGA HIDRAULICA

A velocidade de carga hidráulica defínese como a corrente de entrada no humidal, combinando o efecto do caudal e a área do humidal, de modo que a ecuación de cálculo ven dada por:

$$VCH = Q / A$$

onde: Q é o caudal de entrada ( $m^3/d$ ) e A é a área do humidal ( $m^2$ ).

O establecemento da VCH está baseado no coñecemento da hidrodinámica dos medios filtrantes. Algúns dos parámetros empregados para os estudos hidráulicos son o fluxo, a eliminación de contaminantes, a taxa de infiltración, entre outros.

Molle et al. (2008) fixeron estimas sobre os límites hidráulicos dos HCs, co obxectivo de coñecer a sobrecarga de fluxo que son capaces de tratar, e concluíron que os HCs son un bo sistema capaz de soportar excesos de fluxo puntuais de ata 10 veces e seguir cumprindo os estándares europeos.

En xeral o efecto do aumento continuado da carga hidráulica diminúe a eficiencia de eliminación de nitróxeno, especialmente nos humidais de FSS (Ingersoll, T. et al., 1998; Molle et al., 2006; Paing et al., 2015).

Ingersoll et al. (1998) estudaron o efecto da VCH (5, 10 e 20 cm/d) e a adición dunha fonte de carbono externa (de 1 a 6 g espadanas secas/semana) en humidais de fluxo superficial con carga de nitróxeno de 30 mg N/L. As eficiencias de eliminación de N estiveron no rango do 8 ata >95%, diminuindo co aumento de VCH e aumentando co aumento de adición de C. O efecto da VCH e a fonte de carbono foron integrados no ratio C:N, e viuse que as eficiencias de eliminación de N aumentaron e tamén o fixeron as cantidades de carbono orgánico disolto no efluente. Por isto os HCs poden ser un bo método para tratar augas residuais con nitratos. O estudo revelou que a adición de carbono parece limitar a eficiencia de eliminación de nitratos e que a eliminación adecuada de nitratos se pode levar a VCHs relativamente elevadas.

Os pequenos aumentos de VCH son positivos para a eliminación de NT e  $DBO_5$ , no rango de 20 – 30 mm/d (Carballeira et al., 2016), ata cargas de 60 cm/d, coas que se pode acadar eliminación constante de DQO e NTK. Pero con cargas maiores (ata 94 cm/d) a eficiencia de eliminación diminuíu e amosouse moi variable, especialmente para o NTK, diminuindo desde o 93% ( $VCH < 60 \text{ cm/d}$ ) ata o 72% ( $VCH > 60 \text{ cm/d}$ ) (Paing et al., 2015). Este resultado está de acordo cos obtidos por Molle et al. (2006), que viron diminución na nitrificación nun humidal FV con cargas hidráulicas de 70 – 80 cm/d, debido á renovación incompleta do OD entre alimentacións en batch.

## RECIRCULACIÓN

A recirculación dun efluente cara a alimentación dun HC que xa tratou esa AR pode facerse de modo total ou parcial, en función dos obxectivos de depuración e das características da AR. Pode recircularse efluente tanto en humidais de etapa única como nos sistemas híbridos compostos por dúas ou máis unidades de distintas características.

A recirculación mellora a eliminación do NT, especialmente nos sistemas híbridos formados por FHSS-FV (Brix et al., 2003, Tunçsiper, 2009; Ayaz et al., 2012), bombeando

o efluente nitrificado de FV cara o FHSS onde as condicións de saturación favorecerán a súa denitrificación.

A pesar dos resultados satisfactorios da recirculación do efluente, na revisión feita por Vymazal no 2013, que recolleu os datos de 60 sistemas híbridos nos últimos anos, tan só en 6 de eles se aplicou a recirculación do efluente, e só no estudo de Ayaz et al., (2012) se fixo a comparación da eficiencia de eliminación de carga contaminante con e sen recirculación, atopando que melloraba no 20% a eficiencia de eliminación de NT coa aplicación do 100% recirculado. Ademais, a maioría de investigacións con recirculación redúcense a escala de laboratorio con auga residual sintética (Foladori et al., 2013).

A recirculación do efluente permite a nitrificación en HCs FV e tamén mellora a denitrificación, debido ao maior tempo de contacto entre a AR e o biofilm, acolado co suplemento de materia orgánica (Zhao et al., 2004, Saeed e Sun, 2012). Saeed e Sun (2012) tamén concluíron que a maioría de estudos comparativos no modo de alimentación, demostraron a eficacia de varias estratexias de alimentación en comparación coa carga continua e que a eliminación do nitrato mellora cando se subministra unha fonte de C interna ou externa.

A recirculación do efluente en humidais de etapa única, mellora a nitrificación nos humidais FV (Prost-Boucle e Molle, 2012), particularmente cando no sistema ocorre esgotamento de osíxeno (Sklarz et al., 2009). Prost-Boucle e Molle (2012) aplicaron a recirculación a un sistema clásico FV francés, e obtiveron resultados nunha única etapa comparables ao sistema FV francés en dúas etapas, co que para a mesma eficiencia se reduce a área requirida desde 2 ata 1,1 – 1,6 m<sup>2</sup>/h.e.

Así mesmo, nos HCs FV de etapa única, a recirculación tamén mellora a denitrificación debido ao maior tempo de contacto entre a auga residual e o biofilm. Bombeando o efluente cara a etapa de pretratamento, onde se atopa a AR con maior dispoñibilidade de materia orgánica en forma de DQO facilmente biodegradable, favorécese a denitrificación (Brix e Arias, 2005).

Sklarz et al. (2009) deseñaron un HC FV con recirculación continua, de modo que a auga residual pasa polo sistema un número indeterminado de veces ata que acada a eliminación de contaminantes para cumprir a calidade de vertedura requirida. De esta forma conséguese, ademais da dilución de AR de alta carga, mellorar a aireación pasiva en todo o leito, mellorando a degradación da m.o., e tamén manter constante a actividade da biomasa. Con todo, a recirculación continua destes sistemas pode dificultar a súa aplicación en áreas en que a carga hidráulica de entrada é moi elevada e continua. Ademais, a recirculación repetida require maior entrada de enerxía, o que tamén pode contribuír aos custos operativos adicionais. A pesar de tales deficiencias, a tecnoloxía é prometedora, e pode ser valorada en diferentes escenarios para determinar factores de proxecto ideais.

Sen embargo, o efecto da recirculación en HCs FHSS de etapa única non acada resultados de mellor eficiencia de eliminación, tal e como comprobaron Stefanakis e Tsihrintzis (2009) nun HC FHSS a escala piloto, e sen embargo afecta negativamente a configuración do HC, resultando na menor taxa de eliminación de contaminantes.

A recirculación do efluente en humidais híbridos coa unidade de FHSS en segunda posición pode ter varios obxectivos (Serrano et al., 2011), entre eles son de interese: 1)

augmentar o pH do sistema, 2) aplicar unha maior carga hidráulica para o mellor funcionamento da unidade FV, previndo entre outras cousas a colmatación, 3) incrementar a dilución cando se traballa con altas cargas no influente.

Serrano et al. (2011) consideraron a introdución da recirculación nun sistema híbrido de humidais (FV + FHSS) para o tratamento de AR de bodegas, onde o fluxo recirculado tiña baixas concentracións de SST, DQO e DBO<sub>5</sub>, a recirculación actuou como dilución do influente previo á unidade FV, e tamén, en menor grao, do influente ás unidades FHSS. O resultado de eliminación obtido durante o período de recirculación indicou un bo rendemento global comparado cos períodos sen recirculación con respecto aos obxectivos marcados (augmentar o pH, a carga hidráulica de FV e a dilución do influente), e a eliminación de NTK e amonio foi comparable aos períodos sen recirculación. Estes autores calcularon a concentración do substrato neste punto seguindo a seguinte ecuación:

$$S_1' = \frac{S_1 Q_v + S_3 Q_R}{Q_v + Q_R}$$

onde: S<sub>1</sub>' é a concentración real do substrato que entra na unidade FV, S<sub>1</sub> e S<sub>3</sub> son as concentracións do substrato medidas antes da mestura con S<sub>1</sub>' e despois da saída do FHSS, respectivamente, e Q<sub>v</sub> é o caudal da AR, Q<sub>R</sub> é o caudal de recirculación.

Vymazal e Kröpfelová (2015) aplicaron recirculación a un sistema híbrido de 3 etapas (FV saturado + FV + FHSS), recirculando o efluente (100%) da segunda unidade cara a primeira e acadaron a eliminación do 79,9% de NT aplicando cargas de 0,8 – 1,6 g NT/m<sup>2</sup>·d, tendo en conta que a vexetación eliminou o 26% do nitróxeno.

A recirculación do efluente en humidais híbridos coa unidade de FV en segunda posición pode ter obxectivos tales como: 1) baixada do pH do sistema, 2) completar a denitrificación do efluente nitrificado procedente de FV, 3) incrementar a dilución cando se traballa con altas cargas no influente.

Tunçsiper (2009) construíu en Turquía unha planta piloto de un sistema híbrido de humidais composta por tres etapas en serie: en primeiro lugar un filtro de grava de fluxo vertical FGV (sen plantas), en segundo lugar un HC FHSS (con *Iris*) e en terceira posición un HC FV (con *Phragmites*). Estudaron distintos parámetros, entre eles, someteron a planta piloto a diferentes taxas de recirculación do efluente desde FV a entrada de FHSS (R = 0-50-100%), e a cambios de carga hidráulica (VCH = 30-60-80-100 L/m<sup>2</sup>·d). A eficiencia de eliminación de NTK foi superior ao 50% na saída da última etapa FV en todos os supostos probados. Atoparon que os mellores resultados se daban con baixa VCH, acadando o 80% eliminación NTK á saída de FV no caso de non aplicar recirculación do efluente, e aumentando esta eliminación ao 95% ao aplicar o 50 e 100% de recirculación. Con recirculación do efluente ao 100 e 50 % as concentracións medias de NTK (mg/L) diminuían de 30,9 a 23,7, respectivamente. Observaron que tanto a eficiencia da nitrificación como da denitrificación aumentaron co ratio de recirculación do 100%, facéndoo coincidir coa diminución da VCH de 100 a 30 L/m<sup>2</sup>·d.

Ayaz et al. (2012) trataron ARUs en sistemas híbridos de HCs (FHSS+FV) con e sen recirculación (0, 33, 100 e 200%) e concluíron que este é un mecanismo para obter efluentes con baixas concentracións de N, xa que a eliminación de NT pasou do 19-55% sen recirculación, ata o 66% con 100 e 200% de recirculación.

Nos estudos sobre recirculación hai probas con diferentes ratios, co obxectivo de mellorar a eficiencia da depuración en humidais subsuperficiais en termos de eliminación de materia orgánica e nitróxeno. Na Táboa 9 recóllense algúns destes estudos e as súas características.

Táboa 9. Estudos sobre as taxas de recirculación en HC FSS.

Sistema de HC	AR tratada	Taxa Recirculación	%NT eliminado	Referencia
FV	Agricultura	0 ?	19,4 <sup>a</sup> 70,4 <sup>a</sup>	Sun et al. (2003)
4 etapas FVM	Puríns de gandería	1:1	?	Zhao et al. (2004)
FV	Urbana	n <sup>b</sup>	51,2	Sklarz et al. (2009)
FGV + FHSS + FV	Urbana	0 50 – 100 %	80 95	Tunçsiper (2009)
FHSS + FV	Urbana	0 1:1 ; 2:1	19 - 55 66	Ayaz et al. (2012)
FHSS + FV	Urbana	0 87 – 500% <sup>c</sup>	45 66	Brix et al. (2003)
FV sat. + FV + FHSS	Urbana	100%	79,9	Vymazal e Kröpfelová (2015)
FV + FHSS	Agricultura-bodega	100% ?	54 ?	Serrano et al. (2011)

<sup>a</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, <sup>b</sup> Recirculación continua: a auga é recirculada n veces ata que acada a calidade de vertido necesaria. <sup>c</sup> Non foi posible manter condicións de recirculación constantes. O volume efluente estivo comprendido entre 0,4 e 2,3 m<sup>3</sup>/d e o volume recirculado foi usualmente de 2m<sup>3</sup>/d.

## MODO DE ALIMENTACIÓN

O modo de alimentación ten influencia nas condicións de oxidación – redución e transferencia de osíxeno no humidal e, polo tanto, modifica a eficiencia de tratamento. Diversos estudos se desenvolveron para avaliar o efecto do modo de alimentación sobre a eficiencia do tratamento dos HCs. En xeral, a alimentación en batch obtén mellores rendementos con respecto a alimentación en continuo xa que proporciona condicións de oxidación.

## ALIMENTACIÓN INTERMITENTE

Kim et al. (2015) comprobaron o funcionamento de condicións de saturación hidráulica en HCs de fluxo vertical. Fixeron un estudo en unha planta piloto durante 18 semanas, con condicións de inundación (totalmente saturado), saturación parcial e non saturado. O funcionamento foi correcto en todas as situacións, pero a eficiencia foi óptima baixo condicións de non saturación e saturación parcial, pois baixo condicións de inundación o funcionamento do HC FV decaía a partir de 1 semana de funcionamento. Mais, se a continuación se drenaba e restablecían as condicións de non saturación, a eficiencia de funcionamento se restauraba, o cal indica resistencia e solidez baixo condicións de inundación temporal.

Hu et al. (2014) indicaron que o tempo de descanso é un factor chave na nitrificación, pois o tempo de contacto/descanso pode optimizarse segundo a cinética de adsorción

do amonio/ nitrificación. Segundo isto, consideraron que a denitrificación aerobia pode ser significativa nos humidais de fluxo intermitente (HC FVI), debido a que os sistemas de crecemento apegados proporcionan un ambiente ideal para isto, tendo en conta que de ser o caso, espérase unha emisión significativa de óxido nítrico, porque a maioría dos denitrificantes aerobios producen  $N_2O$  en vez de  $N_2$ .

Tamén Saeed e Sun (2012) consideraron que a alimentación intermitente mellora a eliminación de m.o. e nitróxeno nos HCs. Sobre isto, Zhang et al. (2012) investigaron a influencia dos fluxos en batch e continuos sobre eficiencias de eliminación en HCs de fluxo subsuperficial en clima tropical e obtiveron eficiencias de eliminación de  $N-NH_4^+$  superiores ao 95% facendo alimentación batch, e do 80,4% en modo de alimentación continua. Jia et al. (2010) estudaron esta influencia da alimentación intermitente en HCs de fluxo vertical. Aplicaron alimentación continua e alimentación intermitente con diferentes tempos de descanso e obtiveron diferentes eficiencias de eliminación, especialmente mellorou a eficiencia de eliminación do amonio (máis do 90%), o cal pode ser atribuído ao aumento de condicións oxidantes nos HCs. Segundo os estudos desenvolvidos nos últimos anos, a alternativa dos FVM parece ser o sistema máis efectivo para o tratamento de AR de alta carga porque proporcionan o maior contacto e tamén difusión do osíxeno (Saeed e Sun, 2012).

## MULTIALIMENTACIÓN

A multialimentación, alimentación en etapas ou *step-feeding* refírese a alimentación da AR influente en mais de un lugar de entrada ao longo do HC, especialmente cando se trata de AR de alta carga de nitróxeno e pouca materia orgánica, co obxectivo de mellorar a denitrificación e a eliminación de contaminantes (Wu et al., 2014). De esta forma pode aplicarse para mellorar o aproveitamento da área efectiva do humidal, aplicándolle a carga contaminante de xeito uniforme, e retardando tamén así a colmatación xa que os SS non quedan en tanta medida nas fraccións entrantes ao humidal (Wu et al., 2014).

A pesar de que non é unha práctica amplamente estendida no tratamento das AR mediante HCs, atópase literatura ao respecto propoñendo esta estratexia para mellorar a configuración dos HCs, xa que a multialimentación permite controlar a carga do influente distribuíndoa uniformemente e tamén facilitando o tratamento de maiores cargas de influente. (Stefanakis et al., 2011, Hu et al., 2012, Li et al., 2014, Wu et al., 2014).

Así mesmo a multialimentación tamén pode ser aplicada a humidais en varias etapas ou en humidais híbridos, onde a derivación da AR se dirixe á segunda unidade de tratamento. Os obxectivos desta mellora son os mesmos que a derivación do influente nunha única unidade, por unha banda trátase de mellorar a eficiencia de eliminación de contaminantes, especialmente do nitróxeno, ao mesmo tempo que permite achegar unha fonte externa de carbono e tamén tratar maior caudal de AR.

En termos de mellora da denitrificación, Wang et al. (2014) investigaron o efecto da multialimentación na configuración dun HC FV tratando AR de puríns, e a pesar que os resultados non tiveron influencia na maior eliminación de DQO, DBO, SST e PT, si se mellorou a taxa de eliminación de nitróxeno e as emisións de  $N_2O$  diminuíron aplicando

a alimentación en etapas. Sen desviación da alimentación (1:0) a eliminación do NT foi do 10,6%, e ao aumentar o ratio a 1:1, 1:2 e 1:3 a eliminación ascendeu ao rango de 58 – 80 %, sendo a proporción de 1:2 (un terzo do influente derivado a zona media do FV) a que acadou as maiores eficiencias de eliminación. Resultados similares de eliminación do 83% NT acadáronos Hu et al. (2012) en humidais FVM de 4 etapas con unha carga de 20 g N/m<sup>2</sup>·d.

Stefanakis et al. (2011) atoparon óptima a proporción 60:25:15, na que a distribución do influente ao longo do humidal, se reparte en tres puntos coas respectivas porcentaxes de influente total (60, 25 e 15%), empregando así a área total do humidal, permitindo o tratamento de maior carga e sen necesidade de aumentar a área do humidal.

## GRADIENTE VERTICAL

Ding et al. (2014) estudaron os gradientes existentes de condicións ambientais que se crean nas capas do HC e na zona efectiva para o proceso de eliminación de nitróxeno. Demostraron que nos HC FHSS, a capa superior posuía unha maior capacidade para a eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, e que a capa inferior posuía unha maior capacidade de eliminación de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NT.

## 2.4. EFICIENCIA DE ELIMINACIÓN DE AMONIO E NT

A eficiencia de eliminación de Nitróxeno total (NT) rexistrada nos Humidais Construídos (HC) é variable, atopándose desde porcentaxes elevadas de eliminación arredor do 90% ata eliminacións por baixo do 11%, pasando pola consideración de que a eficiencia de eliminación non supera o 50% incluso tendo un deseño óptimo (Ji et al., 2012; Xu et al., 2013). Na Táboa 10 recóllense algunhas opcións de HC híbridos que alcanzan capacidades de tratamento de ata 40 g N/m<sup>2</sup>·d e unha porcentaxe de eliminación na gama de 25 – 95% do NT. Estas son cargas de unha orde de magnitude maior que a dos HCs convencionais que se atopan na gama de 1,4 – 3,5 g N/m<sup>2</sup>·d (Vymazal, 2007).

De feito, non hai HC subsuperficiais convencionais que por sí mesmos acaden a eliminación de todo o NT, debido á súa incapacidade de alternar condicións aerobias e anóxicas para os dous procesos principais de eliminación de nitróxeno: nitrificación e denitrificación, respectivamente (Hu et al., 2014). Polo tanto, como mellorar a eficiencia de eliminación de nitróxeno nos HC converteuse nun punto chave nesta área, encamiñando os estudos cara procesos de deseño máis sofisticados, como os HC híbridos (HCH) ou os HC en etapas, configuracións que inclúen recirculación da auga residual (AR), multialimentación, aireación artificial, entre outros (Tanner et al., 2012; Hu et al., 2014). Ademais de mellorar a eliminación de nitróxeno, estas novas configuracións nos HC tamén teñen o obxectivo de aumentar as cargas aplicadas e reducir a área requirida.

Song et al. (2011) indicaron que para obter as máximas taxas de denitrificación en HC, é necesario ter, por unha banda, as condicións ambientais óptimas, e por outra, as comunidades denitrificantes activas en etapa estabilizada. Mais as taxas de denitrificación reais están restrinxidas pola temperatura, pH, dispoñibilidade de carbono, entre as principais condicións ambientais, e pola etapa de construción do HC, entre o estado das comunidades denitrificantes. Neste caso, aínda que non está claro

canto tempo é necesario para chegar ás condicións apropiadas para que as comunidades bacterianas teñan a máxima actividade de desnitrificación, as principais taxas rexistradas non foron significativamente diferentes entre o primeiro e o segundo ano de operación (Song et al., 2011).

Como se indica na Táboa 10, algunhas configuracións de HCH acadan tratamentos no rango de 10 – 40 g N/m<sup>2</sup>-d, con unha porcentaxe de eliminación de N entre o 40 e o 86%. Estes son resultados para cargas de nitróxeno con unha orde de magnitude maior que a dos HC convencionais que operan no rango de 1,4 – 3,5 g N/m<sup>2</sup>-d (Vymazal, 2007).

Foladori et al. (2013) compararon un HC FV convencional (FV-C) deseñado con área superficial específica de 3,6 m<sup>2</sup>/h.e. con tres HC FV de alta carga con área superficial específica de 1,4 – 1,8 m<sup>2</sup>/h.e.. As tres configuracións usadas nos HC FV de alta carga foron: i) recirculación intermitente (FV-R), ii) aireación artificial intermitente (FV-A), e iii) combinación de ambos (FV-AR). Os resultados atopados foron unha eficiencia de eliminación de NTK alta en todos os sistemas: 72% no FV-R, 74% no FV-A, 76% no FV-AR, e 80% no FV-C, pero o NT eliminado variou do 25% (FV-C), 45% (FV-R), 47% (FV-A), e 71% (FV-AR), polo que tanto a recirculación como a aireación aumentan a taxa de eliminación de NT desde 1,5 g N/m<sup>2</sup>-d no FV-C, ata 6,1 e 5,6 g N/m<sup>2</sup>-d nos FV-R e FV-A, respectivamente, e cando se aplica a combinación de ambos (FV-AR) a eficiencia de eliminación é a mais elevada, acádanse os 8,6 g N/m<sup>2</sup>-d.

Ji et al. (2012) rexistraron taxas de eliminación de NT de 62 – 96% en dous HC multi-medio. Traballaron con VCOS de 3 – 6 g NT/m<sup>2</sup>-d e admitiron cargas de choque ata 28 g NT/m<sup>2</sup>-d durante 4 semanas con porcentaxe de eliminación de 66 – 70% de NT.

Vymazal (2013) enquisou 60 HCHs de 24 países, e atopou que o sistema híbrido máis común é un FV-FHSS que se estivo usando para tratar tanto AR urbana como industrial. Neste estudo, atopouse que os HCH FV-FHSS son lixeiramente máis eficientes na eliminación de amonio que outras configuracións híbridas, incluíndo os sistemas FHSS-FV. Todos os tipos de HCHs son comparables con HC FV de etapa única en termos de eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Os resultados indican que se o N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> é o parámetro obxectivo para a eliminación, a combinación de diferentes tipos de HC nos que se inclúe unha etapa de FV, non ofrece mellora na eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> comparado con un HC FV único. Sen embargo, a taxa de eliminación de NT resultou con un patrón moi diferente ás taxas de eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Os resultados indicaron que os HCHs eliminan substancialmente máis NT que os HC de etapa única, tanto FHSS como FV. A máxima eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NT acadou os 15 e 20 g N/m<sup>2</sup>-d, respectivamente (Vymazal, 2013).

Zhang et al. (2015) fixeron unha revisión dos datos rexistrados en rexións tropicais e subtropicais entre o ano 2000 e 2013. Obtiveron mellores resultados de eficiencia de eliminación de contaminantes en sistemas híbridos, tanto de sólidos e materia orgánica como de nitróxeno (80,7% N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 80,8% N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 75,4% NT) con respecto a HC de etapa única. Algunhas dos rexistros están recollidos na Táboa 10. Atoparon que nos HCs de fluxo vertical teñen maior capacidade de eliminación de m.o. e sólidos que os de FHSS.



Táboa 10. Resultados de eliminación de N en diferentes configuracións de HC SS.

Configuration	Influent COD/TN	NLR (g N/m <sup>2</sup> -day)	TN removal (%)	Reference
Single bed TFCWwith multi-tide	7.5–8.9	28	85–86	Hu et al. (2014)
Single bed TFCWwith recirculation	4.9 <sup>a</sup>	35	43	Wu et al. (2011)
Four-stage TFCWs	4.5–8.8	22–43	64–76	Zhao et al. (2011)
Four-stage TFCWs with step-feeding	7.5	20	83	Hu et al. (2012)
Four-stage hybrid system	18.2	10	75	Kadlec et al. (1997)
Two-stage hybrid system	1.5 <sup>a</sup>	1.1	63	Oovel et al. (2007)
C-VSSF (control)	6.0	6.1	24,6	Foladori et al. (2013)
High load R-VSSF	6.0	13.5	45,2	Foladori et al. (2013)
High load A-VSSF	6.0	11.9	47,1	Foladori et al. (2013)
High load AR-VSSF	6.0	12.1	71,1	Foladori et al. (2013)
FGV <sup>d</sup> + FHSS + FV VCH 100 – 30	6,5 <sup>b</sup>	1,6 – 5,3 <sup>b</sup>	50 – 80 <sup>b</sup>	Tunçsiper et al. (2009)
FGV <sup>d</sup> + FHSS + FV VCH 30 + Recirc.	6,5 <sup>b</sup>	1,6	95 <sup>b</sup>	Tunçsiper et al. (2009)
FGV <sup>d</sup> + FHSS + FV VCH 100 + Recirc.	6,5 <sup>b</sup>	5,3 <sup>b</sup>	60 <sup>b</sup>	Tunçsiper et al. (2009)
FV fluxo ascendente	2.5	8.0	34-54	Bai et al. (2014)
FVM	5.5	2.0	77-79	Bai et al. (2014)
FV multimedia 1	3,05	3 – 6	62 - 96	Ji et al. (2012)
FV multimedia 2	3,05	28	66 - 70	Ji et al. (2012)
HSSF Step-feeding	8.6 <sup>a</sup>	1.3	83	Stefanakis et al., 2011
HSSF+VF CW with recirculation	5.2	7-10	66.0	Ayaz et al. (2012)
Five-stage, step-feeding aerate HSSF	11.8	0.78	88.1	Li et al. (2014)
VF+HSSF+HSF	6.0 <sup>b</sup>	0.80	46	Avila et al. (2013)
VF1 + VF2 + HF (HWF ou HLC) <sup>e</sup>	7,0 <sup>b</sup>	24 <sup>b</sup>	83 (summer HLC)	Molle et al. (2008)
FHSS + FV	9,6	11,11	62,3	Belmont et al. (2004)
FHSS + FV	20,5 <sup>c</sup>	4,70 <sup>c</sup>	69,5 <sup>c</sup>	Singh et al. (2009)
FV + FHSS + FHS + lagoa	5,5 <sup>a</sup>	5,4 <sup>b</sup>	68,9 <sup>b</sup>	Brix et al. (2011)
FV + FHSS	29,5 <sup>b</sup>	0,27 – 2,0 <sup>b</sup>	52,4 <sup>b</sup>	Serrano et al. (2011)
FHSS + lagoa + FV			82 (56 – 88)	Rivas et al. (2011)
FVS <sup>f</sup> + FHSS con recirculación			64,5	Zhai et al. (2011)
FHSS + FHS	275,2	0,39	82,3	Masi et al. (2002)
FV + FHSS + FHS + lagoa	37,7	0,35	90,0	Masi et al. (2002)
FHSS + FV con recirculación	6,3	0,13	66	Brix et al. (2003)

<sup>a</sup> BOD/TN, <sup>b</sup> TKN, <sup>c</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, <sup>d</sup> FGV: Filtro de grava vertical. Segundo explicacións do artigo, considérase a primeira etapa do sistema híbrido de HC, é un FV pero sen plantas. <sup>e</sup> HWF: Horizontal Flow Wide bed/fine media; HLC: Horizontal Flow Long bed/Coarse media. <sup>f</sup> Fluxo Vertical Sinuoso (Vertical Baffled Flow)

No tocante ao nitróxeno, o estudo de Zhang et al. (2015) confirmou que os HCs FV obteñen unha lixeira maior eficiencia na eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (66,0% fronte a 62,6%

nos HCs FHSS) debido principalmente a que a alimentación intermitente permite a transferencia de osíxeno, o cal favorece a biodegradación da m.o. nun ambiente oxidante. Sen embargo son os HCs FHSS os que teñen maior potencial para a redución do  $\text{N-NO}_3^-$  debido as condicións anaerobias, aínda que sorprendentemente neste estudo Zhang et al. observaron eficiencias de eliminación máis baixas nos HCs FHSS (42,5%) fronte aos HCs FV (73,3%). En canto a eficiencia dos HCs de FSS na eliminación do NT xeralmente atópase no rango do 40 ao 55%, dependendo do tipo de HC FSS e da carga aplicada, mais nos estudos revisados por estos autores para este período de tempo, atoparon unha estreita maior eficiencia de eliminación de NT no HCs de FV (53,3%) con respecto aos FHSS (50,0%).

## ESTIMACIÓN DAS TAXAS REAIS DE NITRIFICACIÓN E DENITRIFICACIÓN

Hai diferentes modelos para simular o comportamento dos tratamentos nos HCs que se están a desenvolver por diferentes autores (Langergraber et al., 2009, Meng et al., 2014). Algúns deses modelos están baseados en caixas negras que só toman datos de entrada e saída, por exemplo modelos de regresión, primeira orde, Monod, etc. Outros modelos están baseados no proceso e estudan tamén o funcionamento dos procesos físico-químicos e microbiolóxicos dos humidais.

As taxas de nitrificación e denitrificación e o que cada unha achega a cada etapa da eliminación do N pode estimarse mediante balances de masa baseados na asunción de que a diminución de  $\text{N-NH}_4^+$  se debe á nitrificación, desprezando a perda de N debido a asimilación pola biomasa e polas plantas (Hu et al., 2012). Segundo isto, pode darse un aumento no  $\text{N-NH}_4^+$  (ou valor negativo para a  $\% \text{N-NH}_4^+$  eliminado), o cal implica que se produce mais  $\text{N-NH}_4^+$  na amonificación que o que se reduce na nitrificación. Do mesmo xeito un aumento no  $\text{N-NO}_x^-$  indica que na denitrificación se elimina menor cantidade de  $\text{N-NO}_x^-$  do que se produce na nitrificación.

Hai dous casos de interese: o primeiro, no que todo o nitróxeno do influente se atopa en forma de amonio (neste caso a taxa de decrecemento do amonio coincide coa taxa de nitrificación), e o segundo, no que todo o nitróxeno do influente se atopa en forma  $\text{NO}_x$  (neste caso a taxa de eliminación de  $\text{NO}_x$  será igual á taxa de eliminación de NT, e ambas iguais á taxa de denitrificación).

As taxas de nitrificación e denitrificación que se obteñen mediante balances de masa, infórmannos das taxas reais nun sistema particular e para unhas condicións concretas (T, concentración,  $\text{O}_2$ , POR, pH...). Os ensaios de actividade microbiana feitos en mostras de substrato dan información das taxas de nitrificación e denitrificación potencial en condicións definidas.

## 2.5. MEDIDAS DE ACTIVIDADE MICROBIANA

O crecemento da microbiota, a súa fixación ao medio, e a abundancia de bacterias específicas na transformación do nitróxeno, depende das propiedades do substrato (Meng et al., 2014). Ji et al. (2012) estudaron a distribución de comunidades bacterianas segundo os seus estándares xenéticos en dous tipos de HCs multi-capas, e atoparon unha distribución similar en ambos: *Lactococcus sp.* e *Moraxella sp.* foi a flora dominante na amonificación e denitrificación, e *Acinetobacter sp.* foi a dominante no paso de  $\text{NO}_3^-$  a

$\text{NH}_4^+$ ; e *Bacillus* sp. e  *$\beta$ -Proteobacteria* sp. as dominantes na eliminación de  $\text{NH}_4^+$ . O principal proceso limitante na velocidade de transformación do nitróxeno foi a vía de reacción catalizada polos xenes funcionais de denitrificación.

A eliminación do nitrato tamén pode ser mellorada cando as comunidades denitrificantes se atopan nas condicións ambientais axeitadas, polo que o deseño e operación dos HCs que inflúen nas condicións ambientais son moi importantes, máis incluso que facer inoculación ou manipulación da microbiota (Hathaway et al., 2015; Schipper et al., 2010).

Foladori et al. (2015) estudaron a abundancia de biomasa bacteriana nun HC de fluxo vertical, e atoparon 144 g SSV/m<sup>3</sup>.

Hai dous grupos principais de microbiota relacionados coa oxidación do amonio durante a primeira etapa da nitrificación: as bacterias amonio oxidantes (AOB) e as arqueas amonio oxidantes (AOA). Sims et al. (2012) atoparon que AOA son xeralmente máis abundantes que AOB nos substratos e auga dos HCs FS, tanto no verán como no inverno, e que as AOB semellan máis sensibles ás baixas temperaturas que AOA. A pesar disto, os resultados suxiren que a nitrificación nos HC é dirixida principalmente por AOB.

Hu et al. (2012) mediron a actividade da biomasa heterotrófica (XH) e autotrófica (AOB -*Ammonia oxidization bacteria*-, NOB -*Nitrite oxidization bacteria*-) mediante o test de consumo de osíxeno (OUR -*Oxygen Uptake Rate*), duns 20 – 40 minutos de duración. Rexistrouse o osíxeno disolto (OD) cada 30s e engadíronse substratos e inhibidores (aliltiourea –ATU- para as AOB e azida para as NOB). O OUR determinouse por regresión lineal e expresouse en mgO<sub>2</sub>/L·h. Obtiveron taxas de respiración das AOB e NOB de 5 a 40 mgO<sub>2</sub>/L·h, e empregando o factor de conversión de 4,57mgO<sub>2</sub>/mgN obtiveron actividades de nitrificación no rango de 1 – 10 mgO<sub>2</sub>/L·h.

Xu et al. (2013) mediron a nitrificación e denitrificación potencial usando 100 g de substrato engadíndolle 100mL de solución tampón pH 7,2 con ratio C/N 3:1 ( nos ensaios de denitrificación) e usando glicosa como fonte de carbono.

Lv et al. (2013) estimaron o potencial de nitrificación e denitrificación medindo a intensidade en mostras de pellets/grava dos humidais, que se recolleron a distancia de 0,5 m desde a entrada á saída do humidal a media altura nos HCs FHSS, e nos HCs FVM tomouse a mostra a media altura do medio filtrante principal. O procedemento de traballo que seguiron foi homoxeneizar coidadosamente cada mostra, e engadir 50 g de mostra con solucións estándar específicas en frascos de 250 mL de capacidade. Nos ensaios de denitrificación esta solución levou suficiente nitrato (0,25 g/L) e o resto de compoñentes foron KNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, glicosa, en concentración (g/L) 1,8; 1,6; 4,8; 0,72; respectivamente. Para asegurar a anaerobiose tapáronse os frascos con septums de goma e a continuación incubáronse durante 3 días a 20 °C. Nos ensaios de nitrificación engadiuse suficiente solución de amonio (1,27 g/L) para non ter limitación de amonio na medida da nitrificación potencial. O resto de compoñentes foron (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, en concentracións (g/L) 6,0; 2,7; 7,0; respectivamente. Para permitir o intercambio gasoso coa atmosfera e previr o secado da mostra, os frascos tapáronse con parafilm e a continuación incubáronse durante 24 horas a 20°C axitando a 150 rpm para asegurar unha boa osixenación. En ambos tipos de ensaios mediuse a concentración de nitratos inicial e final para determinar a intensidade da actividade

nitrificante e denitrificante, en función da cantidade de biomasa ( $\text{mg N-NO}_3^-/\text{kg materia seca}\cdot\text{h}$ ).

Zhang et al. (2015) fixeron un estudo para obter taxas de nitrificación potencial (PNR) incubando durante 24 horas as mostras e medindo ao inicio e ao final o  $\text{N-NO}_2$  e  $\text{N-NO}_3$  mediante extracción con KCl. Tamén fixeron experimentos paralelos nos que engadiron ampicilina (1 g/L de concentración final) para separar as arqueas (AOA) e as bacterias (AOB) amonio-oxidantes, xa que este antibiótico de amplo espectro inhibe as bacterias gram + e gram – pero non as arqueas. Estes autores atoparon que a PNR é maior en sedimentos da rizosfera, está asociada a concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  e m.o. dispoñibles, e tamén se atopa relacionada positivamente e significativamente a abundancia de xenes AOA e AOB.

Alguns dos resultados indican resultados de nitrificación potencial no rango de 0,002 e 0,23 mg N/g ST·d, cando se aplican cargas de DQO e amonio menores de 1500 e 120 mg/L, respectivamente, para tratar AR de gandería en HCs FS (Dong et al., 2012).

### **3. TÉCNICAS RESPIROMÉTRICAS EN TRATAMENTO DE AUGAS E HUMIDAIAS CONSTRUÍDOS**

#### **3.1. CONCEPTO E UTILIDADE DA RESPIROMETRÍA**

A respirometría é a medida da velocidade de consumo de oxíxeno nun sistema biolóxico baixo condicións experimentais ben definidas (Spanjers et al., 1999; Andreottola et al., 2007). A velocidade de consumo de oxíxeno obtense a partir de balances de oxíxeno aplicados ao sistema. As respirometrías a miúdo son mostradas mediante os respirogramas (Figura 11 e 12), que son a representación gráfica da taxa de consumo de oxíxeno en función do tempo. Dos respirogramas pode obterse importante información sobre a cinética e estequiometría das reaccións levadas a cabo pola microbiota nas augas residuais (Vanrolleghem et al., 1999; Andreottola et al., 2007).

Ortigara et al. (2011) distinguen catro fases principais nun respirograma (Figura 11), comezando pola de respiración endóxena inicial, á que lle segue un aumento rápido do consumo de oxíxeno xusto despois da adición do substrato, que continúa co seu rápido decrecemento unha vez consumido o substrato. En terceiro lugar distínguese unha fase de decrecemento lento da velocidade de consumo de oxíxeno debido á utilización dos compostos almacenados, ata que finalmente se acada unha nova fase de respiración endóxena.

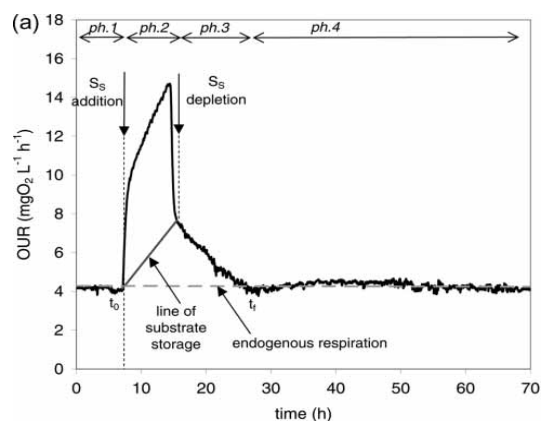


Figura 11. Representación de un respirograma despois da adición de 187 mg DQO/L de acetato ( $S_s$ ), distinguindo 4 fases en función do consumo de oxígeno (Ortigara et al., 2011).

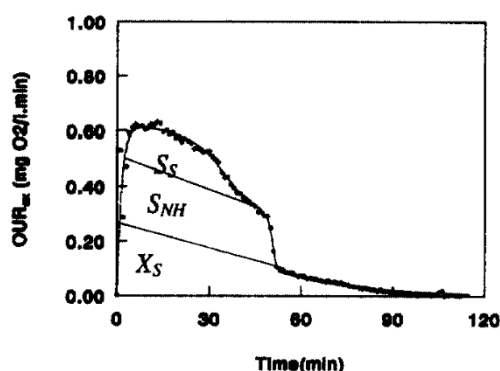


Figura 12. Interpretación de distintos tipos de substratos nun respirograma (Vanrolleghem et al., 1999).

De acordo coa Táboa 11, a respirometría pode aplicarse co obxectivo de caracterizar o substrato (determinando a concentración dos compoñentes presentes), a biomasa microbiana, ou parámetros estequiométricos e cinéticos do proceso de conversión. As características do substrato e do sistema empregados, xunto coas condicións de operación determinarán que se poidan obter ou non algúns destes parámetros. Pódense asumir parámetros da literatura especificados para HCs, aínda que, tal e como indican Ortigara et al. (2011), algúns destes parámetros cinéticos e estequiométricos relacionados cos procesos biolóxicos nos HCs non deben ser tomados como universais, pois están influenciados por diferentes factores, como pode ser a composición da AR, as propiedades da grava/medio filtrante, as estratexias de operación, etc.

Táboa 11. Aplicacións das técnicas respirométricas no tratamento de augas residuais (Spanjers et al., 1999; Vanrolleghem et al, 1999; Almeida e Butler, 2002; Ortigara et al., 2011).

Caracterización AR (determinación da concentración de determinados compoñentes):

- Substrato orgánico facilmente biodegradable,  $S_s$
- Substrato orgánico lentamente biodegradable,  $X_s$
- Substrato amoniacal,  $S_{NH}$
- Nitróxeno orgánico ( $S_{ND}$ ) e Nitróxeno orgánico lentamente biodegradable ( $X_{ND}$ )
- Biomasa heterotrófica,  $X_{BH}$
- Biomasa autotrófica,  $X_{BA}$

---

Caracterización de compoñentes da biomasa (lodo, biofilm, sólidos en humidais, etc):

- Biomasa heterotrófica,  $X_{BH}$
- Biomasa autotrófica,  $X_{BA}$
- Substrato orgánico lentamente biodegradable,  $X_s$

Parámetros estequiométricos:

- Coeficiente de rendemento heterotrófico,  $Y_H$
- Coeficiente de rendemento autotrófico,  $Y_A$
- Coeficiente de rendemento de almacenamento,  $Y_{STO}$
- Cantidade de oxíxeno total necesario para a oxidación dun substrato externo ( $\Delta O_2$ )

Parámetros cinéticos:

- Coeficiente de decaemento da biomasa heterotrófica,  $b_H$
  - Coeficiente de decaemento da biomasa autotrófica,  $b_A$
  - Velocidade específica máxima de crecemento heterotrófico,  $\mu_{mH}$
  - Velocidade específica máxima de crecemento autotrófico,  $\mu_{mA}$
  - Constante de afinidade da biomasa heterotrófica,  $K_s$
  - Constante de afinidade da biomasa autotrófica,  $K_{NH}$
  - Constantes de hidrólise: velocidade máxima ( $kh$ ), constante de afinidade ( $Kx$ ), ou constante de primeira orde ( $kh/Kx$ )
  - Velocidade máxima de consumo de oxíxeno, segundo o substrato engadido ( $VCO_m$ )
  - Velocidade máxima de eliminación de materia orgánica facilmente biodegradable (con auga residual urbana (ARU), con acetato), lentamente biodegradable (con ARU), e de amoníaco ou nitrificación (con ARU, con amoníaco)
  - Tempo requirido para a eliminación completa dun substrato externo
- 

As taxas de respiración da microbiota presente no sistema represéntanse pola Velocidade de Consumo de Oxíxeno (VCO, ou do inglés OUR, Oxygen Uptake Rate;  $mg\ O_2/L\cdot h$ ). A velocidade de consumo de oxíxeno por unidade de área dun HC ten un significado físico importante, xa que está relacionada coa velocidade de carga superficial (VCS, ou do inglés SLR, surface loading rate) ou coa velocidade superficial de eliminación de substrato (VSE, ou do inglés SRR, surface removal rate). Dun respirograma obtense a respiración endóxena levada a cabo pola microbiota presente no sistema en ausencia de substrato, e esóxena para cada tipo de substrato engadido, incluíndo a máxima velocidade acadada.

A velocidade de respiración endóxena ( $VCO_{end}$ ) obtense a partir da respiración antes de engadir o substrato e despois de terse esgotado. Pódese obter unha regresión lineal, comezando desde o final e movéndose cara atrás até alcanzar a parte activa do respirograma. A pendente da liña base compárase cun valor de referencia. O mesmo pode facerse na zona anterior á adición do substrato. Na Figura 11 obsérvase que a respiración endóxena do sistema se atopa arredor dos  $4\ mg\ O_2/L\cdot h$ , nese caso concreto.

A velocidade de respiración exóxena ( $VCO_{exo}$ ) ten lugar cando se produce un incremento progresivo da VCO debido á adición dun substrato externo, resultando elevada a relación  $S_s/X_B$ . Nas ARUs o contido en biomasa microbiana autotrófica é xeralmente reducida inicialmente, polo que o proceso dominante é a oxidación biolóxica do carbono. Segundo o substrato engadido e a dispoñibilidade de oxíxeno no sistema, determinarase a poboación microbiana, que segundo a súa abundancia acadará unha diferente velocidade máxima de consumo de oxíxeno ( $VCO_m$ ).

Nestas condicións, a relación  $S_s/X_B$  resulta elevada e isto conduce a un crecemento relativamente importante da biomasa existente inicialmente, o que se reflicte no incremento progresivo da VCO.

Spanjers et al. (1999) indica que os ensaios de respirometría deben observar, entre outras, as seguintes condicións:

- A auga residual e/ou o lodo deben ser representativos do sistema que se quere estudar.
- O respirómetro debe estar correctamente calibrado.
- A temperatura e o pH deben permanecer constantes. Neste sentido, Ortigara et al. (2011) mostran como se poden aceptar pequenas variacións de temperatura e aplicar unha corrección baseada na ecuación de Arrhenius, tal que:

$$VCO_{20^{\circ}C} = VCO_t / 1,08^{(T-20^{\circ}C)}$$

- Ter datos suficientes para elaborar a curva respirométrica con suficiente exactitude. Para isto polo menos serán necesarios 5 – 10 puntos para cada substrato identificado, e para o respirograma total uns 30 – 50 puntos, incluíndo a respiración endóxena antes e despois da alimentación.
- A liña base de respiración endóxena debe estar claramente determinada. Para isto, a medición da respiración debe iniciarse antes de engadir o substrato, comprobar que se alcanza o estado endógeno, continuar o experimento até o esgotamento de todo o substrato, e alcanzar de forma clara a nova liña base de respiración endóxena. Almeida e Buttler (2002) establecen un tempo de 24 horas para determinar a respiración endóxena, a partir do que engaden os substratos para levar a cabo os respirogramas. Porén, se pretendemos determinar a biomasa heterotrófica aerobia presente nun lodo anaerobio, debemos ter en conta que durante ese período previo podería darse un crecemento significativo da mesma.
- Corrección segundo o volume de referencia. Cando a adición do substrato (por exemplo auga residual,  $V_{AR}$ ) causa unha dilución no volume líquido total ( $V_L$ ), este efecto débese ter en conta xa que afecta ao nivel de respiración endóxena e os parámetros de concentración derivados obtéñense directamente para a concentración no medio de ensaio (volume  $V_L$ ) e multiplícanse por un factor de dilución ( $V_L/V_{AR}$ ) para referilos á concentración na auga residual. Un exemplo é a determinación da DQO facilmente biodegradable:

$$S_s \text{ (mgCOD/L)} = \Delta O_2 / (1 - Y_H) \cdot (V_L/V_{AR}).$$

- Deben aplicarse balances por combinación de datos obtidos da caracterización físico-química e dos parámetros obtidos do respirograma. Por exemplo, obter a demanda biolóxica total de oxíxeno do substrato engadido, a partir da área baixo o respirograma, e comparala co valor analítico previo.
- Cando se aplican substratos complexos, para a aplicación do método de “extracción directa de parámetros” compre proceder á descomposición do respirograma nos seus compoñentes, o que se fai a través da identificación dos puntos de inflexión da curva. Rexítanse os compoñentes cunha probabilidade (valor relativo da área) demasiado baixa.

- Co obxectivo de estudar só os compoñentes de biomasa heterotrófica, pode inhibirse a nitrificación. Andreottola et al. (2002) engadiron 10 mg de aliltiourea/L no inicio das respirometrías para avaliar a fracción heterotrófica activa mediante un ensaio dobre (unha respirometría con auga residual, e outra con auga residual e lodo activo).

Spanjers et al. (1999) comparan o emprego dun método de extracción directa do parámetros da respirometría co resultado de aplicar unha simulación baseada no modelo ASM1 (Activated Sludge Model Nr. 1). A extracción directa é un método simple e sinxelo que evita as complicacións típicas dos métodos que empregan modelización. Baséase na descomposición do respirograma en diversos compoñentes simples, a través da identificación dos puntos de inflexión para obter os parámetros cinéticos e as concentracións dos compoñentes. Os parámetros cinéticos de Monod poden obterse por linealización dos datos ou por regresión non lineal arredor dos puntos de inflexión. Entre os parámetros que obteñen atópase a velocidade máxima de proceso ( $V_{COm}$ ) e a constante de afinidade ( $K_s$ ). Almeida e Butler (2002) empregan a curva de consumo de oxíxeno acumulado para identificar os puntos de inflexión que marcan o final do consumo dun determinado substrato. Tamén Lagarde et al. (2005) indican que “as respirometrías se converteron nunha ferramenta amplamente utilizadas, a pesar dos problemas de interpretación dos resultados”.

Nunha respirometría obtemos por integración da área baixo a curva do respirograma, ou dunha parte desta área identificada cun determinado proceso, o valor da cantidade de oxíxeno ( $\Delta O_2$ ) necesario para levar a cabo ese proceso, expresada en mg  $O_2/L$  de medio líquido contido no respirómetro.

Na Táboa 12 recóllense os resultados de parámetros cinéticos e estequiométricos atopados na bibliografía, tendo en conta as metodoloxías seguidas polos diferentes autores.

## ECUACIONES DE PROCESO

De acordo co modelo ASM1, a velocidade de respiración total da biomasa nun sistema descontinuo é:

$$r_{tot} = dS_{O_2}/dt = VCO = [(1 - Y_H)/Y_H] \cdot \mu_H \cdot X_{BH} + [(4,57 - Y_A)/Y_A] \cdot \mu_A \cdot X_{BA}$$

e a velocidade de crecemento da biomasa (X):

$$r_X = dX/dt = (\mu - b) \cdot X$$

ecuacións que xenericamente se poden integrar na seguinte forma:

$$X = X_0 \cdot e^{(\mu - b) t}$$

Estas ecuacións aplican tanto a biomasa heterotrófica ( $X_H$ ) como autotrófica ( $X_A$ ), por separado. En condicións de non limitación de oxíxeno, nas ecuacións anteriores aplica:

$$\mu_H = \mu_{mH} \cdot S_S / (K_S + S_S)$$

$$\mu_A = \mu_{mA} \cdot S_{NH} / (K_A + S_{NH}), \text{ sendo } S_{NH} \text{ a concentración de amoníaco.}$$



### 3.2. APLICACIÓN DE TÉCNICAS RESPIROMÉTRICAS EN HUMIDAIOS CONSTRUIDOS

Consideramos que o obxectivo principal da aplicación deste tipo de técnicas aos humidais construídos radica na caracterización dos humidais como sistema biolóxico de tratamento (biomasa, ecosistema, procesos, etc). A caracterización do substrato (AR) pode considerarse secundaria, e non debería variar moito cando utilizamos unha respirometría de lodos activados, da dun lodo ou medio filtrante procedente dun humidal, ou nun sistema que simula un humidal (columnas). Porén, é obvio que os parámetros cinéticos derivados da respirometría para a caracterización do substrato están condicionados polas características da biomasa empregada e da súa concentración, e tamén das características de operación do sistema, polo que a realización de respirometrías con auga residual real e biomasa procedente de humidais pode ofrecer información específica adicional. Por outra banda, os parámetros estequiométricos ( $Y_H$  e  $Y_{STO}$ ) adoitan ser similares porque son parámetros independentes da cantidade de biomasa presente (Ortigara et al., 2011).

Aínda que os métodos respirométricos foron amplamente utilizados para estudos cinéticos e estequiométricos con lodos activos e outros sistemas biolóxicos como os de compostaxe, só moi recentemente foron propostos para a súa aplicación a humidais construídos de fluxo vertical (Andreottola et al., 2007; Ortigara et al., 2010, 2011; Morvannou et al., 2010, 2011). Coa excepción destes estudos, a caracterización dos humidais limitábase á cuantificación de diversas fraccións de sólidos extraídas dos humidais e a determinar a súa biodegradabilidade aerobia mediante o ensaio de demanda biolóxica de oxíxeno estándar así como a biodegradabilidade anaerobia (Puigagut et al., 2007; Corzo et al., 2008). Estes ensaios foron utilizados recentemente para diferenciar as fraccións máis facilmente biodegradable e lentamente biodegradable dos sólidos acumulados nos humidais (Carballeira et al., 2016). Sen embargo, o ensaio de  $DBO_5$  non é de utilidade para a obtención de parámetros cinéticos de degradación dos principais substratos nos humidais, nin para a caracterización dos principais tipos de biomasa.

Táboa 12. Algúns valores bibliográficos para diferentes parámetros cinéticos e estequiométricos.

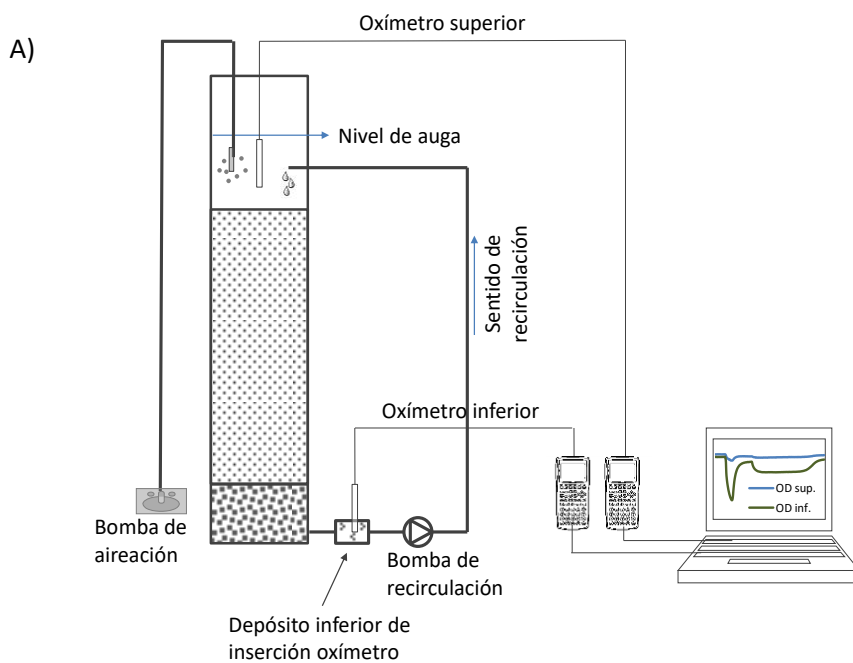
Autor	Rango (valor recomendado)	Observacións
<b>Coefficiente de decaemento da biomasa hetrotrófica, <math>b_H</math> (<math>d^{-1}</math>)</b>		
Andreottola et al., 2002	0,1 - 0,6 (0,62)	
Ortigara et al., 2011	0,0012 0,384	- Humidais en columnas de laboratorio - Lamas activas
Karahan-Gül et al., 2002	0,2	
Lagarde et al., 2005	0,62	ASM1
<b>Coefficiente de decaemento da biomasa autotrófica, <math>b_A</math> (<math>d^{-1}</math>)</b>		
Dold, 2005	0,17	Citado en Morvannou et al., 2011
<b>Coefficiente de rendemento heterotrófico, <math>Y_H</math> (gDQO-B/gDQO-S)</b>		
Almeida et al., 2002	0,57	
Lagarde, 2005	(0,63)	
Karahan-Gül et al., 2002		
Spanjers et al., 1999	(0,67)	
Andreottola et al., 2002		

Andreottola et al., 2007		
Ortigara et al., 2011	0,56 - 0,59 (0,575)	Columnas de laboratorio
Brouwer et al., 1998	0,50	Ensaïos en batch con lodos activos
Gilbert et al., 2005		Ensaïos en batch con medio filtrante obtido de columnas de laboratorio
Spérandio e Etienne, 2000	0,62 – 0,67 (0,66)	Ensaïos en batch
Strotmann et al., 1999	0,79 – 0,85 (0,82)	Para glicosa en lamas activadas
	0,61 – 0,67 (0,64)	Para acetato en lamas activadas
	0,75 – 0,79	Para ARU en lamas activadas
<b>Coefficiente de rendimento autotrófico, <math>Y_A</math> (gDQO-B/gDQO-S)</b>		
Spanjers et al., 1999	0,24	Simulación ASM1
Brouwer et al., 1998	0,36 – 0,56	Ensaïos en batch con lodos activos
<b>Coefficiente de rendimento de almacenamiento interno (<math>Y_{STO}</math>) (gDQO-STO/gDQO-S)</b>		
Ortigara et al., 2011	0,75 - 0,77	Columnas de laboratorio
Karahan-Gül et al., 2002	0,78 / 0,96 (acetato / ARU)	Ensaïos en batch con lodos activos (ASM 3)
<b>Velocidade específica máxima de crecimiento heterotrófico, <math>\mu_{mH}</math> (d<sup>-1</sup>)</b>		
Almeida et al., 2002	6,3	Refírese a $\mu_H$ , non máxima
Andreottola et al., 2002	5,6 ; 3,5	Respirometría en biorreactores con AR e con AR+lama, respectivamente.
Andreottola et al., 2005	6,3 – 8,8	ASM2
Karahan-Gül et al., 2002	2,0	Ensaïos en batch con lodos activos (ASM 3)
Lagarde et al., 2005	1,90	ASM1
Táboa 2. (continuación)		
<b>Velocidade específica máxima de crecimiento autotrófico, <math>\mu_{mA}</math> (d<sup>-1</sup>)</b>		
Morvannou et al., 2011	0,888	Respirometrías en estado sólido
<b>Velocidades de respiración endóxena, <math>VCO_{end}</math> (mgO<sub>2</sub>/L·h)</b>		
Andreottola et al., 2007	6 - 10	
Ortigara et al., 2011	4 - 5	Columnas de laboratorio
Strotmann et al., 1999	11 - 18	En lamas activadas
<b>Velocidade de respiración máxima, <math>VCO_m</math> (mgO<sub>2</sub>/L·h)</b>		
Ortigara et al., 2011	11,6	$VCO_{exo}$ para m.o. facilmente biodegradable
	18,5	Columnas de laboratorio
Andreottola et al., 2007	22,0	Ensaïos con lodos en batch
Gilbert et al., 2005	15,0 – 45,0	Columnas de laboratorio. Substrato ARU
		Ensaïos en batch con medio filtrante (30 – 120 g/500mL) obtido de columnas de laboratorio
Nivala et al., 2012	12,9	- $VCOS_m$ en humidais de FH
	58,6	- $VCOS_m$ en humidais de FV
Strotmann et al., 1999	42 – 68	En lamas activadas
<b>Velocidades de respiración autotrófica, <math>VCO_a, r_{mA}</math> (mgO<sub>2</sub>/L·h)</b>		
Spanjers et al., 1999	48 – 68 (56)	Simulación ASM1
<b>Velocidades de respiración heterotrófica, <math>VCO_h, r_{mH}</math> (mgO<sub>2</sub>/L·h)</b>		
Spanjers et al., 1999	(125)	Simulación ASM1
<b>Fración inerte da biomasa, <math>f_{XI}</math></b>		
Lagarde et al. (2005)	(0,2)	Cita Gujer et al., 1999

<b>Constante de afinidade da biomasa heterotrófica, <math>K_s</math> (mgDQO/L)</b>		
Spanjers et al., 1999	5 – 20 (20)	Simulación ASM1
Karahan-Gül et al., 2002	2	Ensaio en batch con lodos activos (ASM 3)
Spérantio e Etienne, 2000	0,1 – 0,9	Relación $S_0/X_0$ alta
<b>Constante de afinidade da biomasa autotrófica, <math>K_{NH}</math> (mgN/L)</b>		
Spanjers et al., 1999	0,3 – 1,5 (1,0)	Simulación ASM1

En relación cos humidais construídos, a respirometría pode realizarse nos seguintes sistemas:

- Directamente nunha columna de tratamento, que foi operada previamente simulando un humidal construído (Figura 13A).
- Nunha columna que se acaba de cargar cunha mostra de medio (grixo, area) procedente dun humidal externo (Figura 13A).
- Co medio filtrante extraído dun humidal externo (Figura 13B).
- Cos sólidos extraídos do medio filtrante dun humidal externo (Figura 13B).
- En fase sólida, simulando os humidais de leito non saturado (Figura 13C).



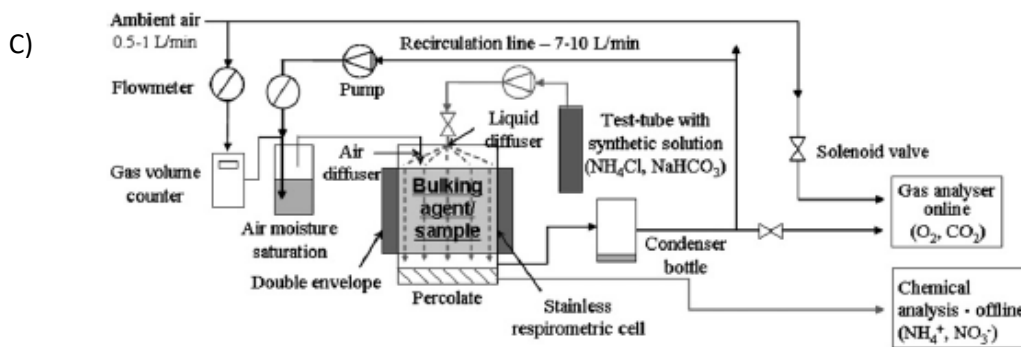
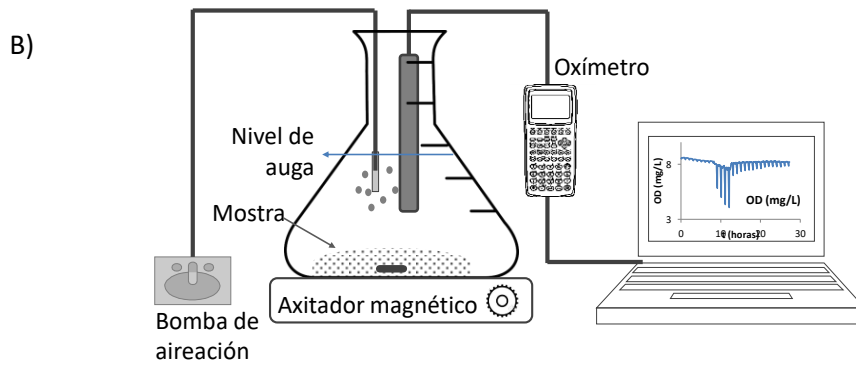


Figura 13. Configuracións de ensaios respirométricas: A) en columnas de simulación de humidais construídos; B) en matraz con mostra de area e/ou grixo do medio filtrante dos HCs; C) en fase sólida, simulando HCs non saturados (Morvannou et al., 2011).

En calquera dos casos, podemos considerar os seguintes elementos para a realización dun experimento de respirometría:

1. Estabilización inicial, por aireación sen adición de substrato e até alcanzar a respiración endóxena. O seguimento do consumo de  $O_2$  durante este proceso podería utilizarse para cuantificar a concentración de substrato residual no sistema, maiormente materia orgánica de lenta biodegradabilidade, ou mesmo pequenas fraccións facilmente biodegradables. Finalmente, tamén permitirá determinar o coeficiente de decaemento heterotrófico.
2. Adición de substratos específicos, por separado ou xuntos, e seguimento do consumo de oxíxeno até alcanzar de novo a respiración endóxena (non sempre se require chegar de novo á respiración endóxena, pero pode ser necesario, segundo os obxectivos e condicións dos ensaios). Os substratos poderían ser:
  - ARU sintética ou real
  - Acetato
  - Amoníaco
  - Glicosa
  - Materia orgánica hidrolizábel ou lentamente biodegradábel (SS dunah AR, SS acumulados nun humidal, amidón, ...)

Como interpretan Ortigara et al. (2011), para un un respirograma obtido en columnas de laboratorio a 20°C (con corrección da temperatura) engadindo 187 mg DQO/L en forma de acetato ( $S_s$ ), pódense distinguir catro fases principais (Figura 11):

- Fase 1: respiración endóxena inicial ( $VCO_{end} = 4 - 5 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ ).
- Fase 2: aumento rápido da VCO xusto despois da adición do  $S_s$  (pico de VCO de 14,5 – 32  $\text{mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ ), e rápido decrecemento da VCO despois do consumo do  $S_s$ .
- Fase 3: decrecemento lento da VCO debido á utilización dos compostos almacenados, ata que se acaba unha nova respiración endóxena.
- Fase 4: respiración endóxena ( $VCO_{end} = 4 - 5 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ ).

A interpretación do respirograma require sempre información adicional, ben relativa ao substrato engadido, ben ás capacidades relativas do lodo ou sistema para cada proceso (capacidade de oxidación heterotrófica, autotrófica (nitrificante), desnitrificante, etc.). Por isto, cando se traballe con substratos complexos ou mixtos (auga residual) será preciso unha caracterización química o máis completa dos mesmos. No caso de empregarmos substratos puros por separado (acetato, amoníaco...) deberemos coñecer exactamente as cantidades engadidas.

Ademais, no caso de substratos complexos, a interpretación do respirograma baséase na identificación da forma da curva de consumo de oxíxeno. A curva só é interpretable cando se coñece información adicional sobre o substrato (compoñentes e concentracións) e sobre a biomasa, e sempre e cando os diversos compoñentes se atopan en proporcións axeitadas para que todos teñan suficiente probabilidade (área relativa, Spanjers et al., 1999). Nestes casos, tendo en conta ademais que o respirograma é o resultado dun proceso, será de utilidade coñecer a concentración dos diversos compoñentes ao inicio e ao final do experimento respirométrico.

### 3.2.1 RESPIROMETRÍAS EN COLUMNAS SIMULANDO HCs

A aplicación das técnicas respirométricas para determinar a oxidación do substrato carbonáceo ou a nitrificación empregando columnas de simulación de humidais de FV foi proposto por Andreottola et al. (2007). Ortigara et al. (2011) tamén fixeron respirometrías en columnas de laboratorio e en batch, con substratos puros (acetato e/ou amoníaco) para determinar diferentes parámetros cinéticos e estequiométricos dos que se recollen na Táboa 2.

As figuras 14 e 15 (Andreottola et al., 2007) ilustran a modo de exemplo a aplicación deste método. Para obter os respirogramas empréganse dous eléctrodos de oxíxeno disolto (OD), un situado na parte superior da columna (entrada do caudal recirculado) e outro na zona inferior (saída). Estes autores describen ademais o método para o cálculo do respirograma ou curva de variación da velocidade de consumo de oxíxeno (VCO) (ou oxygen uptake rate, OUR), que ten en conta a diferenza de oxíxeno antes e despois de atravesar o leito filtrante, e o tempo de retención hidráulico aplicado segundo o caudal de recirculación.

O procedemento de Andreottola et al. (2007) baséase no método de extracción directa de parámetros (Vanrolleghem et al., 1999; Spanjers et al., 1999). Porén, Andreottola et al. (2007) non dan outra explicación dos cálculos, nin falan da identificación dos puntos de inflexión. Este exemplo corresponde a unha respirometría realizada con auga residual

como substrato. A Figura 15 suxire que fan uso dunha extrapolación gráfico-visual da tendencia das curvas desde o final cara ao comezo, xunto, por suposto, coa información sobre o substrato obtida das análises físico-químicas. En relación con este aspecto, podemos preguntarnos por que a curva que extrapola o proceso de nitrificación (Figura 15, en azul) ten inicialmente unha pendente decrecente, cando a lóxica indica que debería ser crecente.

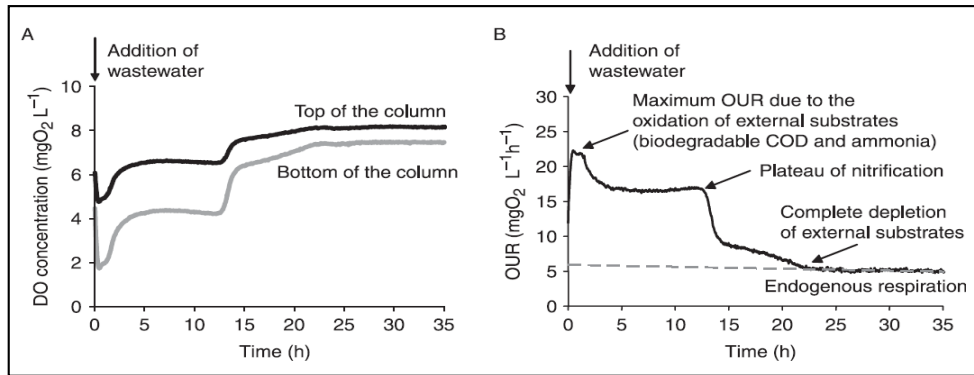


Figura 14. (A) Dinámica da concentración de OD na parte superior e inferior da columna durante unha respirometría con aireación; (B) Dinámica da VCO na columna (Andreottola et al., 2007).

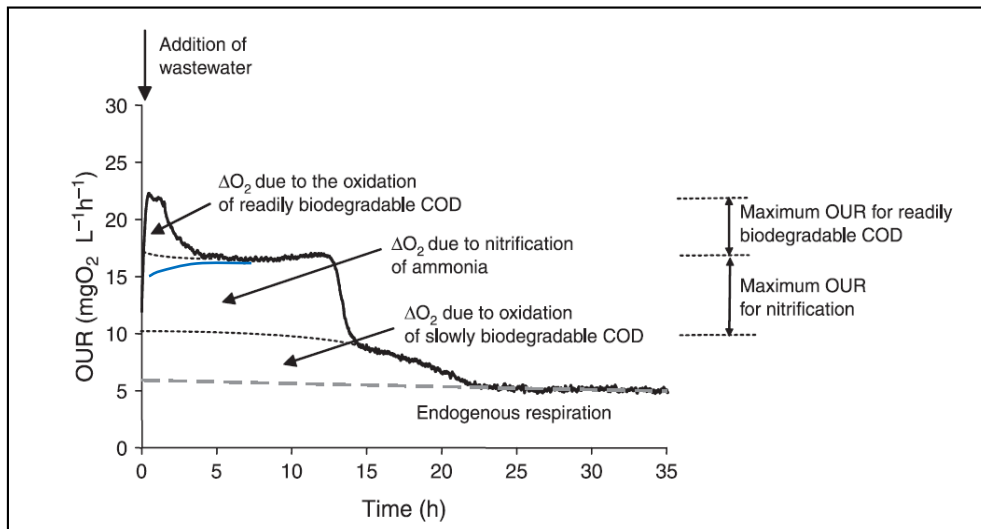


Figura 15. Alícuotas de  $\Delta\text{O}_2$  requiridas para a oxidación da DQO rápida e lentamente biodegradable e a nitrificación (Andreottola et al., 2007). O tramo azul pintado por nós.

De acordo coa Figura 12 para lodo activado, Vanrolleghem et al. (1999) proceden de forma algo diferente para a identificación de áreas (en relación a Andreottola et al., 2007), extrapolando en liña recta a tendencia da curva que continúa unha vez rematado o substrato do proceso anterior. O método parece pouco preciso. Por exemplo, non se xustifica o criterio da extrapolación lineal da velocidade de consumo de oxíxeno polo substrato lentamente biodegradábel ( $X_s$ ) que se fai na Figura 12, en vez do tipo de extrapolación realizada na Figura 15.

Vanrolleghem et al. (1999) suxiren ademais que o método de aplicar un modelo global é mellor, pero moi complexo, polo que parece habitual preferir os métodos de extracción directa, ou optar por experimentos simplificados con substratos puros. De acordo con estes autores, a área total baixo o respirograma na Figura 12 correspondería a oxidación do substrato orgánico ( $S_s$ ,  $X_s$ ) e nitroxenado ( $S_{NH}$ ,  $S_{ND}$ ,  $X_{ND}$ ; onde  $S_{ND}$  e  $X_{ND}$  son o nitróxeno orgánico fácil e lentamente biodegradable), mais como indican os autores, o gráfico permite identificar unicamente os tres primeiros. Vanrolleghem et al. (1999) tamén indican que o punto final do intervalo de integración é o instante final no que se ten esgotado o correspondente substrato. Identificado ese punto, a integral pode entón obterse por un método gráfico, empregando unha folla de cálculo. Así, por integración da área baixo a curva do respirograma, ou dunha parte desta área identificada cun determinado proceso, obtemos o valor da cantidade de oxíxeno ( $\Delta O_2$ ) necesario para levar a cabo ese proceso, expresada en mg  $O_2/L$  de medio líquido contido no respirómetro.

Cando se empregan substratos complexos, como son as augas residuais reais ou sintéticas, é necesario poder separar os principais procesos individuais para obter información adicional do respirograma, asinando unha curva e unha fracción do consumo de oxíxeno a cada proceso pendente. Por tanto, estes problemas de identificación de procesos parciais son comúns tanto a respirometría en sistemas clásicos (lodos activados, etc) como á aplicación de respirometrías nos sistemas de columnas que simulan humidais construídos.

Nestes últimos, porén, aparecerán problemas adicionais, tais como:

- i) os relacionados coa necesidade de manter unha concentración non limitante de oxíxeno en todo o sistema (o que pode requirir un alto caudal de recirculación),
- ii) os efectos dunha clara desviación en relación cun sistema de mestura completa, que so poderá ser aceptado para aqueles procesos nos que as variacións que teñen lugar fano nun tempo suficientemente maior que o TRH da columna en recirculación,
- iii) o feito de non poder elixir con facilidade a cantidade de biomasa presente no proceso,
- iv) os efectos relacionados con posíbeis desviacións no calibrado dos eléctrodos, acentuados polo feito de empregarmos dúas unidades simultaneamente.

### 3.2.2. RESPIROMETRÍA EN ESTADO SÓLIDO PARA HCs FV

Morvannou et al. (2011) obteñen as velocidades de nitrificación a partir da VCO máxima ( $DRI_{max}$ ,  $(dO_2/dt)_{max}$ , [mg $O_2$ /kg $_{DM}$ ]) e do consumo de oxíxeno durante o proceso ( $dO_2/dt$ , [mg $O_2$ /kg $_{DM}$ /h]) medido en respirómetros con mostras de humidais de FV en estado sólido, co obxectivo de aplicar as condicións de semi-saturación propias destes sistemas.

$$\frac{dO_2}{dt} = -\frac{4.57 - Y_A}{Y_A} \mu_{A,max} \cdot \frac{C_{O_2}}{K_{ANS,O_2} + C_{O_2}} \cdot \frac{C_{NH_4}}{K_{ANS,NH_4} + C_{NH_4}} \cdot \frac{C_{IP}}{K_{ANS,IP} + C_{IP}} \cdot C_{XA}$$

$$\left( \frac{dO_2}{dt} \right)_{max} = -\frac{4.57 - Y_A}{Y_A} \mu_{A,max} \cdot C_{XA} = DRI_{max} = R_{s,max} = \rho \cdot R_{v,max} ]$$

A determinación de  $dO_2/dt$  require o uso de catro concentracións variables: de oxíxeno ( $C_{O_2}$ , mg  $O_2/L$ ), de amonio ( $C_{NH_4}$ , mg N/L), de fósforo inorgánico ( $C_{IP}$ , mg P/L) e de biomasa ( $C_{XA}$ , mg  $COD_{biomass}/kgDM$ ), e tamén dos seguintes cinco parámetros:

- Velocidade específica máxima de crecemento autotrófico ( $\mu_{A \max}$ ,  $h^{-1}$ ),
- Coeficiente de rendemento autotrófico ( $Y_A$ , [g  $COD_B/g$   $NH_4^+-N_{nitrified}$ ]),
- Coeficientes de saturación: de oxíxeno ( $K_{ANS;O_2}$ , [mg  $O_2/L$ ]), nitróxeno ( $K_{ANS,NH_4}$ , [mg  $NH_4-N/L$ ]), e fósforo inorgánico ( $K_{ANS,IP}$ , [mg P/L]).

En condicións de non limitación de oxíxeno, nitróxeno e fósforo, obtense a expresión para o cálculo da  $DRI_{\max}$ , que permite determinar a taxa de nitrificación máxima ( $R_{s,\max}$  [mg  $O_2/kg_{DM}/h$ ]), relacionada coa taxa de nitrificación volumétrica máxima ( $R_{V,\max}$  [mg  $O_2/L_{sample}/h$ ]) tendo en conta a concentración de sólidos no medio ( $r$  [g $_{DM}/L_{sample}$ ]). Para este cálculo empregan o factor de conversión de 4,3 g  $O_2$  consumidos por 1 gN- $NH_4$  nitrificado ( $=4,57 - Y_A$ ). De este modo, calculan a concentración de biomasa autotrófica a partir do balance de nitróxeno eliminado e o coeficiente de rendemento. Obteñen  $X_{BA} = 123$  mgDQO/L e outros resultados recollidos na Táboa 12. Estes autores atoparon diferenzas na reacción da biomasa nitrificante aplicando este método en sólido con respecto a ensaios en batch con condicións líquidas, de ata 5 – 30 mg  $O_2/kg_{DM}\cdot h$ , polo que suxiren que a respirometría en sólido é máis apropiada para determinar a nitrificación en sistemas de saturación parcial como os de FV, aínda que é unha metodoloxía máis complexa de implementar.

### 3.3. APLICACIÓN DIRECTA DA RESPIROMETRÍA A AUGAS RESIDUAIS

Citando diferentes autores, Vanrolleghem et al. (1999) indican que se pode realizar a respirometría consistente en airear directamente un volume de auga residual bruta, sen inóculo, durante unhas 20 h. Obtense un respirograma como o da Figura 16, no que o intervalo de consumo do substrato facilmente biodegradable vai desde o inicio até o punto de descenso brusco da velocidade de respiración. Permite obter  $S_s$ ,  $Y_H$ ,  $X_{BH}$  e quizás outros parámetros. Nestas condicións, a relación  $S_s/X_B$  resulta elevada e isto conduce a un crecemento relativamente importante da biomasa existente inicialmente, o que se reflicte no incremento progresivo da VCO. Por outra banda, nas augas residuais urbanas o contido en biomasa microbiana autotrófica é moi reducida, inicialmente, polo que o único proceso é da oxidación biolóxica do carbono.

Por todo isto, podemos considerar que este método pode ser de aplicación ás columnas que simulan humedais construídos cando a biomasa destes non sexa moi elevada e cando a presenza de biomasa autotrófica (nitrificante) sexa tamén reducida.

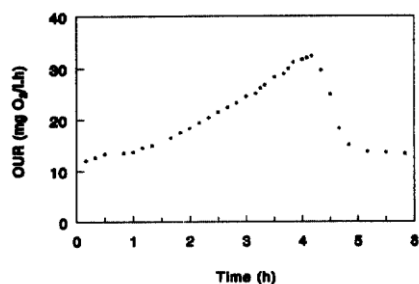


Figura 16. Respirometría directa dun volume de auga residual bruta (Vanrolleghem et al., 1999).



Almeida e Butler (2002) empregan un sistema similar para determinar  $S_s$  e  $X_{BH}$  en augas residuais e os procesos que teñen lugar nos sumidoiros e redes de transporte da auga residual. Indican que en xeral para a respirometría é complicado identificar e separar procesos relevantes baixo condicións de limitación de substrato, ao basearse tan só en medicións de VCO. Debido a esta limitación, a hidrólise e o decaemento celular inclúe outros procesos como o consumo de produtos almacenados e a predación por protozoos. Os nosos ensaios na columna suxiren que isto é así, por exemplo, a posibilidade de confundir a respiración endóxena coa respiración de produtos almacenados. Porén, nos seus ensaios, estes autores non consideran que exista nitrificación.

Exemplos destas respirometrías aparecen na Figura 17. Estes autores obteñen a curva ou curvas de velocidade de consumo de oxíxeno acumulado ( $VCO_A$ ) e empregan os puntos de corte das liñas de regresión correspondente ás zonas de consumo de diferentes substratos para identificar o tempo de finalización do consumo dun determinado substrato.

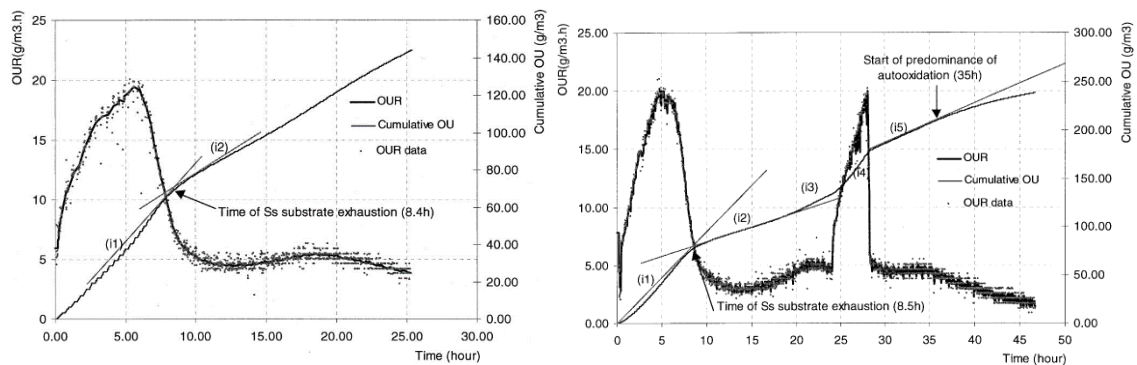


Figura 17. Respirogramas típicos (Almeida e Butler, 2002) (A) Para unha auga residual doméstica (20 °C, DQO inicial = 595 mg/L). (B) Para unha auga residual doméstica (20 °C, DQO inicial = 632 mg/L) seguido dunha adición posterior de acetato.

Nótese que a pendente da curva de OUR acumulada no tramo i1 é crecente, o que indica unha alta relación  $S/X$  e crecemento significativo; se a relación  $S/X$  fose menor, a curva sería unha recta ou presentaría un tramo decrecente final máis acusado.

Como indican Almeida e Butler (2002), incluso durante a fase de crecemento exponencial tamén ten lugar simultaneamente o proceso de hidrólise, xa que un cultivo mixto aclimatado a un substrato multicompoñente elimina simultaneamente os compoñentes individuais.

A partir destes respirogramas, Almeida e Butler (2002) obteñen a concentración de substrato facilmente biodegradábel,  $S_s$ , a biomasa heterotrófica en suspensión,  $X_{BH}$ , o rendemento hetrotrófico,  $Y_H$ , a velocidade máxima de crecemento heterotrófica, e a velocidade de hidrólise máxima ( $k_h$ ). Para o cálculo do consumo de oxíxeno na oxidación de  $S_s$ , Almeida e Butler (2002) aplican o método que se mostra na Figura 17(B). En termos de consumo de oxíxeno acumulado, o consumo debido a  $S_s$  resulta do consumo total acumulado menos o consumo acumulado da hidrólise. Inclúese o consumo que resulta da transición entre as dúas pendentes de consumo de oxíxeno ( $A_e$ ), que

posiblemente se deba ao consumo na oxidación de produtos excretados ou acumulados durante o crecemento ou a degradación de fraccións de substrato lentamente biodegradábel.

O cálculo da velocidade específica de crecemento máxima ( $\mu_H$ ) e concentración de biomasa heterotrófica activa ( $X_{BH}$ ) obtense segundo se observa na Figura 18(B) relacionando o consumo de oxíxeno en función do tempo, co consumo inicial, baixo condicións de crecemento sen limitación de substrato nin de oxíxeno. Unha vez calculado  $Y_H$  e  $\mu_H$ , pode calcularse a concentración de biomasa heterotrófica.

As condicións de non limitación do crecemento requiridas por este método implican que se cumpra que  $S_s \gg K_s$ ,  $[O_2] \gg K_{O_2}$  e  $S_s/X_{BH} \gg 1$  (por exemplo, da orde de 4 ou maior), e inclúe a simplificación de que  $b_H \ll \mu_H$ . Vanrolleghem et al. (1999) indican a posibilidade deste método, mais considerando que a pendente da regresión ten o valor de  $(\mu_H - b_H)$ . Pero neste caso, válido para estudar a evolución da biomasa na rede de sumidoiros, como o crecemento é moi elevado, a biomasa xerada xa non é representativa da inicial, polo que o método non serviría para determinar os parámetros do inóculo inicial, apuntan Vanrolleghem et al. (1999). Unha situación similar podería darse no caso dos humidais construídos, nos que a concentración de biomasa é polo xeral reducida e o propio experimento da respirometría en condicións de exceso de substrato pode modificar de forma notoria a comunidade microbiana de partida.

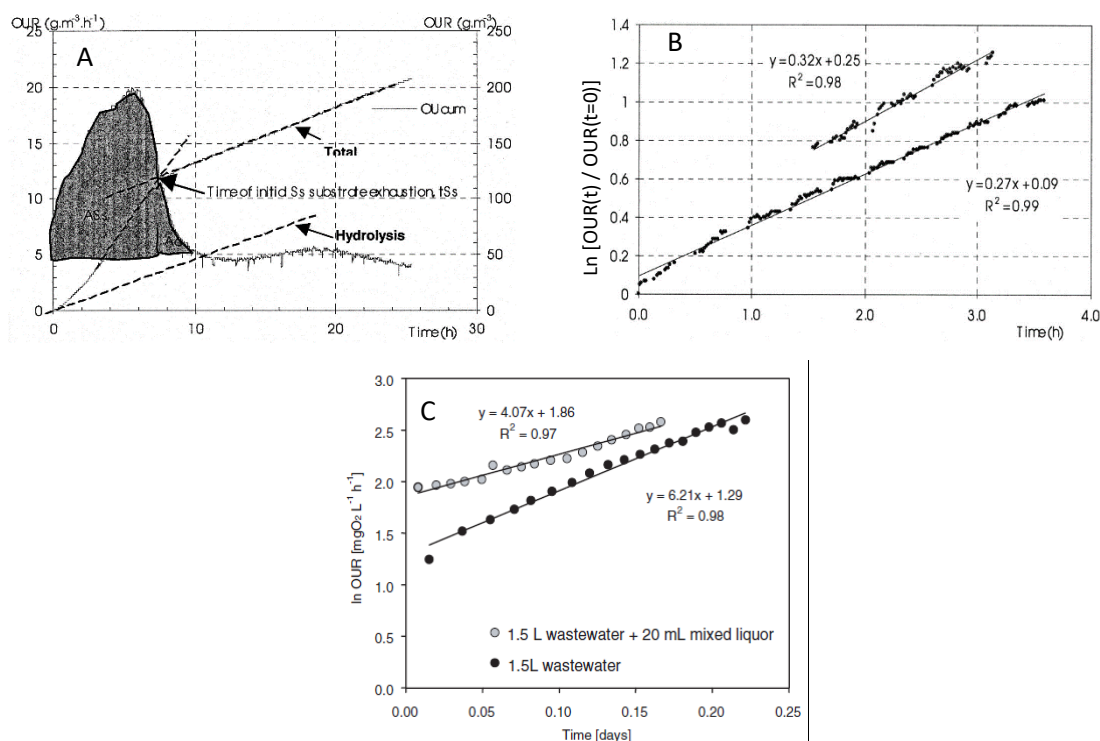


Figura 18. Exemplos de cálculos en respirogramas, (A) Cálculo de  $S_s$  (Almeida e Butler, 2002). (B) Determinación da velocidade específica de crecemento máxima ( $\mu_H$ ). Neste caso obtívose  $\mu_H$  de  $0,27 \text{ h}^{-1}$  para o acetato e de  $0,32 \text{ h}^{-1}$  para o  $S_s$  de unha auga residual. (Almeida e Butler, 2002). (C) Cálculo da concentración inicial de biomasa heterotrófica (Andreottola et al., 2002).

Andreottola et al. (2002) aplican un modelo similar para o cálculo da biomasa heterotrófica, pero cun ensaio dobre, un con auga residual, e outro con auga residual + unha cantidade de lodo activo (Figura 8(C), sendo o ratio substrato/biomasa ( $S_0/X_0$ ) maior de 4, e engadindo 10 mg/L de alitiourea para inhibir a nitrificación.

Distintos autores, entre eles Almeida et al. (2002) e Andreottola et al. (2002) empregaron a mesma ecuación do modelo para a evolución do consumo de oxíxeno no tempo, durante a fase de crecemento exponencial, para obter os valores de  $X_0$  e  $\mu_{Hm}$  que se recollen na Táboa 12, empregando  $Y_H$  e  $b_H$  de 0,67 e 0,62, respectivamente, e achando  $\mu_{Hm} \gg b_H$ , pero o valor de  $b_H$  non é desprezábel fronte a  $\mu_{Hm}$ , en particular no caso do lodo. Neste experimento, os autores obteñen unha concentración de  $X_0$  no lodo de 2627 mg DQO/L, polo que sendo a DQO particulada do lodo de 4884 mg/L, resulta que a biomasa activa é o 53,8% da DQO particulada.

### 3.4. APLICACIÓN DA RESPIROMETRÍA EN LAMAS BIOLÓXICAS

No caso de lamas activadas e outras lamas en suspensión, podemos empregar unha cantidade de lama a modo de inóculo, de tal forma que podemos elixir a concentración de lamas (SSV) a empregar no ensaio. Isto permite seleccionar condicións relacionadas coa relación substrato/biomasa (S/X).

#### - Procedemento para a obtención de parámetros cinéticos

Vanrolleghem et al. (1999) describen tamén un método con baixas relacións S/X, dispoño de elevadas concentracións de X no medio, o que tamén resulta en experimentos máis curtos (menos de 1 h). Porén, isto non semella posible con mostras intactas de medio do humidal (grixo+biomasa), pero si se podería facer con lodo extraído. Nos humidais, e por tanto nas columnas que os simulan, a concentración de biomasa é polo xeral baixa, polo que os experimentos resultan nunha S/X elevada e en varias horas, arredor de un día ou máis, de duración.

Así, o método de referencia indicado por estes autores (Vanrolleghem et al., 1999) consiste na realización de diversos experimentos sobre o mesmo lodo en respiración endóxena, por adición de diferentes cantidades de auga residual ou substrato, atinxindo concentracións de  $S_s$  menores e maiores que  $K_s$ . Este proceder, aínda que moi laborioso, permite calcular tanto  $K_s$  como  $\mu_H$ , mais precisa coñecer a concentración de biomasa e o rendemento.

Para cada experimento cunha determinada concentración de substrato obteríase un valor de respiración esóxena heterotrófica e o correspondente valor de  $\mu_H$ . Finalmente, dispoño de suficientes valores de  $\mu_H$  para diferentes concentracións de  $S_s$ , podemos linealizar a expresión de Monod e obter os valores de  $\mu_{Hm}$  e  $K_s$ .

Métodos similares pódense aplicar para determinar os parámetros cinéticos do proceso autotrófico de nitrificación, utilizando amoníaco como substrato.

- Substrato lentamente biodegradable  $X_S$

De acordo con Vanrolleghem et al. (1999), a fracción de substrato lentamente biodegradábel ( $X_S$ ) corresponde maiormente a materia orgánica macromolecular ou particulada, polo que sofre un proceso de hidrólise lento, de tipo encimático, para producir compostos sinxelos ou de baixo peso molecular que se comportan como substrato facilmente biodegradábel ( $S_S$ ). A velocidade de respiración con  $X_S$  é menor que con  $S_S$ , debido a que a velocidade de hidrólise é máis baixa e a concentración resultante de  $S_S$  moi reducida.

En experimentos con substratos complexos, a existencia simultánea doutros procesos de oxidación, por exemplo a nitrificación, pode interferir e dificultar o cálculo de  $X_S$ . A nitrificación pode suprimirse mediante o uso dun inhibidor.

- Coeficientes de decaemento

Hai varias aproximacións para a obtención destes coeficientes mediante respirometrías. Vanrolleghem et al. (1999) menciona os tres métodos seguintes para determinar o coeficiente de decaemento da biomasa heterotrófica:

1. Facer o seguimento da velocidade de respiración endóxena dun lodo en condicións de aireación e sen alimentación.
2. Manter o lodo en condicións de aireación e sen alimentación, e extraer mostras de lodo a diferentes tempos para determinar a súa velocidade de respiración esóxena máxima (sen limitación de substrato nin oxíxeno). Isto é máis laborioso.
3. Idem. 2, mais mantendo o lodo en condicións anóxicas

No primeiro caso temos a evolución de  $r_{end}$  no tempo e nos outros dous a  $r_{ex}$  no tempo. Unha regresión lineal de  $\log r_{end}$  ou  $\log r_{ex}$  fronte ao tempo debe dar unha liña recta de pendente  $b'_H$ , a partir da cal se obtén o coeficiente de decaemento.

O segundo e terceiro método tamén os propoñen para determinar o coeficiente de decaemento da biomasa autotrófica, determinando  $r_{ex}$  en condicións de non limitación de amoníaco e oxíxeno.

Mentres o primeiro método nos fornece de moitos datos de consumo de oxíxeno no tempo, no outros dous métodos, cada punto da relación  $r_{ex} - t$  procede dunha respirometría completa.

Nos métodos 2 e 3 podemos optar por repetir periodicamente a respirometría, obtendo a evolución de  $r_{ex}$  no tempo, ou por deixar pasar un tempo máis longo e realizar a respirometría unicamente nas condicións iniciais e finais. Con esta última forma de operar (ver exemplo na Figura 19) obteremos só dous puntos da regresión, suficientes para calcular os coeficientes  $b_H$  e  $b_A$ . Porén, sería imprescindible unha determinación de cada un deles por duplicado, e aínda así este procedemento operativo non permitiría observar posibles interferencias debidas á presenza de substrato lentamente biodegradábel, ou de substratos almacenados lentamente biodegradábeis.

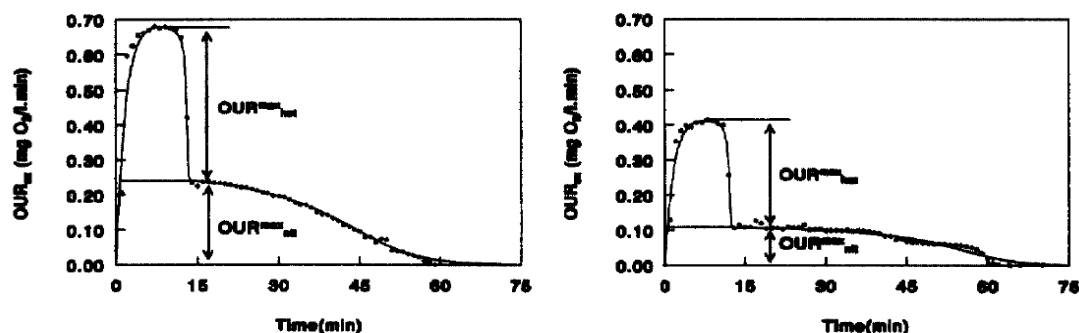


Figura 19. Repirogramas realizados tras un día de incubación (esquerda) e 7 días (dereita) para determinar os coeficientes  $b_H$  e  $b_A$  mediante ensaios con mesturas C/N como substrato (Vanrolleghem et al., 1999).

Segundo o lodo se mantéña en condicións aireadas (método 2) ou anóxicas (método 3), obteremos os coeficientes de decaemento nunha destas condicións. Vanrolleghem et al. (1999) indican que o valor do coeficiente  $b_A$  en condicións anóxicas é un 50% menor que o valor en condicións aerobias.

Nos humidais, as condicións poden variar de aerobias a anóxicas. Como os humidais se poden someter a operación continua ou a períodos de descanso aerobio (drenado) ou anóxico (inundado), este tipo de experimentos poderían ser de interese para o estudo destes procesos en columnas simulando humidais, ou para o estudo do comportamento dos diferentes grupos bacterianos fronte a estas condicións operativas. Por exemplo, a respirometría permitirá o estudo da evolución do medio do humidal en canto a colmatación, xa que permite determinar tanto a acumulación de substrato lentamente biodegradable como a evolución da biomasa activa, e por tanto identificar as condicións para a redución da colmatación. Noutras situacións, como na operación de humidais para o tratamento de augas estacionais, pode permitir o estudo das condicións idóneas a aplicar durante os períodos de non dispoñibilidade de substrato. Igualmente, poden ser de aplicación ao estudo de diferentes configuracións de sistemas híbridos.

- Método rápido para determinar a fracción rapidamente biodegradábel dunha auga residual

Ziglio et al. (2001) describen un método simple para determinar a fracción rapidamente biodegradábel dunha auga residual. Consideran o substrato composto de dúas fraccións maioritarias, a facilmente biodegradábel e a DQO lentamente biodegradábel. Esta última correspondería aproximadamente coa DQO dos sólidos en suspensión, e a velocidade de degradación da mesma equivalería á súa velocidade hidrólise. No ensaio de respirometría engaden ao comezo uns 20 mg ATU/L para inhibir a nitrificación. Porén, Strotmann et al. (1999) empregan 50 mg ATU/L, e a Andreottola et al. (2002) abondoulles con 10 mg ATU/L.

Para auga residual municipal empregan lamas activas convencionais (4 g SST/L) nun dixestor de 2 litros, e engaden entre 75 e 150 mL de auga residual. Trátase dun ensaio con baixa ratio S/X, ou elevada concentración de biomasa, polo que é moi rápido no tempo; so require de uns minutos. A baixa relación S/X significa que non se acadan as

velocidades máximas de respiración, polo que o método non é de aplicación ao cálculo de determinados parámetros cinéticos.

Previamente debe estabilizarse o lodo por aireación durante 2-3 horas. O sistema contrástase ou compróbase substituíndo a auga residual por acetato de sodio, nunha cantidade de de 8-16 mg DQO-acetato (os autores atopan unha DQO facilmente biodegradable do acetato de sodio de 0,752 g/g fronte ao valor teórico de 0,781). Obtense a caída de oxíxeno no medio sen aireación, segundo a Figura 20, calcúlase o consumo de oxíxeno na etapa inicial ou de degradación do substrato facilmente biodegradable e calcúlase a concentración deste na auga residual, mediante a seguinte ecuación:

$$S_{si} = \left( \frac{1}{1 - f_{cv} \cdot Y_h} \right) \cdot \Delta O \cdot \frac{V_{ml} + V_{ww}}{V_{ww}} \quad (mgDQO/L)$$

onde

$V_{ml}$  = volume de lamas no dixestor (L)

$V_{ww}$  = volume de auga residual (L)

$\Delta O$  = consumo de oxíxeno (mg/L)

$f_{cv}$  = relación DQO/SSV

$Y_h$  = coeficiente de rendemento heterotrófico (mg SSV/mg DQO)

De aquí,  $Y_h \cdot f_{cv}$  é igual ao rendemento  $Y_H$  expresado en g DQO-B/DQO-S.

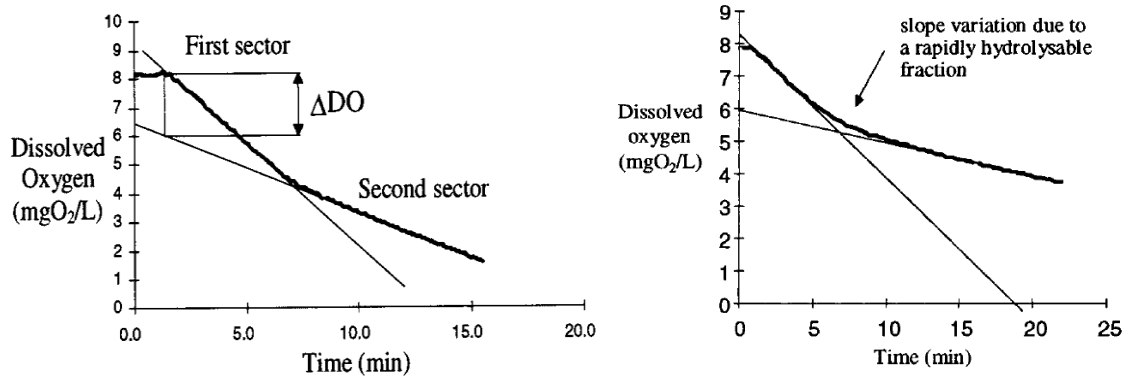


Figura 20. Curvas de consumo de oxíxeno tras a adición de acetato (esquerda) e auga residual (dereita). Ziglio et al., 2001.

Ao non haber aireación, o consumo acumulado de oxíxeno é igual á diferenza de concentración entre dous momentos dados. O método considera que durante todo o experimento se consume oxíxeno polo proceso de respiración endóxena, que se determina en función da pendente da curva no seu segundo sector. Extrapolase a curva até o tempo no que se engadiu o substrato externo, e a diferenza entre concentración de oxíxeno extrapolada e a medida dáonos o consumo causado polo substrato externo.

Gilbert et al. (2005) aplican un método similar ao de Ziglio et al. (2001), mais operando de forma inversa e determinando as velocidades de respiración. Desta forma, utilizan a

respirometría ao seguimento da posta en marcha de biofiltros empregados no tratamento de xurros de porcino. Extraen unha cantidade de medio filtrante e dispérsano en auga, axitando para desprender a biopelícula e evitar resistencias internas a transferencia de materia. Engaden nutrientes, bicarbonato e ATU, airean até saturación de oxíxeno e comezan o seguimento da velocidade de consumo de oxíxeno nun respirómetro pechado (sen aireación). Ao cabo duns minutos, Figura 21, engaden substrato (xurro centrifugado) para acadar condicións de non limitación por substrato e determinar a velocidade máxima potencial de respiración. Finalmente, determinan a concentración de SST presentes, para obter a actividade específica referida a estes ( $\text{mg O}_2 / \text{g ST}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Utilizan de 30 a 120 g de medio filtrante húmido en 500 mL de de volume líquido, de tal forma que a concentración de ST resulta elevada, de aproximadamente 50 g ST/L.

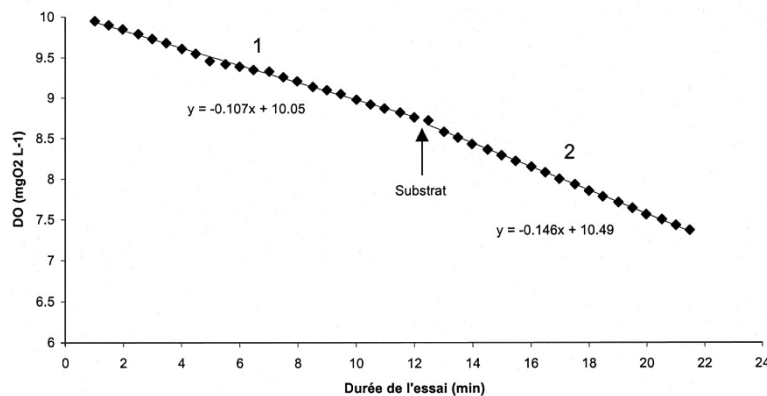


Figura 21. Exemplo de respirometría sobre unha mostra de medio filtrante colonizado (Gilbert et al., 2005).

Estes autores (Gilbert et al., 2005) consideran que o consumo de oxíxeno non se debe á respiración endóxena, senón que hai substrato lentamente biodegradábel presente que incrementa esta velocidade de consumo. Ademais, e como tamén se observou no caso de respirometrías aplicadas a mostras húmidais construídos, indican que esta velocidade non se corresponde coa que poida existir nos biofiltros, xa que as condicións de operación destes son moi diferentes das que se dan no respirómetro. Porén, os resultados da aplicación da respirometría a este tipo de sistemas ten utilidade, pois mostra como o proceso de colonización continúa a aumentar tras 60 días de inicio da operación dos biofiltros. A relación entre a actividade e a cantidade de materia orgánica acumulada nos biofiltros aparece afectada polas velocidades de carga orgánica e hidráulica.

- Etapa de absorción de substrato particulado e modelo dos 3-substratos.

Lagarde et al. (2005) empregan o modelo dos 3 substratos:

$S_s$ , substrato orgánico facilmente biodegradable;

$X_{R,NA}$  DQO soluble non adsorbida e rápidamente hidrolizable;

$X_{S,NA}$  DQO soluble non adsorbida e lentamente hidrolizable.

e inclúen unha etapa de absorción do substrato particulado. Así, as dúas últimas fraccións convértense, tras a absorción, en:

$X_R$ , DQO rapidamente hidrolizable (adsorbida na biomasa);

$X_S$ , DQO lentamente hidrolizable (adsorbida na biomasa).

O modelo inclúe outras dúas variables: oxíxeno disolto e a biomasa heterotrófica ( $X_{BH}$ ), esta por adición de lodo.

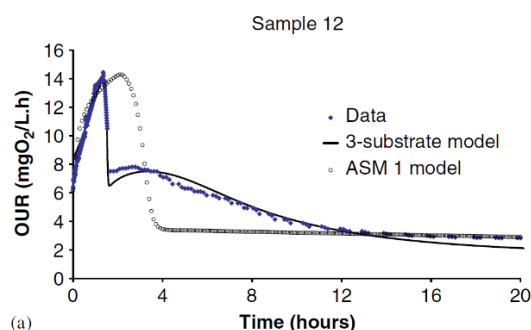


Figura 22. Exemplo de respirograma e comparación da simulación co modelo ASM1 e 3-substratos.

A forma da curva (Figura 22), cun segundo cumio ou pico romo despois da caída desde o pico inicial, non se explica co modelo ASM1; o novo modelo aplicado ofrece bos resultados, xa que este cumio é o resultado dun máximo de materia orgánica particulada facilmente biodegradable, que ten lugar despois dun certo tempo de iniciado o proceso (retraso causado polo proceso de absorción).

Por outra banda, Zhou et al. (2008) modifican o modelo ASM1 mediante a introdución dun mecanismo de hidrólise dual, e acadan un mellor axuste do modelo aos respirogramas experimentais obtidos con auga residual doméstica. A DQO hidrolizable foi dividida en soluble, ffacilmente hidrolizable e particulada (SH), e lentamente hidrolizable (XS), baseándose no feito de que a fracción hidrolizable cobre unha ampla distribución de tamaños de partícula. Así, adoptouse o modelo de hidrólise limitada pola superficie e cinéticas de segunda orde, para describir a adsorción e a hidrólise.

#### 4. REFERENCIAS

- Aguirre, P., Ojeda, E., García, J., e Mujeriego., R. (2005) "Effect of water depth on the removal of organic matter in horizontal subsurface flow constructed wetlands." *J. Environ. Sci. Health*, 40, 1457-1466.
- Akratos, C., Tsihrintzis, V. (2007). Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 29, 173–191.
- Almeida, M.C., Butler, D. (2002). In-Sewer Wastewater Characterization and Model Parameter Determination Using Respirometry. *Water Environment Research*, 70(3), 295-305.



- Álvarez, J. A. e Soto, M. (2005). Características das augas residuais urbanas. ADEGA-Cadernos 12, p. 11-23.
- Andreottola, G., Foladori, P., Gelmini, A., Ziglio, G. (2002). Biomass active fraction evaluated by a direct method and respirometric techniques. *Water Science and Technology* Vol 46 No 1–2 pp 371–379.
- Andreottola G., Oliveira E., Foladori P., Peterlini R. and Ziglio G. (2007). Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Science & Technology* Vol 56 No 3 pp 255–261.
- Arias, C. A. e Brix, H. (2005). Phosphorus removal in constructed wetlands: can suitable alternative media be identified?. *Wat. Sci. Tech.* 51 (9), 275-282.
- Augas de Galicia (2000). Plan de saneamento de Galicia 2000 – 2015. Consellería de Medio Ambiente, Xunta de Galicia.
- Augas de Galicia (2016). Control de depuradoras de augas residuais. Consellería de Medio Ambiente e Ordenación do Territorio, Xunta de Galicia. <http://augasdegalicia.xunta.gal/>
- Ávila, C., Garfí, M., García, J. (2013). Three stage hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse in warm climate regions. *Ecological Engineering* 61, 43–49.
- Ávila, C., Pedescoll, A., Matamoros, V., Bayona, J.M., García, J. (2010). Capacity of a horizontal subsurface flow constructed wetland system for the removal of emerging pollutants: an injection experiment. *Chemosphere* 81, 1137-1142.
- Ayaz, S., Aktas, O., Findıka, N., Akça, L., Kınacıb, C. (2012). Effect of recirculation on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system. *Ecological Engineering* 40, 1– 5.
- Bai, L., Wang, C., Huang, C., Heb, L., Pei, Y. (2014). Reuse of drinking water treatment residuals as a substrate in constructed wetlands for sewage tertiary treatment. *Ecological Engineering* 70, 295–303.
- Baptista, J. D. C., Donnelly, T., Rayne, D. e Davenport, R. J. (2003) “Microbial mechanisms of carbon removal in subsurface flow wetlands.” *Wat. Sci. Tech.* 48 (5), 127-134.
- Barros, P., Ruíz, I. e Soto, M. (2008). Performance of an anaerobic digester-wetland system for a small community. *Ecol. Eng.*, 33, 142-149.
- Barros, P. (2011). Depuración Natural nun Núcleo Rural. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- Belmont, M., Cantellano, E., Thompson, S. (2004). Treatment of domestic wastewater in a pilot-scale natural treatment system in central Mexico. *Ecological Engineering* 23, 299–311.
- Borin, M., Politeo, M., De Stefani, G. (2013) Performance of a hybrid constructed wetland treating piggery wastewater. *Ecological Engineering* 51, 229– 236.
- Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands?. *Water Science and Technology* 35 (5) 11-17.
- Brix, H., Sorrell, B.K., Lorenzen, B. (2001). Are Phragmites-dominated wetlands a net source or net sink of greenhouse gases? *Aquatic Botany* 69 (2-4), 313–324.
- Brix, H., Arias, C.A., Johansen, N.-H. (2003). Experiments in a two-stage constructed wetland system: nitrification capacity and effects of recycling on nitrogen removal. In: Vymazal, J. (Ed.), *Wetlands-nutrients, Metals and Mass Cycling*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 237-258.
- Brix, H., Arias, C.A. (2005). The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic wastewater: New Danish guidelines. *Ecological Engineering* 25 (5) 491 – 500.

- Brix, H., Koottatep, T., Fryd, O., Laugesen, C. (2011). The flower and the butterfly constructed wetland system at Koh Phi Phi—System design and lessons learned during implementation and operation. *Ecological Engineering* 37, 729–735.
- Brouwer, H., Klapwijk, A., Keesman, K.J. (1998). Identification of activated sludge and wastewater characteristics using respirometric batch-experiments. *Wat. Res. Vol. 32, No. 4*, pp. 1240±1254.
- Calijuri, M.L., da Fonseca Santiago, A., Fernandes Moreira Neto, R., de Castro Carvalho, I. (2011). Evaluation of the Ability of a Natural Wetland to Remove Heavy Metals Generated by Runways and Other Paved Areas from an Airport Complex in Brazil. *Water Air Soil Pollut* (2011) 219:319–327
- Carballeira, T. (2014). Depuración de efluentes urbanos en humidais construídos: influencia da especie vexetal, a configuración e a velocidade de carga orgánica. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2016). Effect of plants and surface loading rate on the treatment efficiency of shallow subsurface constructed wetlands. *Ecological Engineering* 90 203 – 214.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2016). Aerobic and anaerobic biodegradability of accumulated solids in horizontal subsurface flow constructed wetlands. *International Biodeterioration & Biodegradation*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.048>.
- Caselles-Osorio, A., Puigagut, J., Segú, E., Vaello, N., Granés, F., García, D., García, J. (2007). Solids accumulation in six full-scale subsurface flow constructed wetlands. *Water Research* 41, 1388 – 1398.
- Chen, Y., Wen, Y., Zhou, Q., Vymazal, J. (2014). Effects of plant biomass on denitrifying genes in subsurface-flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 157, 341 – 345
- Corzo, A., Pedescoll, A., Álvarez, E., García, J., 2008. Solids accumulation and drainable porosity in experimental subsurface flow constructed wetlands with different primary treatment and operating strategies. 11th International Conference on Wetlands Systems for Water Pollution Control (ICWST2008), pp.640-646. Indore, India, November 1-7.
- De la Varga, D. (2014). Depuración de aguas residuales en digestores anaerobios y humedales construídos: aplicación a la industria vitivinícola. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- De la Varga, D., Díaz, M.A., Ruiz, I., Soto, M. (2013). Avoiding clogging in constructed wetlands by using anaerobic digesters as pre-treatment. *Ecol. Eng.* 52, 262-269.
- Ding, Y., Wang, W., Song, X., Wang, G., Wang, Y. (2014). Effect of spray aeration on organics and nitrogen removal in vertical subsurface flow constructed wetland. *Chemosphere* 117, 502-505.
- Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeo e do Consello, de 23 de outubro de 2000, pola que se establece un marco comunitario de actuación no ámbito da política de augas. DOUEL núm. 327 de 22 de Decembro de 2000.
- Directiva 91/271/CEE do Consello, de 21 de maio de 1991, sobre o tratamento das augas residuais urbanas. DOUEL núm. 135 de 30 de Maio de 1991.
- Dold, P.L., Jones, R.M., Bye, C.M. (2005). Importance and measurement of decay rate when assessing nitrification kinetics. *Water Science and Technology* 52 (10-11), 469-477.
- Dong, X., Reddy, G. (2012). Ammonia-oxidizing bacterial community and nitrification rates in constructed wetlands treating swine wastewater. *Ecological Engineering* 40 (189 – 197).

- Fernández, D. (2013). El séptimo programa ambiental de la Unión Europea, 2013-2020. *Revista Aragonesa de Administración Pública*, nº 41-42, p. 71-121.
- Foladori, P., Ruaben, J., Ortigara, A. (2013). Recirculation or artificial aeration in vertical flow constructed wetlands: A comparative study for treating high load wastewater. *Bioresource Technology* 149, 398–405.
- García, J., Ojeda, E., Sales, E., Chico, F., Píriz, T., Aguirre, P., Mujeriego, R. (2003). Spatial variations of temperature, redox potential, and contaminants in horizontal flow reed beds. *Ecol. Eng.* 21, 129–142.
- García, J., Vivar, J., Aromir, M. e Mujeriego, R. (2003). Role of hydraulic retention time and granular medium in microbial removal of indicator in tertiary treatment reed beds. *Wat. Res.*, 37, 2645-2653.
- García, J., Morató, J., Bayona, J.M. (2005). Depuración con sistemas naturais: Humidais construídos. *ADEGA – Cadernos* 12, 49 – 56.
- García, J.; Capel, V., Castro, A., Ruíz, I., Soto, M. (2007). Anaerobic biodegradation tests and gas emissions from subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 98, 3044–3052.
- García, J. e Corzo, A. (2008). *Depuración con Humedales Construidos. Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial*. Dpto. Ing. Hidráulica, Marítima y Ambiental, Universidad Politécnica de Cataluña.
- Gilbert, Y., Le Bihan, Y., Buelna, G., Lessard, P. (2005). Application of Respirometry to Monitoring the Biomass Activity of a Biofilter on an Organic Bed Used to Treat Pig Manure. *Water Qual. Res. J. Canada*, 40(2), 155–163.
- Hathaway, S., Porter, M., Rodríguez, L., Kent, A., Zilles, J. (2015). Impact of the contemporary environment on denitrifying bacterial communities. *Ecological Engineering* 82, 469–473.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, T., Wentzel, M.C., Marais, G. (1995). Wastewater and biomass characterization for the Activated Sludge Model No. 2: Biological phosphorus removal. *Water Science and Technology*, 31 (2), 13-23.
- Hijosa-Valsero, M., Matamoros, V., Martín-Villacorta, J., Bécares, E., Bayona, J.M. (2010). Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities. *Water Research* 44, 1429-1439.
- Hu, Y., Zhao, Y., Zhao, X., Kumar, J. (2012). Comprehensive analysis of step-feeding strategy to enhance biological nitrogen removal in alum sludge-based tidal flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 111, 27–35.
- Hu, Y., Zhao, Y., Rymaszewicz, A. (2014). Robust biological nitrogen removal by creating multiple tides in a single bed tidal flow constructed wetland. *Science of The Total Environment* 470–471 (1), 1197 – 1204.
- Huertas R., Marcos, C., Iburguren, N., e Ordás, S. (2013). *Guía práctica para la depuración de aguas residuales en pequeñas poblaciones*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Confederación Hidrográfica del Duero (CHD).
- Jefferson, A., Dotro, G., Butterworth, E., Jenkins, N., Cruddas, P., McAdam, E., Vrancken, C., Pereira, L., Bajon, Y., Murujew, O., Fonseca, N., Nowak, M., Thompson, L., Pidou, M., (2015). Where do constructed wetlands fit into the sewage works of the future?. 6th International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control. *Book of Abstracts*, 14 – 15. Kadlec, R.H., Knight, R.L., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. y Haberl, R. (2000). *Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design and*

- Operation. IWA Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control, IWA Publishing.
- Ji, G., Wang, R., Zhi, W., Liu, X., Kong, Y., Tan, Y. (2012). Distribution patterns of denitrification functional genes and microbial floras in multimedia constructed wetlands. *Ecological Engineering* 44, 179–188.
- Jia, W., Zhang, J., Wu, J., Xie, H., Zhang, B. (2010). Effect of intermittent operation on contaminant removal and plant growth in vertical flow constructed wetlands: A microcosm experiment. *Desalination* 262 (1–3) 202-208.
- Johansson, A. E., Gustavsson, A. M., Öquist, M. G. e Svensson, B. H., (2004). Methane emissions from a constructed wetland treating wastewater - seasonal and Spatial distribution and dependence on edaphic factors. *Water Research* 38, 3960-3970.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L. (1996). *Treatment Wetlands*. CRC Press, Boca Raton.
- Kadlec, R., Burgoon, P., Henderson, M. (1997). Integrated natural systems for treating potato processing wastewater. *Water Science and Technology* 35 (5), 263-270.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. y Haberl, R. (2000). *Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design and Operation*. IWA Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control. IWA Publishing.
- Kadlec, R., Tanner, C., Hally, V., Gibbs, M. (2005). Nitrogen spiraling in subsurface-flow constructed wetlands: Implications for treatment response. *Ecological Engineering* 25, 365–381.
- Kadlec and Wallace (2009). *Treatment Wetlands*, 2nd Edition. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton.
- Karahan-Gül, Ö., Artan, N., Orthon, D., Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M., 2002. Respirometric assesment of storage yield for different substrates. *Water Science and Technology*, 46(1-2), 345–352.
- Kim, B., Gautier, M., Molle, P., Michel, P., Gourdon, R. (2015). Influence of the water saturation level on phosphorus retention and treatment performances of vertical flow constructed wetland combined with trickling filter and FeCl<sub>3</sub> injection. *Ecological Engineering* 80, 53–61.
- Kivaisi, A. K. (2001). The potencial for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. *Ecol. Eng.* 16, 545-560.
- Koretsky, C.M., Cuellar, A., Haveman, M., Beuving, L., Shattuck, T., Wagner, M. (2008). Influence of *Spartina* and *Juncus* on saltmarsh sediments. II. Trace element geochemistry. *Chemical Geology* 255, 100–113.
- Labella, A., Caniana, D., Hughes-Riley, T., Morris, R., Newton, M., Hawes, P., Puigagut, J., García, J., Uggetti, E. (2015). Assessing the economic suitability of aeration and the influence of bed heating on constructed wetlands treatment efficiency and life-span. *Ecological Engineering* 83, 184–190.
- Lagarde, F.; Tusseau-Vuillemin, M.H.; Lessard, P.; Héduit, A.; Dutrop, F and Mouchel, J.M. 2005. Variability estimation of urban wastewater biodegradable fractions by respirometry. *Water Research* 39, 4768–4778.
- Langergraber, G., Pressl, A., Leroch, K., Rohrhofer, R., Haberl, R. (2011). Long-term behaviour of a two-stage CW system regarding nitrogen removal. *Water Science and Technology* 64 (5), 1137 – 1141.

- Langergraber, G., Rousseau, D., García, J., Mena, J. (2009). CWM1 - A general model to describe biokinetic processes in subsurface flow constructed wetlands. *Water Science and Technology* 59 (9), 1687-1697.
- Lema, J. M. and Omil, F. (2001). Anaerobic treatment: a key technology for a sustainable management of wastes in Europe. *Water Science and Technology* 44, 133-140.
- Lettinga, G., Hobma, S. W., Hulshoff Pol, L. W., de Zeeuw, W., De Jong, P., Grin, P., Roersma, R. (1983). Design operation and economy of anaerobic treatment. *Water Science and Technology* 15, 177-195.
- Lettinga, G., De Man, A., Van der Last, A. R. M., Wiegant, W., Van Knippenbert, K., Frijns, J. e Van Buuren, J.C.L. (1993). Anaerobic treatment of domestic sewage and wastewater. *Water Science and Technology* 27, 67-73.
- Lettinga, G. (2005). The anaerobic treatment approach towards a more sustainable and robust environmental protection. *Water Science and Technology*, 52 (1 – 2), 1 – 11.
- Li, F., Lu, L., Zheng, X., Ngo, H., Liang, S., Guo, W., Zhang, X. (2014). Enhanced nitrogen removal in constructed wetlands: Effects of dissolved oxygen and step-feeding. *Bioresource Technology* 169, 395–402.
- Li, H.Z., Wang, S., Ye, J.F., Xu, Z.X., Jin, W. (2011). A practical method for the restoration of clogged rural vertical subsurface flow constructed wetlands for domestic wastewater treatment using earthworm. *Water Science Technology* 63, 283–290.
- Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S.F., Jamsranjav, B., Kasak, K., Truu, J., Tournebize, J., Mitsch, W.J. (2014). Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: A review. *Ecological Engineering* 66, 19–35.
- Masi, F., Conte, G., Martinuzzi, N., Pucci, B. (2002). Winery high organic content wastewaters treated by constructed wetland in mediterranean climate. IWA 8<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. Arusha, Tanzania.
- Mbuligwe, S. E. (2004). Comparative effectiveness of engineered wetland systems in the treatment of anaerobically pre-treated domestic wastewater. *Ecol. Eng.*, 23, 269–284.
- Mena, J. (2008). Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: Ventajas de los sistemas híbridos. Comunicación técnica: 9 Congreso Nacional de Medio Ambiente (CONAMA), Cumbre del Desarrollo Sostenible.
- Meng, P., Pei, H., Hua, W., Shao, Y., Li, Z. (2014). How to increase microbial degradation in constructed wetlands: Influencing factors and improvement measures. *Bioresource Technology* 157, 316–326.
- Metcalf and Eddy (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th Edition. Mc Graw Hill.
- Mietto, A., Politeo, M., Breschigliaro, S., Borin, M. (2015). Temperature influence on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system in Northern Italy. *Ecological Engineering* 75, 291–302.
- Molle, P., Liénard, A., Grasmick, A., Iwema, A. (2006). Effect of reeds and feeding operations on hydraulic behaviour of vertical flow constructed wetlands under hydraulic overloads. *Water Research* 40, 606 – 612.
- Molle, P., Prost-Boucle, S., Lienard, A. (2008). Potential for total nitrogen removal by combining vertical flow and horizontal flow constructed wetlands: A full-scale experiment study. *Ecological Engineering* 34, 23–29.

- Morvannou A., Choubert J.M., Forquet N., Philippe N., van Clooster M. and Molle P. (2010). Solid respirometry to characterise the biodegradation kinetics in Vertical Flow Constructed Wetland (VFCW): a better insight for modelling. Proceedings of the 12th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, pp. 678-686. Venice (Italy), 4-9 October.
- Morvannou, A., Choubert, J.M., Vanclooster, M., Molle, P. (2011). Solid respirometry to characterize nitrification kinetics: A better insight for modelling nitrogen conversion in vertical flow constructed wetlands. *Wat. Res.* 45: 4995-5004.
- Narváez, L., Cunill, C., Cáceres, R., Marfà, O. (2011). Design and monitoring of horizontal subsurface-flow constructed wetlands for treating nursery leachates. *Bioresource Technology*, 102 (11), 6414-6420.
- Ng, W.J., Gunaratne, G. (2011). Design of tropical constructed wetlands. In: Tanaka, N., Ng, W.J., Jinadasa, K.B.S.N. (Eds.), *Wetlands for Tropical Application*. Imperial College Press, pp. 69–94.
- Nivala, J., Wallace, S., Headley, T., Kassa, K., Brix, H., van Afferden, M., Müller, R. (2012). Oxygen transfer and consumption in subsurface flow treatment wetlands. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.08.028>
- Oakley, S., Gold, A., Oczkowski, A. (2010). Nitrogen control through decentralized wastewater treatment: Process performance and alternative management strategies. *Ecological Engineering* 36 (11), 1520–1531.
- Okurut, T., Rijs, G.B. e Van Bruggen, J. J. (1999). Design and performance of experimental constructed wetlands in Uganda, planted with *Cyperus papyrus* and *Phragmites mauritianus*. *Wat. Science Technol.*, 40 (3), 265– 271.
- Oovel, M., Tooming, A., Muring, T., Mander, U. (2007). Schoolhouse wastewater purification in a LWA-filled hybrid constructed wetland in Estonia. *Ecological Engineering* 29, 17–26.
- Ortigara A.R.C., Foladori P. and Andreottola G. (2010). Kinetics of heterotrophic biomass and storage mechanism in wetland cores measured by respirometry. Proceedings of the 12th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, pp. 760-768. Venice (Italy), 4-9 October.
- Ortigara A.R.C., Foladori P. and Andreottola G. (2011). Kinetics of heterotrophic biomass and storage mechanism in wetland cores measured by respirometry. *Water Science & Technology* 64(2), 409-415.
- Ottová, V., Balcarová, J. y Vymazal, J. (1997). Microbial Characteristics of Constructed Wetlands. *Water Science and Technology* 35 (5), 117-123.
- Paing, J., Guilbert, A., Gagnon, V., Chazarenc, F. (2015). Effect of climate, wastewater composition, loading rates, system age and design on performances of French vertical flow constructed wetlands: A survey based on 169 full scale systems. *Ecological Engineering* 80, 46 – 52.
- Paredes, D., Kusch, P., Mbwette, T., Stange, F., Müller, R., Köser, H. (2007). New Aspects of Microbial Nitrogen Transformations in the Context of Wastewater Treatment – A Review. *Engineering in Life Sciences* 7 (1), 13–25.
- Pelissari, C., Sezerino, P., Decezaró, S., Wolff, D., Bento, A., Junior, O., Philippi, L. (2014). Nitrogen transformation in horizontal and vertical flow constructed wetlands applied for dairy cattle wastewater treatment in southern Brazil. *Ecological Engineering* 73, 307–310.

- Píriz, A.J. (2000). Condiciones de Óxido-Reducción en Humedales Construidos de Flujo Subsuperficial. Tesina de Especialidad, ETSECCPB, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, 104 pp.
- Prost-Boucle, S., Molle, P. (2012). Recirculation on a single stage of vertical flow constructed wetland: treatment limits and operation modes. *Ecological Engineering* 43, 81 – 84.
- Puigagut, J., Llorens, E., García, J., 2007. Aerobic and anaerobic biodegradability of solids accumulated in a full scale horizontal subsurface flow constructed wetland. II International Congress Smallwater07 on Wastewater Treatment in Small Communities. Sevilla, November 11-15.
- Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desenvolvimento do Real Decreto-Lei 11/1995, de 28 de decembro, polo que se establecen as normas aplicables ao tratamento das augas residuais urbanas. BOE de 29 de Marzo de 1996.
- Real Decreto-Lei 11/1995, de 28 de decembro, polo que se establecen as normas aplicables ao tratamento das augas residuais urbanas. BOE núm. 312 de 30 de Decembro de 1995.
- Rivas, A., Barceló-Quintal, I., Moeller, G.E., 2011. Pollutant removal in a multi-stage municipal wastewater treatment system comprised of constructed wetlands and a maturation pond, in a temperate climate. *Water Science Technology* 64 (4), 980–987.
- Rivera, F., Warren, A., Ramírez, E., Decamp, O., Bonilla, P., Gallegos, E., Calderón, A., Sánchez, J.T. (1995). Removal of pathogens from wastewaters by the root zone method (RZM). *Water Science and Technology*, 32 (3), 211-218.
- Ruiz, I. (2004). Anaerobic Treatment of Municipal Wastewater in UASB reactors. Ph.D. thesis, Universidade da Coruña.
- Saeed, T., Sun, G. (2012). A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *Journal of Environmental Management* 112, 429-448.
- Schipper, L.A., Robertson, W.D., Gold, A.J., Jaynes, D.B., Cameron, S.C. (2010). Denitrifying bioreactors—an approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering* 36, 1532–1543.
- Serrano, L., de la Varga, D., Ruiz, I., Soto, M. (2011). Winery wastewater treatment in a hybrid constructed wetland. *Ecological Engineering* 37, 744–753.
- Sims, A., Gajaraj, S., Hu, Z. (2012). Seasonal population changes of ammonia-oxidizing organisms and their relationship to water quality in a constructed wetland. *Ecological Engineering* 40, 100– 107.
- Singh, S., Haberl, R., Moog, O., Shrestha, R.R., Shrestha, P., Shrestha, R. (2009). Performance of an anaerobic baffled reactor and hybrid constructed wetland treating high-strength wastewater in Nepal—A model for DEWATS. *Ecological Engineering* 35, 654–660.
- Sklarz, M.Y., Gross, A., Yakirevich, A., Soares, M.I.M. (2009). A recirculating vertical flow constructed wetland for the treatment of domestic wastewater. *Desalination* 246 (1 – 3), 617 – 624.
- Sohair, I.E., Golinielli, G., Abou-Taleb, E.M., Hellal, M. (2013). Municipal wastewater treatment in horizontal and vertical flows constructed wetlands. *Ecological Engineering* 61, 460–468.
- Song, K., Lee, S., Kang, H. (2011). Denitrification rates and community structure of denitrifying bacteria in newly constructed wetland. *European Journal of Soil Biology* 47, 24 – 29.

- Sousa, J. T. de, Van Haandel, A. C. e Guimarães, A.V.A. (2001). Post-treatment of anaerobic effluents in constructed wetland systems. *Wat. Science Technol.*, 44 (4), 213–219.
- Spanjers, H., Takács, I and Brouwer, H. (1999). Direct parameter extraction from respirograms for wastewater and biomass characterization. *Water Sci. Technol.* 39 (4), 137–145.
- Spérandio, M., Etienne, P. (2000). Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various  $S_o/X_o$  ratios. *Wat. Res.* 34 (4) 1233-1246.
- Steen, P., Brenner, A., Buuren, J., e Oron, G. (1999). Post treatment of UASB reactor effluent in an integrated duckweed and stabilisation pond system. *Water Res.* 6 (3), 615–20.
- Stefanakis, A., Akrotos, C., Tsihrintzis, V. (2014). *Vertical Flow Constructed Wetlands: Eco-engineering Systems for Wastewater and Sludge Treatment*. Elsevier.
- Stefanakis, A., Akrotos, C., Tsihrintzis, V. (2011). Effect of wastewater step-feeding on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 37, 431–443.
- Stefanakis, A., Tsihrintzis, V., (2009). Effect of outlet water level raising and effluent recirculation on removal efficiency of pilot-scale, horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Desalination* 248, 961 – 976.
- Strotmann, U.J., Geldem, A., Kuhn, A., Gendig, C., Klein, S. (1999). Evaluation of a respirometric test method to determine the heterotrophic yield coefficient of activated sludge bacteria. *Chemosphere*, Vol. 38, No. 15, pp. 3555-3570.
- Sun, G., Gray, K.R., Biddlestone, A.J., Allen, S.J., Cooper, D.J. (2003). Effect of effluent recirculation on the performance of a reed bed system treating agricultural wastewater. *Process Biochemistry* 39, 351 – 357.
- Tanner, C., D'Eugenio, J., McBride, G., Sukias, J., Thompson, K. (1999). Effect of water level fluctuation on nitrogen removal from constructed wetland mesocosms. *Ecological Engineering* 12, 67–92.
- Tanner, C., Sukias, J., Headley, T., Yates, C., Stott, R. (2012). Constructed wetlands and denitrifying bioreactors for on-site and decentralised wastewater treatment: Comparison of five alternative configurations. *Ecological Engineering* 42, 112– 123.
- Taylor, M., Clarke, W., Greenfield, P. (2003). The treatment of domestic wastewater using small-scale vermicompost filter beds. *Ecological Engineering* 21, 197 – 203.
- Truu, M., Juhanson, J., Truu, J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Cience of the total environment* 407, 3958 – 3971.
- Tunçsiper, B. (2009). Nitrogen removal in a combined vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetland system. *Desalination* 247, 466–475.
- Van Haandel, A. C. e Lettinga, G. (1994) *Tratamento anaeróbio de esgotos: Um Manual Para Regiões de Clima Quente*, EpGraf, Campina Grande-PB.
- Vanrolleghem, P. A., Spanjers, H., Petersen, B., Ginestet, P. & Takacs, I. 1999. Estimating (combinations of) activated sludge model No. 1 parameters and components by respirometry. *Water Sci. Technol.* 39 (1), 195–214.
- Vázquez, M.A., de la Varga, D., Plana, R., Soto, M. (2013). Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting. *Ecological Engineering* 50: 37– 43.
- Vymazal, J. (2005). Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. A Review. *Ecological Engineering* 25, 478–490.



- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 380, 48–65.
- Vymazal, J. (2013). The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: A review of a recent development. *Water Research* 47 (14 – 15), 4795 – 4811.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. (2015). Multistage hybrid constructed wetland for enhanced removal of nitrogen. *Ecological Engineering* 84, 202–208.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L. (2011). A three-stage experimental constructed wetland for treatment of domestic sewage: First 2 years of operation. *Ecological Engineering* 37, 90–98.
- Wallace, S.D., Knight, R.L. (2006). *Small-Scale Constructed Wetland Treatment Systems. Feasibility, Design Criteria and O&M Requirements.* Water Environment Research Foundation (WERF) & IWA Publishing, Alexandria, VA, USA.
- Wang, Z., Liu, C., Liao, J., Liu, L., Liu, Y., Huang, X. (2014). Nitrogen removal and N<sub>2</sub>O emission in subsurface vertical flow constructed wetland treating swine wastewater: Effect of shunt ratio. *Ecological Engineering* 73, 446 – 453.
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H., Guo, W., Hub, Z., Liang, S., Fan, J., Liu, H. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation. *Bioresource Technology* 175, 594–601.
- Wu, J., Zhang, J., Jia, W., Xie, H., Gu, R.R., Gao, B. (2009). Impact of COD/N ratio on nitrous oxide emission from microcosm wetlands and their performance in removing nitrogen from wastewater. *Bioresource Technology* 100, 2910 – 2917.
- Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R. (2014). Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: A nitrogen and organic matter targeted review. *Water Research* 57, 40 – 55.
- Wu, S., Zhang, D., Austin, D., Dong, R., Pang, C. (2011). Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecological Engineering* 37, 1789– 1795.
- Xu, D., Li, Y., Howard, A., Guan, Y. (2013). Effect of earthworm *Eisenia fetida* and wetland plants on nitrification and denitrification potentials in vertical flow constructed wetland. *Chemosphere* 92, 201–206.
- Yalcuk, A., Ugurlu, A. (2009). Comparison of horizontal and vertical constructed wetland systems for landfill leachate treatment. *Bioresource Technology* 100, 2521–2526.
- Yan, C., Zhang, H., Li, B., Wang, D., Zhao, Y.J., Zheng, Z. (2012). Effects of influent C/N ratios on CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> emissions from vertical subsurface flow constructed wetlands treating synthetic municipal wastewater. *J. Hazard. Mater.* 203-204, 188–194.
- Zhai, J., Xiao, H.W., Kujawa-Roeleveld, K., He, Q., Kerstens, S.M., 2011. Experimental study of a novel hybrid constructed wetland for water reuse and its application in Southern China. *Water Science Technology* 64 (11), 2177–2184.
- Zhang, D., Gersberg, R.M., Jern Ng, W., Tan, S.K. (2014). Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environmental Pollution* 184, 620-639.
- Zhang, D-Q., Jinadasa, K., Gersberg, R., Liu, Y., Tan, S., Ng, W. (2015). Application of constructed wetlands for wastewater treatment in tropical and subtropical regions (2000–2013). *Journal of Environmental Sciences* 30, 30 – 46.

- Zhang, D-Q., Tan, S., Gersberg, R., Zhu, J., Sadreddini, S., Li, Y. (2012). Nutrient removal in tropical subsurface flow constructed wetlands under batch and continuous flow conditions. *Journal of Environmental Management* 96, 1 – 6.
- Zhao, Y., Hui, Z., Chao, X., Nie, H., Li, H., He, J. (2011). 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. *Ecological Engineering* 37(10), 1546–1554.
- Zhao, Y.Q., Sun, G., Allen, S.J. (2004). Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal flow reed bed system with effluent recirculation. *Science of the Total Environment* 330, 1 – 8.
- Zhou, Z., Wu, Z., Wang, Z., Tang, S., Gu, G. (2008). COD fractionation and parameter estimation for combined sewers by respirometric tests. *J Chem Technol Biotechnol* 83:1596–1601.
- Zhu, H., Yan, B., Xu, Y., Guan, J., Liu, S. (2014). Removal of nitrogen and COD in horizontal subsurface flow constructed wetlands under different influent C/N ratios. *Ecological Engineering* 63, 58– 63.
- Ziglio, G., Andreottola, G., Foladori, P., Ragazzi, M. (2001). Experimental validation of a single-OUR method for wastewater RBCOD characterisation. *Water Science and Technology*, 43(11), 119–126.

## **CAPÍTULO 2. MATERIAIS E MÉTODOS**

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

1. COLUMNAS DE LABORATORIO
2. AUGA RESIDUAL SINTÉTICA
3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS
  - 3.1. pH e potencial redox
  - 3.2. Oxígeno disuelto e temperatura
  - 3.3. Caudal
  - 3.4. Demanda química de oxígeno (DQO)
  - 3.5. Demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>)
  - 3.6. Sólidos en suspensión totais e volátiles (SST, SSV)
  - 3.7. Nitrógeno: amonio, nitratos e n total (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NT)
  - 3.8. Fósforo: fósforo total (PT) e fosfatos (P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)
  - 3.9. Fluxo de caudais
  - 3.10. Granulometría e porosidade
4. DETERMINACIÓN DE EMISIÓN GÁSOSAS EN COLUMNA: CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> E N<sub>2</sub>O
5. CARACTERIZACIÓN DOS MEDIOS FILTRANTES: COMPACTACIÓN, DENSIDADE, HUMIDADE, MATERIA ORGÁNICA, BIOFILM
6. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADE MICROBIANA
7. REFERENCIAS



## 1. COLUMNAS DE LABORATORIO

Neste estudo os sistemas de simulación dos humidais construídos concíbense como columnas cilíndricas de laboratorio, segundo o deseño proposto por Andreottola et al. (2007) para simular os humidais de Fluxo Vertical (FV). Un deseño similar foi adaptado para simular humidais de Fluxo Horizontal Subsuperficial (FH) permitindo aplicar condicións de saturación hidráulica.

Hai diferentes estudos con humidais construídos a escala de laboratorio conformados en columnas transparentes, que poden ser de distintos materiais, como policloruro de vinilo (PVC) , polimetilmetacrilato (PMMA/*plexiglass*), fibra de vidro, entre outros, e con distintas dimensións e características, adaptándoas á tipoloxía de HC a simular (Andreottola et al. 2007, Hu et al., 2012, Allen et al., 2015, Tejeda et al., 2015).

As columnas complétanse con material filtrante de granulometría adecuada ao sistema a simular, sendo así mais groso o material filtrante que completa as columnas de simulación humidais de FH que o de FV. Neste estudo empregouse grava procedente de planta piloto de humidais, de modo que contén inóculo de microbiota que facilitará o acondicionamento e posta en marcha dos sistemas.

As columnas de laboratorio para simular HCs contan coas características dos humidais reais, excepto as plantas, que a pesares de poder ser introducidas nas columnas, non se fixo, ao ter en conta que o efecto destas nos procesos de depuración nos humidais ocorre máis ben a longo prazo, polo que a súa ausencia non condiciona a validez dos resultados obtidos.

Para dar consistencia ao estudo dos humidais construídos en columnas de laboratorio, previo á configuración en sistemas de dobre etapa e híbridos, dispuxéronse en unidades independentes para comprobar o seu funcionamento. A idoneidade da configuración en columnas de fluxo subsuperficial horizontal deriva do feito de que a difusión do oxíxeno atmosférico é moi reducido debido á presenza de area ou substrato de grava, en comparación co tratamento insaturado nas columnas de FV (Nivala et al., 2013). O rendemento das columnas de FV e FH foi probado, utilizándoas previamente como sistemas individuais e acadando taxas de eliminación do 90 – 95 % DQO aplicando altas cargas (80 g DQO/m<sup>2</sup>·d en columnas de FV e 20 g DQO/m<sup>2</sup>·d en FH) e obtendo efluentes máis aeróbicos nas unidades de FV (3 – 7 mg O<sub>2</sub>/L, POR 60 – 100 mV) que nas de FH (1 – 3 mg O<sub>2</sub>/L, POR -110/-230 mV). Ademais nestas condicións restou unha maior concentración de amonio no efluente das columnas de FH (66 mgN-NH<sub>3</sub>/L) que nas de FV (30 mgN-NH<sub>3</sub>/L). Estes resultados indicaron que ambos tipos de columnas simulan adecuadamente os humidais subsuperficiais de FV e FH convencionais.

Unha vez dispostas as columnas en sistemas en serie ou ben en sistemas híbridos, faise unha configuración inicial sobre a que se van aplicando modificacións coa idea de mellorar a operación, ou de aumentar a capacidade, pero sen desestabilizar os sistemas. Nas condicións que se consideren óptimas páranse os sistemas para levar a cabo ensaios en descontinuo de actividade microbiana. Comézase alimentando con baixas cargas ata acadar un estado estacionario, considerado polo mantemento constante de pH, OD, POR, parámetros de carga orgánica (DQO, DBO<sub>5</sub>, SST) e balance equilibrado de

nitróxeno. No estudo mantéñense constantes determinados parámetros, tales como temperatura e composición da alimentación, o cal permite eliminar variables e así facilitar a análise da variabilidade dos parámetros antes citados.

- Temperatura: as columnas localízanse en cámara termostática de  $20 \pm 1$  °C. Como incidencia, a temperatura acadou temperaturas de ata 27,5 °C entre os días 8-17/07/2013.
- Alimentación: auga residual sintética, coas características típicas dunha AR urbana, modificada de Aiyuk e Verstraete (2004), que desenvolveron un substrato coñecido como Synthes.
  - o Mantense refrixerada a 10 °C.
  - o pH = 7, neutralizado con HCl/NaOH.
- Nos HC de FV a alimentación faise de modo intermitente, para o que se recorre xeralmente ao emprego de sifóns de descarga controlada. Esta simulación nas columnas de FV faise con bombas peristálticas que fan a alimentación en pulsos determinados coa axuda de un temporizador.
- Nos HC de FH a alimentación é continua con baixo caudal, situación que se simula en laboratorio coa axuda de bombas peristálticas e temporizadores que neste caso facilitan a alimentación e numerosos pulsos pouco espazados no tempo.

Os esquemas das columnas de laboratorio empregadas no estudo son os que aparecen na Figura 1, onde se recollen as características dimensionais e da disposición dos distintos medios filtrantes empregados no recheo para simular HCs de FV (Fig. 1a) e de FH (Fig 1b). Estas columnas poden dispoñerse en serie ou combinadas, para simular HCs en etapas ou híbridos, segundo o caso, como se estudará nos vindeiros capítulos desta tese.

Na cabeceira de cada columna resérvase un espazo, con altura de 10 cm en FH e 13 cm en FV, para dispor en situacións determinadas do estudo, como pode ser o cambio a condicións de saturación hidráulica e osixenación durante as análises respirométricas, así como para dispor de atmosfera confinada para as determinacións gasosas.

As columnas dispoñen dunha entrada para a alimentación da AR na parte superior, e dunha saída para o efluente na parte inferior. No caso das columnas de FH comunícase o extremo inferior ata o nivel de alimentación mediante unha goma comunicante co obxectivo de manter o nivel de saturación na columna. Á saída de cada columna existe un pequeno depósito onde se fan as analíticas *in situ* do efluente (OD, POR e pH).

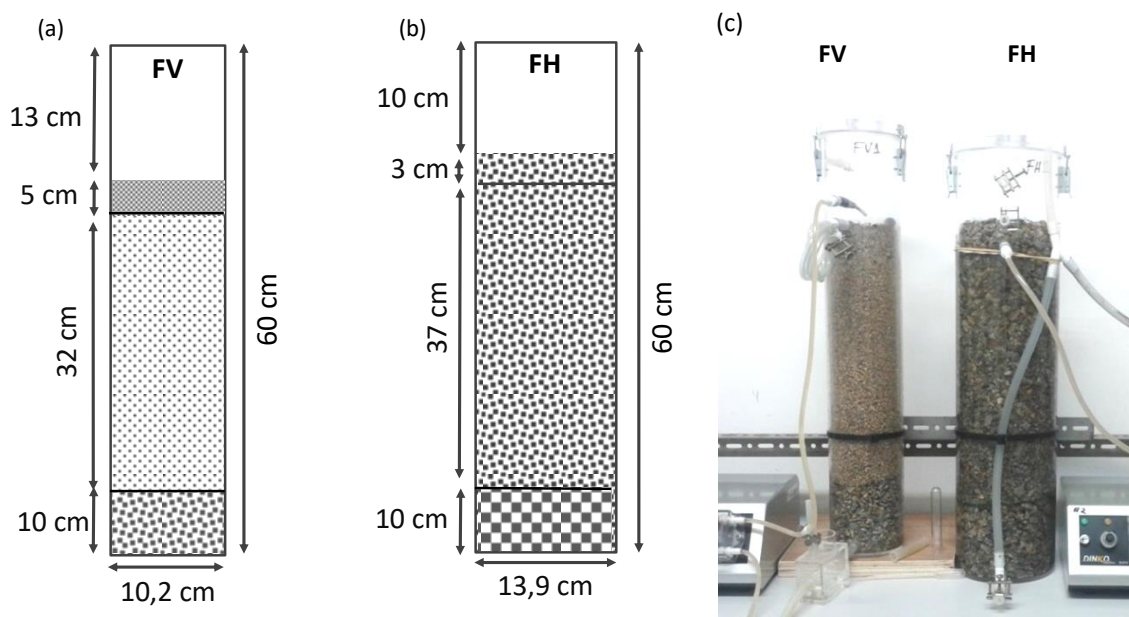
De abaixo a arriba, en primeiro lugar atópase a Capa de drenaxe (CDr) de 10 cm, composta por grava fina ( $D_{60} = 5,2$ mm, CU = 2,3, Porosidade (P) = 45,8 %) nas columnas de FV e por grava media ( $D_{60} = 12,5$ , CU = 1,7, P = 45,4 %) nas de FH. A continuación, separándose por unha malla plástica de 2 mm<sup>2</sup> de paso de luz, que evita a mestura entre capas, sitúase o Medio Filtrante (MF1), que nas columnas de FV é de 32 cm de altura con area grossa ( $D_{60} = 2,5$ mm, CU = 2,6, P = 36,0 %) e nas de FH de 40 cm con grava fina

( $D_{60} = 5,2$ ,  $CU = 2,3$ ,  $P = 45,8\%$ ). Nas columnas de FV sitúase un segundo medio filtrante de 5 cm de espesor enriba do anterior, distinguindo así MF1 e MF2 (area fina de  $D_{60} = 0,9$ ,  $CU = 7,5$ ,  $P = 16,3\%$ ), e nas columnas FH a alimentación (IN) entra 3 cm baixo a superficie, distinguindo nestas columnas un medio superior (M2) enriba de MF1 en condicións de non saturación hidráulica. Deste modo a altura útil para ambas columnas é de 47 cm. As características dos medios filtrantes empregados recóllense na Táboa 1.

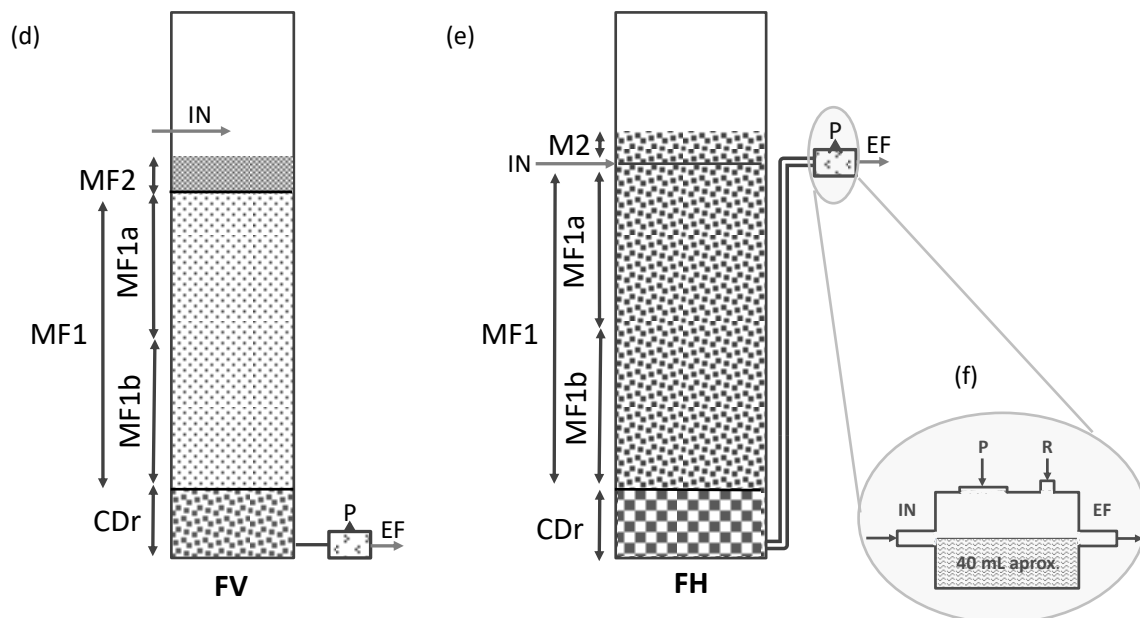
As columnas recheas con medio filtrante deixan ocos polos que flúe a auga, a granulometría dos medios determinará o volume dispoñible para a auga (Volume medio líquido, Táboa 1), cálculo que se fai de modo experimental mediante bombeo *in situ* unha vez montada a columna, en sentido ascendente, sobre o leito húmido.

A alimentación (IN, Fig. 1c) nas columnas FV entra pola parte superior goteando sobre o centro da capa de MF2, onde se distribúe por toda a área superficial da columna, debido a que o volume dos pulsos é maior que a capacidade de infiltración deste medio. O influente atravesa a columna en sentido descendente e recóllese o efluente á saída, que pasa por un pequeno depósito con uns 40 mL que serve de punto de mostraxe e determinacións *in situ* grazas a un porto de inserción de eléctrodos portátiles (Fig. 1e). Este depósito complétase e sélase nas determinacións respirométricas, contendo así 85 mL.

A alimentación (IN, Fig 1d) nas columnas FH entra 3 cm baixo a superficie, atravesa en sentido descendente a columna e sae a través de unha goma comunicante a altura da entrada, onde se sitúa o depósito de toma de mostras e a continuación se recolle o efluente.







**Figura 1.** Características dimensionais das columnas FV e FH (a, b) e imaxe de laboratorio (c). Disposición dos distintos medios filtrantes empregados no recheo das columnas para simular HCs de FV e de FH (c, d). Detalle do depósito de toma de mostrax situado á saída das columnas (e).  
 CDr: Capa de Drenaxe, MF1: Medio Filtrante (MF1a: metade superior, MF1b: metade inferior), MF2: Medio Filtrante superior en FV, M2: Medio superior de FH, IN: Influyente, EF: Efluente, P: porto de mostraxe e de inserción de eléctrodos, R: respiradero.

## 2. AUGA RESIDUAL SINTÉTICA

Nos humidais construídos a remoción da DBO soluble e suspendida lévase a efecto por unha serie de mecanismos diferentes. A DBO que se encontra en forma soluble é removida mediante a degradación biolóxica realizada polos microorganismos adheridos á superficie das plantas, aos detritos, e ao material de soporte –grava, area-. As baixas velocidades, así como a presenza das plantas e do medio soporte, fan que se favoreza a filtración, floculación e sedimentación da materia orgánica que se encontra en forma suspendida. Os sólidos orgánicos removidos por sedimentación e filtración, así como a vexetación morta exercerán unha demanda de oxíxeno. Como resultado a DBO remóvese rapidamente a medida que a auga avanza no sistema.

En anteriores ocasións víñase empregando auga residual procedente de arqueta da Universidade da Coruña (Facultade de Filoloxía), pero foise observando diferente composición na auga, tanto estacional como semanal, debido ao tránsito de estudantado, resultando DQO moi variable con valores de 200 ata máis de 1000 mg/L.

**Táboa 1.** Características das columnas FV e FH.

	FV	FH
Diámetro interno da columna (cm)	10,2	13,9
Superficie da columna (cm <sup>2</sup> )	81,7	151,8
Altura útil (cm)	47	47
Volume medio líquido <sup>a</sup> (mL)	1200	3250
<b>Capa de Drenaxe (CDr)</b>		
Material	grava fina	grava media
D <sub>60</sub> <sup>b</sup> (mm)	5,2	12,5
CU <sup>c</sup>	2,3	1,7
Altura CDr (cm)	10	10
Porosidade <sup>d</sup> CDr (%)	45,8	45,4
<b>Medio Filtrante (MF1)</b>		
Material	area grosa	grava fina
D <sub>60</sub> (mm)	2,5	5,2
CU	2,6	2,3
Altura MF1 (cm)	32	37
Porosidade MF1 (%)	36,0	45,8
<b>Medio Filtrante superior (MF2)</b>		
Material	area fina	non hai
D <sub>60</sub> (mm)	0,9	
CU	7,5	
Altura MF2 (cm)	5	
Porosidade MF2 (%)	16,3	

<sup>a</sup> Volume de auga na altura útil da columna co medio filtrante.

<sup>b</sup> D<sub>60</sub>: Tamaño da peneira polo que pasa o 60% da mostra en peso.

<sup>c</sup> CU: Coeficiente de uniformidade = D<sub>60</sub>/D<sub>10</sub> (mostras uniformes con CU<10).

<sup>d</sup> Porosidade media antes e despois da compactación, calculada segundo o apartado 3.10. de este capítulo.

Empregando unha auga residual sintética caracterizada como típica AR urbana, elimínase unha variable e permite avaliar o sistema de xeito máis sinxelo, xa que se coñecen os parámetros de entrada aos humidais construídos. Esta condición tamén é de utilidade pra análíticas, dilucións, e caracterizacións de rutina.

## 2.1. CARACTERÍSTICAS DA AUGA RESIDUAL SINTÉTICA EMPREGADA

Para poder ter control dos parámetros de deseño do sistema, decidiuse empregar auga residual sintética como alimentación dos humidais construídos.

Para isto partiuse do estudo de Aiyuk e Verstraete (2004) no que desenvolveron un substrato sintético coñecido como Synthes para simular unha auga residual urbana de baixa carga. Synthes é un concentrado complexo, con variedade de compoñentes químicos, ingredientes alimentarios e metais traza que ademais de carga orgánica,

aporta nutrientes e sólidos en suspensión á auga residual. A partir do concentrado, pódese formular unha auga residual sintética da concentración desexada.

No noso caso, adaptamos a proposta de Aiyuk e Verstraete (2004) para reducir a concentración de sólidos en suspensión, pois tivemos en consideración que os humidais construídos tratan polo xeral efluentes residuais pretratados ou sometidos a tratamentos primarios previos. A modificación introducida, en relación a Synthes, foi reducir a cantidade de fécula empregada na formulación, segundo se indica na Táboa 2.

Durante o estudo observouse a tendencia de incremento na cantidade de SST no tanque de alimentación co tempo, obtendo unha media aumento de 12,1 mg SST/día, motivo polo que a alimentación se repuxo a diario de luns a venres facendo a dilución a partir do concentrado.

A pesar de non ter estudado en profundidade a amonificación de urea a amonio, atopouse que arredor do 30% da urea inicial se transforma en amonio tras 3 días de almacenamento no tanque influente. Isto concorda co feito de que a urea se hidroliza con facilidade, tanto química como microbioloxicamente, resultando na liberación de amonio (Kadlec and Wallace, 2009).

**Táboa 2.** Características do concentrado e da auga residual sintética.

Compoñente	Conc. (mg/L)	Compoñente	Conc. (mg/L)	Compoñente	Conc. (mg/L)
<b>CONCENTRADO</b>					
<b>Compostos químicos</b>		<b>Ingredientes alimentarios</b>		<b>Metais traza</b>	
Urea	1600	Amidón	1000 (2100*)	Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	15
NH <sub>4</sub> Cl	200	Leite en pó	2000	CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10
Na-acetato·3H <sub>2</sub> O	2250	Extracto de levadura	900	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	2
Peptona	300	Aceite de soia	500	NiSO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	5
MgHPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	500			PbCl <sub>2</sub>	2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	400			ZnCl <sub>2</sub>	5
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100	<b>Outras características</b>			
CaCl <sub>2</sub>	100	DQO total	7000 (8000*)		
		pH	7,0 (7,1*)		
<b>AUGA RESIDUAL SINTÉTICA</b>					
DQO total	539 ± 48 (n=17) (600 ± 50*)				
DQO soluble	201 ± 34 (n=5) (170 ± 40*)				
N-total <sup>a</sup>	78 ± 8 (n=7) (49 ± 8*)				
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	8 ± 1 (n=14) (4 ± 1*)				
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	11 ± 2 (n=2) (21 ± 2*)				
SST	120 ± 32 (n=14) (200 ± 50*)				
pH	7,0 ± 0,2 (n=32) (7,0 ± 0,2*)				

\*entre parénteses, valores correspondentes á formulación de Aiyuk e Verstraete (2004).

<sup>a</sup> NT obtido por espectrofotometría neste estudo, e por NTK en estudo Aiyuk e Verstraete (2004).

### Procedemento.

Prepárase 1L de concentrado (composición en Táboa 2) que se garda a 4°C en refrixerador ata 8 días, preparando a auga residual sintética diluída no momento da súa utilización. A dilución faise con auga de billa empregando un factor de dilución de 13,3333 (cada litro de ARS leva 75 mL de concentrado). Ademais, neutralízase até pH 7 no momento de preparar a alimentación, con NaOH ou HCl, segundo o caso. A auga residual sintética presentou as características que tamén se indican na Táboa 2.

## **3. ANALÍTICAS DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS**

### **3.1. pH E POTENCIAL REDOX**

Para a determinación do pH e o potencial redox (POR) empregáronse equipos portátiles HANNA da serie HI 981xx, sendo o do pH modelo HI 98115 e o potenciómetro modelo HI 98185. Na segunda parte do estudo (Sistemas híbridos) empregouse o potenciómetro con eléctrodo combinado de platino CRISON 5262. Trátase de equipos avanzados para condicións extremas e mostras difíciles, entre as que se atopan as das augas residuais, deseñados para proporcionar resultados e precisión de laboratorio en condicións diversas.

### Procedemento

A toma de datos faise despois da correspondente posta a punto e calibrado do equipo segundo as especificacións técnicas do fabricante, constando de funcións diagnóstico con solucións patrón:

- pH: patróns 4,01 - 7,01 - 9,18.
- POR: solucións test 200 – 275 mV e 470 mV.

### **3.2. OXÍXENO DISOLTO E TEMPERATURA**

O oxíxeno disolto tamén se determina con un equipo portátil YSI ProODO™, que se trata de un instrumento profesional de OD óptico que mide o oxíxeno disolto en auga con tecnoloxía luminescente de larga duración e emprega un sinal dixital para enviar información entre o instrumento e a sonda.

### Procedemento

Antes de cada toma de datos, faise a calibración de un punto da sonda, mediante a calibración de OD% en aire saturado en auga, segundo as instrucións do fabricante.

A temperatura mantívose constante durante todo o estudo, situando as columnas de HCs nunha cámara termostática a  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  (excepto días 74 – 83 da primeira parte do estudo de HC en serie, que se acadaron  $28^\circ\text{C}$  de media).

Así mesmo, controlouse a temperatura dos influentes sintéticos con termómetro de máximas e mínimas temperaturas do fabricante QUARTZ, que se mantiveron refrixerados en neveiras portátiles e nos refrixeradores Balay A+ QC493 e Teka TS130.

### 3.3. CAUDAL

O caudal alimentado ás columnas de HCs estivo controlado mediante bombas peristálticas DINKO D-21V con conexións de silicona/plástico segundo a configuración do HC, e dirixidas mediante temporizadores dixitais de ata 16 programas manuais do fabricante DH modelo 11780.

#### Procedemento

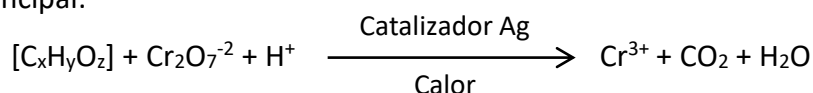
Fíxose o axuste das bombas de forma manual mediante bombeo de volumes coñecidos en tempos determinados, en cada cambio de período de estudo e tamén durante cada período, cunha regularidade de 15 días aproximadamente. A comprobación do caudal realmente alimentado fíxose por pesada simple do volume de influente(s) e de efluente(s) de cada día da semana (Martes – Venres) e do acumulado da fin de semana (Sábado – Luns), nunha balanza GRAM precision III Serie DM-30K.

### 3.4. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍXENO (DQO). *STANDARD METHODS (APHA, 1995)*

#### Fundamento teórico

A DQO é un dos parámetros máis empregados pra cuantificar o contido de materia orgánica nas augas residuais, expresándoo como equivalentes de oxíxeno: a cantidade de oxíxeno necesaria para oxidar a materia orgánica presente na mostra de auga (natural, residual, industrial...) determínase empregando un axente oxidante forte (dicromato potásico) nun medio ácido. A dixestión da auga con este axente faise a temperatura elevada (150°C) e para facilitar a oxidación de certos compostos orgánicos emprégase o sulfato de prata como catalizador.

A reacción principal:



A dixestión ocorre con exceso de dicromato potásico ( $K_2Cr_2O_7$ ), e o que queda deste ao remate da dixestión sen reducir, determínase por valoración con sulfato amónico-ferroso (FAS), empregando ferroína como indicador.

#### Reactivos

- Solución dixestora:  $K_2Cr_2O_7 + HgSO_4$  en  $H_2SO_4$ .
- Solución catalítica:  $Ag_2SO_4$  en  $H_2SO_4$ .
- Solución valoradora:  $Fe(NH_4) \cdot 6H_2O$  en  $H_2SO_4$ .
- Solución patrón:  $K_2Cr_2O_7$ .
- Disolución indicadora: ferroína.

## Material

- Tubos de dixestión de vidro Pírex 16x100mm, cinta e tapóns de rosca de Teflón.
- Dispensadores automáticos (1-10 mL), Micropipetas (0,1-10 mL) e Bureta (25 mL).
- Axitador ou vórtex e axitador magnético.
- Bloque de dixestión a 150°C e temporizador.
- Matraz erlenmeyer (100 mL), imán, varilla imantada, vaso de precipitados.

## Procedemento

1. Tomar 2,5 mL de mostra nun tubo de dixestión (con un valor de DQO inferior a 900 mg/L, para o cal se diluirá se fose necesario).
2. Preparar un branco con 2,5 mL de auga destilada.  
Ambas operacións repítense na mostra e no branco.
3. Engadir en cada tubo 1,5 mL de solución dixestora e 3,5 mL de solución catalítica, deixándoa escorrer coidadosamente pola parede del tubo.
4. Precintar con cinta de teflón a boca dos tubos, enroscar o tapón e homoxeneizar por axitación vigorosa.
5. Colocar os tubos no bloque de dixestión a 150°C durante mínimo 2 horas.  
A continuación retirar do dixestor e deixar arrefriar a temperatura ambiente.
6. Valoración das mostras e os brancos: pasar o contido dos tubos a erlenmeyer, lavándoos un par de veces con auga destilada. Engadir 1-2 gotas de ferroína, e valorar coa solución FAS ata virar de azul-gris a laranxa intenso.
7. Valoración da solución FAS: Sobre 10 mL de auga destilada engadir 10 mL de ácido sulfúrico ao 98%. Deixar arrefriar e engadir 10mL de solución patrón de dicromato. Con esta valoración determinarase a Normalidade do FAS, xa que esta pode variar co tempo.

## Cálculos

O valor da DQO exprésase en mg de O<sub>2</sub>/L e ven determinado pola seguinte expresión:

$$DQO = ((B-A) \cdot N \cdot 8000) / 2,5 \quad [\text{Ec. 1}]$$

Onde: B son os mL de solución valoradora consumidos polo branco.

A son os mL de solución valoradora consumidos pola mostra.

N é a normalidade da solución valoradora e calcúlase segundo a expresión:

$$N = (10 \cdot 0,003) / C \quad [\text{Ec. 2}]$$

Onde: C son os mL de solución FAS consumidos na súa valoración.

### 3.5. DEMANDA BIOLÓGICA DE OXÍGENO (DBO<sub>5</sub>). *STANDARD METHODS (APHA, 1995)*

#### Fundamento teórico

O método de ensaio baséase en medir o oxíxeno consumido por unha poboación microbiana no proceso de degradación bioquímica da m.o. presente na auga e en condicións nas que se inhibiron os procesos fotosintéticos de produción de oxíxeno en condicións que favorecen o crecemento dos microorganismos.

A actividade e o crecemento poboacional dos microorganismos aerobios que viven na auga ven dada pola seguinte relación:



O oxíxeno disolto na auga e a cantidade de elementos nutritivos son factores limitantes para o crecemento dos microorganismos, e debe terse en conta que a variación no contido de oxíxeno é función da cantidade e o carácter da materia orgánica. Así mesmo, o tipo e número de microorganismos presentes é un factor importante.

A DBO nas augas residuais é debida a tres clases de materias:

1. Orgánicos carbonáceos utilizados polos organismos aerobios como fonte de alimento.
2. Nitroxenados derivados do nitrito, o amonio e os compostos orgánicos do nitróxeno (específicos de bacterias como *Nitrosomas* e *Nitrobacter*).
3. Inorgánicos Fe<sup>2+</sup>, SO<sub>3</sub>, S<sup>2-</sup>, etc., que oxidan o oxíxeno disolto.

O método pretende medir, en principio, exclusivamente a concentración de contaminantes orgánicos ou DBO carbonosa (DBOc). Sen embargo, a oxidación da m.o. non é a única causa do fenómeno, senón que tamén interveñen a oxidación dos nitritos e sales amoniacaais, susceptibles de ser tamén oxidadas polas bacterias en disolución. O valor da DBO límite conséguese aproximadamente aos 20 días nas condicións do ensaio estándar. Na práctica procúrase utilizar a DBO aos 5 días (DBO<sub>5</sub>), que alén diso constitúe o parámetro normativo para os límites de vertedura de augas residuais tratadas.

#### Reactivos

- Hidróxido sódico en lentellas.
- Macro e Micronutrientes: CaCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub> e tampón fosfato.
- Solucións neutralizantes: NaOH e HCl 1N para axustar pH da mostra entre 6,5 e 7,5.
- Solución inhibidora da nitrificación: aliltiourea C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S ao 0,05%.
- Solución inóculo: efluente de ARU.

#### Material

- Equipos manométricos (fabricantes VELP e WTW), compostos por:
  - a. Base metálica con motor de axitación en 10 posicións.

- b. Botellas de vidro topacio de 500 mL de capacidade.
  - c. Capuchóns de goma con depósito para NaOH.
  - d. Manómetros con baterías de Litio e pantalla de lectura.
  - e. Imáns de axitación.
- Probetas de 250 e 500 mL.
  - Micropipetas de 100 – 1000  $\mu$ L.
  - Pinzas.
  - Cámara termostática de 20°C.

### Procedemento

1. Medir e axustar o pH das mostras entre 6,5 e 7,5.
2. Tomar a referencia da DQO para determinar o rango de medición do equipo de DBO, xa que a estimación teórica é  $DBO = 0,5 \cdot DQO$ . Segundo isto escóllese a escala de medición do manómetro sensor, que leva asociado un volume de mostra a tomar na botella, como segue:

Escala	DBO esperada ( $mgO_2/L$ )	Volume mostra (mL)
A	0 – 999	100
B	0 – 600	150
C	0 – 250	250
D	0 – 90	400

Para concentracións maiores faise a dilución correspondente con auga destilada para que a mostra se atope dentro de escala.

3. Engadir nutrientes en proporción 1 $\mu$ L/1mL mostra.
4. Engadir inhibidor da nitrificación en proporción da escala escollida no manómetro:

Escala	A	B	C	D
Volume alitiourea 0,05% (mL)	0,3	0,5	0,8	1,3

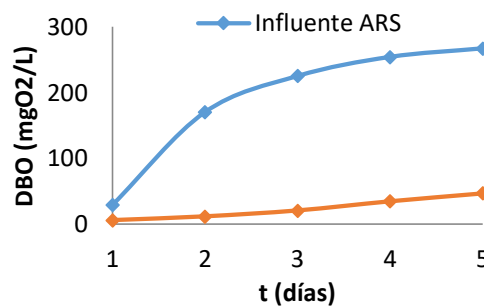
5. Engadir inóculo en mostras de influente (ARS) en proporción 1mL/150mL mostra.



6. Poñer imán axitador e capuchón de goma con 5 – 6 lentellas de NaOH para a absorción alcalina do dióxido de carbono xerado na respiración celular.
7. Colocar na base metálica en axitación durante 1h aprox. (ou ata temperatura constante de 20°C en cámara) e a continuación enrosar o manómetro sensor (previamente calibrado e posto a cero) programado para o comezo da toma de datos (1 dato/24h, durante 5 días).
8. A axitación será constante durante os 5 días pra asegurar o subministro necesario e continuo de oxíxeno.

### Cálculos

Como resultado da DBO<sub>5</sub> tómase o valor do 5º día rexistrado na pantalla do manómetro sensor. Como comprobación do rexistro diario de datos faise a gráfica de evolución durante os 5 días de toma de datos, tomando os rexistros de cada día (Fig. 2).



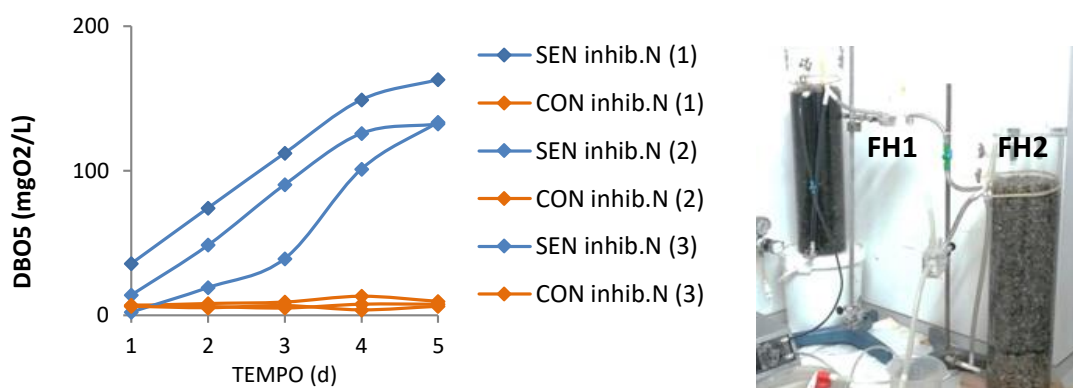
**Figura 2:** Exemplo de avance da DBO en 5 días con data de 04.07.2013.

### Inhibición da nitrificación

A pesar de que nas ARs procedentes dun tratamento primario non hai un gran número de bacterias nitrificantes e a súa actividade en xeral comeza a partir do 5º día (a 20°C), para excluír a súa posible contribución debido á nitrificación, pode inhibirse a súa actividade engadindo un volume proporcional de aliltiourea. Ademais inflúen as necesidades de oxíxeno debido aos fenómenos de asimilación e de formación de novas células.

Durante un período de estudo dos sistemas en serie de FH a DBO<sub>5</sub> presentou valores incoherentes por moi altos, en ocasións superiores á DQO. Para a comprobación da validez destes resultados, fíxose unha proba con inhibidor da nitrificación (aliltiourea ao 0,05%).

Para un triplicado *Con* e *Sen* inhibidor da nitrificación, obtívose unha media de 143,7 mg O<sub>2</sub>/L sen inhibidor e de 7,1 mg O<sub>2</sub>/L con inhibidor, para unha mostra de 40,6 mg O<sub>2</sub>/L de DQO, o cal permitiu comprobar que estes resultados de elevada DBO<sub>5</sub> se deberon ao inicio da nitrificación en menos de 5 días, polo que se continuou o estudo coa adición de aliltiourea co fin de non obter resultados incorrectos.



**Figura 3.** Proba (triplicado) de inhibición da nitrificación nos ensaios de DBO<sub>5</sub> no sistema FH1+FH2 (a DQO desta mostra foi de 40,6 mg/L) (a). Imaxe do sistema FH1+FH2 durante o Período II de operación con diferenza de colonización por biomasa entre as columnas (b).

### 3.6. SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN TOTAIS E VOLÁTILES (SST, SSV). *STANDARD METHODS (APHA, 1995)*

#### Fundamento teórico

Unha das características físicas máis importantes das augas residuais é o contido en sólidos, termo que engloba a materia en suspensión, a sedimentable, a coloidal e a disolta. A determinación de sólidos permite definir a calidade da auga, a orixe da súa contaminación e tamén os efectos do seu tratamento.

Distínguense:

- Sólidos totais: aqueles que quedan como residuo tras a evaporación total do líquido a 105°C.
- Sólidos en suspensión: aqueles que poden ser separados por retención nun filtro de poro determinado.

Estas dúas categorías poden dividirse á súa vez segundo a súa volatilidade a 550°C: a esta temperatura a fracción orgánica combustiona (constituindo os sólidos volátiles) e quedando como residuo a fracción inorgánica (cinzas).

Os sólidos en suspensión totais (SST) son os que quedan como residuo no filtro despois da evaporación da auga a 105 °C. O quentamento a 550 °C permite determinar os sólidos en suspensión volátiles (SSV) por diferenza con respecto aos SST no mesmo filtro.

#### Material

- Equipo de filtración: bomba de baleiro, matraz kitasato, funil de vidro, placa porosa, pinzas de suxeición, pinzas.

- Axitador magnético VELP MST, imán.
- Pipetas de vidro de distintos volumes, peras de goma.
- Crisois de porcelana.
- Filtros de fibra de vidro Albet FV-C, con 47 mm de diámetro e 1,2 μm de diámetro de poro.
- Estufa a 105°C e Mufla a 550°C.
- Balanza analítica.
- Disecador, xel de sílice

Debemos ter en conta que, ao empregar un filtro de 1,2 μm de diámetro de poro, estamos a determinar exclusivamente os sólidos en suspensión sen incluír os de tipo coloidal, que teñen un tamaño de partícula inferior.

#### Procedemento

1. Acondicionar un filtro de fibra de vidro na mufla 30 minutos a 550°C.  
Deixar arrefriar no disecador ata temperatura ambiente e pesar: P<sub>0</sub> (g).
2. Situar as mostras en vasos de precipitados sobre axitadores magnéticos, permitindo así a toma de mostras homoxéneas.
3. Tomar o volume (V) de mostra necesario (mL) e filtrar a baleiro. Como referencia tomamos 100mL de mostra para ARU con 100 – 500 mg/L de SST, como é o caso da ARS influente deste estudo. Para concentracións menores auméntase o volume de mostra tomado, no caso do presente estudo foi necesario duplicalo.
4. Secar na estufa a 105°C durante 1 hora.  
Deixar arrefriar no disecador ata temperatura ambiente e pesar: P<sub>1</sub> (g).
5. Calcinar na mufla a 550°C durante 30 min.  
Deixar arrefriar no disecador ata temperatura ambiente e pesar: P<sub>2</sub> (g).

#### Cálculos

Determinase a cantidade de SST e SSV (mg/L) por diferenza de pesadas, segundo as seguintes ecuacións:

$$\text{SST (mg/L)} = ((P_1 - P_0)/V) \cdot 10^6 \quad \text{[Ec. 3]}$$

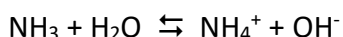
$$\text{SSV (mg/L)} = ((P_1 - P_2)/V) \cdot 10^6 \quad \text{[Ec. 4]}$$

### 3.7. NITRÓXENO: AMONIO, NITRATOS E NITRÓXENO TOTAL (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NT) *STANDARD METHODS (APHA, 1995)*

#### 3.7.1. NITRÓXENO AMONIACAL (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

##### Fundamento teórico

O amoníaco atópase nas disolucións acuosas en dúas formas: NH<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Cando o pH é superior a 11 todo o amoníaco presente convértese en NH<sub>3</sub>. No método empregado de eléctrodo selectivo, o NH<sub>3</sub> é capaz de pasar a membrana selectiva cara unha disolución interna de NH<sub>4</sub>Cl, onde se establece o equilibrio químico:



Onde se ha de cumprir:  $[\text{NH}_4^+]\cdot[\text{OH}^-] = K [\text{NH}_3]$

A disolución de NH<sub>4</sub>Cl é suficientemente concentrada como para considerar a [NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] constante, de modo que:  $[\text{OH}^-] = [\text{NH}_3]\cdot K$

Unha sonda interna detecta o potencial redox (E) que é función da [OH<sup>-</sup>], e nesta disolución interna tamén é proporcional á [NH<sub>3</sub>], polo que:  $E = E_0 - k \cdot \ln [\text{NH}_3]$ , de modo que o equipo que transcribe o valor resultante na pantalla.

##### Reactivos

- Solución nai de amonios: NH<sub>4</sub>Cl de 1 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L.
- Axustador de forza iónica: MgSO<sub>4</sub> 1 M.
- Auga destilada.

##### Material

- Equipo de eléctrodo selectivo de amonio CRISON GLP22.
- Vaso de precipitados e imán.
- Pipeta (50 mL) e pera de goma, micropipeta (10 mL).
- Matraces erlenmeyer (100 mL).

##### Procedemento

1. Calibrado do equipo de eléctrodo selectivo de amonio: preparar 4 solucións de concentracións crecentes a partir da solución nai, de 5 a 75 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L, e podendo acoutar o rango en función das concentracións esperadas nas mostrás.
2. Medir cada patrón tomando 50 mL no vaso de precipitados onde tamén se introduce un imán e o eléctrodo selectivo xunto co de referencia.
3. No momento da medición, engádese o axustador de forza iónica en proporción do 10% da mostra patrón.

4. Determinación da concentración das mostras: Unha vez o equipo garda a calibración internamente, proceder do mesmo xeito coas mostras, anotando o resultado que se mostra na pantalla (mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L).

Entre cada mostra, lavar o eléctrodo con auga destilada e secar coidadosamente.

### Cálculos

1. En caso de tomar os datos do equipo en mV, pódese facer a recta de calibrado manualmente (Fig. 4) para obter a ecuación da concentración de amonio en función do potencial dado polo eléctrodo:

$$\text{Log}[N\text{-NH}_4^+] = (E - b)/a \quad \text{[Ec. 5]}$$

2. Da ecuación obtemos os parámetros a e b, e de aí a concentración de nitróxeno amoniacal na mostra a partir da medida de mV dada polo equipo.

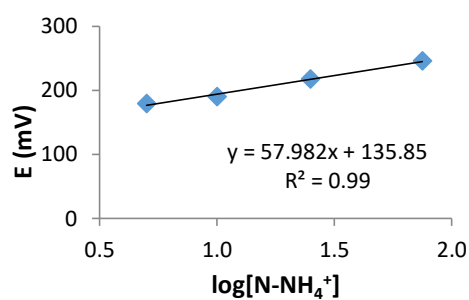


Figura 4: Exemplo de calibrado de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con data de 15.09.2014.

### 3.7.2. NITRATOS (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

#### Fundamento teórico

Determinación mediante espectrofotometría UV, seguindo o método da 2ª derivada. A determinación baséase en que o espectro UV dos nitratos é bastante diferente do que presenta a materia orgánica. No espectro dos nitratos a absorbancia varía rapidamente entre 210 e 230 nm, mentres que no espectro da m.o. a variación é gradual. O cálculo da 2ª derivada do espectro dunha mostra elimina a contribución da m.o.

Os nitritos presentan un espectro similar, aínda que se supón que a súa presenza é baixa, e a súa interferencia desprezable. O método non pode usarse con augas salinas pola interferencia dos bromuros.

A 2ª derivada do espectro dos nitratos presenta un máximo a 224 nm, que é proporcional á concentración. O calibrado é lineal até 3 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

#### Reactivos

- Auga destilada libre de nitratos para a preparación de patróns e branco.

- Solución nai patrón de nitratos: 100 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L con 2 mL CHCl<sub>3</sub>/L para conservación.
- Solución ácida: HCl 1M

### Material

- Espectrofotómetro Libra S60.
- Cubetas de cuarzo.
- Tubos de ensaio (10 mL) e matraces aforados (100 mL).
- Axitador ou vórtex.
- Micropipetas (0,1 – 10 mL).
- Equipo de filtración (descrito no apartado 3.6.).

### Procedemento

#### **a.** Preparación dos patróns:

1. A partir da solución nai, preparar dilucións de 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 3,0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L en matraces aforados de 100 mL
2. Acidificar coa solución de HCl en proporción 2 mL HCl/100 mL patrón.

#### **b.** Tratamento das mostras:

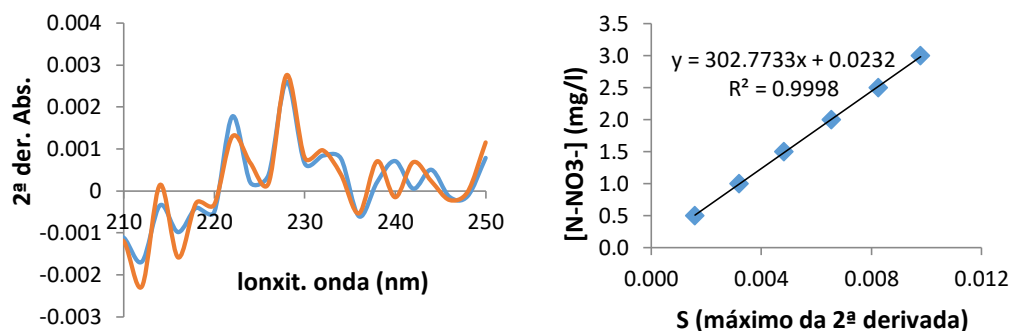
1. Filtrar as mostras en caso de que presenten turbidez.
2. Facer as dilucións necesarias das mostras para que estean incluídas no rango de medición (0 – 3 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L), preparándoas en matraces de 100 mL ou en tubos de 10 mL, segundo o factor de dilución a aplicar.
3. Acidificar a mostra coa solución de HCl en proporción 2 mL HCl/100 mL mostra.

#### **c.** Lectura no espectrofotómetro:

1. Seleccionar varrido entre 200 e 250 nm (UV).
2. Facer a liña base introducindo nas cubetas un branco de auga destilada.
3. Poñer os patróns na cubeta, facer o varrido e anotar o valor da 2ª derivada a 228 nm.
4. A continuación facer o mesmo coas mostras.

### Cálculos

1. En caso de que o espectrofotómetro non teña a aplicación de 2ª derivada, faise a man enfrontando a absorbancia e a lonxitude de onda, anotando o máximo para cada mostra, que como se ve na seguinte Figura 5 (esq.), atópase nos 228 nm.



**Figura 5. (esq.)** Representación da 2ª derivada para as lonxitudes de onda entre 210 e 250 nm. **(der.)** Exemplo de calibrado de  $[N-NO_3^-]$  con data de 27.06.2014.

2. Facer a recta de calibrado (Fig. 4 der.), xa que o valor máximo da 2ª derivada é proporcional á concentración de  $N-NO_3^-$  presente na mostra:

$$S = a [N-NO_3^-] + b \quad \text{[Ec. 6]}$$

3. Despexar na recta de calibrado a concentración da mostra. Co calibrado determínanse os parámetros a e b de [Ec. 6], e a concentración:

$$[N-NO_3^-] = (S - b)/a \quad \text{[Ec. 7]}$$

### 3.7.3. NITRÓXENO TOTAL (NT)

#### Fundamento teórico

A determinación de N total faise por dixestión oxidativa con persulfato potásico. Esta dixestión oxida todas as formas de nitróxeno presentes nunha mostra até nitrato. A oxidación lévase a cabo en autoclave a 100-110°C durante 1 hora en medio básico. Posteriormente determínase a concentración de nitratos co método da 2ª derivada (apartado 3.7.2.).

#### Reactivos

- Os descritos no apartado apartado 3.7.2.
- Solución dixestora de persulfato potásico: 6 g  $K_2S_2O_8$  en 100 mL de NaOH 1,5 N.
- Solución nai de urea: 100 mg N-org/L.
- Patrón de amonio: 100 mg  $N-NH_4^+$ /L.
- Solución ácida:  $H_2SO_4$  cc.

#### Material

- O descrito no apartado 3.7.2.
- Tubos de vidro Pírex de 15 mL con tapón de rosca e cinta de Teflón.
- Autoclave.

## Procedemento

### a. Preparación dos patróns:

1. A partir da solución nai de nitratos, preparar dilucións de 0,5 – 1,0 – 1,5 – 2,0 – 2,5 – 3,0 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L en matraces aforados de 100 mL. Tamén preparar un branco por duplicado de auga destilada.
2. Poñer 10 ml de cada patrón e branco en tubos e engadir 1,5 mL de solución dixestora. Pechar os tubos e axitar.

### b. Tratamento das mostras:

1. Filtrar as mostras que presenten turbidez e diluír se é preciso para que estean incluídas no rango de medición (0 – 3 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L), preparándoas en matraces de 100 mL ou nos tubos de 15 mL, segundo o f.d. a aplicar.
2. Tomar 10 mL de mostra e 1,5 mL de solución dixestora en cada tubo. Pechar e axitar.
3. Dixerir en autoclave durante 1 hora a 110°C os brancos, patróns e mostras.
4. Deixar arrefriar ata temperatura ambiente.
5. Acidificar cada tubo coa solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cc. en proporción 1 mL HCl/100 mL, ou o necesario para baixar o pH de 2.
6. Determinar os nitratos polo método da 2ª derivada (apartado 3.7.2.).

## Cálculos

Facer os cálculos equivalentes do método da 2ª derivada, descritos no apartado 3.7.2.

O balance de nitróxeno no sistema de humidais non se completa con estas tres formas de nitróxeno. Estudando os datos obtidos con estes métodos descritos, detéctase que o nitróxeno total é inferior a suma de amonios e nitratos, que pode explicarse por cuestión analítica, que mostra maior precisión no balance de nitróxeno nas columnas de FV e se desvía nas de FH, se ven a desviación vaise reducindo a medida que avanza o tempo de operación.

No estudo dos humidais FV+FV en serie observáronse os resultados mostrados na seguinte táboa, considerando o que representa o NT respecto á suma de NT + N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:

Período estudo	FV1 %NT/SUMA	FV2 %NT/SUMA
I	99,3	83,4
II	102,8	88,5
III	97,5	88,4
IV	96,5	92,9
V	100,4	103,4



### 3.8. FÓSFORO: TOTAL E FOSFATOS (PT, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>). *STANDARD METHODS (APHA, 1995)*

#### Fundamento teórico

O fósforo atópase nas augas residuais case exclusivamente en forma de fosfatos, clasificados en ortofosfatos, fosfatos condensados e compostos órgano-fosforados. Estas formas de fosfatos proceden dunha grande variedade de fontes como, produtos de limpeza, fertilizantes, procesos biolóxicos, etc. Os métodos de análise do mesmo son fundamentalmente métodos de dixestión, métodos colorimétricos ou unha combinación de ambos.

#### 3.8.1. FÓSFORO TOTAL (PT)

Esta análise consiste fundamentalmente nunha dixestión ácida co fin de dixerir todo o fósforo a ortofosfatos e seguir unha determinación colorimétrica posterior.

A determinación de fósforo total inclúe dous pasos fundamentais: o primeiro consiste na conversión a ortofosfatos disoltos de todas as formas de fosfatos presentes na mostra por dixestión en medio ácido. A hidrólise ácida á temperatura de ebulición da auga transforma os fosfatos condensados, disoltos e en partículas, en ortofosfato disolto.

O segundo paso é a cuantificación analítica dos ortofosfatos por colorimetría. Para a súa determinación utilízase a reacción do fosfato co molibdato amónico que produce ácido fosfomolibdico. Posteriormente, a acción do cloruro estannoso reduce este ácido a azul de molibdeno (Mb<sup>3+</sup>), que posúe unha cor azul intensa directamente proporcional á concentración de fosfato presente na mostra, que se determina fotometricamente a 690 nm de lonxitude de onda (espectro visible).

#### 3.8.2. FÓSFORO COMO FOSFATOS (P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)

A determinación de fósforo como ortofosfatos é a descrita no segundo paso da análise de fósforo total, sen necesidade da dixestión previa da mostra.

#### Reactivos

##### a. Reactivos para a dixestión das mostras

- Solución acuosa de fenolftaleína (5g/L).
- Solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ao 30%.
- Persulfato potásico K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> sólido.
- Solución de NaOH 1N.

##### b. Reactivos para a determinación de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

- Molibdato amónico: 25 g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O + 280 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cc. en 1L de auga.

- Cloruro de estaño: 2,5 g  $\text{Cl}_2\text{Sn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 100 ml de glicerina.
- Solución nai patrón de fosfatos: 50 mg  $\text{P-KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$ .

### Material

- Filtros de nitrato de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.
- Tubos de ensaio de 30 mL.
- Micropipetas de 1-10 mL e 100-1000  $\mu\text{L}$  coas puntas de pipeta adecuadas.
- Espectrofotómetro (Libra S60) a unha lonxitude de onda de 690 nm (vis.).
- Cubeta de vidro para espectrofotómetro.
- Frasco contagotas
- Axitador ou vórtex.
- Vaso de precipitados de plástico para residuos.

### Procedemento

#### **a.** Primeiro paso: Dixestión (só para determinación PT):

1. Previo: lavar todo o material de vidro que se vai utilizar con HCl diluído e morno, aclarar con auga da billa primeiro e con auga destilada para rematar.
2. Poñer 50 ml de mostra homoxeneizada nun matraz. Engadir 1 gota de fenolftaleína e, se a mostras se colorea, engadir gotas da solución de ácido sulfúrico até que desapareza a cor.
3. Engadir 1 ml de solución de ácido sulfúrico e 0,5 g de persulfato potásico.
4. Quecer en autoclave durante 30 min. Deixar arrefriar, engadir 1 gota de fenolftaleína e neutralizar coa solución de NaOH até que apareza unha lixeira cor rosa. Completar até 100 ml con auga destilada. Nalgunhas mostras pode aparecer un precipitado nesta fase, mais non se debe filtrar, desaparecerá coa acidificación do método de determinación de fosfatos.
5. Determinar os fosfatos (segundo paso) realizando unha curva de calibrado específica con patrón dixerido previamente e cun branco tamén dixerido (branco analítico).

#### **b.** Segundo paso: Colorimetría (determinación de $\text{P-PO}_4^{3-}$ ):

1. Facer calibrado de 5 puntos a partir da solución nai patrón no rango 0,2 – 2 mg P/L. Preparar tamén un branco analítico.
2. A concentración de fosfato proporcional ao complexo formado con azul de molibdeno ( $\text{Mb}^{+3}$ ) está presente no rango de 0,2 a 2 mg P/L. Para isto fanse as dilucións necesarias das mostras.

3. Poñer 25 ml de mostra, branco ou patrón nun erlenmeyer. Engadir 1 ml de reactivo de molibdato, axitar, engadir 3 gotas de cloruro de estaño, axitar, esperar 10 minutos (en máis de 12 minutos esvaécese a cor) e ler a absorbancia no espectrofotómetro a 690 nm con referencia ao branco.

### Cálculos

1. Obter a recta de calibrado enfrontando a Absorbancia (690 nm) e a concentración do patrón (Fig. 6). Obtense os parámetros a e b da ecuación [Ec. 8].
2. Despexar na ecuación coa absorbancia dada nas mostras e obter a súa concentración correspondente de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

$$[\text{P-PO}_4^{3-}] = a \cdot \text{Abs} + b \quad [\text{Ec. 8}]$$

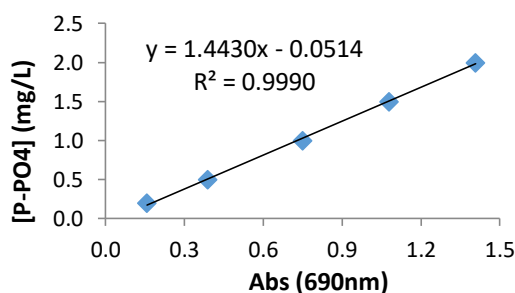


Figura 6. Exemplo de calibrado de P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> con data de 9.01.2015.

### 3.9. FLUXO DE CAUDAIS

#### Fundamento teórico

O comportamento hidráulico dos humidais construídos pódese estudar mediante distintos mecanismos, un deles son os perfís de fluxo, que se levan a cabo de diferente forma segundo se trate dun humidal de FH ou de FV.

Nos humidais de FV un dos mecanismos consiste en facer medicións da diminución na columna de auga dende que o sifón se ceba ata que se valeira completamente, acadando así un ciclo total de descarga. A determinación dos perfís de fluxo en columnas FV consiste basicamente en medir o volume obtido nun tempo determinado, obténdose así finalmente a evolución de caudal na saída, e tamén parámetros físicos que permiten determinar a capacidade de retención do medio filtrante. Entre os parámetros é de interese o cálculo do tempo de retardo, o tempo medio e o tempo de drenaxe, que son indicadores de parámetros tan importantes como é a colmatación.

- O tempo de retardo ( $t_r$ ) é, desde que se inicia un pulso de alimentación, o tempo que tarda en atravesar o FV e comeza a saír o efluente.
- O tempo medio ( $t_m$ ) é o tempo que tarda en saír como efluente o 50% do volume alimentado.

- O tempo de drenaxe é o que transcorre para que desapareza o influente que se acumula en cabeceira da columna, vai desde o momento que se fai un pulso de alimentación ata que non queda influente en superficie.

Nos humidais de FHSS un dos mecanismos que se usan para a determinación do comportamento hidráulico do humidal e predicir a súa colmatación é a condutividade hidráulica, que consiste en medir con unha sonda o descenso do nivel de auga fronte ao tempo, aplicando para obter resultados a Lei de Darcy. No caso das columnas de laboratorio este procedemento simplifícase debido ao menor volume a xestionar, e á configuración en columna do humidal. Deste modo, para un volume determinado nun tempo dado, obtense o caudal de saída de efluente do humidal, que diminuírá no caso de ter problemas de colmatación.

#### Material

- Temporizador e cronómetro.
- Bomba peristáltica.
- Balanza.
- Vaso de precipitados de 2 L.
- Xiringa de 250 mL.

#### Procedemento en columnas FV

1. Pesar volume dispoñible influente ( $P_i$ )
2. Colocar goma de saída da columna FV en vaso de precipitados sobre balanza tarada.
3. No momento de inicio de pulso automático dado polo temporizador, activar cronómetro a cero.
4. Toma volumes (en peso) que se van recollendo. Ao principio a drenaxe do pulso é moi rápida, polo que, dependendo do volume deste, anotar moi seguido, cada 15 – 30 segundos, co obxectivo de poder definir o perfil de drenaxe.
5. Anotar volumes recollidos ata o momento do seguinte pulso automático e pesar o que quedou de influente ( $P_f$ ).
6. Anotar o tempo de drenaxe do influente en cabeceira.

#### Cálculos en columnas FV

1. Volume alimentado no pulso:

$$V_p \text{ (mL)} = P_f - P_i \quad \text{[Ec. 9]}$$

2. Volume acumulado durante o pulso (Fig. 7):

$$V_{ac} \text{ (\%)} = (V_i/V_p) \cdot 100 \quad \text{[Ec. 10]}$$

Sendo  $V_i$  o volume instantáneo recollido (mL)

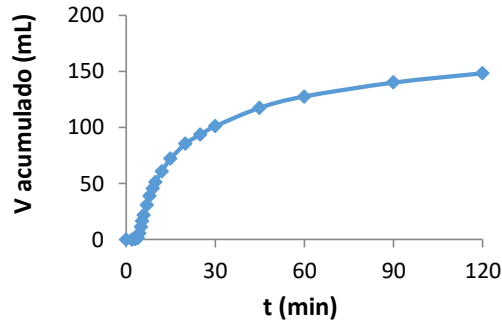


Figura 7. Exemplo de gráfica de volume acumulado (mL) con data de 25.03.2014.

3. Volume evacuado en distintos momentos ( $t = 15 - 30 - 60$  min.):

$$V_{ev} (\%) = (V_i(t)/V_p) \cdot 100 \quad [\text{Ec. 11}]$$

4. Caudal de evacuación (mL/min): velocidade instantánea á que se drena a columna despois dun pulso. Obsérvase graficamente (Fig. 8), permitindo discernir problemas de colmatación cando non reflexa unha campá uniforme.

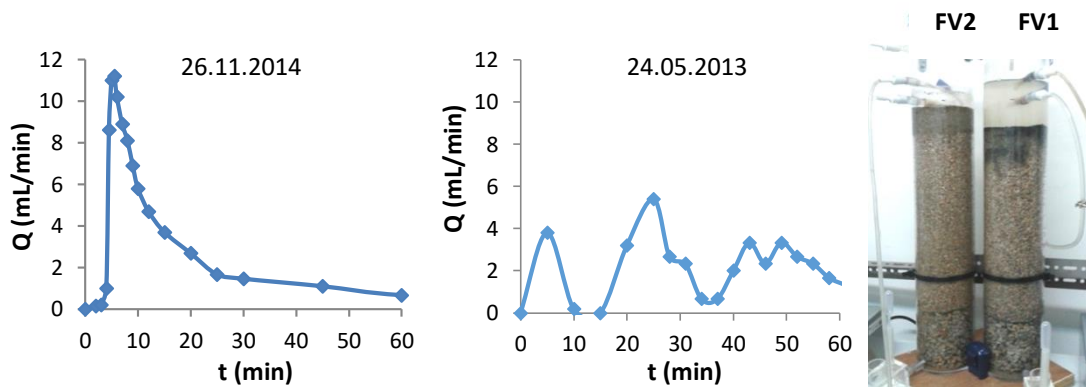


Figura 8. Exemplo de caudais de evacuación típicos (26.11.2014) e en condicións de colmatación (24.05.2013). Á dereita obsérvase a colmatación da columna FV1, con tonalidade escura en MF2 e acumulación de 1 pulso de alimentación en cabeceira, sen ser capaz FV1 da súa drenaxe no tempo comprendido entre 2 pulsos.

5. Tempo medio ( $t_m$ ): tempo que tarda en saír o 50% do volume do pulso. Calcúlase a partir da % V acumulado.

$$t_m (\text{min}) = t_1 + (t_2 - t_1) \cdot \frac{50 - Vac(t_1)}{Vac(t_2) - Vac(t_1)} \quad [\text{Ec. 12}]$$

Sendo  $t_1$  e  $t_2$  os tempos (minutos) máis próximos á recollida do 50% do V acumulado, anterior e posterior, respectivamente.

6. Tempo de retardo ( $t_r$ ): tempo que se corresponde co corte das pendentes no tramo inicial da curva de perfil a caudal crecente co eixe de tempo, como se pode

distinguir na Figura 9. Calcúlase despezando na liña de tendencia feita para a máxima pendente, de onde obtemos os parámetros a e b da ecuación [Ec. 13].

$$Q \text{ (mL/min)} = a \cdot t - b \quad \text{[Ec. 13]}$$

$$t_r \text{ (min)} = - (b/a) \quad \text{[Ec. 14]}$$

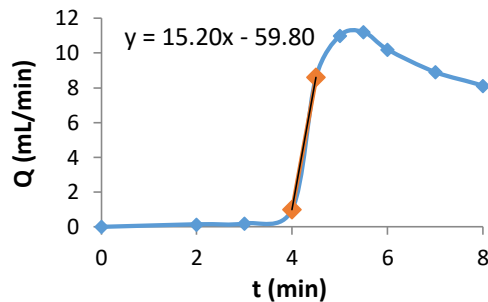


Figura 9: Exemplo de cálculo do tempo de retardo ( $t_r$ ) con data de 25.03.2014.

### Procedemento en columnas FH

1. Colocar goma de saída do efluente da columna de FH en vaso de precipitados.
2. Abrir billa de saída a columna de FH e nese momento activar o cronómetro.
3. Cando a altura da columna de auga se atopa a  $\frac{1}{2}$  da altura total, parar cronómetro e pechar billa de saída.
4. Pesar volume obtido (V) ( $g \cong mL$ , por ser auga), coa balanza previamente tarada co vaso de precipitados, e anotar o tempo (t) rexistrado no cronómetro.
5. Facer os cálculos e devolver o volume extraído á columna FH: Coidadosamente con axuda de xiringa, introdúcese desde a goma de saída para que a auga extraída da metade inferior da columna, volva de novo a ese lugar, e non á metade superior, para evitar grandes afeccións nos TRH.

### Cálculos en columna FH

1. Caudal de evacuación (mL/min): velocidade media á que se drena a columna.

$$Q_{ev} \text{ (mL/min)} = V/t \cdot 60 \quad \text{[Ec. 15]}$$

## 3.10. GRANULOMETRÍA E POROSIDADE

### 3.10.1. GRANULOMETRÍA

#### Fundamento teórico

O medio granular empregado no leito dos humidais construídos debe ser limpo (exento de finos), duro, durable e capaz de manter a súa forma a longo prazo. Ademais debe permitir un bo desenvolvemento das plantas e da biopelícula, así como presentar unha

boa condutividade hidráulica. Diámetros arredor de 5 – 8 mm ofrecen bos resultados en HCs de fluxo horizontal, e nos de fluxo vertical é común a disposición de distintas capas horizontais con distinta granulometría, situando o material mais fino en superficie, co obxectivo de optimizar o paso da auga polo leito para que non sexa excesivamente rápido ou lento (García e Corzo, 2008).

O estudo do medio granular faise mediante análise granulométrico por peneirado segundo a norma UNE 103-101-95, que consiste en pasar a mostra por unha serie de peneiras que teñen aberturas calibradas, sen necesidade de usar a serie completa, podendo adaptar ao rango de tamaños na mostra. No presente estudo escolléronse 9 peneiras da serie 63 - 0,063 mm. O paso da mostra polas peneiras faise con axuda de vibrado, ben sexa manual ou automático, e finalmente pésase o retido en cada peneira e calcúlase a porcentaxe de partículas de diámetro inferior ao considerado en cada caso, co obxectivo de construír a curva granulométrica a partir da que se extraen parámetros e características útiles para definir as mostras, como son:

- $D_{10}$ : Diámetro eficaz, é o tamaño de partículas correspondente ao 10% “que pasa” na curva granulométrica.
- $D_{60}$ : Diámetro ou tamaño de partículas correspondente na curva granulométrica ao 60% do material “que pasa” a seguinte peneira.
- CU: Coeficiente de uniformidade, é o cociente entre  $D_{60}$  e  $D_{10}$ , ofrece un valor que permite coñecer se a mostra está ben ou mal graduada, é dicir se o tamaño das partículas é moi uniforme ou polo contrario existe variedade de partículas de distintos tamaños. En xeral considéranse mostras uniformes cando  $CU < 10$ .

García et al. (2004) probaron gravas graníticas en HCs de FH, de  $D_{60}$  3,5 e 10 mm, con CU 1,7 e 1,6, e Kadlec e Wallace (2009) recollen unha lista de referencias para HCs de FH con  $D_{60}$  entre 0,5 e 5 mm (con un máximo en 19 mm) e Porosidade entre o 31 e 52 %, e para FV con  $D_{60}$  de 0,49 – 0,9 e Porosidade entre o 33 e 46 %.

#### Material

- Mostra das distintas fraccións de medio filtrante.
- Estufa.
- Balanza.
- Serie de peneiras de luz de malla: 16 – 8 – 4 – 2 – 1 – 0,5 – 0,25 – 0,125 – 0,063 mm.
- Bandexas metálicas aptas para estufa.

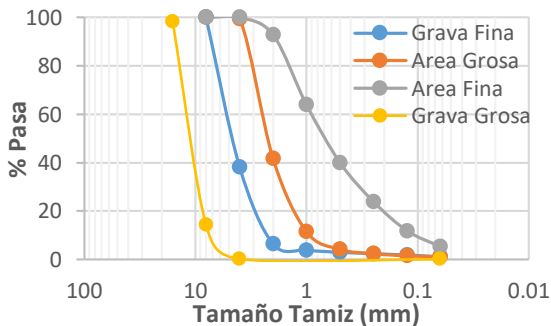
#### Procedemento

1. Lavado e secado da mostra.
2. Dispor a columna de peneiras en orde segundo a súa luz de malla en sentido descendente, con tapa no fondo.

3. Verter o material seco a temperatura ambiente na columna de peneiras.
4. Axitar facendo vibrar manualmente a columna anterior.
5. Retirar o material retido en cada peneira e pesalo en bandexas previamente taradas.
6. Repetir os pasos 4 e 5 ata que as pesadas do material retido non varíe máis do 1% con respecto a pesada anterior.

### Cálculos

1. Construción da curva granulométrica (Fig. 9 esq.): representación nos eixos de coordenadas en abscisas os diámetros das partículas en mm e nas ordenadas a porcentaxe de partículas de diámetro inferior ao considerado, ou tanto por certo de partículas que pasa por unha determinada peneira. Para unha mellor e máis clara representación as abscisas represéntanse en escala logarítmica, co cal se obtén unha curva na que as fraccións grosas non teñen tanta importancia e se lle da máis ás fraccións finas.
2. Cálculo do  $D_{60}$  e  $D_{10}$  por extrapolación na curva (Fig. 10 der.).
3. Cálculo do  $CU = D_{60}/D_{10}$



	$D_{60}$ (mm)	$D_{10}$ (mm)	CU
Grava Grossa	12,5	7,5	1,7
Grava Fina	5,2	2,3	2,3
Area Grossa	2,5	0,95	2,6
Area Fina	0,9	0,12	7,5

**Figura 10.** Distribución do tamaño de partícula dos medios granulares empregados neste estudo (esq.) e táboa correspondente a esta representación

(der.).

### 3.10.2. POROSIDADE

#### Fundamento teórico

A determinación da porosidade da grava empregada como medio filtrante ou leito nos humidais construídos é un parámetro necesario a ter en conta debido á súa importancia no comportamento hidráulico do humidal, afectando, entre outros factores, ao tempo de retención hidráulico (TRH), a velocidade da auga polo leito e a eficiencia volumétrica do humidal.

#### Material

- Grava(s) e area(s) a determinar.
- Probeta de 2L.



- Vaso de precipitados.
- Coador.
- Balanza.
- Auga.

### Procedemento

A determinación da porosidade do material en seco e en húmido, antes e despois do fenómeno de compactación cando se somerxe o material en auga, respectivamente. A mostra debe ser representativa, para o cal se considerou necesario 1L de mostra (grava ou area) en volume. Este cálculo tamén permite determinar a auga retida polo material. Os pasos a seguir son os seguintes:

1. Peso probeta ( $P_1$ ).
2. Recheo da probeta co material (grava ou area). Anotar o volume ocupado polo material, antes ( $V_0$ ) e despois de asentado ( $V_1$ ). O asentamento faise con pequenos golpes da probeta sobre unha superficie, de modo que baixa algo o nivel inicial do material.
3. Peso probeta + material ( $P_2$ ). Cálculo material usado:  $M = P_2 - P_1$ .
4. Recheo con auga ata o volume  $V_1$ . Anotar o volume de auga gastado ( $V_2$ ). Pódese ter un vaso con auga de peso coñecido (a) e despois de reencher a probeta pesámolo de novo (b), polo que a auga gastada será  $= a - b$ . Tamén se pode calcular como  $P_3 - P_2$  e debería dar o mesmo.
5. Peso probeta + material + auga ( $P_3$ ). Este peso debería corresponderse a  $P_2 + V_2$ .
6. Compactación: eliminación das burbullas de aire retidas mediante movemento, pequenos golpes e remexido ata o fondo da probeta. Unha vez feito isto, anotar: volume de auga ( $V_3$ ) e volume de material ( $V_4$ ), que como se compacta o medio sólido,  $V_4$  será menor que  $V_3$  (cálculo da cantidade de gas que había retido e se eliminou no fenómeno de compactación:  $V_3 - V_1 = \text{mL aire eliminado}$ ).
7. Retirar o exceso de auga ata o nivel  $V_4$ . Anotar volume auga retirado ( $V_5$ ). Cálculo do volume de auga usado despois da compactación:  $V_6 = V_2 - V_5$ .
8. Drenaxe: Baleirar a auga da probeta. Podemos axudarnos dun coador, procurando drenar completamente o material, pero sen arrastrar sólidos. Anotar volume recuperado ( $V_7$ ).

### Cálculos

1. Porosidade antes da compactación:

$$P_a (\%) = V_2/V_1 \cdot 100 \quad \text{[Ec.16]}$$

2. Porosidade despois da compactación en medio inundado:

$$P_b (\%) = V_6/V_4 \cdot 100 \quad [\text{Ec.17}]$$

3. Retención de auga:

$$R (\%) = (V_6 - V_7)/V_4 \cdot 100 \quad [\text{Ec.18}]$$

4. Densidade antes da compactación en medio seco:

$$d_s (\text{g/L}) = M/V_1 \quad [\text{Ec.19}]$$

5. Densidade despois da compactación en medio inundado:

$$d = M/V_4 \quad [\text{Ec.20}]$$

6. Densidade do medio húmido:

$$d_h = (M + (V_6 - V_7))/V_4 \quad [\text{Ec.21}]$$

#### 4. DETERMINACIÓN DE EMISIÓN GÁSOSAS EN COLUMNA: CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O

##### Fundamento teórico

Os HCs actúan como fonte de gases de efecto invernadoiro (GEIs), emitindo a atmosfera dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) principalmente, que son produtos resultantes de reaccións bioquímicas relacionadas coa degradación da materia orgánica: respiración aerobia, denitrificación, sulfatoredución, metanoxénese. Estes compostos gasosos emítense en diferentes cantidades segundo sexa a tipoloxía do humidal, onde predominen ambientes aerobios (FV) ou anaerobios (FH), da auga residual a tratar, e climatoloxía (T<sup>a</sup>), entre outros. Debido á forte influencia da emisión de GEIs no cambio climático, xurde a necesidade do seu estudo nos HCs, podendo adaptar as características de construción e operación co obxectivo de minimizalas.

##### Material

- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard Series II 5890, con sistema de detección de captura térmica (CG/TCD), a unha temperatura de 100°C. O equipo emprega como fase móbil Helio (200 kPa) a un fluxo de 15 mL/min, que atravesa unha columna PoraPak/Q 1,83 m x 24 mm (W 80/100) a unha temperatura máxima de 250°C. O detector TCD baséase na diferenza de condutividade térmica (cantidade de calor transmitida por unidade de tempo entre o gas portador e a mostra, situados a unha distancia unidade e con unha diferenza de temperatura entre eles de 1°C entre o He e a mostra. A temperatura de inxección é de 90°C, e o sistema de inxección é manual.
- Ordenador conectado ao cromatógrafo
- Botellas de 125 mL con peche hermético que dispón de septum de goma.
- Xiringas de 1 mL.

- Abano, xiringa de 100 mL.
- Septums de caucho.
- Soporte de goma.

## Procedemento

### a. Calibración do cromatógrafo, seguindo método do patrón externo:

1. Preparación de dilucións desexadas a partir de gas patrón de composición coñecida: 35% CH<sub>4</sub>, 35% CO<sub>2</sub>, 30% N<sub>2</sub> para o calibrado de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, e dun patrón de 99,5% N<sub>2</sub>O para o calibrado de N<sub>2</sub>O. Estas dilucións fanse en botellas de vidro de 125 mL con atmosfera inerte de N<sub>2</sub>, pechadas hermeticamente e que dispoñen de un septum polo que se toma a mostra con xiringas desde 0,2 ata 1 mL, obtendo o rango de calibrado necesario e co maior número de puntos posibles.
2. As dilucións nas botellas son as seguintes:
  - Baixas concentracións: 0,02% CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, 0,01% N<sub>2</sub>O, resto N<sub>2</sub>.
  - Concentracións medias: 0,28% CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, resto N<sub>2</sub>.
  - Altas concentracións: 0,82% CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, 0,78% N<sub>2</sub>O, resto N<sub>2</sub>.
3. O tipo de rectas de calibrado empregadas para os cálculos son as que se recollen na Figura 11, nas que se enfronta o volume do gas inxectado no cromatógrafo (mL) e a área obtida (uds. A). Con estes datos obtéñense rectas de regresión a partir das que se calculan as cantidades de cada gas nas mostras. Móstranse como exemplo estas rectas obtidas para as campañas realizadas nos sistemas de humidais en serie.
4. Durante as determinacións de emisións gasosas dos sistemas de humidais en serie o límite de detección para as columnas do sistema FV foi de 4, 11 e 6-20 mg/m<sup>2</sup>-d para CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O respectivamente, e para o sistema de columnas FH estivo en 34, 8 e 8 mg/m<sup>2</sup>-d para estes mesmos gases.

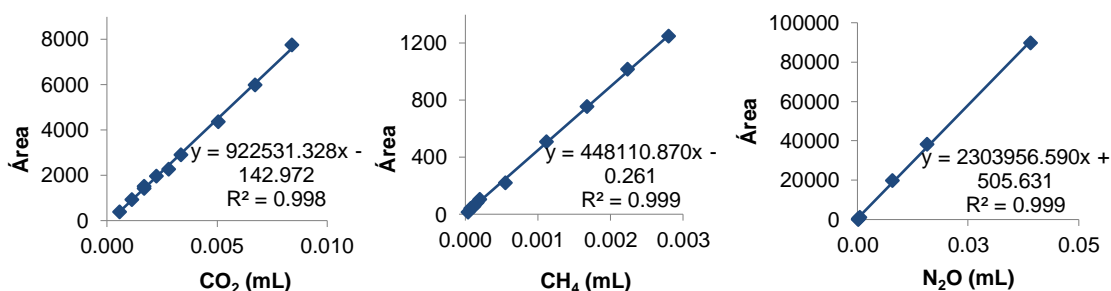
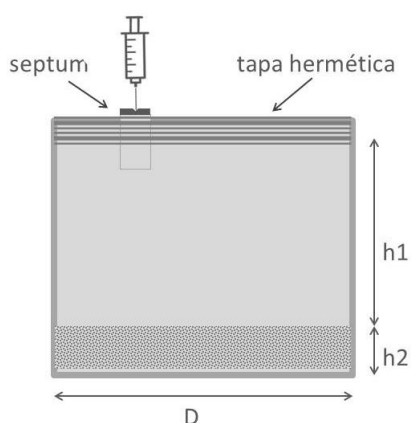


Figura 11. Recta de calibrado para o CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> (aplicable a áreas <1200 uds.) e N<sub>2</sub>O.

### b. Determinación das mostras en columna

5. As columnas atópanse en cámara termostática a 20°C.

6. A análise de emisións de GEIs nas columnas lévase a cabo no espazo reservado en cabeceira de 13 cm de altura en todas as columnas, e con diferente diámetro segundo o caso (Fig. 1 a, b), resultando nun volume de 1062 cm<sup>3</sup> en FV e 1587 cm<sup>3</sup> en FH.
7. Homoxeneizar a atmosfera da cabeceira de columnas con axuda de un abano e unha xiringa de 100 mL.
8. Pechar hermeticamente as columnas, evitando o intercambio gasoso coa atmosfera. As columnas dispoñen de un septum de caucho localizado na parte superior (Figura 12) por onde se toma a mostra gasosa por medio dunha xiringa.
9. Nas columnas de FV dispónse unha bolsa Tedlar a modo de pulmón
10. Toma de mostras: 0,8 mL/mostra, por duplicado, segundo temporalización para FV e para FH, sendo o seguimento para FH máis espazado e alongado no tempo. A mostra tómase despois de homoxeneizar a atmosfera das columnas, isto faise movendo a fase gasosa mediante subida e baixada do émbolo da xiringa pinchada no septum por unhas 7 veces.
11. Transporte das mostras desde a columna ao cromatógrafo, coas xiringas pinchadas en soporte de goma, para evitar perdas gasosas.
12. Inxección manual das mostras no cromatógrafo e anotación do tempo de retención e área obtida para cada gas.
13. Despexar na recta de regresión do calibrado para obter os mL correspondentes, e facer os seguintes cálculos.



**Figura 12.** Disposición do peche en cabeceira das columnas. D: diámetro interno da columna (cm); h1: altura da cabeceira da columna (cm); h2: altura que ocupa o medio filtrante superior, só en columnas FH (cm), cálculo para o que tamén se ten en conta a súa porosidade.

### Cálculos

- Volume da atmosfera confinada na cabeceira da columna:

$$[ V_g = 2 \cdot \pi \cdot r \cdot (h+r) ] \rightarrow 1062 \text{ cm}^3 \text{ (columnas de FV)}, 1736 \text{ cm}^3 \text{ (columnas de FH)}$$

Sendo  $h = 13$  cm de altura en ambas columnas, e  $r$  o radio de cada columna (5,1 cm en FV e 6,95 cm en FH). Na columna FV engádese volume achegado por bolsa Tedlar (volume variable segundo a campaña de estudo). Na columna FH distínguese  $h_2$  (3cm) de grava drenada.

- Velocidade Superficial de Emisión (VSE), obtense para cada gas mediante a seguinte ecuación (De la Varga et al., 2015), que non considera a variación total de volume de gas dentro da atmosfera confinada ao longo do tempo, polo que se asume válida para taxas de emisión reducidas.

$$VSE = \frac{V_g}{A_R} \cdot \frac{m_m}{v_m} \cdot \frac{273}{(273 + T_i)} \cdot \left[ \frac{d(\%)/dt}{100} \right] \cdot 24 \cdot 1000 \quad [\text{Ec. 22}]$$

Sendo  $A_R$  a area transversal da columna,  $T_i$  a temperatura inicial da atmosfera confinada, e  $d(\%)/dt$  é pendente da ecuación de regresión lineal da % de gas na atmosfera confinada fronte ao tempo. Así mesmo, a ecuación fai uso do volume molar ( $v_m$ ) (22,4 mL/mmol a 273 K) e da masa molar ( $m_m$ ) (44 mg/mmol para  $\text{CO}_2$  e  $\text{N}_2\text{O}$  e 16 mg/mmol para  $\text{CH}_4$ ).

## 5. CARACTERIZACIÓN DOS MEDIOS FILTRANTES: COMPACTACIÓN, DENSIDADE, HUMIDADE, MATERIA ORGÁNICA, BIOFILM.

### Fundamento teórico

Ao parar o funcionamento das columnas faise unha caracterización final dos seus medios filtrantes, que permiten determinar parámetros interesantes nos humidais construídos como poden ser a colonización do medio pola biomasa e posibles fenómenos de compactación. Algúns dos datos de utilidade, por capas ou medios filtrantes, son os seguintes:

- Fenómenos de compactación: Trátase de observar e rexistrar se houbo compactación dos medios en relación coa situación inicial ou de partida.
- Porosidade (segundo apartado 3.10)
- Densidade: Refírese á densidade do medio drenado.
- Retención de auga (humidade)
- Materia orgánica total
- Biofilm

### Material

- Cinta métrica
- Probeta de 2L
- Auga

- Crisois metálicos
- Estufa a 105°C

### Procedemento

- i. COMPACTACIÓN: Medir a diferenza de altura da capa superior respecto á situación de partida (marcada con rotulador indeleble na columna).
- ii. DENSIDADE: Trátase de pesar o material retirado de cada capa en función do volume que ocupaba na columna. Non se retira nin pesa a capa drenante.
- iii. HUMIDADE: A columna debe estar en condicións de operación ordinaria. Así, nas de tipo FV, tendo en conta a operación por ciclos, o desmontado faise unha vez transcorrido suficiente tempo desde o último ciclo (por exemplo, máis de 2 h, cando o ciclo é cada 3 h), xa que isto pode afectar ao contido en humidade retida.

Determinase a partir do contido en sólidos totais, facendo duplicado para cada mostra:

1. Acondicionar crisois metálicos (30 minutos en mufla a 550°C).
  2. Deixar arrefriar no disecador ata temperatura ambiente e pesar:  $P_0$  (g).
  3. Engadir mostras: 20, 50 e 100 g en función da granulometría, para MF2, para MF1 (columnas de FV) e para MF1 das FH, respectivamente, e pesar de novo ( $P_1$ ).
  4. Secar na estufa a 105°C ata que se acade peso constante (unhas 24h) ( $P_2$ ).
- iv. MATERIA ORGÁNICA TOTAL E BIOFILM: A partir do procedemento levado a cabo para o cálculo dos sólidos totais, determinase o biofilm como sólidos volátiles de esa mesma mostra:
    5. Calcinar na mufla a 550°C durante 1h. Disecador ata temperatura ambiente e pesar ( $P_3$ ).

### Cálculos

- Compactación (%) =  $\Delta h \cdot 100 / h_i$  **[Ec. 23]**

Sendo  $h_i$  a altura inicial (cm),  $h_f$  a altura final (cm),  $\Delta h = h_i - h_f$

- Densidade:  $d$  (g/mL) =  $m/V$  **[Ec. 24]**

Sendo  $m$  o peso de cada medio filtrante,  $V$  o volume que ocupaba na columna (área do cilindro pola altura).

- Humidade (%H<sub>2</sub>O), calcúlase a partir do contido en sólidos totais:

$$\%ST = (P_2 - P_0) / (P_1 - P_0) \cdot 100 \text{ (expresado sobre grava húmida)} \quad [\text{Ec. 25}]$$

$$\%H_2O = 100 - ST (\%) \quad [\text{Ec. 26}]$$

- Materia orgánica total e biofilm:

$$\%SV = (P_2 - P_3) / (P_2 - P_0) \cdot 100 \text{ (expresado sobre grava seca)} \quad [\text{Ec. 27}]$$

## 6. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADE MICROBIANA

### Fundamento teórico

A abundancia de bacterias específicas na transformación do nitróxeno depende das condicións de configuración e de operación do HC, favorecendo maior ou menor desenvolvemento de determinadas comunidades, e traducíndose nunha máis ou menos efectiva eliminación de nitróxeno. As bacterias heterotróficas usan compostos orgánicos e producen carbono, e as autotróficas obteñen enerxía e carbono de fontes inorgánicas. Xeralmente (non sempre) a denitrificación é levada a cabo por microorganismos heterótrofos, e a nitrificación por autótrofos.

Unha vez parados os sistemas de HCs procédese á súa desmontaxe, obtendo mostras de cada tipoloxía de medio filtrante colonizado por microbiota. Con estes medios fanse ensaios en descontinuo de metanoxénese, nitrificación e denitrificación, procesos que serán levados a cabo por diferentes comunidades bacterianas e que nos permiten determinar a súa actividade. A etapa metanoxénica é, de forma xeral, a etapa de culminación do proceso anaerobio, polo que o estudo desta actividade é un método idóneo para coñecer a capacidade da microbiota presente nos humidais para levar a cabo dita etapa. Estes ensaios permiten determinar a actividade específica dunha mostra e estimar o contido en bacterias metanoxénicas da mesma.

Para estes ensaios simúlense as condicións desexadas mediante a adición de nutrientes e do substrato requirido por cada comunidade bacteriana, co fin de favorecer o crecemento de microbiota e evitar unha deficiencia de nutrientes e substrato, conseguindo así a eficiencia máxima de actividade da microbiota (DQO facilmente biodegradable para ensaios metanoxénicos e de denitrificación,  $N-NH_4^+$  para ensaios de nitrificación, e  $N-NO_3^-$  para ensaios de denitrificación).

Descoñécese a que velocidade se pode ir producindo/consumindo o nitróxeno engadido (ensaios de nitrificación e denitrificación). Faise toma de mostras observando a tendencia e axustando o tempo e dilucións de mostraxe para a análise espectrofotométrica de  $N-NO_3^-$ . Tamén se descoñece a cantidade, tipoloxía e velocidade de produción gasosa (ensaios metanoxénicos e de denitrificación) polo que tamén se fai seguimento no tempo axustando o espazamento de toma de mostras para a análise cromatográfica.

## Material

- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard Series II 5890, con sistema de detección de captura térmica (CG/TCD).
- Ordenador conectado ao cromatógrafo.
- Espectrofotómetro Libra S60.
- Botellas de 125 mL con peche hermético que dispón de septum de goma.
- Botellas de 250 mL con septum de caucho.
- Botellas de 500 mL con tapón de rosca.
- Filtros de xiringa de acetato de celulosa con tamaño de poro 0,20  $\mu\text{m}$ .
- Xiringas de 1 mL.
- Xiringa de 100 mL.
- Soporte de goma.
- Tubos de ensaio de 10 mL.
- Tubos de ensaio de 10 mL con tapón de teflón.
- Vortex.
- Reactivos:
  - Macro e micronutrientes, coa seguinte composición química (Carballeira, T., 2014):

Macronutrientes	$\text{NH}_4\text{Cl}^a$ 170 g/L	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 37 g/L.
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 8 g/L.	$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 9 g/L.
Micronutrientes	$\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2000 mg/L.	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 30 mg/L.
	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}^a$ 90 mg/L.	EDTA 1000 mg/L.
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2000 mg/L.	ZnCl 50 mg/L.
	$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 mg/L.	HCl 36% 1 mg/L.
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 500 mg/L.	$\text{H}_3\text{BO}_3$ 50 mg/L.
	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 50 mg/L.	Resazurina 500 mg/L.

<sup>a</sup> A achega de nitróxeno destes compoñentes ao medio líquido é de 44,5 mg N- $\text{NH}_4^+$ /L, que se tivo en conta nos ensaios de nitrificación.

- Solución nai AcH 100 g/L.
- Solución nai  $\text{NO}_3\text{K}$  100 mg N- $\text{NO}_3^-$ /L
- Solución nai  $\text{NH}_4\text{Cl}$  100 mg N- $\text{NH}_4^+$ /L
- Solución nai  $\text{Na}_2\text{S} \cdot x\text{H}_2\text{O}$  50 g/L.



- Auga destilada.
- HCl 1 M, NaOH 1 M.
- N<sub>2</sub> gas ao 100%.

### Procedemento

Os ensaios en descontinuo fanse por triplicado en viais independentes, con mostra de cada capa de medio filtrante (Fig. 1 d, e), distinguindo incluso metade superior e inferior en algunhas columnas, indicándoo no apartado oportuno, e simulando as condicións desexadas para cada tipoloxía de ensaio, como se describe a continuación. Para isto, é necesaria a desmontaxe previa das columnas:

- Columnas FV: atópanse drenadas. Despois de facer o cálculo de porosidade por inundación, deixase pasar tempo e pulsos de alimentación normal, para proceder despois a desmontaxe. Retíranse con coidado de non mesturar entre si os distintos medios cos que se van facer os ensaios, reservando separadamente en bandexas MF1a, MF1b e MF2 (Fig. 1 d).
- Columnas FH: atópanse inundadas ata o nivel superior de MF1, polo que despois de baleiralas (facendo o cálculo de porosidade), sepárase a capa superior drenada que se atopa sobre MF1, non se usará nos ensaios. A continuación recollemos separadamente MF1a e MF1b (Fig. 1 e). O procedemento de posta en marcha nos ensaios con FH tenta alixeirarse, por ser a microbiota anaerobia destas columnas sensible ao contacto co ar.

1. Preparación do medio líquido con macronutrientes, micronutrientes e diferentes substratos.
  - 1.1. Engadir o volume de substrato obxectivo da alimentación, en forma de ACH, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (concentracións indicadas no ensaio correspondente), os macro e micronutrientes en proporción de 1 mL/L.
  - 1.2. Engadir a solución redutora ao medio líquido conxunto, e axitar.  
O axente redutor é Na<sub>2</sub>S·xH<sub>2</sub>O, engádese ao medio líquido para acadar unha concentración final de de 100 mg/L de Na<sub>2</sub>S·xH<sub>2</sub>O, é dicir, neste caso foron 2 mL/L de solución nai preparada no momento. O axente redutor non se engadiu nos ensaios aerobios de nitrificación.
  - 1.3. Enrasar e axustar o pH a 7 con NaOH/HCl.
2. Reencher cada vial coa mostra de medio filtrante e medio líquido, coas cantidades indicadas na táboa que se mostra a continuación.

	ENSAIOS METANOXÉNICOS		ENSAIOS DENITRIFICACIÓN		ENSAIOS NITRIFICACIÓN	
	FV	FH	FV	FH	FV	FH
Viais (mL)	126	299	126	299	250	500
Medio sólido (g)	45	100	45	100	45	100
Medio líquido (V <sub>L</sub> ) (mL)	30	100	40	100	50	150
Fase gas (mL)	76	154	66	154	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Fase gas de ensaios de nitrificación non é importante porque cada día se abren os viais e se renova a súa atmosfera para adecualos ás condicións de aerobiose requiridas.

3. Acadar atmosfera inerte nos ensaios metanoxénicos e de denitrificación, burbullando N<sub>2</sub> ao 100%: 30 segundos con viais abertos + 2 minutos con viais selados con xiringa de saída.
4. Anotar o momento de posta en marcha (t = 0) e facer toma de mostras, segundo se indica no punto 7.
5. Situar os viais en axitador orbital a 120 rpm, en cámara termostática a 20 ± 1°C (Fig. 13).



**Figura 13.** Disposición dos tres tipos de ensaios (metanoxénicos, de denitrificación e nitrificación) nos axitadores orbitais.

6. Homoxeneizado/axitación suave manual diaria. Nos ensaios de nitrificación ademais ábrense os viais e renóvase a fase gas con axuda de xiringa de 100 mL.
7. Toma e análise das mostras:

As **mostras de medio líquido** (1 mL/mostra) tómanse nos ensaios de nitrificación e de denitrificación. A toma de mostras faise en t=0 antes de situar os viais no axitador orbital, e nas sucesivas tomas, faise despois de 1h. aproximadamente en repouso, facilitando a decantación para non retirar biomasa. Fíltrase a mostra cando o medio líquido segue turbio despois de 1h en decantación, con filtros de xiringa.

Nestes ensaios faise o seguimento de  $\text{N-NO}_3^-$  analizándoo conforme o apartado 2.3.7 deste capítulo. A partir dos datos obtidos constrúese unha gráfica de seguimento, e a súa correspondente recta de regresión para obter a velocidade máxima de produción de nitrato (ensaos de nitrificación) e de eliminación de nitrato (ensaos de desnitrificación).

Descoñécese a que velocidade se pode ir producindo/consumindo o nitróxeno engadido como nitrato (ensaos de nitrificación e desnitrificación). Por iso a temporalización da toma de mostras faise observando a tendencia e axustando o tempo e dilucións de mostraxe para a análise espectrofotométrica de  $\text{N-NO}_3^-$ .

As **mostras de fase gas** tómanse nos ensaios metanoxénicos e de desnitrificación (0,8 mL/mostra, con xiringa). Analízanse por cromatografía de gases, seguindo o procedemento detallado no apartado 4 (Procedemento) de este capítulo.

Tamén se descoñece a cantidade, tipoloxía e velocidade de produción gasosa nestes ensaios, polo que se fai seguimento no tempo axustando o espazamento de toma de mostras para a súa análise cromatográfica.

#### Cálculos das actividades específicas

- Actividade metanoxénica

$$AM \text{ (g}_{\text{CH}_4\text{-DQO/g}_{\text{SV}}\cdot\text{d)} = pte_m \cdot V_L / \text{SSV} \quad \text{[Ec. 28]}$$

Sendo:  $pte_m$  a pendente máxima de produción de metano ( $\text{mLCH}_4/\text{vial}\cdot\text{h}$ );  $V_L$  o volume de medio líquido engadido a cada ensaio; SSV é a concentración de biomasa en cada ensaio, calculada a partir dos sólidos en suspensión extraíbles por lavado, dos sólidos totais (mostra húmida) e da % humidade.

- Actividade nitrificante

$$AN \text{ (mg N/g SSV}\cdot\text{h)} = pte_m \cdot V_L / (\text{SSV} \cdot 1000) \quad \text{[Ec. 29]}$$

Sendo:  $pte_m$  a pendente máxima de produción de nitratos ( $\text{mgN-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{h}$ );  $V_L$  o volume de medio líquido engadido a cada ensaio; SSV é a concentración de biomasa en cada ensaio, calculada a partir dos sólidos en suspensión extraíbles por lavado, dos sólidos totais (mostra húmida) e da % humidade.

- Actividade desnitrificante

$$\text{ADN (mg N/g SSV}\cdot\text{h)} = pte_m \cdot V_L / (\text{SSV} \cdot 1000) \quad \text{[Ec. 30]}$$

Sendo:  $pte_m$  a pendente máxima de eliminación de nitratos ( $\text{mg N-NO}_3^-/\text{L}\cdot\text{h}$ );  $V_L$  o volume de medio líquido engadido a cada ensaio; SSV é a concentración de biomasa en cada ensaio, calculada a partir dos sólidos en suspensión extraíbles por lavado, dos sólidos totais (mostra húmida) e da % humidade.

## 7. REFERENCIAS

- Aiyuk, S., Verstraete, W. (2004). Sedimentological evolution in an UASB treating SYNTHES, a new representative synthetic sewage, at low loading rates. *Bioresource Technology* 93, 269–278
- Allen, C., Stein, O., Burr, M., Camper, A., Moss, J. (2015). Greenhouse gas emissions from wetland microcosm experiment. 6th International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control, Annual Conference of the Constructed Wetland Association. Cranfield University, Book of Abstracts 60 – 61.
- Andreottola, G., Oliveira, E., Foladori, P., Peterlini, R., Ziglio, G. (2007). Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Science and Technology* 56 (3) 255 – 261.
- APHA. 1995. Standard methods. 19th Edition. American Public Health Association, Washington, DC.
- Carballeira, T. (2014). Depuración de efluentes urbanos en humedais construídos: influencia da especie vexetal, a configuración e a velocidade de carga orgánica. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- De la Varga, D. (2014). Depuración de aguas residuales en digestores anaerobios y humedales construídos: aplicación a la industria vitivinícola. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- De la Varga, D., Ruiz, I., Álvarez, J.A., Soto, M. (2015). Methane and carbon dioxide emissions from constructed wetlands receiving anaerobically pretreated sewage. *Science of the Total Environment* 538, 824–833.
- García, J., Chiva, J., Aguirre, P., Alvarez, E., Sierra, J.P., Mujeriego R. (2004). Hydraulic behaviour of horizontal subsurface flow constructed wetlands with different aspect ratio and granular medium size. *Ecological Engineering* 23(3), 177 – 187.
- García, J. e Corzo, A. (2008). Depuración con Humedales Construídos: Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial. Dpto. Ing. Hidráulica, Marítima y Ambiental, Universidad Politécnica de Cataluña.
- Hu, Y., Zhao, Y., Zhao, X., Kumar, J. (2012). Comprehensive analysis of step-feeding strategy to enhance biological nitrogen removal in alum sludge-based tidal flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 111, 27–35.
- Kadlec, R.H. and Wallace, S. (2009). *Treatment Wetlands* – 2nd. Edition. CRC Press - Taylor & Francis Group.
- Nivala, J. et al. (2013) Comparative analysis of constructed wetlands: The design and construction of the ecotechnology research facility in Langenreichenbach, Germany. *Ecol. Eng.* 61, 527-543.
- Norma UNE 103-101-95. Análise granulométrico.
- Tejeda, A., Zurita, F. (2015). Carbamazepine removal in hybrid wetlands planted with ornamental plants. 6th International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control, Annual Conference of the Constructed Wetland Association. Cranfield University, Book of Abstracts 99 – 100.
- Vázquez, M.A., de la Varga, D., Plana, R., Soto, M. (2013). Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting. *Ecological Engineering* 50: 37– 43.

## **CAPÍTULO 3.**

# **SIMULACIÓN DE HUMIDAIS CONSTRUIDOS DE FLUXO VERTICAL (FV) E HORIZONTAL (FH) DE DOBRE ETAPA EN LABORATORIO**

# **SIMULACIÓN DE HUMIDAIS CONSTRUIDOS DE FLUXO VERTICAL (FV) E HORIZONTAL (FH) DE DOBRE ETAPA EN LABORATORIO**

## **RESUMO**

### **1. INTRODUCCIÓN**

### **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

- 2.1. Características da auga residual sintética
- 2.2. Configuración dos sistemas en dobre etapa
- 2.3. Perfís de fluxo de caudais nas columnas FV
- 2.4. Emisións de gases
- 2.5. Toma de mostra e análises
- 2.6. Ensaio biolóxico en descontinuo

### **3. RESULTADOS E DISCUSIÓN**

#### **3.1. SISTEMA DE HUMIDAIS DE DOBRE ETAPA FV+FV**

- 3.1.1. Condicións de operación e velocidades de carga
- 3.1.2. Características dos efluentes do sistema FV+FV
- 3.1.3. Eficacias de eliminación
- 3.1.4. Perfís de fluxo de caudais
- 3.1.5. Emisións de gases
- 3.1.6. Concentración de biomasa e actividades microbianas

#### **3.2. SISTEMA DE HUMIDAIS DE DOBRE ETAPA FH+FH**

- 3.2.1. Condicións de operación e velocidades de carga
- 3.2.2. Características dos efluentes do sistema FH+FH
- 3.2.3. Eficacias de eliminación
- 3.2.4. Emisións de gases
- 3.2.5. Concentración de biomasa e actividades microbianas

#### **3.3. Valoración global e comparación de ambos sistemas FV+FV e FH+FH**

- 3.3.1. Eliminación de materia orgánica e operación xeral
- 3.3.2. Eliminación de nitróxeno

### **4. CONCLUSIÓNS**

### **5. REFERENCIAS**



## RESUMO

Empregáronse columnas de laboratorio para o estudo da eliminación de nitróxeno en sistemas de humidais construídos (HCs) de dobre etapa: FV, formado por dúas columnas FV+FV en serie que simularon a operación dos humidais de fluxo vertical (FV) con medio non saturado (alimentación por cargas, 6-8 pulsos/día, e drenaxe libre); FH, formado por dúas columnas FH+FH en serie que simularon a operación dos humidais de fluxo horizontal subsuperficial (FH) con medio saturado. As velocidades de carga hidráulica (VCH) e a velocidade de carga superficial (VCS) foron as características de cada tipoloxía, e os sistemas operáronse sen plantar e alimentados cun influente sintético que simulou a auga residual urbana.

O sistema FH (VCS de 4-5 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d) acadou eliminacións do 93-95% SST, 97% DBO<sub>5</sub> e 94-98% DQO e o sistema FV (18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d) acadou eliminacións do 93-96% SST, 98-99% DBO<sub>5</sub> e 95-99% DQO. Os niveis de oxíxeno disolto e potencial redox foron significativamente máis elevados no efluente FV (>6 mg O<sub>2</sub>/L e >100 mV) que no sistema FH (<4 mg/L e < -80 mV). Estas eficacias de eliminación, VCS e niveis de OD e POR son característicos de cada unha destas tipoloxías de HC, polo que son axeitadamente simulados polas columnas de laboratorio empregadas.

Os resultados de eliminación de NT foron mellores no sistema de FV, acadando preto da nitrificación completa e unha eliminación moderada de NT (1,7 – 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d), respecto ao sistema de FH con 0,6 g NT/m<sup>2</sup>·d. Mentres que o sistema de FH acadou o 35% de eliminación do NT, sistema de FV chegou ao 63% con alta VCS, aínda que esta eliminación descendeu até o 27% con baixas VCS.

A acumulación de sólidos volátiles totais (SVT) e extraíbles (SVE, biopelícula externa), foi maior no sistema FV que no FH. Os SVE resultaron 6,5 veces máis elevados en FV que en FH, factor que representa aproximadamente a capacidade de tratamento relativas de ambos sistemas. A actividade nitrificante potencial (ensaio en descontinuo) foi moi similar en ambos sistemas (0,21 – 0,30 mg N/kg ST·h ou 2,6 - 3,2 g N/m<sup>2</sup>·d), mentres as actividades nitrificantes específicas resultan moi superiores en FH (29 - 48 mg N/gSVE·d) en relación a FV (3,9 - 4,7 mgN/gSVE·d), o que indica unha maior presenza relativa de bacterias nitrificantes no biofilm do sistema FH. A actividade desnitrificante potencial foi sempre moi superior en FH (13 - 19 g N/m<sup>2</sup>·d.) que en FV (1 - 4 g N/m<sup>2</sup>·d). Porén, o sistema FV fixo un mellor aproveitamento tanto da actividade nitrificante como desnitrificante potencial, acadando velocidades de nitrificación e eliminación de nitróxeno superiores. A actividade metanoxénica dos sólidos concordou coas emisións de metano observadas.



## 1. INTRODUCCIÓN

Os humidais construídos (HCs) para o tratamento de augas residuais (ARs) normalmente son clasificados en dous tipos: de fluxo superficial (FS) e subsuperficial (FSS), separando estes na dirección de fluxo, vertical (FV) ou horizontal (FH) (Kadlec e Wallace, 2009; Stefanakis et al., 2014; Wu et al., 2015). Os HCs poden funcionar como unidades independentes ou combinarse, xa sexa en serie mediante varias unidades da mesma tipoloxía, por exemplo FV+FV e FH+FH, como ocorre no presente estudo, ou ben combinarse para formar humidais híbridos (FV+FH, FH+FV e outras combinacións con FS e maior número de etapas), incluso facendo adaptacións destas tipoloxías para optimizar o tratamento da AR configurando así humidais mellorados, como pode ser incluír aireación, recirculación, fluxo intermitente, entre outros (Wu et al., 2015).

Na actualidade dispónse de diversos estudos centrados no deseño, desenvolvemento e funcionamento dos HCs FSS, demostrando a súa eficiencia para a eliminación de varios contaminantes (materia orgánica, nutrientes, contaminantes emerxentes, patóxenos, etc.) en diferentes tipoloxías de augas residuais (urbanas, industriais, vertedoiros, agrícolas e gandeiras, etc.) (Saeed e Sun, 2012; Wu et al., 2015). Con todo, a actuación do tratamento eficaz e sustentable a longo prazo segue a ser un desafío, sendo a configuración dos HCs un dos factores chave, acadando diferentes eficiencias de eliminación en diferentes estudos (Kadlec e Wallace, 2009; Saeed e Sun, 2012; Wu et al., 2014; Stefanakis et al., 2014; Wu et al., 2015).

O desenvolvemento de sistemas de HCs a pequena escala faise neste estudo mediante a utilización de columnas de laboratorio, segundo o modelo proposto por Andreottola et al. (2007) para sistemas de FV, que permiten unha utilización e monitorización sinxela. Estas columnas foron adaptadas para simular as condicións dos humidais de FH, buscando reproducir así con fiabilidade os procesos tanto aerobios como anóxicos e anaerobios que teñen lugar nos humidais de FV e FH (Fig. 1). As columnas de laboratorio ademais poden dispoñerse en serie ou combinadas en función do sistema a representar, de modo que permitan simplificar a obtención directa ou indirecta de parámetros cinéticos do proceso de depuración das augas residuais (Andreottola et al., 2007; Hu et al., 2012). Estes sistemas serían útiles tamén para a aplicación de ensaios aerobios (respirometrías e ensaios de nitrificación) e anaerobios (ensaios de actividade metanoxénica e de desnitrificación).

Os humidais de FV obteñen bos rendementos na conversión do amonio a nitrato dado o carácter aerobio do leito, xeran polo tanto efluentes nitrificados (Lee et al., 2009; Saeed e Sun, 2012). Segundo isto, cando o requirimento da depuración é a eliminación de nitróxeno, a disposición de dúas unidades en serie pode acadar maiores eficacias chegando a facer a nitrificación completa. Sen embargo os humidais FV teñen dificultade para eliminar o nitrato formado (Stefanakis et al., 2014).

Os humidais de FH caracterízanse polo carácter anóxico/anaerobio do leito debido a saturación hidráulica, o cal favorece os procesos microbianos de desnitrificación, convertendo o nitrato en nitróxeno gas. (García e Corzo, 2008; Kadlec e Wallace, 2009). Aínda que os procesos de nitrificación e desnitrificación poden suceder de modo acolado,

de modo que ao formarse nitrato rapidamente se aproveita xerándose nitróxeno gas, os FH amosan dificultade de nitrificación (Vymazal, 2005; Saeed e Sun, 2012).

Nos humidais de FV a intermitencia na alimentación mellora moito a transferencia de oxíxeno, polo que o medio granular atópase en condicións máis oxidadas en comparación co que se observa nun sistema de FH. Nestes últimos atópanse poucos espazos que presenten condicións aerobias, limitadas á superficie da auga directamente en contacto coa atmosfera ou ás proximidades da rizosfera. Nos humidais FV por unha banda inhíbense as reaccións de tipo anaerobio, mais por outra permítese que poidan operar con cargas superiores ás dos de FH, con valores que se sitúan no rango dos 20 – 40 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d fronte as cargas típicas aplicadas nos humidais de FH, no rango dos 4 – 6 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d (García e Corzo, 2008; Cooper, 2003).

Moitas veces os HCs están integrados nun sistema en serie para o tratamento de augas residuais urbanas (ARUs), composto por unha etapa de pretratamento, dúas etapas de tratamento mediante HCs de FV e algunhas veces tamén unha etapa de post-tratamento. Esta configuración demostrou ser capaz de cumprir os valores límite de efluentes máis rigorosos, acadando taxas de eliminación do 95% DBO<sub>5</sub>, 90% N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e 90% PT (Stefanakis et al., 2014).

Cando a situación require un tratamento avanzado da AR co obxectivo de aumentar a eficiencia do proceso, ou de acadar o mesmo nivel de tratamento pero nunha área máis reducida, pódese facer a combinación de dúas ou máis unidades de HCs en serie. Con varias etapas, a eficiencia hidráulica mellora de forma moi importante, permitindo tamén entrar en xogo factores de mellora como o by-pass e a recirculación, entre outros (Brix et al., 2002; Kadlec e Wallace, 2009). Segundo isto, podemos distinguir varias situacións nas que ten cabida a configuración dos HCs en varias etapas en serie:

- Necesidade de maior eficiencia no tratamento das augas residuais, e polo tanto mellora da eficiencia hidráulica.
- Hai pendente suficiente no terreo que resulta vantaxosa para a construción de varias unidades de HCs en vez de facer obra civil e cambiar a perspectiva do terreo.
- Preténdese facer un tratamento en etapas para poder aplicar distintas condicións en cada unha.

Se o terreo para a construción do HC é pendente, pode aproveitarse dividíndoo en varias unidades que se unan en serie, ocupando a superficie en terrazas e permitindo incluír na configuración outras melloras para o sistema, grazas ás diferenzas de altura, como pode ser unha ferverza que actúe como aireador da corrente de alimentación entre unidades (Burka e Lawrence, 1990).

Segundo o modelo desenvolvido por Seidel nos anos 60, Vymazal e Kröpfelová (2015) estudaron un humidal composto por FV+FV+FH, atopándose a primeira unidade FV en condicións de saturación hidráulica, e non así a segunda. Os resultados revelaron que esta tipoloxía de humidal híbrido composto en primeiro lugar por dúas unidades de FV

en serie, foi capaz de eliminar de modo eficiente materia orgánica, sólidos e nitróxeno, acadando o 92,5%, 83,8%, 96,0%, 88,8% e 79,9% de DBO<sub>5</sub>, DQO, SST, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NT, respectivamente. A maior eliminación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> acadouse na segunda unidade, e de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na primeira unidade de FV (4,17 gN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/m<sup>2</sup>·d e 0,83 gN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>2</sup>·d). As taxas de eliminación de NT foron comparables entre a primeira e a segunda unidade de FV (1,21 e 1,22 gN/m<sup>2</sup>·d, respectivamente). En canto á eliminación de SST e materia orgánica, xa se acadou unha eliminación efectiva na primeira unidade de FV, e a adición das seguintes etapas non proporcionou unha eliminación substancial a maiores.

Por outra banda, Brix et al. (2002) deseñaron un humidal de FV en dúas etapas (FV + FV) facendo a comparativa entre con e sen recirculación, e atoparon que a configuración en dúas etapas sí melloraba o resultado de eliminación de DBO<sub>5</sub> e SST (con e sen recirculación). Sen embargo estes autores non atoparon melloras na eliminación de NT na configuración FV+FV, senón que a maior eliminación de NT neste sistema ocorría coa aplicación da recirculación, eliminando boa parte do N orgánico no tanque de sedimentación, pasando de concentracións no efluente de 38 mgN/L sen recirculación a 18 mg N/L con ela.

Tamén estudaron a eliminación de NT nun sistema formado por FV+FV Langergraber et al. (2011), e conseguiron unha eficiencia de eliminación do 53% de NT e 1000 g N/m<sup>2</sup>·ano no sistema global durante os dous primeiros anos de operación, e estas taxas aumentaron e estabilizáronse a partir do terceiro ano de operación, acadando máis do 60% de eliminación de NT e 1380 g N/m<sup>2</sup>·ano. As dúas unidades de FV operaron en serie con cargas intermitentes para 40 g DQO/m<sup>2</sup>·d, posuíndo a primeira unidade unha capa de drenaxe saturada hidraulicamente, e non así a segunda unidade.

Seo et al. (2008) estudaron diferentes configuracións de HCs, incluíndo FV+FV e FH+FH, e tamén híbridos entre eles de dúas e tres etapas (FV+FH, FH+FV, FH+FV+FV, FH+FV+FH) para tratar efluentes agrícolas nitrificados. Na saída da segunda etapa, a taxa de eliminación de DQO foi do 90,5% (FV+FV) e do 78,3% (FH+FH), sendo a eliminación acadada no sistema FV+FV a mais elevada, respecto ao sistema FH+FH e á combinación de outros sistemas híbridos (FV+FH e FH+FV). A taxa de eliminación de NT na primeira etapa foi lixeiramente máis elevada na configuración FH+FH (32,6%) con respecto á configuración FV+FV (23,4%) e ás outras configuracións híbridas. Na segunda etapa chegouse ao 39,7% (FH+FH) e 35,3% (FV+FV), mais neste caso foron os sistemas híbridos os que conseguiron maior eliminación de NT para o sistema global (42,6 e 45,1% en FV+FH e FH+FV, respectivamente). Estes autores concluíron que aínda tendo en conta a mellor eficiencia de eliminación nos sistemas en dobre etapa FV+FV e FH+FH para determinados parámetros, a configuración óptima en dúas etapas para acadar en conxunto maior eliminación de DQO, NT e PT foi a híbrida composta por FH+FV, pero xa que este sistema non é quen de acadar unha eliminación significativa de NT debido á falta de condicións anaerobias na segunda etapa, atoparon óptima a configuración en 3 etapas FH+FV+FH que si conseguiu mellores taxas de eliminación de NT.

Os obxectivos básicos deste traballo son os seguintes: a) estudar a simulación de humidais construídos FH e FV en columnas de laboratorio non plantadas, b) estudar o

potencial dos sistemas multietapa lineais (dobre etapa: FV+FV e FH+FH en serie, sen recirculación nin by-pass) para a depuración de ARU en canto a eliminación de materia orgánica e de nitróxeno, e c) determinar a acumulación de sólidos e as súas actividades microbianas específicas (metanoxénica, nitrificante e denitrificante). Para afondar no coñecemento destes sistemas, determináronse tamén os parámetros relacionados coa colmatación e as emisións de gases de efecto invernadoiro.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Características da auga residual sintética (ARS)

A auga residual sintética (ARS) utilizada para alimentar ambos sistemas de humidais presentou as características que se mostran na Táboa 1. Esta caracterización fíxose ao longo do estudo, unha vez por semana aproximadamente, no momento de preparar o concentrado e facer a dilución de alimentación. Os constituíntes e modo de preparación da ARS descríbense en detalle no Capítulo 2 desta memoria.

**Táboa 1.** Caracterización da ARS empregada como alimentación no estudo. Media  $\pm$  Desviación Estándar. Valores en mg/L, excepto pH (adimensional) e ORP (mV).

pH	SST	SSV	DQO	DBO	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-total
7,0	125,8	113,3	540,1	262,2	7,6	2,7	78,0
$\pm 0,3$	$\pm 27,1$	$\pm 29,1$	$\pm 49,4$	$\pm 52,3$	$\pm 1,3$	$\pm 0,8$	$\pm 8,0$
n = 46	n = 15	n = 14	n = 19	n = 11	n = 14	n = 6	n = 7

### 2.2. Configuración dos sistemas de dobre etapa de humidais

As columnas de laboratorio dispuxéronse nas seguintes dúas configuracións (Figura 1):

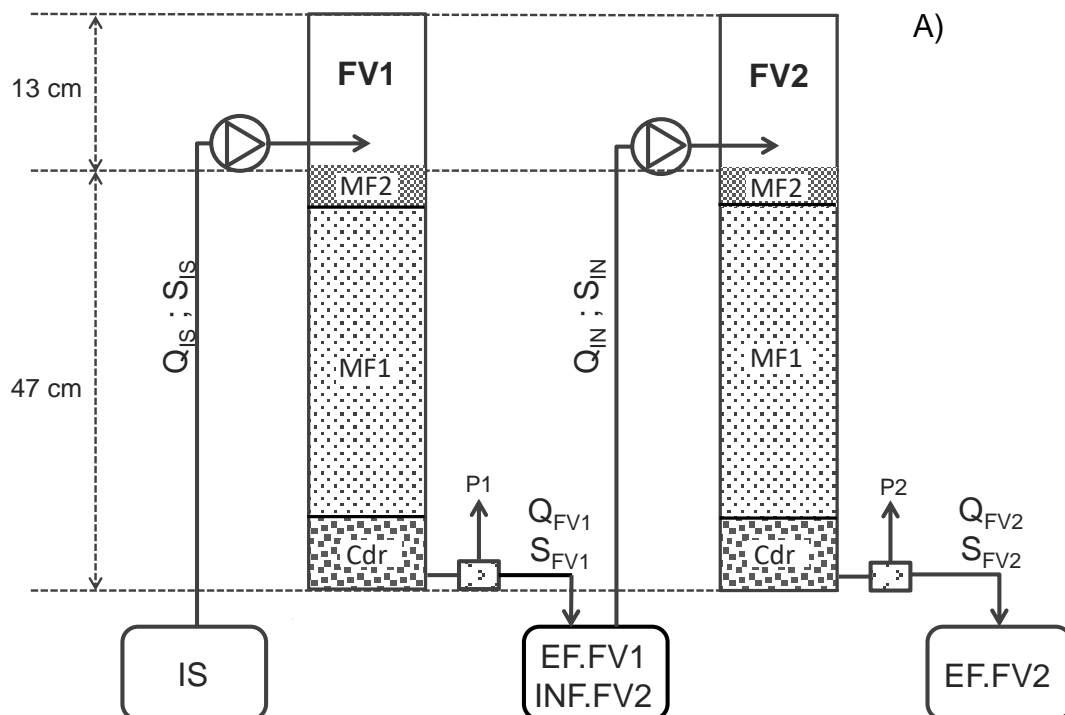
- Sistema FV: formado por dúas columnas FV de igual diámetro (10,2 cm): FV1 + FV2, colocadas en serie, coas medidas e características que se indican na Figura 1A.
- Sistema FH: formado por dúas columnas FH de igual diámetro (13,9 cm): FH1 + FH2, colocadas en serie, coas medidas e características que se indican na Figura 1B.

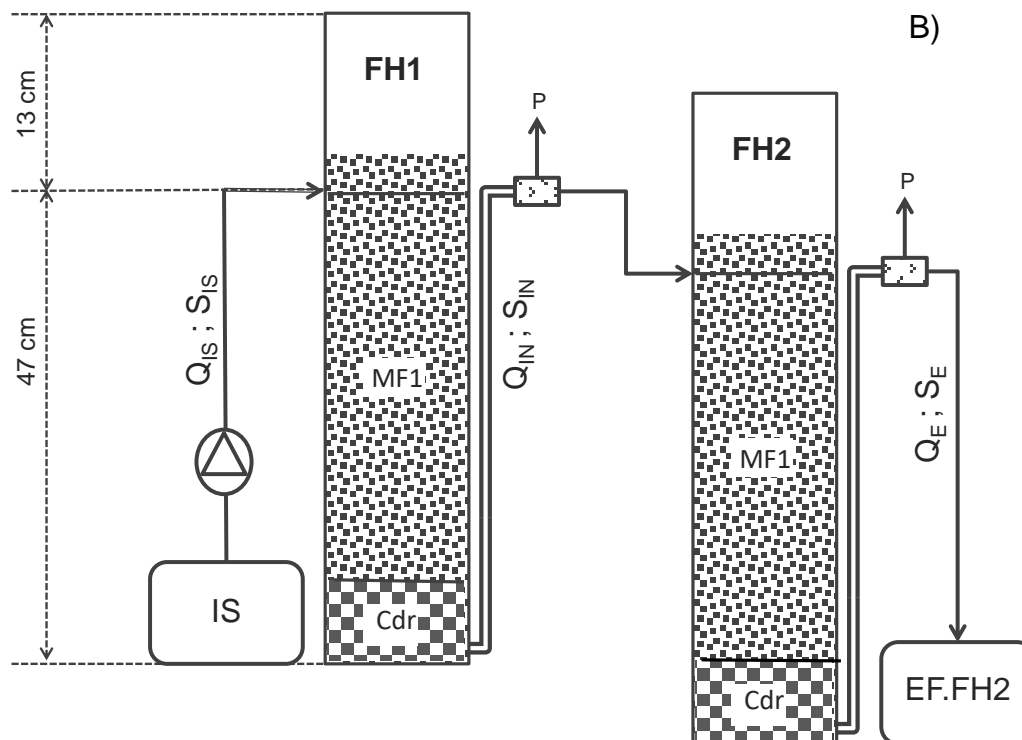
As columnas son cilindros de metacrilato que se enchen co material de recheo correspondente. De abaixo a arriba en primeiro lugar atópanse 10 cm de capa de drenaxe (Cdr), composta por grava fina ( $D_{60} = 5,2\text{mm}$ ,  $CU = 2,3$ , Porosidade (P) = 45,8 %) en FV e grava grossa ( $D_{60} = 12,5\text{ mm}$ ,  $CU = 1,7$ ,  $P = 45,4\%$ ) en FH. A continuación, separadas por unha malla plástica de  $2\text{ mm}^2$  de paso de luz, sitúase a capa de medio filtrante (MF1), composto por 32 cm de area grossa ( $D_{60} = 2,5\text{ mm}$ ,  $CU = 2,6$ ,  $P = 40\%$ ) en FV e por 40 cm de grava fina ( $D_{60} = 5,2\text{mm}$ ,  $CU = 2,3$ ,  $P = 45,8\%$ ) en FH. En FV sitúase unha segunda capa de medio filtrante (MF2) despois de MF1, composto por 5 cm de

area fina ( $D_{60} = 0,9 \text{ mm}$ ,  $CU = 7,5$ ,  $P = 39,5 \%$ ), e en FH a alimentación entra 3 cm baixo a superficie de MF1.

As columnas situáronse nunha cámara termostática na que a temperatura se mantivo constante a  $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , exceptuando o período entre os días 74 e 83 de operación no que, por fallo do termostato, se acadaron os  $28^\circ\text{C}$ .

A configuración do sistema FV en columnas de laboratorio ten a estrutura mostrada na Figura 1A, na que se observa que dispón de alimentación (intermitente) que é bombeada con axuda de unha bomba peristáltica cara a primeira unidade do sistema (FV1), entrando pola parte superior da columna, goteando sobre o medio filtrante superior ou capa MF2, onde se distribúe por toda a superficie da columna. O influente sintético pasa a través de MF2, MF1 e Cdr en sentido descendente, e recóllese no depósito de almacenamento (unha vez pasado polo punto de mostraxe, P), desde onde é bombeado á segunda unidade FV2, con axuda de unha segunda bomba peristáltica, alimentando a unidade FV2, facendo un percorrido análogo a FV1, e recolléndose finalmente no depósito de almacenamento de efluente. Deste modo, a composición do efluente da primeira unidade FV1 é da mesma composición que o influente da segunda unidade FV2. No sistema FV o caudal diario de alimentación repártese en pulsos. O tempo entre dous pulsos consecutivos garante que se faga a drenaxe completa ou case completa do volume alimentado.





**Figura 1.** Características de configuración dos sistemas de humidais de laboratorio. A) Sistema FV, formado polas columnas FV1 e FV2. B) Sistema FH, formado polas columnas FH1 e FH2.

MF1, MF2: Medios filtrantes 1 e 2, respectivamente. Cdr: capa drenante. IS: Influyente sintético, alimenta a primeira unidade. IN: influente novo, alimenta a segunda unidade. E: Efluente final. P1, P2: puntos de mostraxe da primeira e da segunda columna, respectivamente. FH1 e FH2 colocáronse a diferente altura, para permitir o fluxo de FH1 a FH2 por gravidade.

No sistema FH (Fig. 1B) a alimentación (IS) é bombeada até FH1 e descende polo medio MF1 e Cdr, saíndo de novo ao nivel de entrada grazas a unha goma comunicante que mantén a columna sempre inundada e simulando así un sistema de fluxo horizontal, xa que a característica determinante deste é a saturación hidráulica completa e permanente. A continuación o efluente de FH1 chega a FH2 por gravidade (diferenza de altura entre as columnas observable na Fig. 1B), sen necesidade de bombeo. O sistema FH tamén conta con depósitos de toma de mostra (P) á saída de cada columna. A alimentación do IS neste sistema faise tamén en pulsos, pero con características diferentes ao sistema FV, pois neste caso configúranse con maior cantidade de pulsos diarios pero menos espazados no tempo (Táboa 2), simulando así a alimentación continua dos humidais de FH.

### 2.3. Perfís de fluxo de caudais nas columnas FV

Os perfís de fluxo de caudais realizáronse nas columnas FV1 e FV2 co obxectivo de observar o seu comportamento hidráulico e así determinar a posible colmatación. A determinación dos perfís de fluxo nestas unidades consiste basicamente en medir o

volumen obtenido en el tiempo de un ciclo completo de alimentación, obtiéndose la evolución de caudal en el efluente, permitiendo el cálculo de parámetros derivados como la capacidad de retención del medio filtrante, tiempo de retardo, tiempo medio y tiempo de drenaje.

#### **2.4. Emisiones de gases**

Determináronse metano, óxido nítrico y dióxido de carbono en las columnas del sistema FV y FH. Antes del comienzo, se sellaron las columnas en la cabeza, evitando el intercambio gaseoso con la atmósfera. De la atmósfera de la cabeza, se tomaron muestras con una jeringa de 0,8 mL por duplicado. La determinación del porcentaje de emisión gaseosa se hizo a partir del cálculo del volumen de gas en la cabeza para un cilindro, obteniéndose 1062 cm<sup>3</sup> en FV y 1587 cm<sup>3</sup> en FH. La temperatura durante todos los seguimientos de emisiones gaseosas fue de 20 ± 1 °C, estando controlada en cámara termostática. El límite de detección para las columnas del sistema FV fue de 4; 11 y 6-20 mg/m<sup>2</sup>·d para CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>O respectivamente, y para el sistema de columnas FH estuvo en 34; 8 y 8 mg/m<sup>2</sup>·d para estos mismos gases.

#### **2.5. Toma de muestra e análisis**

Al salir de las columnas FV y FH hay unos pequeños depósitos que retienen un volumen de unos 40 mL, antes de ser vertido en las respectivas botellas de recogida de efluentes. En estos depósitos se hicieron las determinaciones de parámetros en el líquido recién acumulado después de ser baleados y limpiados. Determinóse *in situ* pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD) y potencial redox (POR) en el efluente de cada columna mediante electrodos y medidores portátiles.

Así mismo, en muestras obtenidas del efluente determináronse sólidos en suspensión totales y volátiles (SST, SSV), demanda química de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>), nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrógeno nítrico (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y nitrógeno total (NT). Todos estos parámetros determináronse semanalmente en el efluente de cada columna, excepto la DBO<sub>5</sub> que sólo se determinó en el efluente final debido al elevado volumen de muestra requerido. Estos parámetros determináronse en muestras integradas, obtenidas de la siguiente forma: tomarse diariamente (4 días por semana) un volumen del efluente que se guardó en refrigerador a 4°C, que fueron mezclados para obtener la muestra compuesta.

Todos los parámetros fueron determinados por duplicado siguiendo los criterios de Standard Methods (APHA, 2005). El amoníaco determinóse mediante un electrodo selectivo (Crison 9663). El nitrato determinóse mediante espectrofotometría UV (Biochrom Libra S60), método de la 2ª derivada, y el nitrógeno total por su conversión en nitrato por digestión oxidativa con persulfato potásico y determinación como nitrato.

## 2.6. Ensaio biolóxico en descontinuo

Ao final da operación, determinouse o contido en sólidos totais (ST) e volátiles totais (SVT), e tamén sólidos extraíbles totais (STE) e volátiles (SVE) no medio filtrante.

Os ST e SVT determináronse tomando mostra directa do medio filtrante húmido en crisois metálicos, sendo os ST aqueles que quedan como residuo tras a evaporación total do líquido a 105°C, e os SVT os resultantes da calcinación desa mostra a 550°C.

Para a extracción da biomasa acumulada, primeiramente axítase vigorosamente a mostra á que se lle engadiu un volume coñecido de auga destilada, e a continuación faise o fregado físico do medio filtrante. Recóllese a mostra turbia do sobrenadante con micropipeta ou por decantación. Este procedemento repítese 5 – 6 veces até non observar presenza de partículas no líquido decantado. A continuación mídese o volume total de suspensión e determínase nela por filtración os SST e SSV. Finalmente, exprésanse os resultados en mg STE/g grava seca (STE) e mg SVE/g grava seca (SVE). Ademais, determínase nas mostras lavadas o contido de ST e SVT remanentes, para comprobar a efectividade da extracción.

Determináronse así mesmo as actividades nitrificante (AN), denitrificante (ADN) e metanoxénica (AM) en ensaios descontinuos, aplicados a unha mostra composta representativa do medio total de cada columna. Para os ensaios biolóxicos empregáronse reactores de 125 (AM e ADN) e 250 (AN) mL de volume total para o medio das columnas FV, e de 250 (AM e ADN) e 500 (AN) mL medio das columnas FH, nos que se engadiu unha mostra de medio granular húmido de 45 g (FV) e 100 g (FH). Así mesmo, engadiuse un volume de fase líquida contendo o substrato (30 mL para AM, 40 mL para ADN e 50 mL para AN en FV; 80 mL para AM, 100 mL para ADN e 150 mL para AN en FH) con composición que variou segundo o ensaio considerado: 300 mg DQO(HAc)/L (AM), 300 mg DQO(HAc)/L e 50 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L (ADN) e 50-80 mg N-NH<sub>3</sub>/L (AN). Os ensaios foron realizados por triplicado. Esas condicións, ademais de adaptárense aos requirimentos de cada tipo de ensaio, adaptáronse ao tamaño de grava e concentración de sólidos nas mostras, así como aos métodos de seguimento a utilizar. En todos os ensaios engadíronse nutrientes nas cantidades indicadas por (Ferreiro e Soto, 2003), así como axente redutor (Na<sub>2</sub>S·xH<sub>2</sub>O) nos ensaios ADN e AM. Nos ensaios AN engadiuse ademais 1 g NaHCO<sub>3</sub>/L para amortecer a caída de pH e renovouse periodicamente (coincidindo coa toma de mostra) a fase gas repoñendo aire fresco.

Nos ensaios de ADN e AN realizouse o seguimento do nitrato en fase líquida segundo o descrito no Capítulo 2 desta tese, e nos ensaios de AM e ADN analizouse a produción gasosa de metano, óxido nítrico e dióxido de carbono, tamén co equipamento e segundo a metodoloxía descrita no Capítulo 2.



### 3. RESULTADOS E DISCUSIÓN

#### 3.1. Sistema de humidais de dobre etapa FV+FV

##### 3.1.1 Condicións de operación e velocidades de carga.

O sistema estivo en funcionamento durante 235 días nos que se diferencian 5 períodos en función dos caudais e das condicións de operación, e tamén das paradas realizadas para recuperación de colmatación e para realizar ensaios respirométricos no sistema. (Táboa 2).

Durante a primeira semana de posta en marcha, alimentouse o sistema cun caudal de 350 mL/d, que se incrementou no Período I até 1096 mL/d, sendo a VCOs aplicada á columna FV1 neste período de 34,9 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, bastante superior aos valores recomendados de deseño arredor dos 20 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d (García e Corzo, 2008), mais tendo en conta que para o sistema global a carga sí se mantivo dentro dos valores de referencia, desde 17,4 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, mentres a segunda unidade FV2 só recibiu 8,0 g DQO/m<sup>2</sup>·d. Nesta primeira etapa o sistema funcionou os 7 días da semana, observándose ao longo do mes o escurecemento da capa de distribución da columna FV1, que mediante o estudo de perfís de fluxo de caudais (ver apartado 3.1.4 máis adiante) determinaron a parada temporal do sistema no día 36 de operación para solucionar a colmatación.

**Táboa 2.** Condicións de operación, caudais e velocidades de carga por período no sistema de FV+FV.

PERIODO (días)		I (1 – 35) + D1 <sup>a</sup>	II <sup>b</sup> (47 – 116) + R <sup>a</sup>	III <sup>b</sup> (145 – 179)	IV <sup>b</sup> (180 – 200) + D2 <sup>a</sup>	V <sup>b</sup> (208 – 235)
Pulsos alimentación/d		6	6	6	8	8
Días operación/sem.		7	4	4	3	3
Q (mL/d)	Inf.FV1	1096	1114	1176	763	906
	de FV1 a FV2	1053	1107	1159	696	854
VCHs (mm/d)	Global	67,1	68,2	72,0	46,7	55,4
	FV1	134,1	136,4	143,9	93,4	110,9
	FV2	128,9	135,5	141,9	85,2	104,5
VCOs global (g/m <sup>2</sup> ·d)	SST	8,0	8,2	8,6	5,6	6,7
	DQO	36,2	36,7	38,8	25,2	29,9
	DBO <sub>5</sub>	17,4	17,7	18,7	12,1	14,4
	NT	5,2	5,3	5,6	3,6	4,3
VCOs FV1 (g/m <sup>2</sup> ·d)	SST	16,1	16,4	17,3	11,2	13,3
	DQO	72,3	73,5	77,6	50,3	59,8
	DBO <sub>5</sub>	34,9	35,5	37,4	24,3	28,8
	NT	10,5	10,6	11,2	7,3	8,6
VCOs FV2 (g/m <sup>2</sup> ·d)	SST	2,1	2,1	1,7	1,8	2,0
	DQO	8,0	8,1	4,3	3,8	3,0
	NT	n.d.	8,4	4,6	3,2	6,8

<sup>a</sup> Interrupcións na operación: D1 (días 36-47), descanso adicional por colmatación; R (117-145), realización de respirometrías; D2 (200-208), novo descanso adicional por colmatación.

<sup>b</sup> Adición de  $\text{NaHCO}_3$  en cantidade de 500mg/L no influente, desde o día 93 ao 193, e do 221 ao 235.

Unha vez solucionada a colmatación, o día 47 de operación púxose de novo en marcha o sistema FV con un caudal medio de 925 mL/d, repartidos en 3 días de alimentación semanal, e a continuación definiuse o inicio do seguinte Período II, dende o día 54 até o 116, no que o sistema se alimentou 4 días por semana, cun caudal equivalente de 1114 mL/d, o cal significou manter case constante as VCHs e VCOs aplicadas no período I. Esta operación cun ciclo semanal de 4 días de alimentación e 3 días de descanso buscaba reducir o fenómeno de colmatación mentres se mantiña a velocidade de carga. O fenómeno de colmatación foi menos acusado, pois o sistema funcionou correctamente durante ao menos 70 días adicionais (o dobre do tempo de operación do período I) sen signos de colmatación, e alimentado coa mesma VCO. Despois deste período parouse o sistema para realizar respirometrías durante 4 semanas, cuxos resultados se mostran nun capítulo aparte desta tese.

O Período III esténdese dende o día 145 até o 179, operando o sistema nas mesmas condicións que no período II. Ao final deste período comezou a observarse de novo escurecemento na capa superior MF2 de FV1, xa diagnosticada como colmatación na anterior parada, polo que nesta ocasión a metodoloxía consistiu en cambiar as condicións de alimentación diminuíndo considerablemente o caudal de entrada e modificando a distribución dos días de funcionamento e descanso (Táboa 2). Segundo isto definiuse o Período IV, con un caudal equivalente de 763 mL/d, alimentando o sistema 3 días por semana e deixándoo descansar os 4 restantes. Porén, a pesar destas modificacións, produciuse unha forte colmatación da columna FV1 o día 199, acumulándose 2 pulsos en cabeceira. Por este motivo parouse o sistema e retiráronse 58 g de area fina, totalmente negra, da capa superior (MF2) de FV1, que se correspondeu co 10% desta capa, e removeuse a area restante de MF2 coa fin de aireala, tendo coidado de non mesturala coa capa MF1.

O día 208 púxose de novo o sistema en funcionamento, considerando a columna FV1 recuperada da colmatación e definindo o Período V con un caudal de alimentación de 906 mL/d, 3 días por semana en funcionamento e 4 días en descanso. Estas condicións mantivéronse até o día 235 no que se desmontaron as columnas para realizar ensaios biolóxicos en descontinuo.

O valor da VCHs sitúase no entorno dos 138 mm/d nos tres primeiros períodos e, un pouco máis baixa, arredor dos 102 mm/d nos períodos IV e V, e é moi similar en ambas columnas, xa que o efluente de FV1 é o influente de FV2, cunha pequena diferenza debida ao volume que se retira para realizar as analíticas e a posible evaporación.

Porén, as VCOs son moi diferentes de FV1 a FV2 (Táboa 2), mentres que os valores medios en FV1 son de  $14,8 \pm 2,5$  g SST/m<sup>2</sup>·d e de  $66,7 \pm 11,3$  g DQO/m<sup>2</sup>·d, en FV2 son de  $1,9 \pm 0,2$  g SST/m<sup>2</sup>·d e  $5,4 \pm 2,4$  g DQO/m<sup>2</sup>·d para o estudo global, debido á elevada eliminación de materia orgánica en FV1.

### 3.1.2. Características dos efluentes do sistema FV+FV

Nas Figuras 2 e 3 amósanse as variacións de diferentes parámetros nos efluentes de ambas columnas e na Táboa 3 recóllense os valores medios e a desviación estándar dos parámetros de seguimento para cada columna e período. Na columna FV1 o pH variou entre 5,6 e 7,1 baixando puntualmente no día 63 até 4,5. Porén, a acidificación foi máis intensa en FV2 onde o pH variou entre 7,1 e 4,3 sendo baixadas continuadas sen recuperación. Isto é debido a que na nitrificación se consume unha alcalinidade de 7,1 mgCaCO<sub>3</sub>/L por cada mg/L de N-nitrificado a partir de N-amónico, liberándose 2 moles de H<sup>+</sup> por cada mol de N-amoniaco consumido (Kadlec e Knight, 1996). Por outra banda, a microbiota nitrificante depende do pH, caendo un 20% a súa actividade con pH por baixo de 6,5 (Grunditz e Dalhammar, 2001) e vese inhibida cando o pH cae ata 4,5 (Henze et al., 1995). Segundo isto, debido ás acusadas baixadas de pH rexistrados nas columnas de FV, considerouse necesario o control do pH para evitar a acidificación, e a partir do día 93 de operación (Período II) engadíronse á alimentación 500 mgNaHCO<sub>3</sub>/L. Comprobouse a recuperación inmediata do pH nos efluentes das dúas columnas FV1 e FV2 ao engadir solución tampón no influente (Fig. 2), mais tamén se comprobou o rápido descenso ao retirar esta achega no Período V, tendo un pH de 6,8 ± 0,5 durante 5 semanas consecutivas no efluente de FV2, ao retirar o bicarbonato sódico no influente, en 2 semanas o efluente desta segunda unidade FV descendeu até 4,6, polo que a partir de aí se continuou coa adición de 500 mgNaHCO<sub>3</sub> no influente, manténdose en 6,7 ± 0,3 no efluente de FV1 e en 6,6 ± 0,5 no de FV2 durante a adición de bicarbonato, resultados que concordan cos valores óptimos para a nitrificación rexistrados por Paredes et al. (2007) e Kadlec e Wallace (2009). O intervalo sen adición de bicarbonato sódico abrangueu entre os días 207 ao 221, pertencentes ao Período V.

Os valores de OD (Fig. 2) foron sempre elevados en FV2, no rango de 5,7 a 9,6 mg O<sub>2</sub>/L (media 7,5 ± 0,9), e máis variables e baixos en FV1, nun rango de 1,3 a 8,2 mg O<sub>2</sub>/L. Isto é debido por unha banda ao maior consumo de O<sub>2</sub> nesta columna que recibe toda a carga de materia orgánica, e por outra aos problemas de colmatación que limitan a aireación, por iso os valores máis baixos obtivéronse durante os períodos III e IV, cando a colmatación foi maior. De feito, Labella et al. (2015) empregaron o parámetro do oxíxeno disolto para estudar o fenómeno de colmatación nos humidais, e desta forma poder prevela e mellorar a eficiencia de tratamento. O POR amosou un comportamento similar ao do OD (Fig. 2), en canto as comparativas entre as dúas columnas e entre os períodos de operación.

**Táboa 3.** Características do efluente das columnas FV1 e FV2 por período de operación.

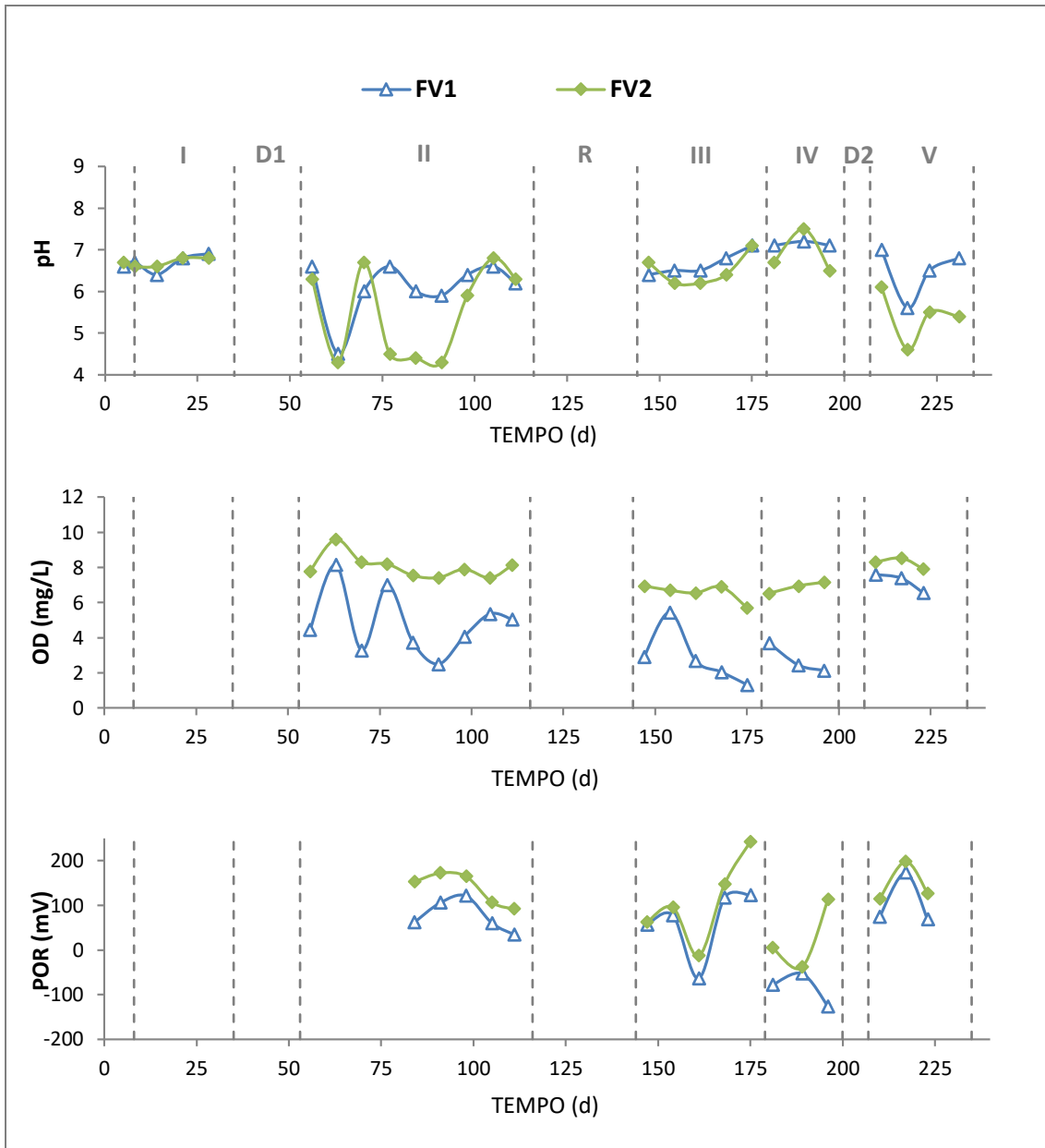
PERIODO (días)		I (1 – 35)	II (47 – 116) <sup>a</sup>	III (145-179) <sup>a</sup>	IV (180-200) <sup>a</sup>	V (208-235) <sup>a</sup>
pH	FV1	6,7 ± 0,2	6,1 ± 0,7	6,7 ± 0,3	7,1 ± 0,1	6,5 ± 0,6
	FV2	6,7 ± 0,1	5,5 ± 1,1	6,5 ± 0,4	6,9 ± 0,5	5,4 ± 0,6
OD	FV1	n.d.	4,8 ± 1,8	2,9 ± 1,6	2,8 ± 0,8	7,2 ± 0,6
	FV2	n.d.	8,0 ± 0,7	6,6 ± 0,5	6,9 ± 0,3	8,3 ± 0,3
POR	FV1	n.d.	76,6 ± 35,7	61,9 ± 75,7	-86,3 ± 37,3	105,1 ± 59,0
	FV2	n.d.	138 ± 36,2	107,2 ± 95,8	26,6 ± 78,0	146,8 ± 45,4
SST	FV1	16,0 ± 5,7	15,4 ± 5,4	12,0 ± 3,4	20,7 ± 6,1	19,0 ± 12,7
	FV2	14,6 ± 7,4	5,4 ± 2,7	5,0 ± 3,2	8,0 ± 3,6	4,5 ± 2,3
DQO	FV1	62,1 ± 25,7	59,5 ± 22,9	30,1 ± 8,2	44,1 ± 31,0	28,3 ± 15,2
	FV2	4,8 ± 5,9	18,6 ± 11,1	18,5 ± 9,2	11,3 ± 1,2	18,0 ± 10,6
DBO <sub>5</sub>	FV2	n.d.	6,0 ± 3,4	6,4 ± 3,8	2,6 ± 1,7	5,4 ± 2,6
NT	FV1	n.d.	62,0 ± 29,3	32,1 ± 2,6	37,5 ± 2,3	64,6 ± 12,5
	FV2	n.d.	64,7 ± 24,6	28,5 ± 3,0	41,0 ± 8,0	56,7 ± 1,8
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	FV1	n.d.	30,7 ± 9,6	39,0 ± 7,0	36,6 ± 3,0	18,9 ± 6,3
	FV2	n.d.	19,7 ± 4,2	6,8 ± 6,7	2,7 ± 0,5	11,2 ± 9,7
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	FV1	n.d.	42,0 ± 24,0	5,6 ± 1,7	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,3
	FV2	n.d.	58,0 ± 4,3	27,0 ± 5,8	38,8 ± 12,7	52,0 ± 9,8

Dáse a media seguida da desviación estándar. Unidades en mg/L, excepto POR (mV) e pH.

<sup>a</sup> Adición de NaHCO<sub>3</sub> en cantidade de 500mg/L no influente, desde o día 93 ao 193, e do 221 ao 235.

Os SST nos efluentes de ambas columnas foron baixos, no rango de 12,0 a 20,7 mg/L para FV1 (media 16,6 ± 3,4; Táboa 3) e entre 4,5 a 14,6 mg/L en FV2 (media 7,5 ± 4,2 mg/L), sen tendencias significativas ao longo do tempo de operación, como se observa na Figura 3.

Con respecto á DQO, no efluente FV1 reduciuse lixeiramente nos últimos períodos de operación, pasando de 60,2 a 32,0 mg/L, mentres que o efluente da columna FV2 mantivo unha DQO baixa en todo o tempo de operación, cun valor medio de 16 mg O<sub>2</sub>/L. Pola súa banda, a DBO<sub>5</sub> foi sempre moi baixa, manténdose por baixo dos 10 mg O<sub>2</sub>/L e dando unha media de 5,1 ± 1,7 mg O<sub>2</sub>/L para o estudo global (Fig. 3). Isto concorda cos resultados de Kadlec et al. (2000) que indican que a eliminación da materia orgánica é óptima se os humidais están ben deseñados, producindo efluentes de DQO menor de 60 mg/L e DBO<sub>5</sub> menor de 20 mg/L.



**Figura 2.** Evolución do pH, OD (mg/L) e POR (mV) nas columnas FV1 e FV2.

I – V: Períodos; D1, D2: descansos por colmatación; R: respirometrías.

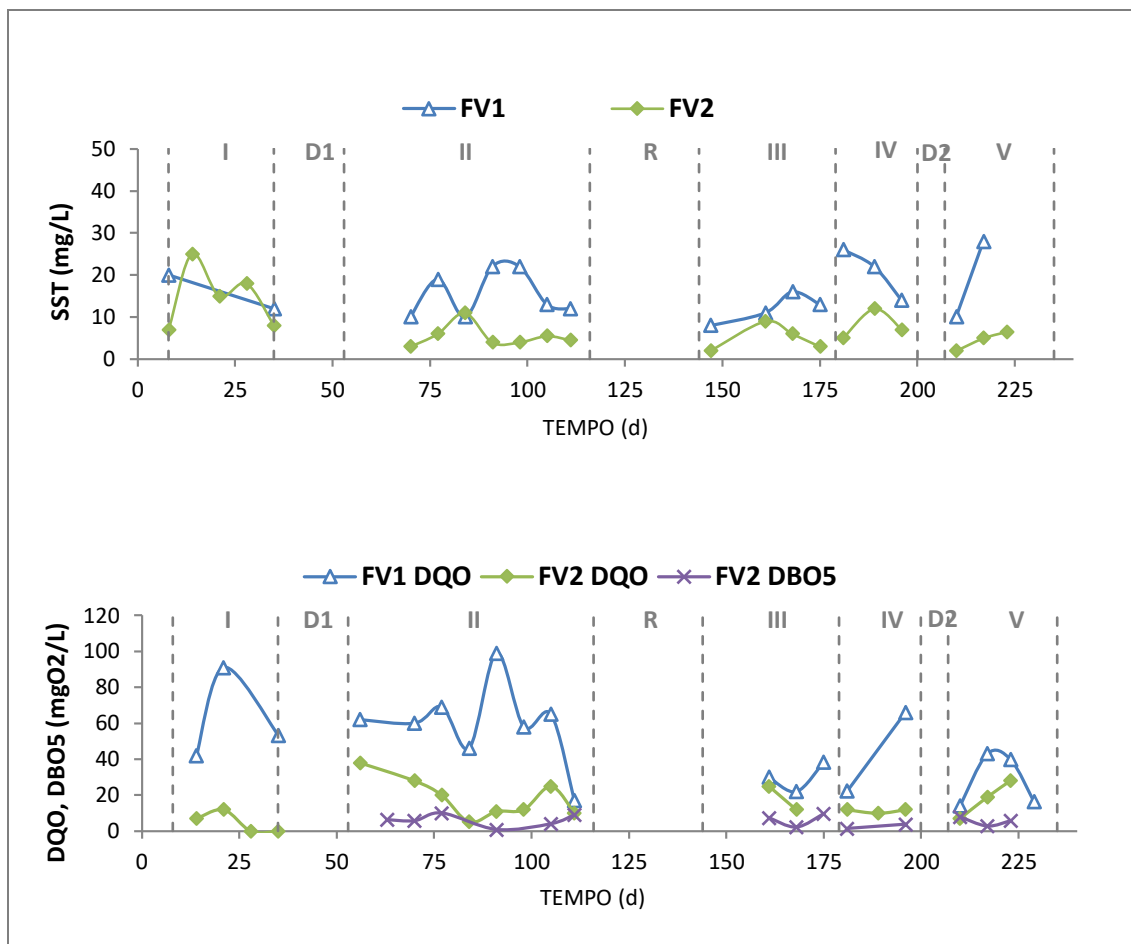


Figura 3. Evolución dos SST, DQO e DBO<sub>5</sub> nas columnas FV1 e FV2.

I – V: Períodos; D1, D2: descansos por colmatación; R: respirometrías.

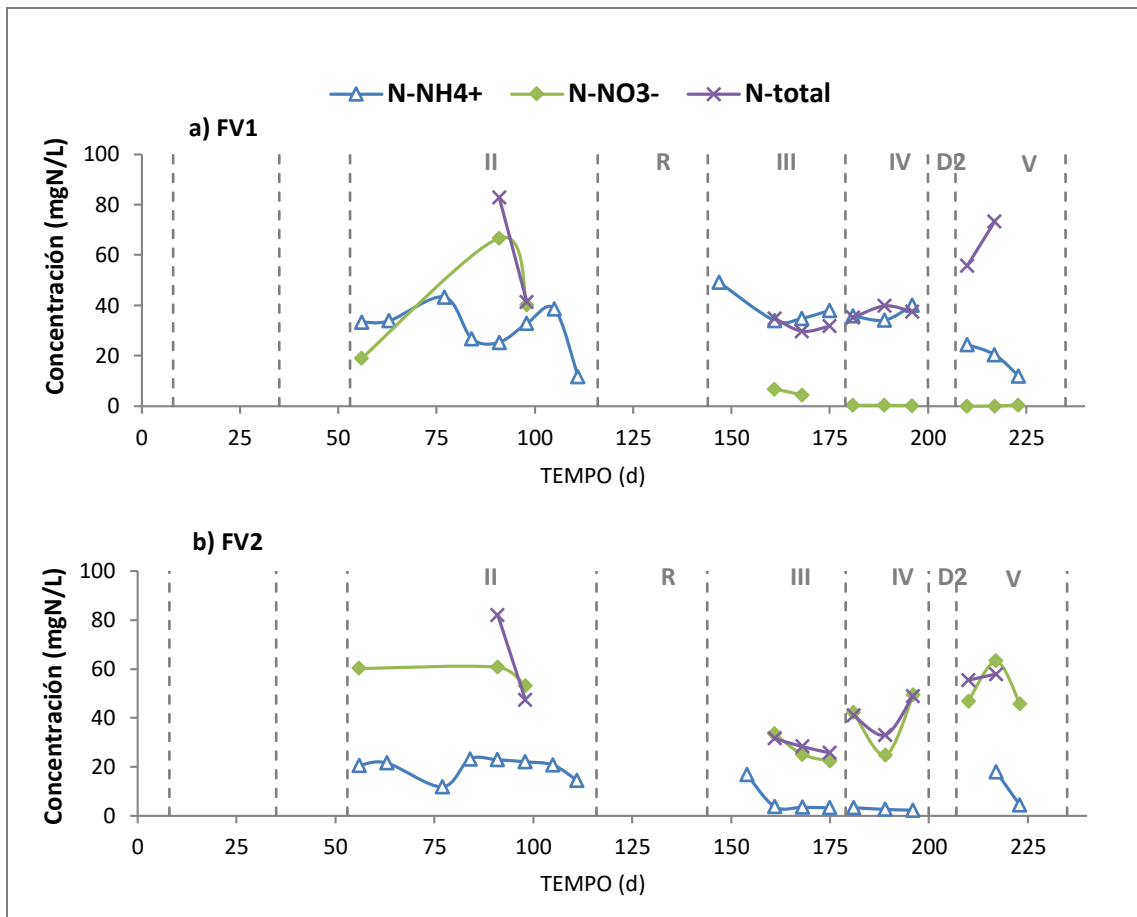
### 3.1.3. Eficacia de eliminación

Os valores medios da porcentaxe de eliminación por períodos de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> recóllense na Táboa 4. A eliminación media de SS na primeira etapa FV1 está entre o 83 – 90 %, e a de DQO entre o 89 – 95 %, situándose as medias das eliminacións globais (sistema FV1+FV2) no rango do 88 – 96 % para os SS e no 95 – 99 % para DQO e DBO<sub>5</sub> (Táboa 4). A columna FV2 presenta unha maior variabilidade e supón unha baixa porcentaxe de eliminación adicional. Estes rendementos de eliminación da materia orgánica axústanse e incluso melloran referencias como a de Kadlec et al. (2000) que indican que o rendimento de eliminación neste tipo de humidais oscila entre o 75 e o 95 % de DQO e DBO<sub>5</sub>, e tamén cumprirían os límites de vertido do RD 509/1996, do 15 de marzo. Estas elevadas porcentaxes de eliminación de e concentracións influentes moi baixas poden deberse en parte á utilización dun influente sintético cunha menor fracción recalcitrante que a das augas residuais domésticas e urbanas reais.

**Táboa 4.** Porcentaxes de eliminación globais e para cada columna por período.

PERIODO		I	II	III	IV	V
Eliminación global (%)	SST	87,8	95,5	95,8	93,3	96,3
	DQO	99,1	96,5	95,1	97,9	96,7
	DBO <sub>5</sub>	n.d.	97,7	97,6	99,0	97,9
	NT	n.d.	17,0	63,4	47,4	27,3
Eliminación FV1 (%)	SST	86,7	87,1	90,0	82,8	84,2
	DQO	88,5	89,0	94,4	91,8	94,7
	NT	n.d.	20,5	58,8	51,9	17,2
Eliminación FV2 (%)	SST	8,8	64,8	58,3	61,3	76,3
	DQO	92,4	68,7	11,5	74,3	36,3
	NT	n.d.	-4,4	11,2	-9,4	12,3

Na alimentación fresca o valor do NT é de 78 mg/L, que se atopa fundamentalmente como nitróxeno orgánico (urea), sendo 8 e 3 mg/L os valores do  $N-NH_4^+$  e  $N-NO_3^-$  respectivamente (Táboa 1). Na Figura 4 amósase a evolución destes parámetros nas columnas FV1 e FV2. Ao ser un sistema aerobio é de esperar que tras a amonificación do nitróxeno orgánico se produza a nitrificación, e finalmente e en menor medida a denitrificación, que implica a eliminación real do nitróxeno. Tendo en conta que a eficiencia de eliminación é moi variable nos HCs, desde arredor do 90% ou por baixo do 11%, en xeral as eliminacións non superan o 50%, incluso tendo un deseño óptimo (Ji et al., 2012; Xu et al., 2013). Neste sistema obsérvase que a eliminación do NT é moi irregular, sen conseguir cumprirse os obxectivos de calidade de vertido de 10 – 15 mg NT/L (RD 509/1996 de 15 de marzo), acadándose os valores máis altos nos períodos III e IV, cun 63% (efluente final con 28 mg NT/L) e un 47% (41 mg NT/L) de media respectivamente, dentro dos rangos xerais de eliminación marcados por Ji et al. (2012) e Xu et al. (2013). Nestes períodos a eliminación prodúcese maioritariamente en FV1, atopándose o nitróxeno que queda no efluente en forma de amonio. Na columna FV2 non se incrementa a eliminación de nitróxeno, mais si se produce a nitrificación do amonio que chega de FV1. No período V a eliminación global de NT cae até o 27%, sendo na columna FV1 só do 17%. Esta caída podería explicarse polo feito de que nos períodos III e IV o OD en FV1 baixa, favorecendo un certo grao de denitrificación, porén, no período V o OD é alto, como consecuencia dunha menor velocidade de carga, polo que só se acada a nitrificación. A caída do pH durante a maior parte deste período tamén puido ter axudado a neste sentido. Deste modo tamén se comproba o feito de que nos HCs de FV non son capaces por si mesmos de acadar a eliminación de todo o NT, debido á súa incapacidade de alternar condicións aerobias e anóxicas para poder levar a cabo tanto a nitrificación como a denitrificación (Hu et al., 2014).



**Figura 4.** Concentración de formas de Nitróxeno nos efluentes das columnas FV1 (a) e FV2 (b). I – V: Períodos; D1, D2: descansos por colmatación; R: respirometrías.

### 3.1.4. Perfís de fluxo de caudais

As VCH e VCS aplicadas determinan as diferenzas nos perfís de fluxo entre ambas columnas e os fenómenos de colmatación. A colmatación é un proceso inherente que afecta aos HCs de FV de modo progresivo, e certo grao de colmatación é inevitable co tempo (De la Varga et al., 2013, Song et al., 2015), debido á acumulación de sólidos e tamén ao crecemento e adhesión dos microorganismos ao biofilm (bio-colmatación) (Hua et al., 2010). A aparición de fenómenos de colmatación avanzados está relacionada co tamaño de partícula do medio filtrante empregado e coa carga orgánica aplicada (Song et al., 2015). A columna FV1 recibiu unhas cargas orgánicas superiores ás de referencia (García e Corzo, 2008), o cal fai que o seu material filtrante ( $D_{60}$  2,5 e 0,9 en MF1 e MF2, respectivamente) acumule sólidos e biomasa, diminuindo a súa porosidade e a velocidade de infiltración. Porén, ha de terse en conta que o uso dun medio filtrante fino nas columnas de FV xunto con unha maior carga (respecto aos humidais de FH) favorece a aparición de zonas anóxicas para a denitrificación (Hua et al., 2010; Song et al., 2015). Por outra banda a operación en discontinuo, alimentando en pulsos e con períodos de alimentación e descanso, emprégase para re-osixenar o leito (Song et al., 2015), de modo que estes autores determinaron que a parada dos humidais de FV serve para mitigar a colmatación permitindo a recuperación do sistema.



**Táboa 5.** Condicións e resultados dos perfís de fluxo nas columnas FV1 e FV2.

Día	Columna FV1				Columna FV2			
	29	34	35	42	29	34	35	42
R 60 min (%Vol)	73,2	41,9	38,7	61,1	85,3	72,8	78,7	74,4
Q <sub>máx</sub> (mL/min)	5,4	3,5	2,5	10,0	9,5	15,0	21,0	14,5
t <sub>m</sub> (min)	42,1	102,5	73,9	31,5	13,6	17,8	15,0	10,4
t <sub>r</sub> (min)	1,3	0,6	0,8	4,0	1,8	3,9	4,8	1,0

R 60 min: porcentaxe de volume recuperado en 60 minutos.

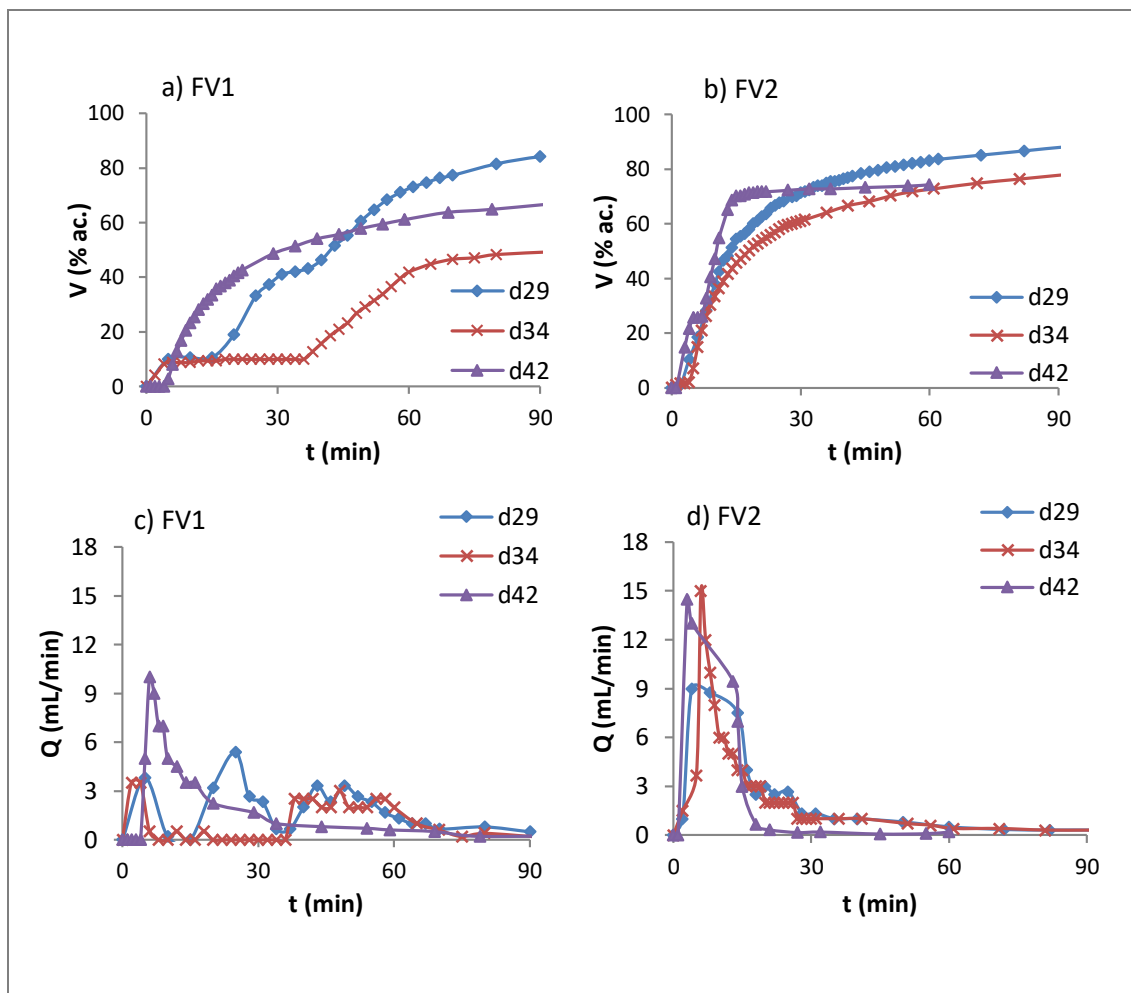
Q<sub>máx</sub> (mL/min): caudal máximo acadado na drenaxe do pulso.

t<sub>m</sub> (min): tempo medio, en minutos.

t<sub>r</sub> (min): tempo de retardo, en minutos.

Dado que o principal problema da operación dos HC de FV é a colmatación do medio granular, é de utilidade un mecanismo que permita detectala e solucionala (Tanner et al., 1995; Wallace et al., 2006), que no presente estudo se fixo mediante os perfís de fluxo de caudais, achegando información de utilidade mediante cálculo de diversos parámetros (Táboa 5) que indicaron a progresiva colmatación e posterior recuperación da columna FV1, despois de aplicarlle tempo de parada ao sistema, facendo descanso na alimentación e permitindo así a eliminación da materia orgánica retida en MF2. Nos días previos á parada o tempo medio de drenaxe atopouse entre 30 e 60 minutos e o día da parada este tempo xa era de 100 minutos na columna FV1 (dato non mostrado), indicando unha progresiva colmatación no medio filtrante superior (MF2) da columna FV1, tamén detectable visualmente pola tonalidade escura do medio MF2. Na columna FV2, pola contra, o tempo de drenaxe era só 10 de minutos no momento que se fixo a parada do sistema (día 35 de operación). O tempo de retardo aparece máis curto na columna colmatada debido probablemente ao potenciamento de camiños preferenciais.

Así mesmo, a representación gráfica dos perfís de fluxo de caudais (Figura 5) facilita a observación do comportamento hidráulico das unidades de FV. Na Figura 5 obsérvase o diferente comportamento entre as columnas FV1 e FV2. Mentres que en FV2 os perfís indican un bo funcionamento hidráulico, saíndo a maior parte do pulso nun período curto de tempo, entre 10 e 15 min, en FV1 a drenaxe do pulso é cada vez máis lenta, indicando a crecente colmatación da capa MF2. Tras varios días de repouso, o día 42 realizouse un novo perfil de fluxo correspondente a un segundo pulso de alimentación para facelo en condicións normais de leito húmido, e detectouse a recuperación da columna FV1, se ben non co comportamento hidráulico da segunda unidade FV2 pero si en mellores condicións das que se atopaba antes do período de descanso. Con isto, deixouse catro días máis en repouso para asegurar a perfecta recuperación de FV1, durando polo tanto o período de parada 11 días no sistema FV.



**Figura 5.** Perfís de fluxo de caudais nas columnas FV1 e FV2: Volumes acumulados (%) (a, b). Caudais (mL/min) (c, d).

Xa que tanto FV1 como FV2 conteñen o mesmo tipo de medio filtrante, estes resultados concordan co esperado respecto á maior carga orgánica aplicada sobre FV1, que favorece a acumulación de sólidos e o crecemento da biomasa, acelerando así a colmatación no sistema e traducíndose nunha campá alongada ou case inexistente (Fig. 5c). Noutras ocasións a diferenza de comportamento hidráulico tamén se debe á composición do medio filtrante, que cando é de fino tamaño de partícula, a retención hidráulica é maior, como ocorre no estudo de Carballeira (2014), aparecendo comportamentos hidráulicos similares aos acontecidos neste estudo por colmatación.

A colmatación en FV estaría asociada á aplicación dunha elevada VCS de sólidos en suspensión, que se situou no rango de 16-17 g SST/m<sup>2</sup>·d durante os períodos I-III. Xa durante os períodos IV-V a VCS reduciuse a 11-13 g SST/m<sup>2</sup>·d, sen que fose suficiente para eliminar o fenómeno de colmatación. Este resultado concorda cos estudos previos que indican risco de colmatación en humidais construídos de fluxo vertical a VCS superiores a 5 g SST/m<sup>2</sup>·d e concentracións influentes superiores a 100 mg SST/m<sup>2</sup>·d (Winter and Goetz, 2003). A VCS de SST aplicada en FV1 duplicou ou triplicou este valor, aínda que referida ao sistema global fose só lixeiramente superior. Pola contra, a columna FV2 recibiu unha VCS inferior a 2,1 g SST/m<sup>2</sup>·d. Con todo, a operación con

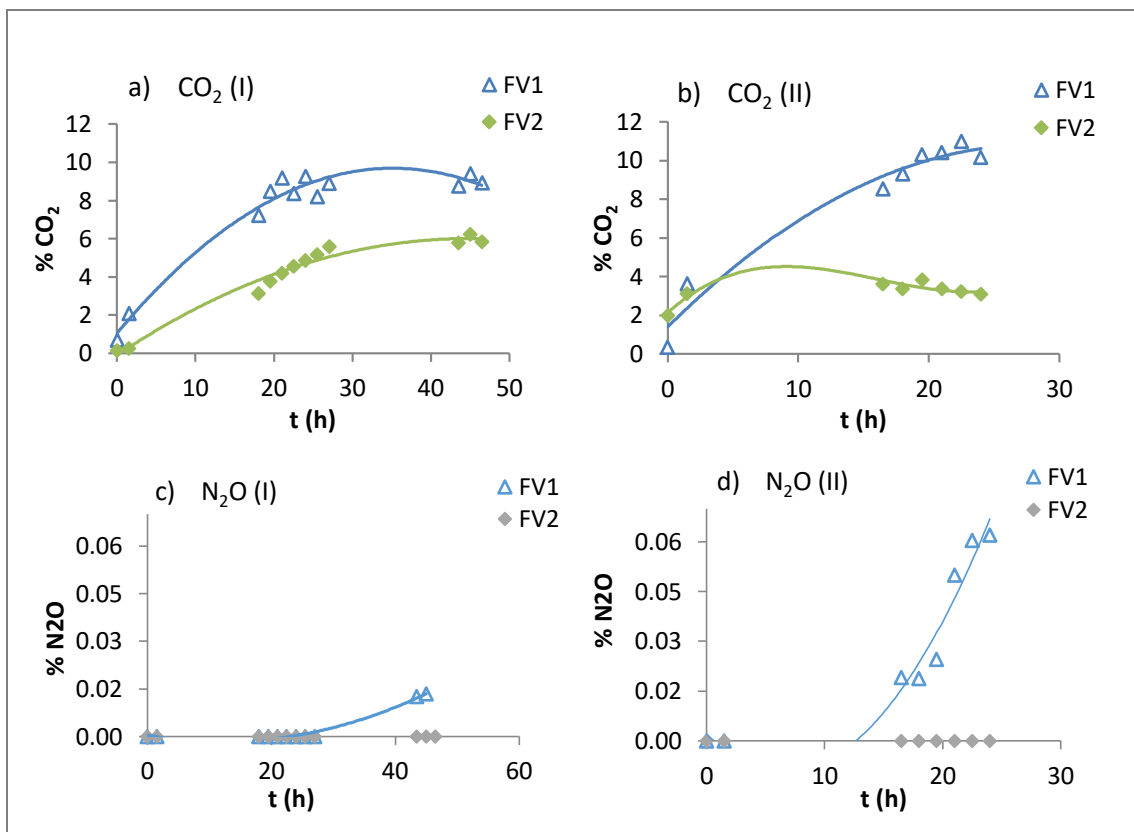
períodos de alimentación e descanso alternados reduciu claramente a rapidez e intensidade coa que se produce a colmatación, como se deduce da comparación da operación durante o período II en relación co período I. Os resultados indican que no caso de sistemas multietapa, debido a que a primeira etapa recibe unha maior VCS, é preciso modificar o tamaño de partícula do medio filtrante, utilizando un tamaño maior na etapa inicial (Hua et al., 2010).

### 3.1.5. Emisións de gases

Durante o período V de operación, fíxose un seguimento das emisións de metano, óxido nítrico e dióxido de carbono nas columnas FV1 e FV2, co obxecto de coñecer a posible produción destes gases. A toma de mostras fíxose cada 1,5 horas, comezando en tempo cero e facendo descansos nocturnos de toma de mostras de 16 horas. Fíxose coincidir a toma de mostras co momento do pulso de alimentación e co tempo intermedio deste (pulsos en FV cada 3 horas), sen atopar ningunha influencia desta característica nos resultados (Fig. 6 a, b).

Tratouse de dúas campañas consecutivas, I e II, que comezaron o día 221 de operación e duraron 50 (quenda I) e 24 horas (quenda II), separándose ambas campañas pola apertura das columnas para facilitar o intercambio gasoso.

Durante o primeiro peche das columnas (campaña I), as emisións máximas de CO<sub>2</sub> acadaron o 9,4% na columna FV1 e o 6,2% na FV2 ao cabo de 45 horas. Para a quenda II o máximo de CO<sub>2</sub> chegou ao 11,0% na columna FV1 ás 22 horas, e en FV2 mantívose en  $3,4 \pm 0,3$  % desde as 1,5 horas de pechada ata o remate da quenda, como se observa na Figura 6 (a, b), o cal pode ser indicativo de algunha fuga gasosa nesta columna durante esta quenda, xa que o comportamento de emisións de CO<sub>2</sub> parece que difire aos outros estudados. O comportamento de emisións con atmosfera confinada resulta nunha produción lineal que ao cabo de un tempo se estabiliza, incluso diminúe debido ao intercambio gasoso que se pode producir co medio líquido. Por este motivo as velocidades de emisión determínanse ata un tempo non maior de 27 horas, facendo os cálculos a partir da regresión lineal para esta franxa de tempo. A velocidade de emisión de CO<sub>2</sub> nas columnas deste sistema foi de 16400 mgCO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d (Táboa 6) para o sistema global, que se atopa no rango de emisións para humidais de FV rexistrados entre 11100 e 18300 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d (Søvik et al., 2006; Mander et al., 2008).



**Figura 6.** Evolución das emisións de CO<sub>2</sub> (a, b) e de N<sub>2</sub>O (c, d) nas columnas FV1 e FV2 durante as quendas de estudo I e II (Non se mostra o seguimento de CH<sub>4</sub> porque non foi detectado en ningún caso).

No referente ás emisións de metano e óxido nítrico, non se observou produción de metano, pero si de óxido nítrico (Figura 6 c, d), o cal apareceu unicamente na columna FV1 a partir das 43 horas de pechada a columna (quenda I) e de 16 horas (quenda II), condicións non normais de operación nos humidais de FV, chegando a velocidade superficial de 400 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d ao final da campaña (Táboa 6), valores moi superiores aos 10,48 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d de media, correspondentes a un rango entre 0,23 e 31,98 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d para humidais de FV rexistrado por unha veintena de autores na revisión de Mander et al. (2014), autores que relacionaron os factores de emisión de N<sub>2</sub>O co NT influente. Esta elevada produción ocorre coa atmosfera confinada, en carencia de O<sub>2</sub> ao pechar as columnas (tempos maiores de 30h na quenda I e de 12h na quenda II), que non son as condicións normais de un humidal FV. Segundo isto, en condicións normais de operación non se emitiu N<sub>2</sub>O nas columnas FV, ou estivo sempre por debaixo do límite de detección. Pero compre ter en conta que o límite de detección para N<sub>2</sub>O era relativamente elevado (10,6 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d).

No tocante aos factores de emisión para o dióxido de carbono e o óxido nítrico, para o sistema FV1 + FV2, resultou nun 62,1 % do COT e 0,32 % do NT, como se observa na Táboa 6, xunto cos resultados para cada columna, onde tamén se mostran os resultados de VSE para o dióxido de carbono e o óxido nítrico nas columnas FV1 e FV2.

**Táboa 6.** Velocidade superficial de emisión (VSE) de CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O nas columnas FV1, FV2, e para o sistema global, durante as dúas quendas de estudo (I e II). Factores de emisión (FE) de CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O para as columnas FV1, FV2, e para o sistema global.

	CO <sub>2</sub>			N <sub>2</sub> O				CH <sub>4</sub>		
	FV1	FV2	FV1+ FV2	FV1 <sup>a</sup>	FV1 <sup>b</sup>	FV2	FV1+ FV2	FV1	FV2	FV1+ FV2
<b>VSE (mg/m<sup>2</sup>·d)</b>										
I	21300	11501	16400	<11	42,8	<6	<17	<2	<2	<2
II				<20	399,7	<6	<26	<4	<4	<4
<b>FE (%)<sup>c</sup></b>										
I	40,3	21,8 <sup>d</sup> (836,4) <sup>e</sup>	62,1	<0,08	0,3	<0,05	<0,13	<0,02	<0,6	<0,03
II				<0,15	3,0	<0,05	<0,20	<0,03	<1,2	<0,06

I, II: Dúas quendas de seguimento. <sup>a</sup> Emisións en condicións normais de operación (antes de 27 h na quenda I e antes de 14 h na quenda II de pechadas as columnas). <sup>b</sup> Emisións desencadeadas polo efecto do peche de columnas despois dos tempos indicados. <sup>c</sup> Factor de emisión como porcentaxe do carbono influente (CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>) e do nitróxeno influente (N<sub>2</sub>O). <sup>d</sup> FE para FV2 calculado como a diferenza entre o FE do sistema global e o FE de FV1 (esta opción de cálculo garante o carácter aditivo, cumpríndose que FE<sub>(FV1 + FV2)} = FE<sub>FV1</sub> + FE<sub>FV2</sub>). <sup>e</sup> FE referido á VCO influente a FV2, considerando que a DBO<sub>5</sub> (influyente FV2) é igual a DQO/2 (neste caso, os valores de FE en cada etapa non son aditivos en relación coa súa contribución ao FE do sistema global).</sub>

### 3.1.6. Concentración de biomasa e actividades microbianas

Os resultados da caracterización dos medios filtrantes (MF1 e MF2) colonizados pola microbiota ao remate do tempo de operación danse na Táboa 7. Todos os parámetros determináronse para unha mostra composta por ambos medios en relación proporcional ao seu volume ocupado na columna, agás o contido en sólidos volátiles totais (SVT) e extraíbles (SVE), que se determinaron separadamente para cada capa do medio filtrante. A densidade do medio drenado foi de 1,50 kg/L e a retención de auga de aproximadamente o 6% (sobre peso do medio húmido). As concentracións foron reducidas, decrecendo lixeiramente no sentido de fluxo, feito que atoparon tamén Foladori et al. (2015) nos humidais de fluxo vertical, con diferenzas de 3,8 veces máis abundantes nos 10 cm superficiais. Así, a capa superior MF2 do presente estudo presentou en ambas columnas un maior contido en SVT e sobre todo en SVE, en comparación coa capa MF1, sendo o triplo na capa MF2 e concordando coa proporción rexistrada por Foladori et al. (2015). A diferenza entre FV1 e FV2 foron moi reducidas, segundo se observa na Táboa 7.

**Táboa 7.** Caracterización dos medios filtrantes ao final do estudo.

	<b>Mostra</b>	<b>Densidade (g/mL)</b>	<b>ST (%)</b>	<b>SVT (mg/g g.s.)<sup>a</sup></b>	<b>STE (mg/g g.s.)</b>	<b>SVE (mg/g g.s.)<sup>a</sup></b>
	MF2	-	-	8,27 ± 1,01	35,98 ± 2,51	3,06 ± 0,21
FV1	MF1	-	-	5,76 ± 0,03	10,41 ± 1,34	1,12 ± 0,03
	Media <sup>b</sup>	1,501 ± 0,011	93,8 ± 0,2	6,10 ± 0,16	13,92 ± 1,50	1,39 ± 0,05
	MF2	-	-	6,71 ± 0,84	31,43 ± 3,75	2,28 ± 0,04
FV2	MF1	-	-	5,67 ± 0,16	10,57 ± 1,31	0,98 ± 0,04
	Media <sup>a</sup>	1,497 ± 0,008	94,0 ± 0,3	5,82 ± 0,26	13,61 ± 1,66	1,17 ± 0,04

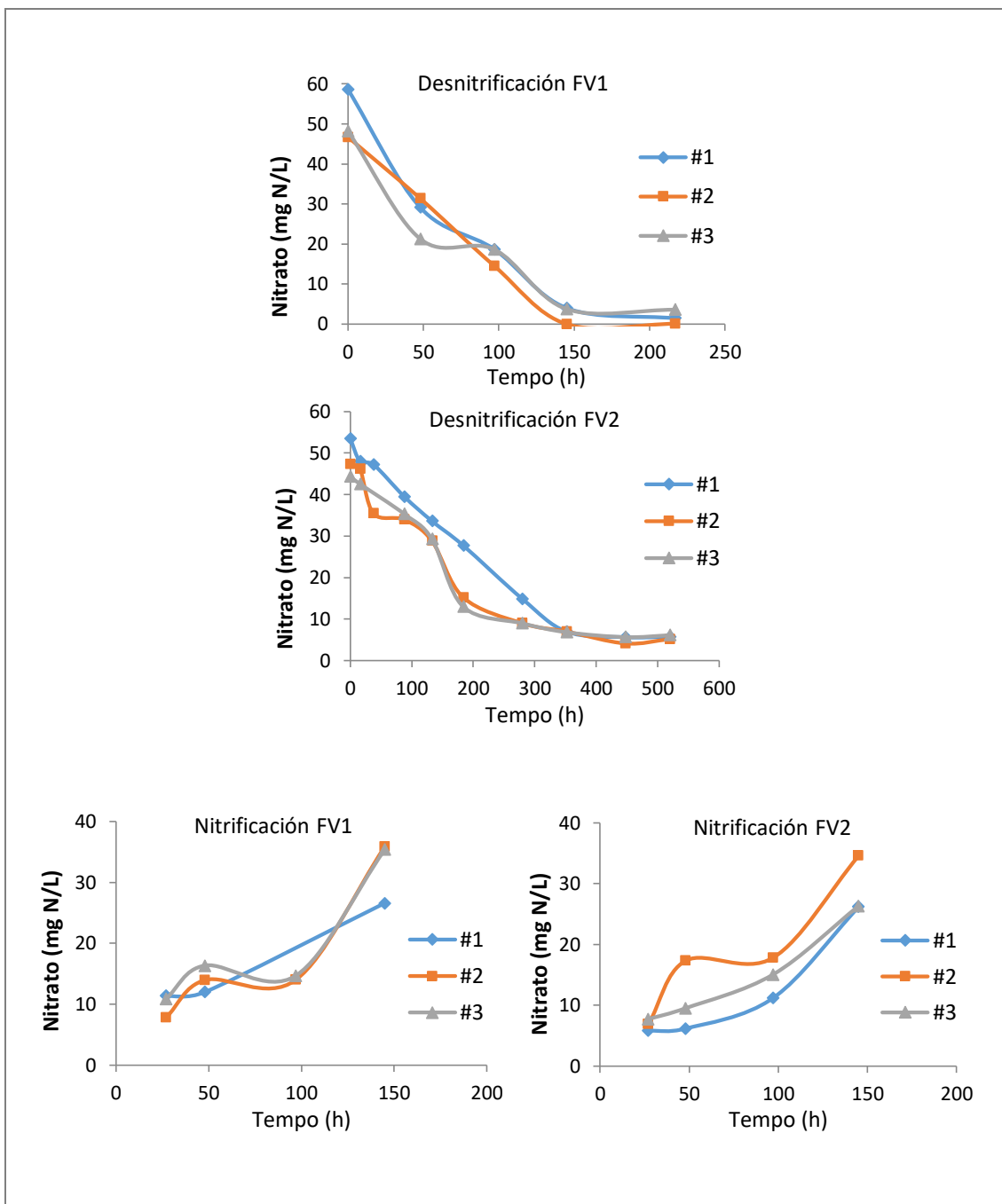
<sup>a</sup>g.s.: grava seca. <sup>b</sup> Media ponderada en función da masa total de cada medio nas columnas.

ST: sólidos totais; STE: sólidos totais extraíbles.

Na Figura 7 móstranse as curvas de produción e eliminación de nitrato nos ensaios denitrificantes e nitrificantes. Na Táboa 8 indícanse as actividades volumétricas obtidas nos ensaios biolóxicos. En todos os ensaios engadiuse unha cantidade similar de mostra de grava, que foi de  $45,0 \pm 0,3$  g de medio húmido, o que resultou en 42,2 gST por ensaio. Porén, a fase líquida foi de 40 mL nos ensaios de desnitrificación e 50 mL nos de nitrificación, valores que se teñen en conta para a obtención de actividades específicas e superficiais indicados na Táboa 8. Estas actividades específicas obtéñense a partir das pendentes das curvas da Figura 7 (tramo de pendente constante) e exprésanse en diferentes unidades, segundo se mostra na Táboa 8.

**Táboa 8.** Actividade nitrificante e denitrificante expresadas en diferentes unidades.

<b>Unidades</b>	<b>(mg N/L·h)</b>	<b>(mg N/kg ST·h)</b>	<b>(mg N/g SVT·d)</b>	<b>(mg N/g SVE·d)</b>	<b>(g N/m<sup>2</sup>·d)</b>
Actividade nitrificante (AN)					
FV1	0,18 ± 0,04	0,213	0,87	3,94	2,58
FV2	0,18 ± 0,02	0,213	0,90	4,68	2,65
Actividade desnitrificante (ADN)					
FV1	0,32 ± 0,04	0,303	1,24	5,60	3,68
FV2	0,11 ± 0,01	0,104	0,44	2,29	1,30



**Figura 7.** Evolución da produción e eliminación de nitrato nos ensaios denitrificantes e nitrificantes con medio das columnas FV.

A AN é similar nas dúas columnas, xa que as diferenzas na actividade volumétrica e nas concentracións de sólidos son reducidas, agás no caso dos SVE. Expresada en unidades de superficie, a AN foi de aproximadamente  $2,6 \text{ g N/m}^2\cdot\text{d}$ , tanto en FV1 como en FV2. A ADN foi maior en FV1, con  $3,7 \text{ g N/m}^2\cdot\text{d}$  fronte aos  $1,3 \text{ g N/m}^2\cdot\text{d}$  de FV2. Desta forma, a ADN sitúase na columna FV1 por encima da AN e na columna FV2 por debaixo, como cabería esperar pola súa posición no sistema de tratamento. De acordo con estes valores relativos de AN e ADN, a columna FV1 eliminaba todo o nitrato e acumulaba amoníaco, mentres a columna FV2 eliminaba todo o amoníaco e acumulaba nitrato (Figura 4). Esta

mesma comparativa tamén se dá cando as actividades se expresan por unidade de SVT e SVE (actividades específicas), con valores que en conxunto van de 0,4 a 1,2 mg N/g SVT·d e 2,3 a 5,6 mg N/g SVE·d.

Dado que as dúas columnas teñen a mesma área, a AN e ADN global é igual a media da das dúas columnas, resultando de 2,6 (AN) e 2,5 (ADN) g N/m<sup>2</sup>·d. A pesar de seren similares, o sistema global acumulaba máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final, o que se debe ao proceso en serie de nitrificación primeiro e desnitrificación despois. Así mesmo, na columna FV2, a etapa desnitrificante foi limitante fronte a etapa nitrificante, o que se pode achacarse a unhas condicións ambientais e de substrato (O<sub>2</sub>, POR, relación DQO/NT) pouco propicias para a desnitrificación nesta columna.

Os ensaios de actividade metanoxénica do medio da columna FV1 presentaron unha fase de latencia de 12 días, rexistrándose a continuación unha actividade de 0,04 mL CH<sub>4</sub>/d, o que equivale a 0,002 gDQO-CH<sub>4</sub>/gSSV·d, un valor moi baixo que se pode considerar practicamente nulo. Para o medio da columna FV2, a actividade foi nula durante un período de ao menos 43 días. En condicións anóxicas (en presenza de nitrato), a xeración de metano foi nula tanto en FV1 como en FV2 durante todo o período de seguimento (43 días).

## **3.2. Sistema de humidais FH+FH**

### **3.2.1. Condicións de operación e velocidades de carga**

O sistema de humidais construídos con dúas unidades de fluxo horizontal (FH+FH) estivo en funcionamento durante 208 días, nos que se diferencian 3 períodos de operación con características hidráulicas e de carga que se detallan na Táboa 9. Para a simulación de operación continua de alimentación, tal como se fai nos humidais FH, o sistema dotouse de temporización automática con numerosos pulsos de alimentación (16 pulsos/día) de baixo caudal/pulso (variándoo no avance do estudo para satisfacer as necesidades de carga hidráulica e orgánica de configuración de cada Período) e manténdoo en operación os 7 días da semana.

No sistema FH o tempo de posta en marcha foi de 4 días, a partir dos que se considerou definido o Período I de operación. O caudal alimentado foi un pouco máis baixo na columna FH2 debido á toma de mostras diaria para as analíticas de seguimento semanal, e a posible evaporación.

No período I a columna FH1 operou a unha VCOs media de 7,7 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, lixeiramente superior aos valores indicados nas referencias de deseño para este tipo de humidais, arredor dos 6 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d (García e Corzo, 2008), incrementándose até 10,0 e 10,4 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d nos Períodos II e III respectivamente. A VCOs foi inferior na columna FH2.



**Táboa 9.** Condicións de operación, caudais e velocidades de carga por período.

	PERIODO (días)	I (1 – 76)	II (77 – 153)	III (154 – 208)
	Q Inf.FH1 (mL/d)	450	581	607
	Q de FH1 a FH2 (mL/d)	4.44	571	593
VCHs (mm/d)	Global	14,8	19,1	20,0
	FH1	29,7	38,3	40,0
	FH2	29,3	37,6	39,1
VCOs global (g/m <sup>2</sup> .d)	SST	1,8	2,3	2,4
	DQO	8,0	10,3	10,8
	DBO <sub>5</sub>	3,9	5,0	5,2
	NT	1,2	1,5	1,6
VCOs FH1 (g/m <sup>2</sup> .d)	SST	3,6	4,6	4,8
	DQO	16,0	20,6	21,6
	DBO <sub>5</sub>	7,7	10,0	10,4
	NT	2,3	3,0	3,1
VCOs FH2 (g/m <sup>2</sup> .d)	SST	0,8	0,5	0,5
	DQO	1,5	4,0	0,9
	NT	n.d.	n.d.	2,2

Os Períodos II e III definíronse en función do aumento do caudal diario de alimentación, aplicando así novas velocidades de carga hidráulicas e orgánicas (Táboa 9), pasando desde VCH global de 15 a 20 mm/d, e VCOs global de 3,9 a 5,2 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>.d, adaptándose aos valores de deseño recomendados na bibliografía (García e Corzo, 2008). En termos de nitróxeno, a VCN global pasou de 1,2 a 1,6 gNT/m<sup>2</sup>.d. O aumento de carga máis importante fíxose no paso do Período I ao II, cun 29,1 % de aumento.

### 3.2.2. Características dos efluentes do sistema FH+FH

Na Figuras 8 e 9 amósase a evolución de parámetros de seguimento dos efluentes do sistema e na Táboa 10 recóllense os valores medios e a desviación estándar destes parámetros para cada columna e período de operación.

O valor do pH foi igual nas dúas columnas, amosando un comportamento estable, sempre próximo á neutralidade sen necesidade de engadir ningún tampón (media do estudo para FH1 e FH2 foi 6,8 ± 0,4 e 6,7 ± 0,4, respectivamente). Como se observa na Figura 8 o pH próximo á neutralidade foi ascendendo paulatinamente a partir da metade do Período II (día 118 aproximadamente), no que a media de pH ata entón de 6,6 sube a 7,2 durante o Período III (correlación positiva do pH co tempo neste treito, (R<sup>2</sup>=0,73) para ambas columnas FH1 e FH2).

Os valores de OD descenderon lixeiramente en ambas columnas no Período I para estabilizarse nos Períodos II e III nos 2,1 ± 0,6 mg/L en FH1 e 3,4 ± 1,2 mg/L en FH2. Estes valores, aínda que baixos, non chegan a ser valores propios de sistemas anaerobios, especialmente en FH2, como sería de esperar nestas columnas inundadas.

En canto aos valores rexistrados de POR, son negativos para os tres períodos nas columnas FH1 e FH2, mais na columna FH2 amósanse máis inestables e atópanse próximos a cero en varias ocasións durante a operación do sistema.

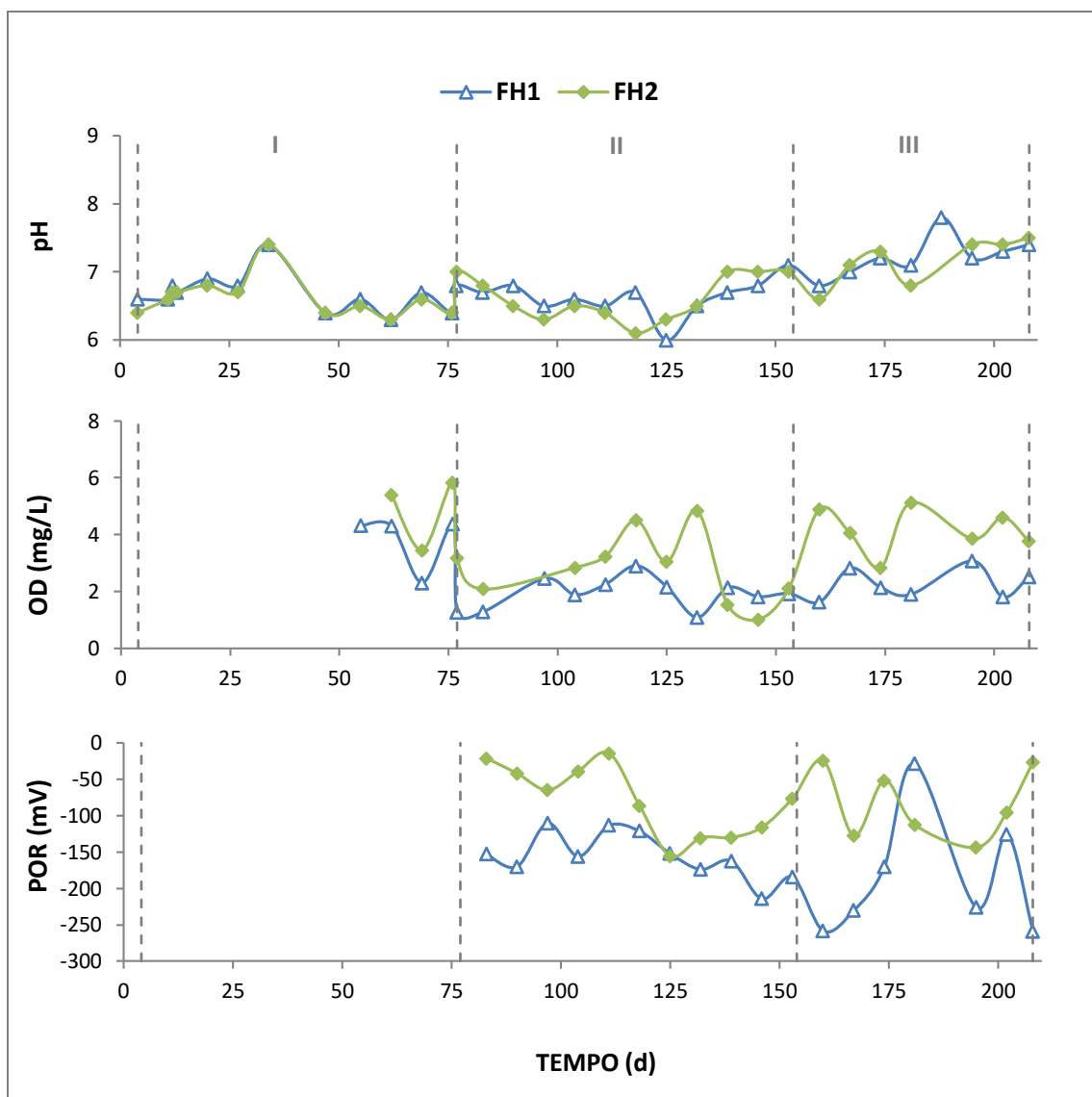


Figura 8. Evolución do pH, OD (mg/L) e POR (mV) nas columnas FH1 e FH2. I – III: Períodos.

A correlación atopada entre os valores de OD e POR é baixa para o estudo global en ambas columnas, mais si se aprecia dependencia de ambos parámetros na columna FH1 durante o Período II, onde se rexistrou un coeficiente de correlación forte do 0,58, indicando que os valores máis negativos de POR se corresponden cos rexistros de OD máis baixos. Non así na columna FH2, que ao longo do estudo rexistrou valores máis inestables tanto de OD e POR e sempre en peores condicións de indicar anaerobiose no sistema. De modo visual esta condición tamén se fai presente nas columnas de laboratorio, pois a unidade FH1 presentou a partir do Período II unha coloración máis escura que a FH2, indicativo de maior colonización microbiana e de condicións anaerobias.

Na Figura 9 obsérvase a evolución dos SST, DQO e DBO<sub>5</sub> no sistema FH. Os SST nos efluentes presentaron en xeral valores moi baixos, aínda que no período I determináronse puntualmente valores próximos a 70 mg/L en FH1 e entorno a 50 mg/L en FH2, nos Períodos II e III os valores son moi estables, situándose as medias en 13,5 ± 6,2 e 7,2 ± 3,7 mg/L en FH1 e FH2 respectivamente.

A DQO mantivo un valor medio no Período I no efluente de FH1 de 57,0 ± 21,2 mg/L, que se incrementa no Período II até valores de 106,5 ± 23,6 mg/L cando se aumentou a carga alimentada, para posteriormente ir reducindo o seu valor ata 22,9 ± 15,2 mg/L no Período III. Os valores da DQO do efluente final foron máis estables e baixos que na primeira unidade, situándose en todo o estudo nunha media de 26,5 ± 17,8 mg/L.

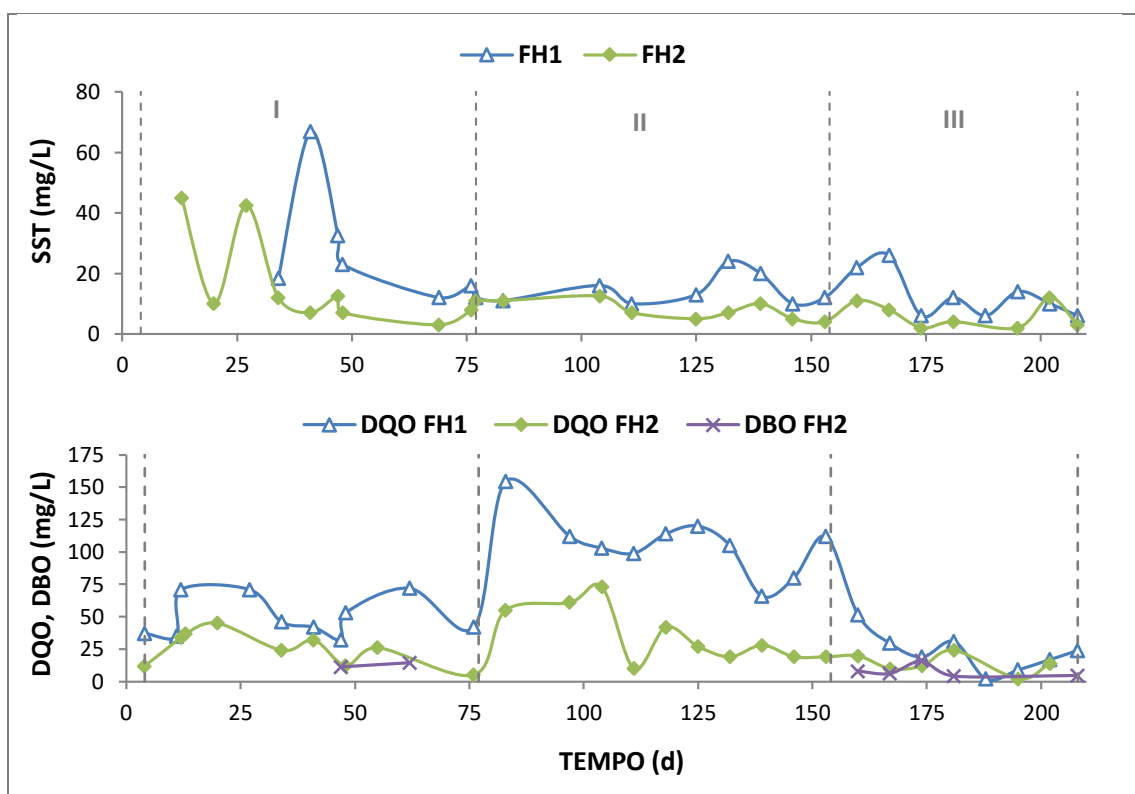


Figura 9. Evolución dos SST, DQO e DBO<sub>5</sub> no sistema FH. I – III: Períodos.

Durante o Período II a DBO<sub>5</sub> presentou valores incoherentes por moi altos, en ocasións superiores á DQO. Para un triplicado con e sen inhibidor da nitrificación, obtívose unha media de 143,7 mg O<sub>2</sub>/L sen inhibidor e de 7,1 mg O<sub>2</sub>/L con inhibidor, para unha mostra de 40,6 mg O<sub>2</sub>/L de DQO, o cal permitiu comprobar que estes resultados de elevada DBO<sub>5</sub> se deberon ao inicio da nitrificación en menos de 5 días, polo que se continuou o estudo no Período III coa adición de inhibidor da nitrificación coa fin de obter o resultado correcto. Por iso non se teñen en conta nas medias nin na evolución gráfica (Fig. 9) os valores de DBO<sub>5</sub> > DQO. Nos Períodos I e III os valores de DBO<sub>5</sub> son de 12,9 ± 2,3 e de 7,7 ± 4,9 mg O<sub>2</sub>/L, respectivamente, observando que esta baixada se corresponde coa tamén baixada de DQO explicada no anterior parágrafo.

**Táboa 10.** Características do efluente das columnas FH1 e FH2 (media  $\pm$  desviación estándar) por período de operación.

PERIODO (días)		I (1 – 76)	II (77 – 153)	III (154 – 208)
pH	FH1	6,7 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,3
	FH2	6,6 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,3
OD	FH1	3,8 $\pm$ 1,0	1,9 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 0,5
	FH2	4,9 $\pm$ 1,3	2,8 $\pm$ 1,2	4,2 $\pm$ 0,8
POR	FH1	n.d.	-155,5 $\pm$ 31,5	-185,5 $\pm$ 84,4
	FH2	n.d.	-79,8 $\pm$ 48,2	-83,3 $\pm$ 48,8
SST	FH1	28,1 $\pm$ 20,3	14,2 $\pm$ 4,9	12,8 $\pm$ 7,6
	FH2	16,3 $\pm$ 15,8	8,1 $\pm$ 3,1	6,0 $\pm$ 4,3
DQO	FH1	50,1 $\pm$ 15,7	106,5 $\pm$ 23,6	22,9 $\pm$ 15,2
	FH2	25,2 $\pm$ 13,3	35,3 $\pm$ 21,3	13,6 $\pm$ 7,7
DBO <sub>5</sub>	FH2	12,9 $\pm$ 2,3	n.d.	7,7 $\pm$ 4,9
NT	FH1	n.d.	n.d.	56,9 $\pm$ 4,3
	FH2	n.d.	n.d.	50,9 $\pm$ 9,1
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	FH1	55,9 $\pm$ 8,4	72,1 $\pm$ 3,5	61,2 $\pm$ 3,4
	FH2	36,2 $\pm$ 4,3	57,3 $\pm$ 10,0	46,4 $\pm$ 4,6
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	FH1	n.d.	n.d.	1,1 $\pm$ 0,5
	FH2	n.d.	n.d.	4,7 $\pm$ 2,7

Unidades en mg/L, excepto POR (mV) e pH.

### 3.2.3. Eficacias de eliminación

Na Táboa 11 recóllense os valores medios de eliminación no sistema global e en cada unha das columnas. A eliminación dos SS, DQO e DBO<sub>5</sub> prodúcese fundamentalmente na columna FH1, aportando a columna FH2 en torno a un 5% adicional. A eliminación global no Período II é do 94% para os SST, do 95% para a DQO e do 91% para a DBO<sub>5</sub>.

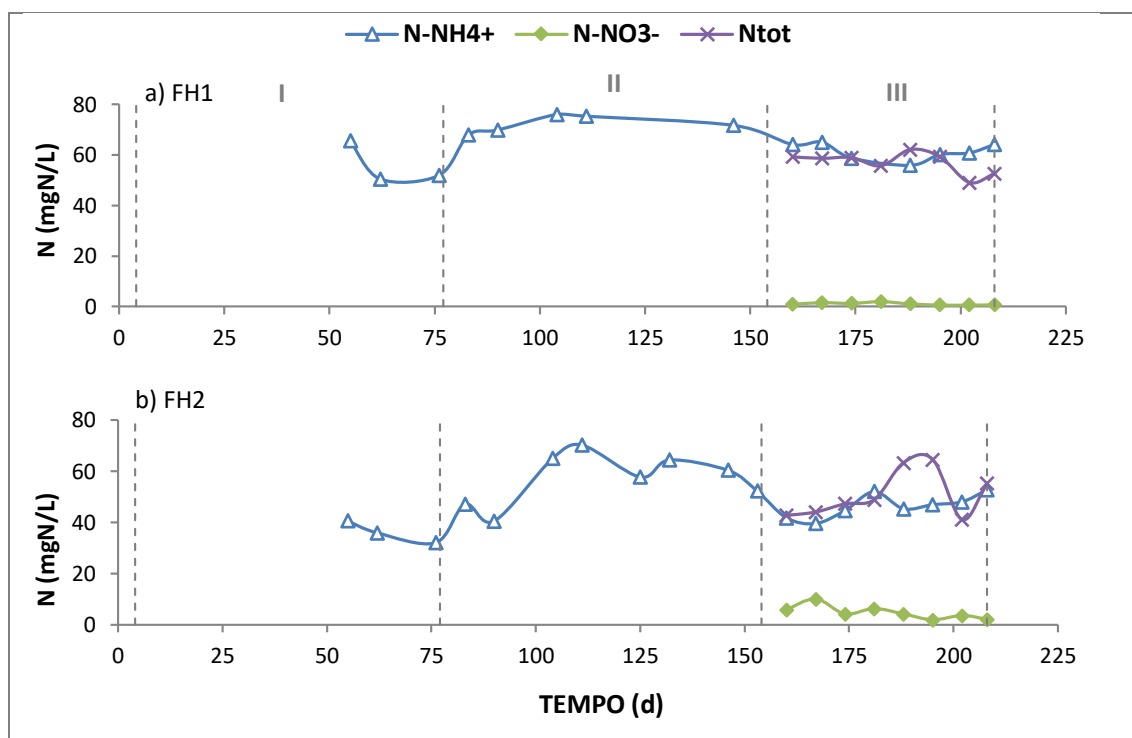
Durante os Períodos I e II fíxose o seguimento do N amoniacal no sistema FH, e no Período III incorporouse tamén a determinación de N total e Nitratos aos seguimentos semanais. Os resultados recóllense na Táboa 11 e na Figura 10.

En ambas columnas o nitróxeno atópase case exclusivamente en forma de amonio (Fig. 10), sendo a media de efluente final de 46,4  $\pm$  4,6 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L e de 50,9  $\pm$  9,1 mg NT/L no Período III. A contribución de eliminación de NT por parte da columna FH1 é do 27,1%, e a columna FH2 contribúe nun 10,5% adicional. Durante este período acádase globalmente unha eliminación de NT do 34,7%. A velocidade de eliminación de NT foi de 0,6 g/m<sup>2</sup>·d no sistema global, correspondendo 0,46 g/m<sup>2</sup>·d a FH1 e só 0,14 g/m<sup>2</sup>·d a FH2. A concentración de nitrato no efluente FH2 é algo maior que no efluente FH1, estando a desnitrificación limitada nesta columna pola falta de materia orgánica (se a relación DQO/NT no influente a FH1 foi de 6,9; no influente a FH2 sería de 0,4 no período III).

**Táboa 11.** Porcentaxes de eliminación globais e para cada columna por período.

	PERIODO	I	II	III
Eliminación global (%)	SST	86,4	93,3	95,0
	DQO	95,3	93,5	97,5
	DBO <sub>5</sub>	n.d.	n.d.	97,0
	NT	n.d.	n.d.	34,7
Eliminación FH1 (%)	SST	76,6	88,2	89,3
	DQO	90,7	80,2	95,8
	NT	n.d.	n.d.	27,1
Eliminación FH2 (%)	SST	42,0	43,0	53,1
	DQO	49,7	66,9	40,6
	NT	n.d.	n.d.	10,5

O sistema mostrou dificultade para eliminar nitróxeno, debido a falta de nitróxeno en forma de nitratos, como se observa no Período III da Fig.10, a pesar que na columna FH2 se incrementa lixeiramente a nitrificación con respecto a FH1 (media de  $4,7 \pm 2,7$  mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en FH2, fronte a  $1,1 \pm 0,5$  mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en FH1), segue a ser moi baixa durante todo o estudo e o nitróxeno orgánico do influente só pasa a forma amoniacal. Tendo en conta o OD e POR rexistrados, con niveis altos respecto ás condicións de anaerobiose esperadas no sistema FH, tampouco son valores suficientes como para permitir a nitrificación do N influente.



**Figura 10.** Concentracións de Nitróxeno no sistema FH (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NT). I – III: Períodos.

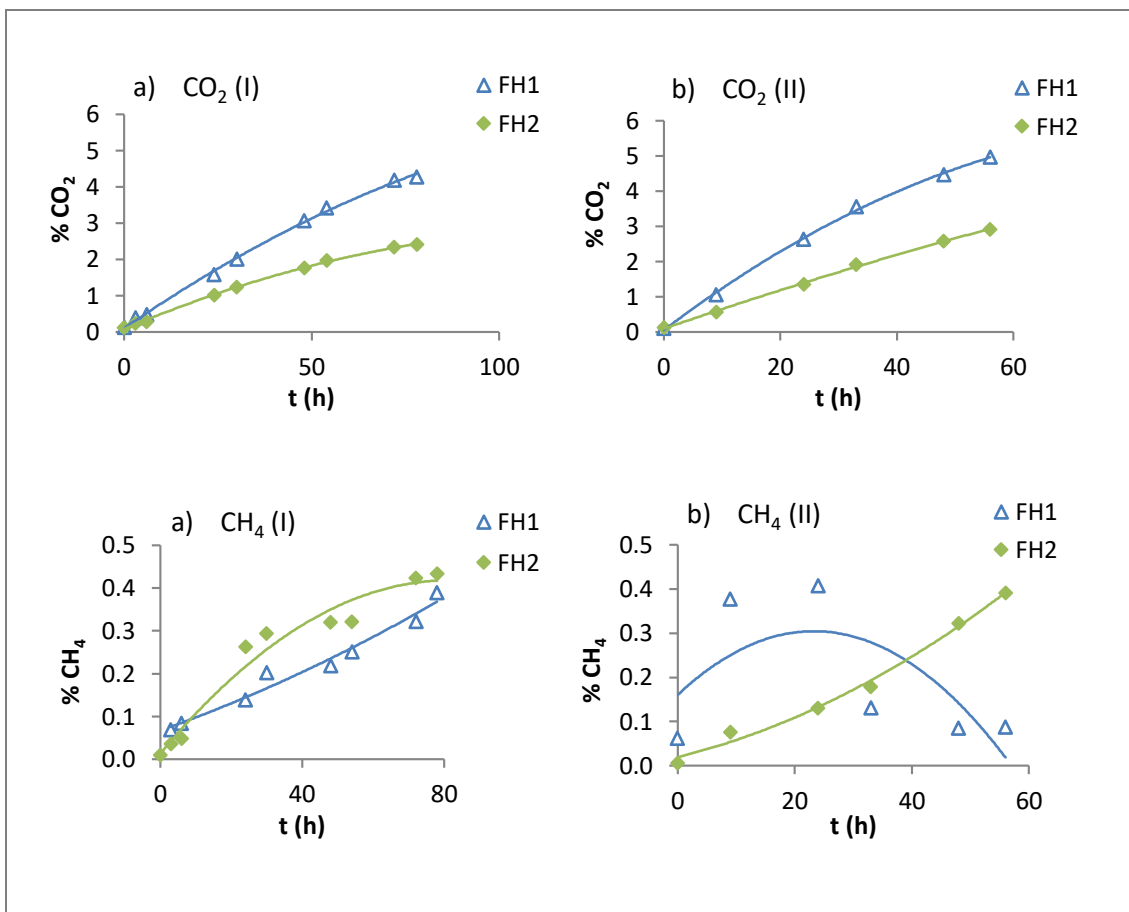
### 3.2.4. Emisións de gases

No sistema FH1 + FH2 fixéronse dúas campañas de seguimento de emisións gasosas (Fig. 11), iniciadas nos días 221 (quenda I) e 284 de operación (quenda II), ambas despois do remate dos períodos de estudo do sistema. As condicións de operación do sistema foron as mesmas aplicadas durante o período III. Neste sistema non se detectou emisión de óxido nítrico en ningunha campaña, pero si de metano e dióxido de carbono en ambas columnas FH1 e FH2.

A concentración máxima de CO<sub>2</sub> en cabeceira das columnas (Fig. 11 a,b) durante a primeira campaña (I) chegou ao 4,3% na columna FH1 e ao 2,3% na FH2 ao cabo das 78 horas, acadando concentracións máis altas na segunda campaña (II), con 5,0% na columna FH1 e 2,9% na FH2 ao cabo de 56 horas. A concentración aumenta linealmente ao comezo para facelo máis lentamente ao cabo dun tempo e estabilizarse ou incluso diminuír debido á redución da velocidade dos procesos de conversión por falta de oxíxeno ou tamén ao intercambio gasoso que se pode producir co medio líquido. Por este motivo é máis adecuado facer os cálculos de emisións ata un tempo arredor das 30 horas, mentres se mantén a relación lineal de emisións no tempo, cálculos que se obteñen a partir da recta de regresión obtida para estes parámetros.

Para o metano (Fig. 11 c,d) as concentracións rexistradas chegaron ao 0,4% en ambas columnas ao cabo das 78 horas da primeira campaña. Na segunda campaña (56 horas de seguimento) houbo un descenso na concentración de CH<sub>4</sub> en FH1, desde o 0,4% ao 0,1%.

A velocidade superficial de emisión de metano e dióxido de carbono mostra un aumento de produción gasosa na segunda campaña respecto á primeira, obténdose o triplo de metano na columna FH1 (sen embargo manténdose constante na columna FH2) e aumento nun factor de 1,5 a velocidade de produción de CO<sub>2</sub>. Os valores atopados na bibliografía en emisións de CO<sub>2</sub> neste tipo de humidais varían entre 3500 e 5800 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d (De la Varga et al., 2015), e en planta piloto de HCs de FH sen plantas (como é o caso das columnas de laboratorio) 2944 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d (Carballeira et al., 2017). As emisións rexistradas no presente estudo (media de 2958 mgCO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d entre dúas campañas de seguimento) inclúense dentro do rango rexistrado pola revisión de Mander et al. (2014) para humidais de FH, entre 0 e 50.000 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d, e especialmente co atopado por Carballeira et al. (2017), e recóllense na Táboa 12.



**Figura 11.** Emisións de CO<sub>2</sub> (a, b) e CH<sub>4</sub> (c, d) nas columnas FH1 e FH2 durante as dúas campañas de estudo (I e II). Non se mostra o seguimento de N<sub>2</sub>O por non detectarse en ningún caso.

Para o metano rexistráronse 143 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d de media para as dúas campañas de seguimento (resultados detallados en Táboa 12), que se atopan por debaixo da revisión de Mander et al. (2014) con 204,8 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d para esta tipoloxía de humidais.

Os factores de emisión (FE) para o CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub>, calculados en % COT, baseándose na relación entre o FE destes gases e o COT influente ( $\%C\text{-CO}_{2,\text{emitido}}/\text{COT}_{\text{inf.}}$ ,  $\%C\text{-CH}_{4,\text{emitido}}/\text{COT}_{\text{inf.}}$ ), foron maiores na segunda campaña de seguimento, cun 4,8 e 38,2 % para CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>, respectivamente, fronte a 3,5 e 23,8 % COT para CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub> na primeira campaña. Estes resultados axústanse aos rexistrados na bibliografía, de 3,8 % C-CH<sub>4</sub>/COT<sub>inf</sub> (Mander et al., 2014), e 44 – 74 % C-CO<sub>2</sub>/COT<sub>inf</sub>. (De la Varga et al., 2015).

Estes resultados e os obtidos para cada columna de forma independente son os que se recollen na Táboa 12.

**Táboa 12.** Velocidade Superficial de Emisión (VSE) e Factores de emisión (FE) de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> para as columnas FH1 e FH2 durante as dúas campañas de estudo (comezadas os días 221 e 284 de operación).

	Día operación	FH1		FH2		FH1 + FH2	
		221	284	221	284	221	284
<b>Emisións de CH<sub>4</sub></b>	VSE, mgCH <sub>4</sub> /m <sup>2</sup> ·d	74	219	169	112	121	165
	FE CH <sub>4</sub> (%COT)	1,1	3,2	2,4 <sup>a</sup> (56,2) <sup>b</sup>	1,6 <sup>a</sup> (37,3) <sup>b</sup>	3,5	4,8
<b>Emisións de CO<sub>2</sub></b>	VSE, mgCO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> ·d	2807	4815	1732	2476	2270	3646
	FE CO <sub>2</sub> (%COT)	14,7	25,3	9,1 <sup>a</sup> (210,0) <sup>b</sup>	13,0 <sup>a</sup> (300,2) <sup>b</sup>	23,8	38,2

<sup>a</sup> FE para FH2 calculados como a diferenza entre os FE do sistema global e os FE de FH1 (esta opción de cálculo garante o carácter aditivo, cumpríndose que  $FE_{(FH1+FH2)} = FE_{FH1} + FE_{FH2}$ ). <sup>b</sup> FE referido á VCO influente a FH2, considerando que a DBO<sub>5</sub> (influyente FH2) é igual a DQO/2 (neste caso, os valores de FE en cada etapa non son aditivos en relación coa súa contribución ao FE do sistema global).

Non se observou produción de óxido nítrico en ningunha das campañas. O límite de detección deste gas era de 8 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d. As posibles emisións de N<sub>2</sub>O estarían entón por debaixo deste valor, que para unha VCS de 1,6 g N/m<sup>2</sup>·d alimentada equivalen a un FE inferior ao 0,3%.

### 3.2.5. Concentración de biomasa e actividades microbianas

Os resultados da caracterización dos medios filtrantes danse na Táboa 13, diferenciando na columna FH1 a metade superior (FH1a) da metade inferior (FH1b). A densidade do medio drenado foi de 1,25 kg/L nas dúas columnas, a porosidade do 44% e a retención de auga de aproximadamente o 5% (sobre peso do medio húmido). As concentracións de SVT foron reducidas, decrecendo lixeiramente no sentido de fluxo.

**Táboa 13.** Caracterización dos medios filtrantes ao final do estudo.

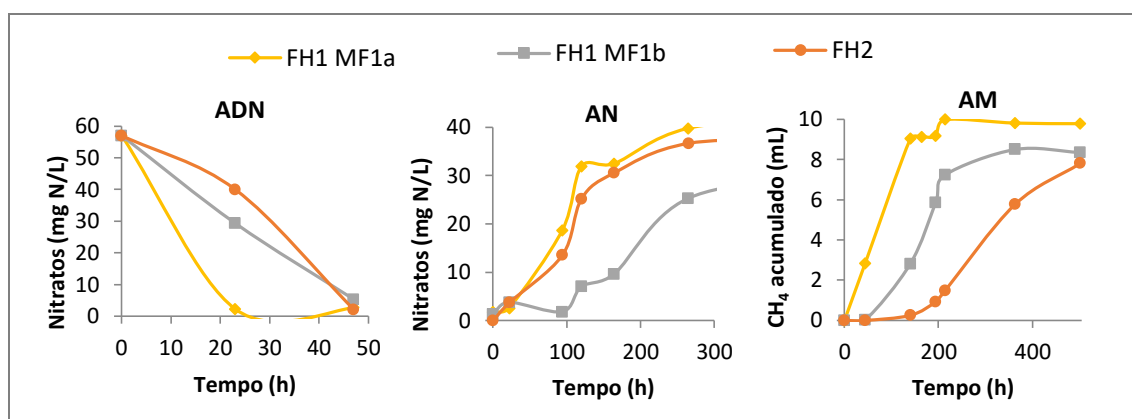
Mostra	Densidade (g/mL)	Porosidade (%)	ST (%)	SVT (mg/g g.s.) <sup>a</sup>	STE (mg/g g.s.)	SVE (mg/g g.s.) <sup>a</sup>
FH1a	-	43,1 ± 0,1	95,2 ± 0,5	3,61 ± 0,06	3,58 ± 0,43	0,30 ± 0,05
FH1b	-	43,8 ± 1,5	95,0 ± 0,6	3,49 ± n.d.	2,43 ± 0,39	0,19 ± 0,02
Media FH1	1,25	43,4 ± 1,0	95,1 ± 0,5	3,57 ± 0,08	3,01 ± 0,75	0,24 ± 0,07
FH2	1,25	44,0 ± 0,1	94,8 ± 0,4	3,31 ± 0,13	1,60 ± 0,02	0,15 ± 0,03

<sup>a</sup> g.s.: grava seca. n.d.: non dispoñible.

Na Figura 12 móstranse as curvas de produción e eliminación de nitrato nos ensaios denitrificantes e nitrificantes e de produción de metano nos ensaios metanoxénicos. Na Táboa 14 indícanse as actividades volumétricas obtidas nos ensaios biolóxicos. En todos os ensaios engadiuse unha cantidade similar de mostra de grava, que foi de 100 g de



medio húmido, o que resultou en  $95,0 \pm 0,2$  g ST por ensaio. Porén, a fase líquida foi de 100 mL nos ensaios de desnitrificación e 150 mL nos de nitrificación, valores que se teñen en conta para a obtención de actividades específicas e superficiais indicados na Táboa 14.



**Figura 12.** Evolución do nitrato e metano nos ensaios de actividade co medio das columnas FH1 e FH2.

ADN: Actividade denitrificante; AN: Actividade nitrificante; AM: Actividade metanoxénica.

A AN é similar nas dúas columnas, xa que as diferenzas na actividade volumétrica e nas concentracións de sólidos son reducidas. Expresada en unidades de superficie, a AN foi de aproximadamente  $3,2$  g N/m<sup>2</sup>·d, tanto en FH1 como en FH2. Porén, a columna FH1 mostra unha AN maior na parte superior e menor na parte inferior, o que pode estar relacionado cunha maior dispoñibilidade de oxíxeno na superficie da columna. A ADN foi maior na parte superior de FH1, e moi próximas na parte inferior de FH1 e no conxunto de FH2, acadando en FH1 os  $19,3$  g N/m<sup>2</sup>·d fronte aos  $13,0$  g N/m<sup>2</sup>·d de FH2. Desta forma, a ADN foi 6 veces superior a AN en FH1 e 4 veces superior en FH2. De acordo con estes valores relativos de AN e ADN, o amonio acumulouse no efluente das dúas columnas mentres o nitrato presentou valores moi baixos (Figura 12). Esta mesma comparativa tamén se dá cando as actividades se expresan por unidade de de ST e SVT (actividades específicas), con valores que en conxunto van de  $1,4$  a  $2,6$  mg N/g SVT·d para AN e de  $7,9$  a  $16,6$  mg N/g SVT·d para ADN.

Dado que as dúas columnas teñen a mesma área, a AN e ADN global é igual a media da das dúas columnas, resultando de  $3,2$  (AN) e  $16,2$  (ADN) g N/m<sup>2</sup>·d. A grande diferenza entre ambas é consistente coa acumulación de nitróxeno amoniacal no efluente final. Con todo, a concentración de nitrato aumenta desde o efluente FH1 ao efluente FH2, o que pode achacarse á carencia de materia orgánica facilmente biodegradable na columna FH2 (relación DQO/NT influente e efluente de  $0,41$  e  $0,27$ , respectivamente, Táboa 10), xa que outras condicións ambientais como o contido en OD e POR segúan a ser propicias para a desnitrificación nesta columna.

**Táboa 14.** Actividade metanoxénica, nitrificante e denitrificante expresadas en diferentes unidades.

<b>AM (unidades)</b>	<b>(mL CH<sub>4</sub>/h)</b>	<b>(g DQO-CH<sub>4</sub>/kg ST·d)</b>	<b>(g DQO-CH<sub>4</sub>/g SVT·d)</b>	<b>(g DQO-CH<sub>4</sub>/g SVE·d)</b>	<b>(mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d)</b>
FH1a	0.0645	0,042	0,012	0,15	2557
FH1b <sup>a</sup>	0.0592	0,039	0,011	0,20	2347 (0) <sup>b</sup>
Media FH1	-	0,041	0,011	0,16	4904 (2557) <sup>b</sup>
FH2 <sup>a</sup>	0.0287	0,019	0,006	0,13	2276 (0) <sup>b</sup>

<b>AN (unidades)</b>	<b>(mg N/L·h)</b>	<b>(mg N/kg ST·h)</b>	<b>(mg N/g SVT·d)</b>	<b>(mg N/g SVE·d)</b>	<b>(g N/m<sup>2</sup>·d)</b>
FH1a	0.245	0,386	2,566	31,37	2,04
FH1b	0.133	0,210	1,444	26,34	1,11
Media FH1	-	0.298	2,005	29,06	3,15
FH2	0.191	0,302	2,191	47,63	3,18

<b>ADN (unidades)</b>	<b>(mg N/L·h)</b>	<b>(mg N/kg ST·h)</b>	<b>(mg N/g SVT·d)</b>	<b>(mg N/g SVE·d)</b>	<b>(g N/m<sup>2</sup>·d)</b>
FH1a	2.38	2,50	16,62	203,20	13,21
FH1b	1.10	1,16	7,96	145,18	6,11
Media FH1	-	1,83	12,29	178,12	19,32
FH2	1.17	1,23	8,95	194,57	12,99

AM: actividade metanoxénica, AN: actividade nitrificante, ADN: actividade desnitrificante.

<sup>a</sup>AM despois de superado o periodo de latencia de 4 d (FH1b) e 8 d (FH2).

<sup>b</sup>Entre paréntese, AM nas condicións de operación do sistema.

Nos ensaios de actividade metanoxénica só apareceu xeración de metano sen fase de latencia cos sólidos FH1a, mentres FH1b e FH2 presentaron fases de latencia de 4 e 8 días, respectivamente. As AM recollidas na Táboa 14 corresponden á actividade máxima tras a fase de latencia, razón pola que cabe considerar que estiman xeracións de metano superiores ás que se darían realmente no sistema. Así, as emisións potenciais derivadas dos ensaios (actividades máxima total no rango de 2557 a 7179 mgCH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, Táboa 14) resultan moi superiores ás medidas nas columnas (165 mgCH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, Táboa 12). Porén, estas emisións potenciais máximas so se poderían alcanzar en situación prolongadas de sobrecarga orgánica e hidráulica tales que crearan unha situación de non limitación por substrato facilmente degradable en todo o volume do sistema.

### 3.3. Valoración global e comparación de ambos sistemas FV+FV e FH+FH

#### 3.3.1. Eliminación de materia orgánica e operación xeral

Ambos sistemas obtiveron unha elevada eficacia de eliminación de sólidos en suspensión e materia orgánica. O sistema FH+FH acadou eliminacións do 93-95% SST, 97% DBO<sub>5</sub> e 94-98% DQO operando a VCO de 4-5 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d. As porcentaxes de eliminación foron elevadas na unidade FH1 (con VCO do dobre das do sistema global), superiores ao 80%, mentres se situaron no rango do 40-67% na columna FH2, que recibía VCO moi inferiores ás de FH1.

O sistema FV+FV acadou eliminacións do 93-96% SST, 98-99% DBO<sub>5</sub> e 95-99% DQO operando a VCO de 8 g SST/m<sup>2</sup>·d, 18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 38 g DQO/m<sup>2</sup>·d. Desta forma, o sistema FV+FV operou a VCO 3-4 veces máis altas que as sistema FH+FH, pero con porcentaxes de eliminación similares ou lixeiramente superiores. As porcentaxes de eliminación foron xa moi elevadas na columna FV1 (83-90% SST e 89-95% DQO) a VCO dobres das do sistema global. Por esta razón, a columna FV2 recibiu unha VCO moi inferior, pero mantivo porcentaxes de eliminación superiores ao 60% en SST e DQO.

O Sistema FV+FV presentou valores de OD superiores a 2,8 (FV1) e 6,6 (FV2) mg O<sub>2</sub>/L, valores que foron máis baixos en FH1 e FH2, con mínimos de 1,9 e 2,8 mgO<sub>2</sub>/L, respectivamente. Tamén os valores de POR foron máis baixos no sistema FH+FH, sempre negativos e inferiores a -160 mV (FH1) e -80 mV (FH2). FV1 mostrou valores moi variables pero superiores a -86 mV, e FV2 presentou un POR sempre positivo, superior a 27 mV.

O principal problema operativo foi a colmatación da columna FV1, debido á elevada VCS de sólidos en suspensión, que se situou no rango de 16-17 g SST/m<sup>2</sup>·d durante os períodos I-III (Táboa 2). Xa durante os períodos IV-V a VCS reduciuse a 11-13 g SST/m<sup>2</sup>·d, sen que fose suficiente para eliminar o fenómeno de colmatación. O proceso de colmatación foi máis rápida cando o sistema se operou sen descanso, de tal forma que a operación a VCO similares pero con períodos alternados de alimentación e descanso (4 días con alimentación e 3 días de descanso nun ciclo semanal) permitiu previr en certa medida a colmatación do leito. Con todo, evitar de forma completa a colmatación na columna FV1 requiriría medidas adicionais, tais como poden ser a operación cunha menor VCO, a redución da concentración de SST influente, ou o emprego dun medio granular de maior tamaño. Estes son aspectos importantes a ter en conta no deseño de sistemas de dobre etapa, pois a primeira unidade vai recibir unha VCO maior que a do sistema global (no presente caso do dobre, dado que a área de cada unidade foi igual ao 50% da área total). O sistema FH+FH non mostrou ningún indicio de colmatación, se ben isto non é significativo dado o curto período de operación e o emprego dun influente sintético altamente biodegradable.

Outro problema a considerar é a caída do pH no sistema FV+FV, con valores tendenciais de 5,6 en FV1 e 4,3 en FV2 cando non se engadía alcalinidade (500 mg NaHCO<sub>3</sub>/L) no influente. No sistema FH+FH o pH foi sempre superior a 6,6 sen necesidade desta alcalinidade adicional. A auga residual sintética contiña unha alcalinidade de 400 mg/L,

similar a das augas residuais urbanas, e suficiente para a estabilidade dos procesos de dixestión anaerobia (Aiyuk e Verstraete, 2004), pero mostrouse insuficiente para tamponar a acidez xerada no proceso de nitrificación nun sistema lineal como é o FV+FV. Por tanto, cabe agardar este mesmo problema no caso do tratamento de efluentes residuais urbanos reais.

No sistema FH+FH rexistráronse emisións de metano de 121-165 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, que corresponderon a FE de 3,5-4,8%, mentres as emisións de CO<sub>2</sub> estiveron no rango de 2270-3640 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d, correspondentes a FE do 24-38%. Pola contra, en FV+FV non se rexistraron emisións de metano, mentres as emisións de CO<sub>2</sub> foron moito máis elevadas, atinxindo os 16400 mg CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>·d e un FE do 62%. En ningúns dos dous sistemas se detectaron emisións de N<sub>2</sub>O, ou ben estaban por debaixo dos límites de deteccións, que se estableceron en FE do 0,13% para FV+FV e 0,3% para FH+FH. Estes resultados están en concordancia cos valores medios publicados na bibliografía (Mander et al., 2014). As maiores emisións de CO<sub>2</sub> no sistema FV+FV explícanse pola maior VCS neste sistema. Os ensaios anaerobios deron actividade metanoxénica nula no sistema FV+FV, pero elevadas actividades metanoxénicas máximas no sistema FH+FH, en particular cando cando se expresan en base aos SVE, o que indica unha presenza abundante de microorganismos metanoxénicos neste último sistema. De acordo cos resultados dos ensaios, a biomasa metanoxénica estaba activa na parte superior da columna FH1, e latente na parte inferior e en toda FH2. Isto estaría de acordo coa idea xeralmente admitida de que o substrato orgánico se elimina na zona inicial ou de cabeceira dos humidais, polo que no resto do sistema teríamos limitación por substrato. Por isto, as actividades máximas latentes foron moi elevadas, podendo soportar emisións de até 4904 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH1 e de até 2276 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH2. Estas emisións potenciais poderían activarse no caso dunha sobrecarga orgánica prolongada.

O sistema FV+FV presentou unha maior retención de auga (media do 6,1%) que o sistema FH-FH (5,0%), segundo o indicado nas Táboas 7 e 13. Por outra banda, a acumulación de biomasa (SVT) tamén foi maior no sistema FV+FV (valores medios de 6,1 e 5,8 mg SVT/g g.s en FV1 e FV2, respectivamente) que en FH+FH (valores medios de 3,6 e 3,3 mg SVT/g g.s en FH1 e FH2, respectivamente). Unicamente unha parte destes SVT era extraíble por fregado e lavado (biopelícula externa), nunha porcentaxe que resultou do 34-37% no medio MF2 e do 17-19% no medio MF1 de do sistema FV. Para FH as porcentaxes de SVT extraíbles serían aínda inferiores, situándose no 5-8%. Así, mentres os SVT por kg de medio eran só 1,7 veces máis elevados en FV con relación a FH, os SVE resultaron 6,5 veces máis elevados. Estes resultados suxiren que o contido en SVE representa mellor que os SVT a capacidade de tratamento destes sistemas, pois atópanse nunha ratio máis próxima a das velocidades de eliminación de materia orgánica en ambos sistemas. Probablemente, os SV non extraíbles xoguen un papel reducido no proceso de depuración, xa que estarían aloxados nos poros internos das partículas de area e grava, e no caso de tratarse de microorganismos viables non terían acceso a unha parte significativa do substrato orgánico e dos nutrientes. Os STE seguiron a mesma tendencia que os SVE, pois o contido nestes en relación aos primeiros varios escasamente no rango do 8-10%.

Nas columnas FV, o contido en SVE foi 2-3 veces maior na capa superior MF2 que no resto do medio MF1 destas columnas. Tamén na columna FH1 se observou esta tendencia, sendo o contido na metade superior 1,6 veces superior que na parte inferior. Foladori et al. (2015) determinou o contido en bacterias viables e totais nun humidal construído de FV, atopando que o contido en células viables era 3,7 veces superior nos primeiros 10 cm de medio que nos últimos 40-50 cm. As bacterias mortas acumulábanse no medio filtrante nunha maior proporción que as vivas, e a masa total atinxía os 0,082 mg SVE/g g.s. Esta cantidade sería equivalente ao 6-7% dos SVE presentes no noso sistema FV+FH, un valor indicativo da posible fracción de biomasa bacteriana nos SVE deste estudo. O sistema de Foladori et al. (2015) era unha única unidade FV sen plantar, non saturada (ciclos cada 6,3 h) e operada cunha VCH de 63 mm/d e unha VCS de 18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>-d (3,3 m<sup>2</sup>/hab.eq.), que son moi similares ás do presente estudo, considerando o sistema FV+FH global.

Tietz et al. (2007) rexistraron que o 95% do COT se atopou nos 10 cm superficiais do MF de un humidal de FV. Ademais en termos de carbono orgánico, a biomasa microbiana sumou o 10% do COT mentres que a biomasa bacteriana representou só o 16 – 19% desta, nun sistema no que o contido de COT foi arredor dos 1,2 mg C/g ST (aproximadamente 3 mg SV/g ST). Os valores medios de SVT (FV e FH) e SVE (FV) rexistrados no presente estudo atópanse no rango dos publicados por Tietz et al. (2007), mentres que o contido de SVE (FH) foron máis baixos.

As diferenzas en todos os parámetros (SVT, STE e SVE) entre os medios MF1 das columnas FV1 e FV2 foron moi reducidas. Aínda que non moi elevadas, estas diferenzas si foron superiores nos medios MF2, correspondentes á zona superior das columnas FV. O medio MF2 presentou un 15%, 23% e 34% mais contido en STE, SVT e SVE na columna FV1 que na columna FV2. No medio MF1 o contido en STE e SVT foi similar, mentres o contido en SVE tamén foi un 15% superior en FV1 respecto a FV2. Observacións directas tamén indicaron que a colmatación en FV1 producíase maiormente na capa máis fina superior (MF2). Todo isto suxire que foi a acumulación de SVE (biopelícula) a que en maior medida foi causa da colmatación do medio.

### **3.3.2. Eliminación de nitróxeno**

A eliminación de nitróxeno estivo limitada en ambos sistemas, resultados que concordan coa bibliografía respecto ao feito de que os HC subsuperficiais convencionais de FV e FH non son capaces por sí mesmos de acadar a eliminación de todo o NT, debido á súa incapacidade de alternar condicións aerobias e anóxicas para os dous procesos principais de eliminación de nitróxeno: nitrificación e desnitrificación, respectivamente (Hu et al., 2014). Os resultados óptimos acadados (63% de NT no sistema de FV+FH e do 35% no de FH+FH) dos valores medios dados por Zhang et al. (2015) para HC FV en rexións tropicais e subtropicais (53,3%) mais non para os HC FH (50,0%).

O sistema FH+FH mantivo condicións de saturación hidráulica obtendo taxas de nitrificación limitadas como se observa na acumulación de amonio no efluente final (Táboa 10). A eliminación de NT estivo arredor do 35% a pesar da baixa VCS global (4 –

5 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d). A taxa de eliminación de NT foi de 0,6 g/m<sup>2</sup>·d, sendo responsable en maior medida a primeira unidade FH1 (0,46 fronte a 0,14 g/m<sup>2</sup>·d en FH2). Todos estes valores son típicos de humidais clásicos de FHSS (Vymazal, 2007; Tanner et al., 2012). Este sistema tamén mostrou baixo contido en OD e baixo POR, indicando que a configuración das columnas de laboratorio saturadas hidráulicamente con fluxo descendente foi representativa de un humidal clásico de FH subsuperficial.

O sistema FV+FV estivo constituído por dúas unidades non saturadas simulando humidais clásicos de FV. A nitrificación neste sistema mellorouse claramente respecto ao sistema FH+FH, aínda que acumulou nitrato no efluente final (Táboa 3), limitando a eliminación de NT. A eliminación de NT estivo entre 17 – 63 % con comportamento bastante variable en función do pH e a VCS aplicada. A adición de alcalinidade (0,5 g/L de NaHCO<sub>3</sub>) no influente mantivo o pH de ambos efluentes (FV1 e FV2) arredor de 6, que sen ela baixaba até 4,5 (Período II, Táboa 3), prexudicando neste período tanto á nitrificación como á denitrificación. A maior eliminación de NT acadouse despois de facer a corrección do pH, durante o período III (eliminación do 63% con elevada VCS de 19 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e VCN de 5,6 g NT/m<sup>2</sup>·d; Táboas 2 e 4), e volvendo a descender no período IV (eliminación do 47%, con baixada da VCS até 12 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 3,6 g NT/m<sup>2</sup>·d) e mais no período V (eliminación do 17%). A taxa de eliminación de NT variou entre 1,7 e 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d, o cal se atopou no rango indicado por Vymazal (2013) para unidades de FV individuais. A baixa eliminación de NT acadada con baixas VCS estivo relacionada co aumento do OD e POR en ambas columnas, o cal dificultou a denitrificación, que se fai visible co aumento de nitrato no efluente (Táboa 3). Estes resultados suxiren que o sistema FV+FV pode acadar unha eliminación eficiente de NT pero só en condicións de elevada VCS que creen suficientes zonas anóxicas no leito, e con suficiente capacidade tampón que evite a caída do pH.

A maior parte dos sistemas de FV en dúas etapas atopados na literatura (Vymazal, 2013) combinan condicións de non saturación con saturación hidráulica, creando zonas anóxicas/anaerobias similares as atopadas nos humidais de FH, mostrando eficiencias de eliminación de NT moderadas. De todas formas Langergraber et al. (2011) combinaron dous HCs de FV con saturación na capa de drenaxe na primeira etapa de FV, e nos dous primeiros anos de funcionamento o sistema acadou unha eficiencia de eliminación de NT do 53% (con VCS de 40 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 5,2 g NT/m<sup>2</sup>·d). Este alto rendemento foi similar ao atopado no noso sistema FV+FV, con similares VCSs (Período III, Táboa 2). No estudo de Langergraber et al. (2011) a VCS mantívose alta e estable (intervalo de confianza 95% para 1,0 g DQO/m<sup>2</sup>·d) e polo tanto non dispón de datos relativos ao efecto de baixas VCSs sobre a eliminación de NT.

Ademais o principal achado de Langergraber et al. (2011) para o sistema de FV en dúas etapas foi que a eficiencia de eliminación de NT mellorou no tempo, desde 2,7 gNT/m<sup>2</sup>·d (eliminación do 53% NT) durante os dous primeiros anos de operación, até 3,8 gNT/m<sup>2</sup>·d (eliminación arredor do 60% NT) durante os tres anos seguintes de operación. Estes autores sinalaron que tanto a vexetación como o desenvolvemento do biofilm tiveron un papel fundamental na mellora da taxa de eliminación de NT. No noso estudo feito a curto prazo non é posible comprobar este efecto, mais sería de esperar unha mellora no

tempo na eliminación de NT en ambos sistemas estudados (FV+FV e FH+FH) se dispuxeran de plantas.

As columnas de laboratorio do presente estudo non foron plantadas debido ao curto tempo de operación e á posibilidade de excluír a variabilidade debido ao desenvolvemento da vexetación. Hai diferentes estudos previos en HCs sen plantar, tanto en pequenas unidades de laboratorio simulando HCs (Wu et al., 2011; Li et al., 2014; Torrijos et al., 2016) como en plantas piloto exteriores (Tietz et al., 2007; Foladori et al., 2015). Tietz et al. (2007) non atoparon diferenzas significativas na densidade de biomasa bacteriana entre HCs de FV plantados e sen plantar, polo tanto no noso estudo consideramos que este factor non prexudica o interese dos resultados e conclusións da investigación. Porén, tanto a presenza de plantas como o maior tempo de operación pode mellorar a eliminación de NT, no caso dos HCs de FH debido á transferencia de oxíxeno adicional a través das raíces das plantas e efectos de maduración (Białowiec et al., 2012; Button et al., 2015; Carballeira et al., 2016a), e tamén no caso dos de FV, aínda que probablemente en menor extensión que en unidades de FH debido á maior VCS (Langergraber et al., 2011).

A actividade nitrificante obtida nos ensaios en descontinuo foi moi similar en ambos sistemas e en todas as columnas cando se expresa por unidade de medio ou por  $m^2$  (Táboas 8 e 14), alcanzando 0,21 (FV) e 0,30 (FH) mg N/kg ST·h ou 2,6 (FV) e 3,2 (FH) g N/ $m^2$ ·d). Debido á menor densidade de SVT e SVE nas columnas FH en relación ás columnas FV, expresadas nestas unidades, as actividades nitrificantes resultan moi superiores en FH (2-2,2 mg N/g SVT·d e 29-48 mg N/g SVE·d) en relación a FV (0,9 mg N/g SVT·d e 3,9-4,7 mg N/g SVE·d). Se o contido en SVT e SVE era moi inferior no medio das columnas FH, estes resultados indican que estes contiñan unha maior proporción de bacterias nitrificantes que no caso do medio das columnas FV. Isto pódese explicar polo feito de que as columnas FV reciben unha velocidade de carga orgánica moi elevada en comparación coas columnas FH, o que leva a un maior crecemento e acumulación de biomasa heterotrófica que dominaría a biopelícula formada. Porén, tamén significaría que a biomasa autotrófica nitrificante encontra boas condicións para a súa retención e supervivencia nas columnas FH, en condicións de carencia de oxíxeno típicas destas columnas. Neste estudo determináronse as actividades nitrificantes na parte superior e inferior da columna FH1, encontrando valores claramente máis elevados na metade superior en relación a metade inferior (Táboa 14). Así, na metade inferior a actividade desnitrificante atinxi o 55% da da parte superior, pero isto despois de superarse unha fase de latencia de aproximadamente 4 días. Isto indica que os microorganismos nitrificantes colonizan todo o substrato aínda que permanezan inactivos por falta de condicións axeitadas como sería a presenza de oxíxeno e o POR na metade inferior da da columna FH1.

Con todo, chama a atención que o potencial nitrificante total (actividade por unidade de superficie) sexa igual ou superior nas columnas FH en relación coas columnas FV. Cunha VCS de aproximadamente 4 g NT/ $m^2$ ·d durante os períodos IV e V e practicamente todo o nitróxeno efluente nitrificado (Táboas 2 e 3), as columnas FV estarían a facer uso de todo o potencial nitrificante da biomasa dispoñible, que de acordo cos ensaios en

descontinuo sería duns 2,6 g N/m<sup>2</sup>·d (Táboa 8). Pola contra, as columnas FH presentaban un maior potencial nitrificante de aproximadamente 3,2 g N/m<sup>2</sup>·d (Táboa 14), pero acadaban unha nitrificación moi inferior, pois so recibían unha VCS de 1,6 g NT/m<sup>2</sup>·d (Táboa 9) e máis da metade do nitróxeno permanecía no efluente na forma de amoníaco (Táboa 10). Así, mentres o potencial nitrificante acadaba os 3,2 g N/m<sup>2</sup>·d no sistema FH+FH, a velocidade de nitrificación non superaba os 0,6 g N/m<sup>2</sup>·d, por outra banda un valor típico deste tipo de sistemas. Estes datos soportan os resultados de diferentes estudos que indican un forte incremento da eliminación de nitróxeno en humidais FH cando se favorece a transferencia de oxíxeno por medio de medidas tais como a variación periódica do nivel de auga, a circulación ascendente e descendente provocada por deflectores, ou a alternancia de períodos de saturación hidráulica e drenado do medio.

A actividade desnitrificante foi sempre moi superior nos medios das columnas FH que nos das columnas FV, nun factor de 10 cando se expresa por unidade de medio ou de superficie de humidal (Taboas 8 e 14), e nun factor incluso maior cando se expresa por unidade de SVT ou SVE. Por unidade de superficie, as actividades desnitrificantes potenciais resultaron de 3,7 (FV1), 1,3 (FV2), 19,3 (FH1) e 13,0 (FH2) g N/m<sup>2</sup>·d. A columna que fixo un mellor aproveitamento desta actividade desnitrificante potencial foi a columna FV1, que eliminou practicamente todo o nitrato que se puido formar na mesma e alcanzou velocidades de desnitrificación (supoñendo que este é o mecanismo principal de eliminación de nitróxeno) significativas, se ben limitadas pola dispoñibilidade de substrato. Pola contra, non houbo limitación de nitrato en FV2, pero tanto as condicións de presenza de oxíxeno como de carencia de materia orgánica non permitían aproveitar a actividade nitrificante potencial da columna. En FH1 a limitación por nitrato e en FH2 por nitrato e por materia orgánica facilmente biodegradable explican o aproveitamento de menos do 5% da capacidade desnitrificante destas columnas. A recirculación do efluente nitrificado no sistema FV+FV, ou a substitución dunha etapa FH por outra FV xunto coa recirculación, preséntanse como alternativas que permitirían tirar un mellor aproveitamento das capacidades nitrificante e denitrificante que presentou calquera das unidades FV ou FH.

Os datos bibliográficos sobre actividades nitrificantes e desnitrificantes son escasos (Táboa 15). Xu et al. (2013) publicaron actividades potenciais de nitrificación (NP) e denitrificación (DNP) nos rangos 0,02 – 0,12 e 9 – 12 mg N/kg ST·h, respectivamente (en HCs de FV con MF de area de 0 – 5 mm). Coa adición de miñocas no leito de FV a NP aumentou entre o 105 e o 268 %, pero con menor efecto sobre a taxa de DNP. Dong e Reddy (2012) rexistraron taxas de NP de 0,08 a 9,6 mg N/kg ST·h en FHS para o tratamento de AR gandeira. Ademais, o número de bacterias totais estivo relacionado significativamente coa NP e DNP (Xu et al., 2013), mentres que Zhang et al. (2015) obtiveron relación significativa entre a abundancia de xenes de bacterias e archaeas amonio-oxidantes e a taxa de NP.

Lv et al. (2013) obtiveron taxas de nitrificación e denitrificación en HCs de FHSS no tratamento de efluentes artificiais industriais con nitrobenceno. En ausencia do tóxico, atopouse maior intensidade de nitrificación e denitrificación en unidades con plantas



(0,25 e 5,5 mg N/ST·h, respectivamente) que sen plantas (0,19 e 3,0 mg N/ST·h, respectivamente). A maior intensidade de nitrificación en unidades de FH con plantas pode estar relacionado coas maiores taxas de osixenación debido ás raíces das plantas, mentres que a maior taxa de DNP pode ser debida á maior diversidade microbiolóxica arredor das raíces onde estas liberan carbono e osixeno. En humidais de FV mareais a intensidade de nitrificación (0,5 mg N/kg ST·h) foi máis elevada que nos de FH, indicando maior capacidade de oxidación do amonio promovendo a súa eliminación, porén a intensidade de denitrificación foi máis baixa (2,0 mg N/kg ST·h). Mentres que nos efluentes dos humidais de FH a concentración de nitratos foi moi baixa, nos humidais FV de marea esta concentración foi significativa. Cando o tóxico estivo presente, ambas intensidades (nitrificación e denitrificación) diminuíron tanto nos humidais de FHSS como de FV intermitente.

Wang et al. (2014) publicaron rangos de NP de 0,5 a 10 mg N/kg ST·h, diminuindo en sentido descendente de un HC de FV. A aplicación de alimentación en distintos puntos (superficie e media altura da columna de FV) aumentou a NP da zona inferior. A DNP estivo entre 1 e 5 mg N/kg ST·h, amosando aumento continuo en sentido descendente, e con aplicación da alimentación en distintos puntos aumentouse a DNP até 9 mg N/kg ST·h nos lugares de aplicación da alimentación. As variacións espaciais da NP e DNP estiveron relacionadas coa variación espacial de bacterias nitrificantes e denitrificantes.

Táboa 15. Actividades nitrificantes e desnitrificantes en diferentes estudos

Tipoloxía HSS <sup>a</sup>	Actividade nitrificante	Actividade desnitrificante	
	(AN)	(ADN)	
FV1	0,213	0,303	This work
FV2	0,213	0,104	This work
FH1	0,298	1,83	This work
FH2	0,302	1,23	This work
FV	0,02-0,12	9-12	Xu et al., 2013
FH sen plantas	0,19	3,0	Lv et al., 2013
FH con plantas	0,25	5,5	Lv et al., 2013
FV mareal	0,50	2,0	Lv et al., 2013
FV (0:1) <sup>b</sup>	0,5-10	1-5	Wang et al., 2014
FV (1:2) <sup>b</sup>	0,5-10	1-9	Wang et al., 2014
FHS	0,08-9,6	n.a	Dong et al., 2012

Unidades: (mg N/kg ST·h).<sup>a</sup> Humidais subsuperficiais, excepto cita Dong et al. (FH superficial). <sup>b</sup> Relación de derivación (bypass).

Henze et al. (2008) publicaron unha referencia de actividade nitrificante (AN) máxima de 4,5 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g SV·d para lamas activas nitrificantes. Valores similares (3,9 g N/g SV·d) foron obtidos por Blackburne et al. (2007) para cultivos enriquecidos de bacterias amonio-oxidantes, aínda que usualmente se atopan valores máis baixos tanto para cultivos enriquecidos (0,21 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g SV·d, Campos et al., 2002) como cultivos puros (0,13 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g SV·d, Grunditz e Dalhammar, 2001). A actividade nitrito-oxidante normalmente é maior que a amonio-oxidante nun factor de 3-6 (Grunditz e Dalhammar, 2001; Blackburne et al., 2007). Polo tanto para considerar a oxidación do amonio como etapa limitante da nitrificación só é necesario considerar a súa cinética de transformación (Henze et al., 2008). Os valores máximos de AN nos humidais de este estudo atópanse no rango de 0,004 e 0,05 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g SV·d (Táboas 8 e 14, referidos a SV extraíbles). Estes valores atópanse entre o 0,1 e o 1 % da referencia de AN máxima rexistrada por Henze et al. (2008) para lamas activadas, indicando polo tanto unha presenza moi baixa de bacterias nitrificantes no biofilm.

Para a actividade denitrificante (ADN), Henze et al. (2008) publicaron un máximo de 0,72 g N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SV·d en lamas activadas e en presenza de materia orgánica rapidamente biodegradable, mentres que outros valores da literatura atópanse entre o 0,02 e o 1,5 g N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SV·d (Sánchez et al., 2000). Os valores rexistrados no presente estudo foron de unha ADN máxima no rango de 0,002 e 0,006 g N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/g SV·d no sistema de FV+FV (Táboa 8), atopándose por baixo do 1% da referencia. Porén, a máxima ADN no sistema FH+FH estivo entre 1,15 – 0,20 gN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/gSV·d (Táboa 14), o cal é relativamente alto e preto dos valores de referencia de Henze et al. (2008).

Estes resultados indican que as unidades FH desenvolven unha elevada capacidade denitrificante que nas condicións ordinarias de aplicación dos humidais FH como único sistema de tratamento secundario non se aproveitan, debido ás limitación por falta de substrato (influyente non nitrificado) ou de materia orgánica facilmente degradable. Porén, isto suxire que unidades FH de pequeno tamaño poden xogar un papel moi importante en sistemas híbridos, sempre e cando o deseño dos mesmos e as condicións de operación sexan as axeitadas. Aliás, velocidades elevadas de nitrificación só se poden atinxir en unidades FV, mais resulta necesario prestar atención non só ás condicións de operación senón tamén ás características do substrato ou medio filtrante que permita a retención dunha maior densidade de microorganismos nitrificantes.

#### **4. CONCLUSIÓNS**

Ambos sistemas obtiveron unha elevada eficacia de eliminación de sólidos en suspensión e materia orgánica. O sistema FH+FH acadou eliminacións do 93-95% SST, 97% DBO<sub>5</sub> e 94-98% DQO operando a VCO de 4-5 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d. O sistema FV+FV acadou eliminacións do 93-96% SST, 98-99% DBO<sub>5</sub> e 95-99% DQO operando a VCO de 8 g SST/m<sup>2</sup>·d, 18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 38 g DQO/m<sup>2</sup>·d. Estas eficacias e VCS así como os niveis de OD e POR son característicos dos humidais FH e FV, respectivamente, polo que ambos

sistemas de laboratorio simulan axeitadamente esta tipoloxía de humidais construídos e poden ser utilizadas para o estudo de configuracións híbridas.

As elevadas VCS en SST na unidade FV1 ocasionou problemas de colmatación do leito e redución da velocidade de infiltración, ao tempo que a nitrificación avanzada xunto cunha desnitrificación parcial requiriu a adición de alcalinidade extra para evitar unha caída excesiva do pH. Estes problemas non se observaron no sistema FH pola menor VCS aplicadas. As emisións de metano foron nulas no sistema FV e atinxiron valores de de 121-165 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d no sistema FH, mentres que en ningúns dos dous sistemas se detectaron emisións de N<sub>2</sub>O, ou ben estaban por debaixo dos límites de deteccións. Os resultados dos ensaios de actividade metanoxénica concordaron con estas emisións de metano relativas, e indicaron actividades máximas latentes elevadas que poderían soportar emisións de até 4904 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH1 e de até 2276 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH2 no caso dunha sobrecarga orgánica prolongada.

A acumulación de biomasa (SVT) foi maior no sistema FV+FV, con valores medios de 6.1 e 5.8 mg SVT/g g.s. en FV1 e FV2, respectivamente, que en FH+FH, con valores medios de 3.6 e 3.3 mg SVT/g g.s. en FH1 e FH2, respectivamente. Unicamente unha parte dos SVT eran extraíbles (biopelícula externa, SVE), nunha porcentaxe que resultou do 17-37% en FV e do 5-8% en FH. Os SVE resultaron 6,5 veces máis elevados en FV que en FH, factor que representa aproximadamente a capacidade de tratamento relativas de ambos sistemas.

O sistema de FV+FV obtivo mellores resultados de eliminación de NT, acadando case a nitrificación completa e unha eliminación moderada de NT (1,7 – 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d e ata 63% con alta VCS, descendendo ao 27% con baixa VCS), e superior ao do sistema de FH+FH (0,6 g NT/m<sup>2</sup>·d e 35%)

A actividade nitrificante obtida nos ensaios en descontinuo foi moi similar en ambos sistemas e en calquera das columnas, alcanzando 0,21 (FV) e 0,30 (FH) mg N/kg ST·h ou 2,6 (FV) e 3,2 (FH) g N/m<sup>2</sup>·d, comparables aos valores indicados na bibliografía. Porén, as actividades nitrificantes específicas resultan moi superiores en FH (29-48 mg N/g SVE·d) en relación a FV (3,9-4,7 mg N/g SVE·d), o que indica unha maior presenza relativa de bacterias nitrificantes no sistema FH a pesar das condicións anaerobias predominantes. Isto explícase polas maiores VCS no sistema FV en comparación con FH e o crecemento predominante da biomasa heterotrófica en FV.

A actividade desnitrificante foi sempre moi superior nos medios das columnas FH (13-19 g N/m<sup>2</sup>·d.) que nos das columnas FV (1-4 g N/m<sup>2</sup>·d.), a diferenza sería aínda maior cando a ADN se expresa por unidade de SVT ou SVE. O sistema FV fixo un mellor aproveitamento tanto da actividade nitrificante como desnitrificante potencial, xa que presentando valores similares ou inferiores ao do sistema FH, acadou velocidades de nitrificación e eliminación de nitróxeno superiores.

## 5. REFERENCIAS

- Aiyuk, S., Verstraete, W. (2004). Sedimentological evolution in an UASB treating SYNTHES, a new representative synthetic sewage, at low loading rates. *Bioresource Technology* 93, 269–278
- Álvarez, J.A., Ruíz, I., Soto, M. (2008). Anaerobic digesters as a pretreatment for constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 33, 54-67.
- Andreottola, G., Oliveira, E., Foladori, P., Peterlini, R., Ziglio, G. (2007). Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Science & Technology* 56 (3), 255–261.
- Białowiec, A., Davies, L., Albuquerque, A., Randerson, P.F. (2012). The influence of plants on nitrogen removal from landfill leachate in discontinuous batch shallow constructed wetland with recirculating subsurface horizontal flow. *Eco. Eng.* 40, 44-52.
- Blackburne, R., Vadivelu, V.M., Yuan, Z., Keller, J. (2007). Determination of Growth Rate and Yield of Nitrifying Bacteria by Measuring Carbon Dioxide Uptake Rate. *Water Environment Research*, 79 (12), 2437 – 2445.
- BOE 1996. Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desenvolvimento do Real Decreto-lei 11/1995, de 28 de decembro, polo que se establecen as normas aplicables ao tratamento das augas residuais urbanas. [www.boe.es/boe/dias/1996/03/29/pdfs/A12038-12041.pdf](http://www.boe.es/boe/dias/1996/03/29/pdfs/A12038-12041.pdf)
- Brix H., Arias C.A., Johansen N.H. (2002). BOD and nitrogen removal from municipal wastewater in an experimental two-stage vertical flow constructed wetland system with recycling. Mbvette T.S.A. (ed.) *Proceedings of the 8th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*; University of Dar es Saalam and IWA Publishing:Arusha, Tanzania, pp. 400–410.
- Brix, H., Arias, C.A. (2005). The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic wastewater: New Danish guidelines. *Ecological Engineering* 25, 491–500.
- Burka U., Lawrence P.C. (1990) A new community approach to wastewater treatment with higher plants. In: *Constructed Wetlands in Water Pollution Control*, Cooper P.F., Findlater B.C. (eds.) Pergamon Press: Oxford, United Kingdom, pp. 359–371.
- Button, M., Nivala, J., Weber, K.P., Aubron, T., Müller, R.A. (2015). Microbial community metabolic function in subsurface flow constructed wetlands of different designs. *Eco. Eng.* 80, 162-171.
- Campos, J.L., Garrido, J.M., Méndez, R., Lema, J.M. (2002). The effect of kaolin particles on the behavior of nitrifying activated sludge units. *Bioresource Technology* 81 (3) 225–231.
- Carballeira, T. (2014). Depuración de efluentes urbanos en humidais construídos: influencia da especie vexetal, a configuración e a velocidade de carga orgánica. Tese doutoral, Universidade da Coruña.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2016). Effect of plants and surface loading rate on the treatment efficiency of shallow subsurface constructed wetlands. *Ecological Engineering* 90, 203–214.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2016). Aerobic and anaerobic biodegradability of accumulated solids in horizontal subsurface flow constructed wetlands. *International Biodeterioration & Biodegradation*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.048>

- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2017). Methanogenic activity of accumulated solids and gas emissions from planted and unplanted shallow horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 98, 297–306.
- Cooper P.F. (2003). Sizing vertical flow and hybrid constructed wetland systems. En: *The Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in constructed Wetlands*, 1st International Seminar. Dias V. y Vymazal J. (Eds.), Instituto Nacional da Água, Lisbon, Portugal, pp. 195-218.
- Cooper, P. (2005). The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates (Review). *Water Science and Technology* 51 (9) 81-90.
- De la Varga, D., Díaz, M.A., Ruiz, I., Soto, M., (2013). Avoiding clogging in constructed wetlands by using an aerobic digesters as pre-treatment. *Ecol. Eng.* 52, 262 – 269.
- De la Varga, D., Ruiz, I., Álvarez, J.A., Soto, M. (2015). Methane and carbon dioxide emissions from constructed wetlands receiving anaerobically pretreated sewage. *Science of the Total Environment* 538, 824–833.
- Dong, X., Reddy, G.B. (2012). Ammonia-oxidizing bacterial community and nitrification rates in constructed wetlands treating swine wastewater. *Ecological Engineering* 40, 189– 197.
- Ferreiro, N., Soto, M. (2003). Anaerobic hydrolysis of primary sludge: influence of sludge concentration and temperature. *Water Sci. Technol.* 47(12), 239–246.
- Foladori, P., Bruni, L., Tamburini, S. (2015). Bacteria viability and decay in water and soil of vertical subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 82, 49–56.
- García, J., Corzo, A. (2008). *Depuración con humedales construidos. Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial*. Universitat Politècnica de Catalunya. <http://upcommons.upc.edu/e-prints/handle/2117/649>.
- Grunditz, C., Dalhammar, G. (2001). Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Res.* 35 (2), 433 – 440.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, T., Wentzel, M.C., Marais, G. (1995). Wastewater and biomass characterization for the Activated Sludge Model No. 2: Biological phosphorus removal. *Water Science and Technology*, 31 (2), 13-23.
- Henze, M., van Loosdrecht, C.M., Ekama, G.E., Brdjanovic, D. (2008). *Biological Wastewater Treatment*, IWA Publishing, London.
- Hu, Y.S., Zhao, Y.Q., Zhao, X.H., Kumar, J.L.G. (2012). Comprehensive analysis of step-feeding strategy to enhance biological nitrogen removal in alum sludge-based tidal flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 111, 27–35.
- Hu, Y., Zhao, Y., Rymaszewicz, A. (2014). Robust biological nitrogen removal by creating multiple tides in a single bed tidal flow constructed wetland. *Science of The Total Environment* 470 –471 (1), 1197 – 1204.
- Hua, G.F., Zhu, W., Zhao, L.F., Huang, J.Y. (2010). Clogging pattern in vertical-flow constructed wetlands: Insight from a laboratory study. *Journal of Hazardous Materials* 180, 668–674.
- Ji, G., Wang, R., Zhi, W., Liu, X., Kong, Y., Tan, Y. (2012). Distribution patterns of denitrification functional genes and microbial floras in multimedia constructed wetlands. *Ecological Engineering* 44, 179– 188.
- Kadlec, R.H., Knight, R.L. (1996). *Treatment Wetlands*. CRC Press, Boca Ratón.

- Kadlec, R.H., Knight, R.L., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. y Haberl, R. (2000). *Constructed Wetlands for Pollution Control: Processes, Performance, Design and Operation*. IWA Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control. IWA Publishing.
- Kadlec e Wallace. (2009). *Treatment Wetlands (2nd Ed.)*. CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN 978-1-56670-526-4. 1048pp.
- Labella, A., Caniana, D., Hughes-Riley, T., Morris, R., Newton, M., Hawes, P., Puigagut, J., García, J., Uggetti, E. (2015). Assessing the economic suitability of aeration and the influence of bed heating on constructed wetlands treatment efficiency and life-span. *Ecological Engineering* 83, 184–190.
- Langergraber, G., Pressl, A., Leroch, K., Rohrhofer, R., Haberl, R. (2011). Long-term behaviour of a two-stage CW system regarding nitrogen removal. *Water Science and Technology* 64 (5), 1137-1141.
- Lee, C., Fletcher, T.D., Sun, G. (2009). Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Review. Eng. Life Sci.* 9, 11–22.
- Li, F., Lu, L., Zheng, X., Ngo, H.H., Liang, S., Guo, W., Zhang, X. (2014). Enhanced nitrogen removal in constructed wetlands: Effects of dissolved oxygen and step-feeding. *Bioresource Technology* 169, 395–402.
- Llorens, E., Puigagut, J., García, J. (2009). Distribution and biodegradability of sludge accumulated in a full-scale horizontal subsurface-flow constructed wetland. *Desalination and Water Treatment* 4, 54–58.
- Lv, T., Wu, S., Hong, H., Chen, L., Dong, R. (2013). Dynamics of nitrobenzene degradation and interactions with nitrogen transformations in laboratory-scale constructed wetlands. *Bioresource Technology* 133, 529–536.
- Mander, Ü., Lõhmus, K., Teiter, S., Mäuring, T., Nurk, K., Augustin, J. (2008). Gaseous fluxes in the nitrogen and carbon budgets of subsurface flow constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 404, 343–353.
- Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S.F., Jamsranjav, B., Kasak, K., Truu, J., Tournebize, J., Mitsch, W.J. (2014). Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: A review. *Ecological Engineering* 66, 19–35.
- Paredes, D., Kusch, P., Mbwette, T., Stange, F., Müller, R., Köser, H. (2007). *New Aspects of Microbial Nitrogen Transformations in the Context of Wastewater Treatment – A Review. Engineering in Life Sciences* 7 (1), 13–25.
- Saeed, T. and Sun, G. (2012). A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *Journal of Environmental Management* 112, 429 – 448.
- Sánchez, M. Mosquera-Corral, A., Méndez, R., Lema, J.M. (2000). Simple methods for the determination of the denitrifying activity of sludges *Bioresource Technology*, 75 (1), 1-6.
- Seo, D.C., Hwang, S.H., Kim, H.J., Cho, J.S., Lee, H.J., DeLaune, R.D., Jugsujinda, A., Lee, S.T., Seo, J.Y., Heo, J.S. (2008). Evaluation of 2- and 3-stage combinations of vertical and horizontal flow constructed wetlands for treating greenhouse wastewater. *Ecological Engineering* 32, 121–132.

- Song, X., Ding, Y., Wang, Y., Wang, W., Wang, G., Zhou, B. (2015). Comparative study of nitrogen removal and bio-film clogging for three filter media packing strategies in vertical flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 74, 1–7.
- Søvik, A.K., Augustin, J., Heikkinen, K., Huttunen, J.T., Necki, J.M., Karjalainen, S.M., Kløve, B., Liikanen, A., Mander, Ü., Puustinen, M., Teiter, Z., Wachniew, P. (2006). Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *J. Environ. Qual.* 35 (6), 2360 – 2373.
- Stefanakis, A., Akratos, C.S., Tsihrintzis, V.A. (2014). *Vertical Flow Constructed Wetlands. Eco-engineering systems for wastewater and sludge treatment*, Elsevier, Amsterdam.
- Tanner, C. C. e Sukias, J. P., (1995). Accumulation of organic solids in gravel-bed constructed wetlands. *Water Science Technology*, 32 (3), 229–239.
- Tanner, C., Sukias, J.P.S., Headley, T.R., Yates, C.R., Stott, R. (2012). Constructed wetlands and denitrifying bioreactors for on-site and decentralised wastewater treatment: Comparison of five alternative configurations. *Ecological Engineering* 4, 112– 123.
- Tietz, A, Kirschner, A, Langergraber, G, Sleytr, K, Haberl, R. (2007). Characterisation of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Sci Total Environ.* 380: 163-72.
- Torrijos, V., Gonzalo, O.G., Trueba-Santiso, A., Ruiz, I., Soto, M. (2016). Effect of by-pass and effluent recirculation on nitrogen removal in hybrid constructed wetlands for domestic and industrial wastewater treatment. *Water Research* 103, 92 – 100.
- Truu, M., Juhanson, J., Truu, J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 407, 3958 – 3971.
- Vymazal, J. (2005). Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. Review. *Ecological Engineering* 25, 478–490.
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 380, 48–65.
- Vymazal, J. (2013). The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: A review of a recent development. *Water Research* 47, 4795 – 4811.
- Vymazal, L., Kröpfelová, L. (2015). Multistage hybrid constructed wetland for enhanced removal of nitrogen. *Ecological Engineering* 84, 202–208.
- Wallace, S. D. e Knight, R. L. (2006). *Small-Scale Constructed Wetland Treatment Systems. Feasibility, Design Criteria and O&M Requirements*. Water Environment Research Foundation (WERF) e IWA Publishing. Alexandria, VA (USA).
- Wang, Z., Liu, C., Liao, J., Liu, L., Liu, Y., Huang, X. (2014). Nitrogen removal and N<sub>2</sub>O emission in subsurface vertical flow constructed wetland treating swine wastewater: Effect of shunt ratio. *Ecological Engineering* 73, 446–453.
- Winter, K.J., Goetz, D. (2003). The impact of sewage composition on the soil clogging phenomena of vertical flow constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 48 (5), 9–14.
- Wu, S., Zhang, D., Austin, D., Dong, R., Pang, C. (2011). Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecological Engineering* 37, 1789– 1795.

- Wu, S., Kuschik, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R. (2014). Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: a nitrogen and organic matter targeted review. *Water Res.* 57C, 40–55.
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H.H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S., Fan, J., Liu, H. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation. *Bioresource Technology* 175, 594–601.
- Xu, D., Li, Y., Howard, A., Guan, Y. (2013). Effect of earthworm *Eisenia fetida* and wetland plants on nitrification and denitrification potentials in vertical flow constructed wetland. *Chemosphere* 92, 201–206.
- Zhang, D-Q., Jinadasa, K., Gersberg, R., Liu, Y., Tan, S., Ng, W. (2015). Application of constructed wetlands for wastewater treatment in tropical and subtropical regions (2000–2013). *Journal of Environmental Sciences* 30, 30 – 46.



**CAPÍTULO 4.**  
**RESPIROMETRÍAS COMO FERRAMENTA PARA DISEÑO E**  
**MONITORIZACIÓN DE HUMIDAIS CONSTRUÍDOS**

# RESPIROMETRÍAS COMO FERRAMENTA PARA DESEÑO E MONITORIZACIÓN DE HUMIDAIAS CONSTRUIDOS

## RESUMO

### 1. INTRODUCCIÓN

### 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1. Equipo experimental dos ensaios respirométricos

##### 2.1.1. Columnas de laboratorio simulando HC FV e FH

##### 2.1.2. Matraz de ensaios respirométricos

##### 2.1.3. Caracterización respirométrica dun sistema FV de dobre etapa

#### 2.2. Substratos

#### 2.3. Condicións experimentais

##### 2.3.1 Respirometría en columnas

##### 2.3.2 Respirometría en matraz

#### 2.4. Procedementos de cálculo

##### 2.4.1 Obtención da curva $VCO_2$ e tratamento de datos

##### 2.4.2. Calculo da liña base ou $VCO_2$ end

##### 2.4.3. Oxíxeno consumido ( $\Delta O_2$ ), substrato consumido e rendemento en biomasa ( $Y_H, Y_A$ )

##### 2.4.4 Velocidade de consumo de oxíxeno máxima volumétrica ( $VCO_{2m}$ ) e superficial ( $VCO_{2Sm}$ )

##### 2.4.5 Velocidade máxima de eliminación de substrato

##### 2.4.6 Constantes de afinidade heterotrófica ( $K_S$ ) e autotrófica ( $K_{S,NH}$ )

##### 2.4.7 Velocidade específica máxima de crecemento ( $\mu_m$ )

##### 2.4.8 Concentración de biomasa activa X

##### 2.4.9 Coeficientes de decaemento da biomasa heterotrófica $b_H$

#### 2.5 Cálculos

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Experimentos con auga residual real

#### 3.2 Experimentos con ácido acético na columna FV

#### 3.3 Experimentos con amonio na columna FV

#### 3.4 Respirometría en matraz

#### 3.5 Aplicación da respirometría a un sistema de dobre etapa FV1+FV2

### 4. DISCUSIÓN

### 5. CONCLUSIÓNS

### 6. REFERENCIAS

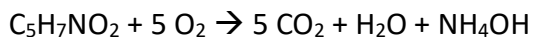
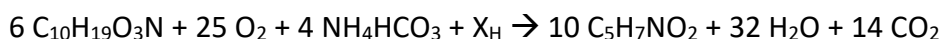
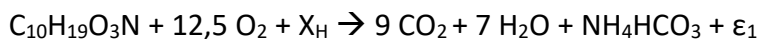


## RESUMO

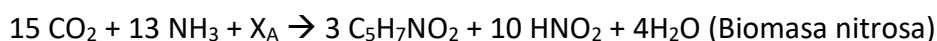
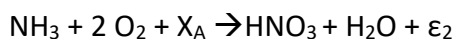
Usáronse dous métodos respirométricos diferentes para obter a taxa máxima de respiración para procesos heterótrofos e autótrofos en columnas de laboratorio que simulan unidades de fluxo horizontal (FH) e vertical (FV) subsuperficial. Os resultados indican que o uso de substratos individuais (acetato ou amonio) é mellor que o uso de augas residuais reais ou sintéticas. Ademais, obtéñense outros parámetros cinéticos de ambos procesos se as condicións operacionais son adecuadas. O método respirométrico é útil para describir as diferentes características operativas dos sistemas FH e FH e da primeira e segunda unidades dun sistema de dobre etapa FV. Observouse que a maiores concentracións de substrato facilmente degradable (Ss), a velocidade de consumo de oxíxeno (VCO<sub>2</sub>) diminuíu. A velocidade de crecemento específico (μ) aumentou coa Ss até valores arredor de 500 mg/L, a partir dos cales diminuíu. Os parámetros do modelo de Monod poden obterse par aos procesos de nitrificación pero non para os de degradación heterotrófica do acetato. Aplicada ao sistema VF1+VF2, a respirometría mostrou que a unidade FV1, que recibe maior carga orgánica e nitroxenada, presentou velocidades máximas dos procesos heterotróficos e autotróficos superiores aos da unidade FV2.

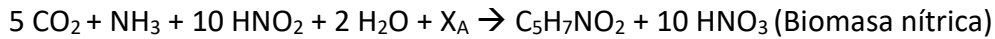
### 1. INTRODUCCIÓN

As respirometrías son unha técnica baseada na medida do consumo de oxíxeno por microorganismos que se alimentan de un substrato orgánico. Así, a actividade biodegradadora dos microorganismos que se alimentan de un substrato orgánico (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N) resúmese en reaccións de produción de enerxía (ε), biosíntese de novos microorganismos e degradación dos propios microorganismos. Estas reaccións para os microorganismos heterótrofos (X<sub>H</sub>, que para unha comunidade complexa de microorganismos, represéntase a súa composición pola fórmula C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>), de acordo con Gil-Rodríguez (2006) son:



O amonio oxídase pola acción dos microorganismos autótrofos (X<sub>A</sub>, tamén de composición C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>), seguindo a ruta en dúas etapas: en primeiro lugar a etapa de oxidación nitrosa (etapa mais lenta e limitante do proceso de nitrificación) e en segundo lugar a oxidación de nitritos a nitratos (etapa mais rápida do proceso global) (Gil-Rodríguez, 2006):





Se non hai crecemento, a estequiometría das ecuacións anteriores permítenos obter unha relación directa entre a cantidade de substrato oxidado e o oxíxeno consumido, mentres que a diferenza entre o oxíxeno consumido por unidade de substrato transformado e o valor estequiométrico permítenos estimar o crecemento. Así, a respirometría é a medida da velocidade de consumo de oxíxeno nun sistema biolóxico baixo condicións experimentais ben definidas (Spanjers et al., 1999; Andreottola et al., 2007). A velocidade de consumo de oxíxeno obtense a partir de balances de oxíxeno aplicados ao sistema. Os métodos respirométricos téñense empregado amplamente para estudos cinéticos e estequiométricos con lodos activos (Spanjers et al., 1999; Vanrolleghem et al., 1999) e outros sistemas biolóxicos como a compostaxe (Lasaridi e Stentiford, 1998), pero só recentemente foron propostos para a súa aplicación a humidais construídos de fluxo vertical, propoñendo modelos cinéticos que encaixen con columnas de FV de laboratorio (Andreottola et al., 2007).

As taxas de respiración microbiana do sistema represéntanse pola Velocidade de Consumo de Oxíxeno ( $\text{VCO}_2$ , ou do inglés OUR, Oxygen Uptake Rate), que habitualmente se expresa en unidades de  $\text{mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ , tratándose dunha velocidade volumétrica. A velocidade de consumo de oxíxeno por unidade de área dun HC ten un significado físico importante, xa que está relacionada coa velocidade de carga superficial (VCS, ou do inglés SLR, Surface Loading Rate) ou coa velocidade superficial de eliminación de substrato (VSE, ou do inglés VSE, Surface Removal Rate). As velocidades volumétricas relaciónanse coas velocidades superficiais a través dos parámetros de caracterización física do HC, e as velocidades de eliminación coas velocidades de carga a través da porcentaxe de eliminación. Desta forma, a  $\text{VCO}_2$  obtida nunha respirometría pode empregarse como un indicador para estimar a VCS e a VSE.

Andreottola et al. (2007) e Ortigara et al. (2011) propoñen unha metodoloxía de respirometría en fase líquida, de modo directo utilizando columnas de laboratorio plenamente inundadas durante o ensaio, sen necesidade de extracción nin manipulación de mostras de biomasa, mentres que Morvannou et al. (2011) optan por un sistema dinámico en fase sólida. O sistema en fase líquida consiste en inundar a columna que simula un humidal de FV, subministrar aireación artificial e obter os respirogramas por diferenza entre a concentración de oxíxeno na parte superior da columna (entrada do caudal recirculado) e na zona inferior (saída). Pola súa banda, o sistema en fase sólida consiste en mesturar as mostras de un humidal de FV con un axente de recheo leñoso (proporción volumétrica 1:1 recheo:mostra FV) e obter os respirogramas da diferenza de  $\text{O}_2$  nas correntes de aire entrante e saínte do respirómetro.

Con estes métodos obtéñense taxas de nitrificación máxima diferentes de  $1,8 \text{ mg O}_2/\text{L}_{\text{medio filtrante}}\cdot\text{h}$  (Andreottola et al., 2007), e de  $41 \text{ mg O}_2/\text{L}_{\text{medio filtrante}}\cdot\text{h}$  (Morvannou et al., 2011). Pero estas taxas, transformadas a velocidades superficiais de nitrificación, para o caso dun humidal FV típico cunha altura de recheo de 0,8 m, ofrecen valores de

6 e 182 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Desta forma a respirometría en fase sólida ofrecería taxas de nitrificación moi superiores, que por outra banda tamén estarían na orde das indicadas por Langergraber e Simunek (2005) a partir de estudos de modelización mediante o sistema HYDRUS-CW2D (30,5 mg O<sub>2</sub>/L<sub>medio filtrante</sub>·h). Porén, estas elevadas taxas de nitrificación non se acadan nos humidais construídos, mentres os valores moderados previstos polo sistema de Andreottola et al. (2007) concordan ben cos valores típicos referenciados (2,07 ± 2,03 g NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/m<sup>2</sup>·d para unha revisión de 85 sistemas FV por Vymazal, 2013). Ambos sistemas ofrecen resultados cuantitativamente diferentes, o cal indica a necesidade de un maior desenvolvemento e criterios de avaliación. No caso dos humidais de fluxo horizontal non se aplicaron de momento este tipo de técnicas. Por tratarse de humidais permanentemente inundados, non sería de aplicación a metodoloxía en fase sólida, pero si en fase líquida. Ademais, a respirometría en fase sólida require un sistema moito máis complexo que a de fase líquida.

As respirometrías poden aplicarse co obxectivo de caracterizar o substrato (determinando a concentración dos compoñentes presentes, tais como os tipos de materia orgánica, ou o nitróxeno amoniacal), determinar a concentración de biomasa microbiana, ou obter os parámetros estequiométricos e cinéticos do proceso de conversión. As características do substrato e do sistema empregados, xunto coas condicións de operación determinarán que se poidan obter ou non algúns destes parámetros. Incluso cando se realiza unha determinación respirométrica experimental, pódense asumir parámetros da literatura especificados para HCs, ou incluso para outros sistemas biolóxicos, co obxectivos de realizar o cálculo de determinados parámetros derivados. Porén, tal e como indican Ortigara et al. (2011), algúns destes parámetros cinéticos e estequiométricos relacionados cos procesos biolóxicos nos HCs non deben ser tomados como universais, pois están influenciados por diferentes factores, como pode ser a composición da AR, as propiedades da grava/medio filtrante, as estratexias de operación, etc.

Un respirograma permite obter a respiración endóxena da biomasa microbiana presente no sistema en ausencia de substrato, e esóxena para cada tipo de substrato engadido, incluíndo a máxima velocidade acadada. Así, as técnicas respirométricas permitirán obter, entre outros, os seguintes parámetros: velocidade de respiración endóxena, velocidade máxima de oxidación do carbono, velocidade máxima de nitrificación, taxa de consumo de oxíxeno polas fraccións orgánicas fácil e lentamente biodegradábeis, e rendementos celulares.

O obxectivo deste estudo é o desenvolvemento e avaliación de técnicas respirométricas para a caracterización de humidais construídos. Para isto avaliarase o uso dun sistema de respirometría en columnas como o previamente descrito por Andreottola et al. (2007) para HC de fluxo vertical, máis sinxelo e económico que o métodos da respirometría en fase sólida. Analizarase a aplicabilidade deste sistema a HC de fluxo horizontal (FH), a obtención de respirometrías con auga residual como substrato, e o interese de empregarmos substratos específicos para o proceso de respiración heterotrófica (acetato) e autotrófica (amonio). Avaliarase así mesmo unha metodoloxía

diferente, desenvolvida a partir do método publicado por Lasaridi e Stentiford (1998), e que permite unha simplificación e abaratamento adicionais da técnica. Por último, aplicarase a respirometría á caracterización das dúas unidades dun sistema de dobre etapa constituído por dúas unidades de fluxo vertical en serie.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Equipo experimental dos ensaios respirométricos**

Neste estudo empregáronse dous tipos de respirómetro:

- a) Unha columna de laboratorio simulando HC FV e FH (Fig. 1a).
- b) Un matraz con mostras de medio filtrante extraído de HC (Fig. 1b).

#### **2.1.1 Columnas de laboratorio simulando HC FV e FH**

Na Figura 1a móstrase o deseño experimental dos ensaios respirométricos en columnas simulando HC, seguindo a proposta de Andreottola et al. (2007). As columnas de laboratorio situáronse en cámara termostática a 20 °C. O medio filtrante consistiu, de abaixo a arriba, nunha capa de drenaxe (CDr) de 10 cm de grava fina ( $d_{60} = 5,2$  mm, CU = 2,3, P = 45,8 %) nas columnas de FV e por grava media ( $d_{60} = 12,5$  mm, CU = 1,7, P = 45,4 %) nas de FH. A continuación, separándose por unha malla plástica de 2 mm de paso de luz, que evita a mestura entre capas, sitúase o Medio Filtrante (MF1), que nas columnas de FV é de 32 cm de altura con area grossa ( $d_{60} = 2,5$ mm, CU = 2,6, P = 36,0 %) e nas de FH de 40 cm con grava fina ( $d_{60} = 5,2$ , CU = 2,3, P = 45,8 %). Nas columnas de FV sitúase un segundo medio filtrante de 5 cm de espesor enriba do anterior, distinguindo así MF1 e MF2 (area fina de  $d_{60} = 0,9$ , CU = 7,5, P = 16,3 %). As columnas teñen un diámetro interno de 10,2 (FV) e 13,9 (FH) cm, e e na súa cabeceira resérvase un espazo suficiente para manter condicións de saturación hidráulica e osixenación.

Para posta en marcha e adaptación dos sistemas, as columnas FV e FH foron alimentadas en paralelo con auga residual doméstica diluída suplementada con vinagre. Para simular a operación dun humidal FV nestas columnas, mantívose a alimentación por cargas espazadas no tempo (un pulso cada 6 h) e permitiuse o drenado libre do efluente. Pola contra, a columna simulando un humidal FH operouse con pulsos frecuentes (un pulso cada 1,5 h) e con medio permanentemente inundado até unha altura de 3 cm por debaixo do nivel superior do medio filtrante. As columnas foron operadas a HLR e SLR usualmente aplicadas nestes sistemas (29,8 e 10,2 g DQO/m<sup>2</sup>·d de media para FV e FH, respectivamente), alcanzando eliminacións de DQO da orde de 90% (FV) e 86% (FH). A simulación axeitada de humidais FV e FH en columnas operadas nestas condicións foi comprobada en detalle no capítulo 3 desta tese. Mentres que o pH influente foi de 6,5 en ambos casos, o pH efluente foi máis baixo na columna FV (6,4) que na FH (7,2), debido probablemente a un maior grao de nitrificación na columna FV que na FH.

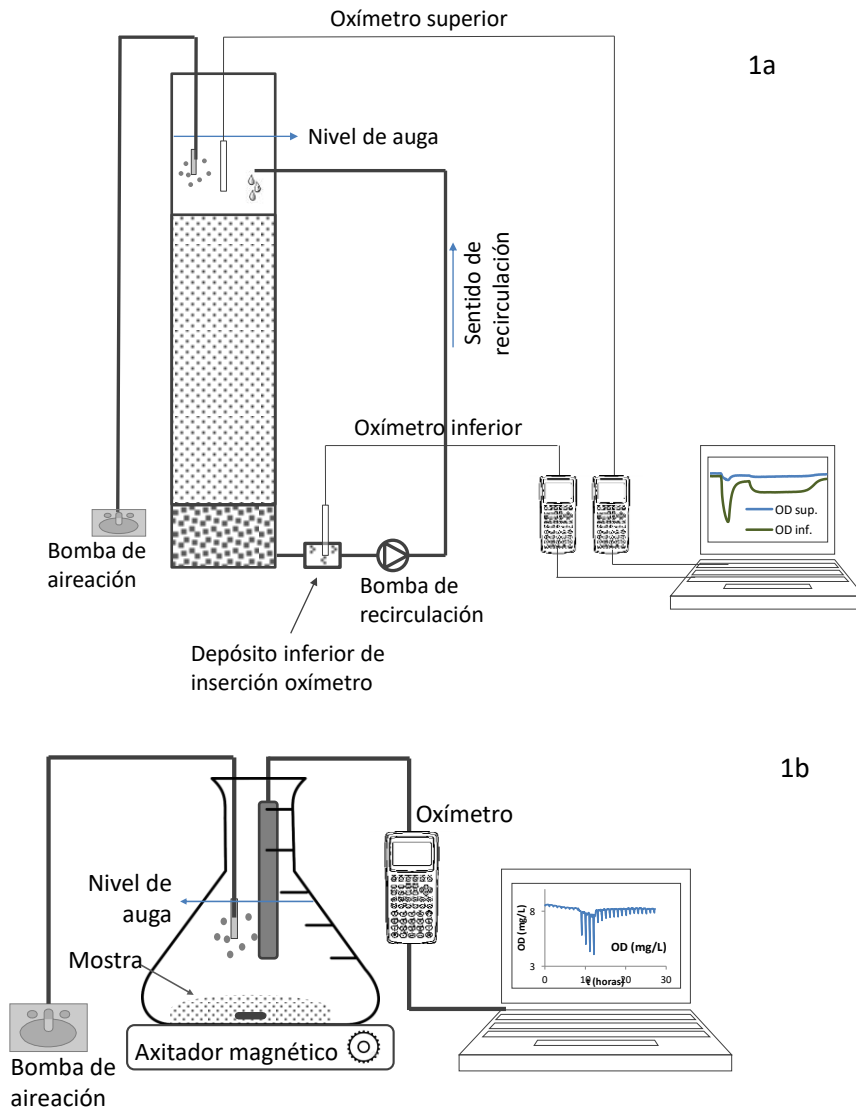


Fig. 1. Configuración experimental dos ensaios respirométricos: (a) en columnas de laboratorio simulando HC, (b) en matraz con mostra extraída dun HC.

Os ensaios respirométricos inicianse coa inundación do leito con auga da billa de clorada (2 horas en axitación continua) e neutralizada (pH 7) e aplicación de recirculación (bomba peristáltica Dinko Instruments D-21V) no rango dos 195 – 200 mL/min. A continuación colócanse dous eléctrodos portátiles de OD (YSI ProODO), ambos somerxidos na auga, un na cabeceira da columna (entrada, influente) e outro na saída (Fig. 1a), configurados para o rexistro datos cada 5 minutos. Para o subministro do oxíxeno necesario dispónse dunha bomba aireadora en cabeceira da columna con varias saídas de pedra pómez que aseguren saturación constante en oxíxeno nesta zona. Os oxímetros conéctanse a un ordenador portátil, que permite ver a evolución gráfica do consumo de oxíxeno.



### **2.1.2. Matraz de ensaios respirométricos**

Os ensaios respirométricos tamén se levaron a cabo cun método simplificado en matraces empregando mostras de medio filtrante extraído das columnas FV de laboratorio. O sistema experimental, adaptado a partir de Lasaridi et al. (1998), consiste en introducir un peso coñecido de medio filtrante en matraz erlenmeyer, cubríndoo con auga da billa declorada. O matraz sitúase sobre axitador magnético á velocidade constante, instalando unha bomba de aireación con saída de pedra pómez que asegure a saturación en oxíxeno, correctamente temporizada en quendas de aireación e non aireación alternadas (nos ensaios utilizáronse paros na aireación de 15 minutos/hora e de 15 minutos/30 minutos, segundo o caso). Así mesmo, instalouse un oxímetro no medio líquido que rexistrou datos cada 2 minutos, estando conectado a un ordenador portátil para observar evolución da gráfica de concentración de oxíxeno no tempo. A instalación experimental pode observarse na Figura 1b.

### **2.1.3. Caracterización respirométrica dun sistema FV de dobre etapa**

Nunha segunda parte do estudo, aplicouse a respirometría á caracterización das dúas unidades que conformaban un sistema de HC de dobre etapa, constituído por dúas columnas de laboratorio FV1 e FV2 dispostas en serie. Ambas columnas FV1 e FV2 tiñan o mesmo deseño experimental xa descrito no apartado 2.1.1. para columnas FV. Este sistema estivo en operación durante 4 meses funcionando en serie, FV1 como primeira etapa e FV2 como segunda etapa. Desta forma, a primeira unidade FV1 recibía unha elevada carga superficial tanto en termos de materia orgánica como nitroxenada, e a segunda unidade FV2 recibiu unha baixa VCS (arredor do 11% de FV1) pero maior carga en termos de amonio. As características de operación para os dous últimos meses de operación resúmense na Táboa 1. O sistema alimentouse con AR sintética con un contido de NT arredor dos 80 mg N/L, e a eliminación de DQO acadou o 89% (FV1), 66% (FV2) e o 96% (sistema global).

De acordo cos datos do capítulo 3 deste estudo, o contido en sólidos volátiles totais e extraíbles (SVT e SVE) despois de 8 meses de operación foi só lixeiramente mais baixo na unidade FV2 (5,8 e 1,2 mg/g<sub>g.s.</sub>) respecto a FV1 (6,1 e 1,4 mg/g<sub>g.s.</sub>). Considerando as dimensións das columnas, a densidade do medio filtrante (1,5 kg/L) e o contido en grava seca (93,8%), xunto co volume líquido recirculado (2,15 L), o contido en sólidos volátiles totais e extraíbeis na columna correspondeu a 12058 (FV1) e 11465 (FV2) mg SVT/L, e a 2748 e 2313 mg SVE/L (FV1 e FV2), respectivamente.

**Táboa 1. Principais parámetros de operación para o sistema en dobre etapa FV1+FV2.**

	pH	SST mg/L	DQO mg/L	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N mg/L	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N mg/L	OD mg/L	POR mV
Influyente FV1	7,0±0,1	112±8	550±37	13±9	3±2	0,8±0,3	-23±10
Efluente FV1/ Influyente FV2	6,2±0,6	15±5	61±24	32±12	42±24	4,7±1,7	81±31
Efluente FV2	5,7±1,1	5±3	21±11	21±5	58±4	8,0±0,6	129±34

Número de medicións = 7-11. VCH = 144 mm/d en FV1 e FV2.

## 2.2. Substratos

A composición dos substratos utilizados neste estudo detállase na Táboa 2. Empregáronse os seguintes substratos:

- Auga residual real suplementada con ácido acético: a auga residual obtívose dun sumidoiro do campus universitario, e suplementouse con vinagre co obxectivo de incrementar a concentración orgánica en aproximadamente 200 mg DQO/L, segundo se indicou previamente (Carballeira et al., 2017). A DQO influente variou entre 345-392 mg/L, da que polo menos o 50 – 60 % é DQO facilmente biodegradable.

- Solución Stock de substrato S<sub>s</sub> con nutrientes para respirometría: esta solución stock contén acetato como fonte de materia orgánica (xunto cunha pequena cantidade de peptona, que achega menos do 3% da DQO), e amoníaco como fonte de nitróxeno necesario para soportar o crecemento bacteriano. A cantidade de N necesaria calculouse a partir do substrato S<sub>s</sub> (8000 mg DQO/L), do rendemento teórico (0,67 g DQO-B/g DQO-S) e da composición teórica dos novos microorganismos (0,087 g N/g DQO-B). Con isto, a relación DQO:N na solución stock foi de 120:7.

- Solución Stock de substrato S<sub>NH</sub> con nutrientes para respirometría: é a mesma solución S<sub>s</sub> pero sen acetato. Ao non existir substrato orgánico, o nitróxeno alimentado destinase ao crecemento autotrófico e ao proceso de nitrificación. Para un rendemento teórico Y<sub>A</sub> = 0,24 g DQO-B/g N nitrificado, unicamente o 2,1% do nitróxeno se dedicaría ao crecemento, mentres o 97,9% podería ser nitrificado.

- Auga residual sintética (ARS): este substrato, modificado de Aiyuk, S. e Verstraete, W. (2004), inclúe urea como principal fonte de nitróxeno e diversos compoñentes (acetato, fécula de pataca, leite en pó e extracto de levadura) como fonte de materia orgánica e DQO.

**Táboa 2. Composición dos substratos empregados nos ensaios respirométricos.**

Composto (mg/L)	ARS <sup>a</sup>	Respirometría S <sub>s</sub>	Respirometría S <sub>NH</sub>
Urea	1600	0	0
Peptona	300	150	150
NH <sub>4</sub> Cl	200	1712	1712
Acetato de sodio	2250	10244	0
MgHPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	500	500	500
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	400	400	400
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	100	100	100
CaCl <sub>2</sub>	100	100	100
Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O	15	15	15
CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	10	10	10
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	2	2	2
NiSO <sub>4</sub> · 6H <sub>2</sub> O	5	5	5
PbCl <sub>2</sub>	2	2	2
ZnCl <sub>2</sub>	5	5	5
Fécula de pataca	1000	0	0
Leite en pó	2000	0	0
Extracto levadura	900	0	0
NaHCO <sub>3</sub>	0	0	<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Utilizada tanto para alimentar as columnas durante a operación cos humidais construídos como para os experimentos de respirometría con SW. <sup>b</sup> Nalgúns experimentos engadiuse NaHCO<sub>3</sub> a razón de 1 g/L no volume final do ensaio.

## 2.3. Condicións experimentais

### 2.3.1 Respirometría en columnas

Débense medir e anotar en detalle as condicións experimentais de cada experimento, xunto coas indicacións relativas a calquera anomalía, modificación ou observación de proceso. O intervalo de obtención de datos será reducido, suficiente para definir a curva de VCO<sub>2</sub>. No presente estudo estableceuse en 5 minutos, o que ofrece 12 datos por hora e un total de 240 datos para definir a curva VCO<sub>2</sub> nun período de 20 horas. Desta forma, os procesos de consumo de substrato que duren máis de 1 hora estarán suficientemente definidos.

Ao comezo e ao final, determínase o volume líquido (por indicación de variación do nivel) e en cada columna e medio granular novo determínase por drenado ou enchido da mesma. Tamén se determinará antes do inicio do experimento e ao final o caudal da bomba de recirculación.

A concentración de oxíxeno mínima na zona inferior non deberá ser inferior a 1 mg/L, para non termos limitación por oxíxeno, e preferiblemente maior de 2 mg/L, por exemplo). Esta concentración mínima pode facerse máis alta ben aumentando a concentración na zona superior (maior transferencia de oxíxeno) ou ben aumentando o caudal de recirculación. Fixados estes dous factores, o mínimo que se alcance na zona

inferior vai depender da velocidade de consumo, o que depende á súa vez da cantidade e actividade de biomasa aerobia presente. Os valores mínimos van aparecer para valores de  $VCO_2$  elevados, polo que valores demasiado baixos de oxíxeno afectarán ao cálculo da  $VCO_{2m}$  e da velocidade de crecemento. Se temos limitación por oxíxeno (concentración inferior a 2 mg/L), a  $VCO_{2m}$  obtida será inferior á real, e ademais non poderemos calcular o crecemento e a concentración de biomasa. Pola contra, o resto de parámetros, tais como o consumo de oxíxeno, o rendemento e  $K_S$  non se deberían ver afectados.

O caudal de recirculación afecta ao TRH e ao cálculo da  $VCO_2$ . Se decidimos cambiar o caudal de recirculación durante o experimento, deberemos tratar de facelo nun instante, pasando a un novo caudal que mediremos ao final do experimento (ou ao final da curva de consumo de substrato exógeno). Isto co obxectivo de evitar interferencias na curva de  $VCO_2$ .

Rexistramos a temperatura e obtemos o valor medio e o rango de variación. Teremos que decidir se a variación é suficientemente limitada como para desbotar a súa corrección. Ortigara et al. (2011) indican que unha variación de 3 °C require corrección da curva de  $VCO_2$ .

As concentracións ou cantidades de cada substrato engadido son imprescindibles para obter diversos parámetros e avaliar a corrección dos experimentos. Tamén é preciso medir o pH, inicial e final, en particular no relacionado coa nitrificación. Opcionalmente pódense obter mostras para o seguimento da concentración de substrato.

### **2.3.2 Respirimetría en matraz**

O sistema debe manterse en axitación na fase líquida en todo momento, cunha velocidade reducida que non cause turbulencia. A velocidade de aireación debe ser suficiente para elevar rapidamente a concentración de oxíxeno tras o período de non aireación, de tal forma que se atinxa o máximo con claridade antes o inicio doutro período de non aireación. Con todo, un caudal demasiado elevado de aire pode crear problemas de evaporación ou incluso arrastre de sólidos do sistema, o que se debe evitar. O período de non aireación será suficiente para obtermos con precisión a velocidade de caída da concentración de oxíxeno. Esta poderá acercarse a cero, pero non permanecer en cero durante máis dun intervalo de medición.

O intervalo de obtención de datos será reducido, suficiente para definir a curva de caída da concentración de oxíxeno durante o período de non aireación. No presente estudo estableceuse a duración do período de non aireación en 15 minutos e a obtención de datos cada 2 minutos, o que ofrece 7 ou 8 datos para o cálculo da velocidade volumétrica de consumo de oxíxeno (pendente da curva de OD durante o período de non aireación). O período de aireación deberá ser polo menos equivalente ao de non aireación, podendo ser maior. No presente estudo empregáronse dous ciclos diferentes con aireación ON/OFF de 60 minutos (45 ON e 15 OFF) e 30 minutos (15 ON e 15 OFF). A primeira opción ofrece unicamente un dato de  $VCO_2$  por hora, por tanto 20 datos para

definir a curva  $VCO_2$  nun período de 20 horas, o que pode resultar insuficiente en determinados casos. A segunda opción duplica o número de datos de  $VCO_2$  dispoñibles no mesmo período de tempo.

## 2.4. Procedementos de cálculo

### 2.4.1 Obtención da curva $VCO_2$ e tratamento de datos

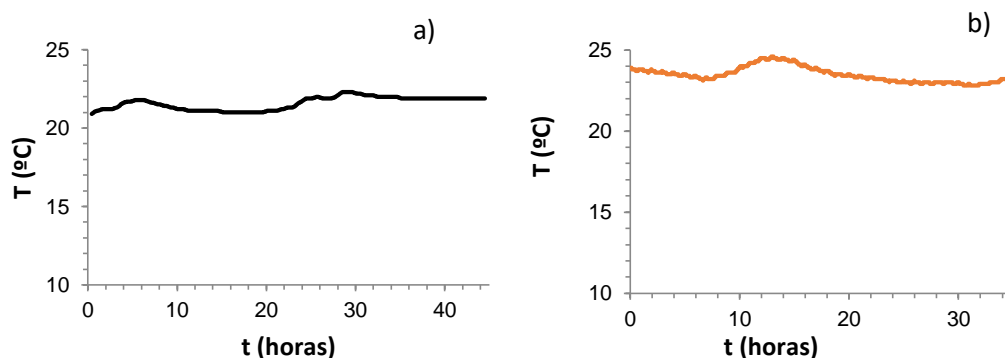
Na Figura 2 (a,b,c) móstrase un exemplo de respirograma típico obtido con substratos simples engadidos de forma secuencial (acético e amoníaco, por esta orde) para o caso da respirometría en columna, e na Figura 2b outro exemplo de respirometría en matraz cun substrato simple. Os datos experimentais consisten no rexistro das concentracións de oxíxeno disolto arriba ( $OD_1$ ) e abaixo ( $OD_2$ ). A partir destes datos, e tendo en conta o TRH aplicado, obtense a curva de velocidade de consumo de oxíxeno ( $VCO_2$ ) total para a respirometría en columna:

$$VCO_2 = (OD_1 - OD_2) / TRH$$

Para a respirometría en matraz, a  $VCO_2$  obtense a partir das pendentes da caída de OD no matraz durante os tempos de non aireación. Para isto aplícase regresión lineal no tramo correspondente.

Na Figura 3 móstranse algunhas das transformacións da curva de  $VCO_2$  e identificamos as zonas do respirograma que ofrecen información singular. Cada parámetro poderá ser obtido a partir dun determinado tramo da curva, que será preciso identificar e transformar axeitadamente. Na Táboa 3 analizamos algúns dos requirimentos básicos a ter en conta para a obtención de parámetros derivados. O tratamento de datos e obtención de diversos parámetros implica os seguintes pasos:

1. Analizar condicións experimentais do experimento (volumes, caudais, TRH, cantidades ou concentración de substratos engadidos, temperatura, pH ...)



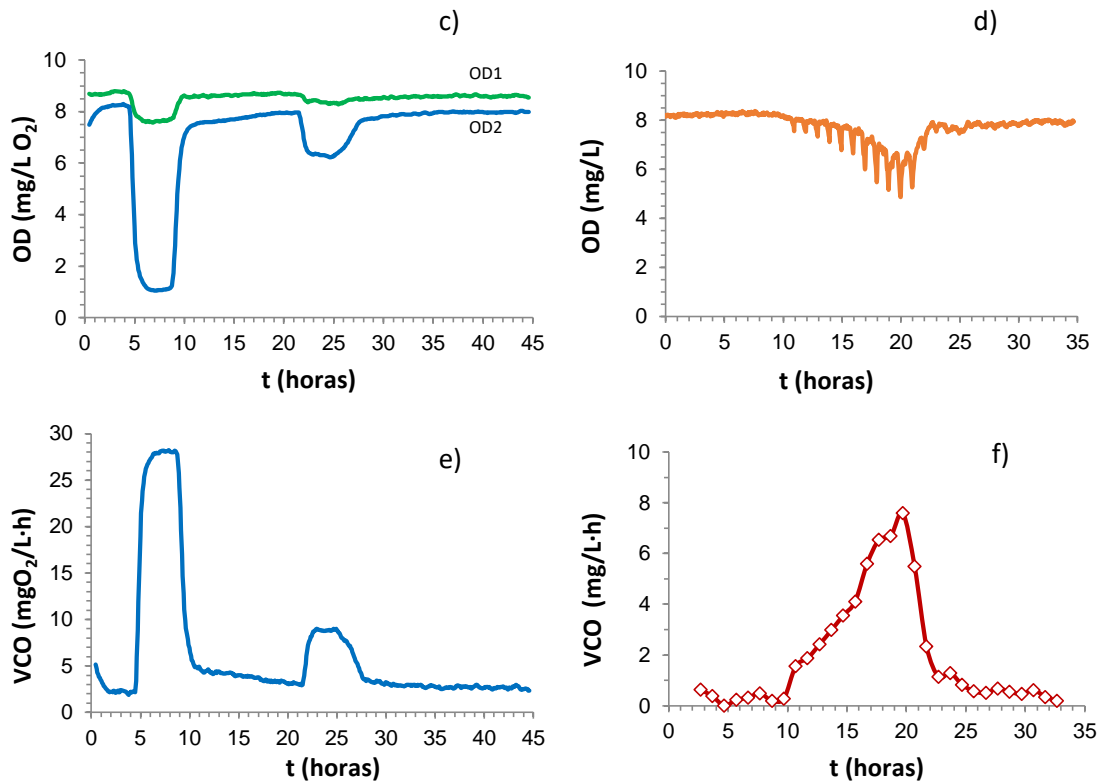


Figura 2. Exemplo respirogramas típicos: a,b) rexistro da temperatura, c,d) rexistro da concentración de óxigeno disolto arriba (OD1) e abaixo (OD2), e,f) respirogramas: curva de velocidade de consumo de oxíxeno ( $VCO_2$ ). Esquerda (a, c, e): respirometría en columna con substratos simples (acetato e amoníaco engadidos de forma secuencial e por esta orde). Dereita (b, d, f): respirometría en matraz, con acetato.

2. Obter a curva de  $VCO_2$  total (respirograma)
3. Obter o  $\ln(VCO_2)$  fronte ao tempo, útil para identificar os puntos de inflexión ou cambio dun a outro tipo d e substrato,
4. Obter a curva de consumo de oxíxeno endóxeno  $VCO_2$  end, ou liña base, pero que é variábel.
5. Por diferenza, obter a curva de  $VCO_2$  exo ( $VCO_2$  exo =  $VCO_2$  tot -  $VCO_2$  end)
6. Obter os valores máximos de  $VCO_2$  total e  $VCO_2$  exo (para cada tipo de substrato, se é o caso)
7. Obter a área baixo as curvas  $VCO_2$  tot,  $VCO_2$  exo e  $VCO_2$  end, obtendo as áreas parciais ao diferenciar por tramos do respirograma (diferentes tipos de substratos).
8. Realizar outros cálculos, tais como a estimación da evolución dos substratos esóxenos (modelización), os parámetros de linealización do modelo Monod e o  $\ln(VCO_2)$ , etc, necesarios para os cálculos dos diversos parámetros.

**Táboa 3. Descrición das zonas do respirograma que ofrecen información singular**

Zona <sup>a</sup>	Concepto	Observacións
1	VCO <sub>2</sub> end1: respiración endóxena previa	Estabilización do sistema e obtención dun valor de VCO <sub>2</sub> end1 fiable. É preciso comprobar a evolución do respirograma de forma previa a engadir un substrato exógeno, garantindo a eliminación de substrato residual previo existente no sistema. A eliminación completa de substrato residual lentamente biodegradable non sempre se acada de forma efectiva ou requiriría longos períodos de operación.
2	Adaptación ao substrato exógeno	Tras a adición de substrato exógeno dáse un incremento inmediato a acusado da VCO <sub>2</sub> . A necesidade de adaptación do ecosistema bacteriano e o retardo na resposta medida fan que o incremento da VCO <sub>2</sub> non sexa instantáneo. A existencia de fases de latencia retrasaría este incremento da VCO <sub>2</sub> .
3	Crecedemento exponencial	Acadada a adaptación do sistema ao substrato engadido, rexistrárase un incremento sostido da VCO <sub>2</sub> debido ao crecedemento bacteriano. Este crecedemento manterase mentres non teñamos limitación por substrato, é dicir $S \gg K_s$ (Monod).
4	VCO <sub>2m</sub>	A VCO <sub>2</sub> máxima obterase cando a concentración de substrato comeza a ser limitante (deixa de se cumprir $S \gg K_s$ ).
5	Limitación por substrato	A partir da VCO <sub>2m</sub> , a curva de VCO <sub>2</sub> inicia o descenso debido ao esgotamento progresivo do substrato.
6	VCO <sub>2</sub> end2	Eliminado todo o substrato exógeno, a VCO <sub>2</sub> volve a representar a respiración endóxena. Polo xeral, VCO <sub>2</sub> end2 será maior que VCO <sub>2</sub> end1, xa que houbo crecedemento microbiano.

<sup>a</sup> Zona da curva (Fig.3d)

A curva de Ln (VCO<sub>2</sub>) fronte ao tempo ten utilidade pois a proxección da linealidade en diferentes tramos permite identificar os puntos de inflexión. No exemplo da Fig. 3 a, permite identificar o final do consumo do primeiro substrato (acetato), a pesar de caer baixo a curva de nitrificación do amonio.

A Figura 3b representa o caso dunha respirometría na que se utiliza como substrato unha auga residual complexa, por exemplo auga residual doméstica, e na que poden ter lugar simultaneamente os procesos de degradación do substrato facilmente biodegradable, S<sub>s</sub>, do substrato orgánico lentamente biodegradable, X<sub>s</sub>, e da nitrificación do amoníaco, S<sub>NH</sub>, ademais da respiración endóxena. Aínda considerando que a degradación do substrato S<sub>s</sub> vai ocorrer maiormente ao comezo do período da respirometría, na realidade imos ter un solapamento de procesos, polo que será preciso recorrer a técnicas de identificación e diferenciación de cada zona do respirograma. De feito, é comunmente aceptado que todos o consumo de todos os substratos ten lugar simultaneamente (Vanrolleghem et al., 1999). Para identificar as áreas correspondentes

a cada proceso individual, é frecuente facer uso do chamado método de extracción directa de parámetros. A identificación dos puntos de inflexión faise mediante a curva de  $\text{Ln}(\text{VCO}_2)$  fronte ao tempo, como se indica na Figura 3b.

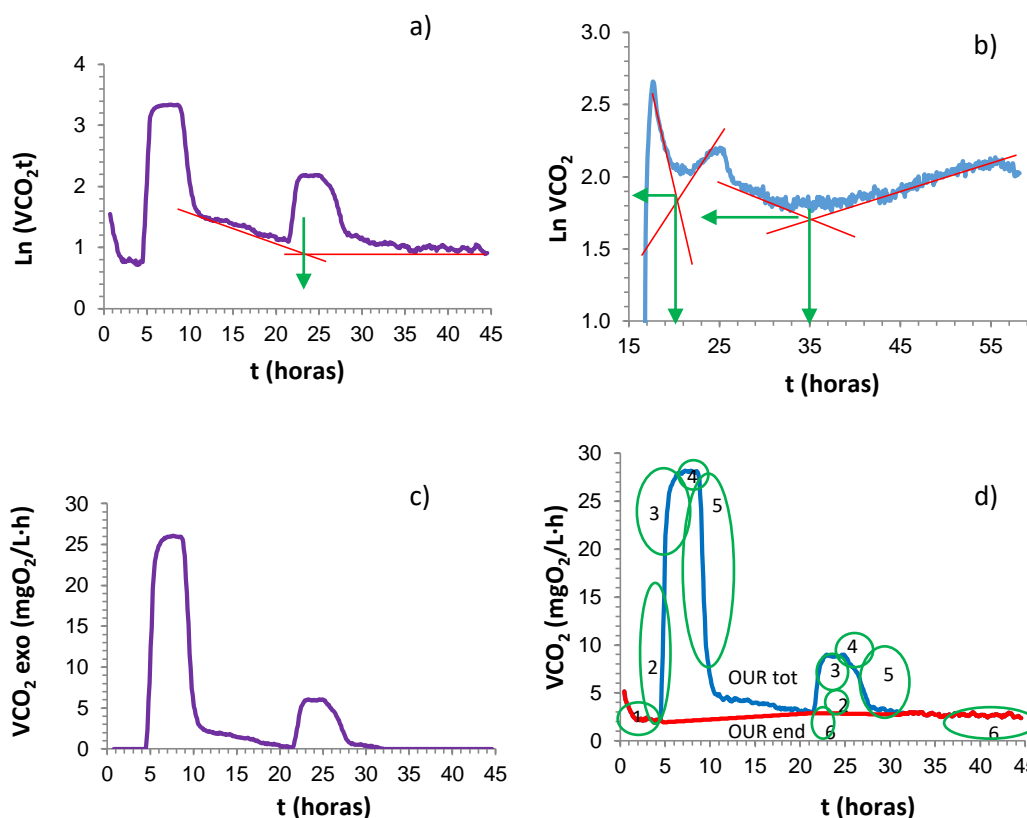


Figura 3. Transformacións do respirograma. (a, b) uso do  $\text{Ln}(\text{VCO}_2)$  vs tempo para a identificación de puntos de inflexión, (c) curva de consumo de oxíxeno por respiración exóxena, (d) zonas do respirograma que ofrecen información singular.

#### 2.4.2. Calculo da liña base ou $\text{VCO}_2 \text{ end}$

Até o momento de engadir o substrato exóxeno, teremos que  $\text{VCO}_2 \text{ end} = \text{VCO}_2 \text{ tot}$ . Unha vez engadido o substrato exóxeno, a  $\text{VCO}_2 \text{ tot}$  (total) aumenta até pasar por un máximo e volve a baixar, até alcanzar de novo unha  $\text{VCO}_2 \text{ end}$ , pero esta non é extrapolación da tendencia anterior a adición de substrato, xa que se formou nova biomasa (crecemento), polo que en teoría a nova  $\text{VCO}_2 \text{ end}$  ao final do consumo do substrato exóxeno debe ser máis alta que a previa inmediatamente anterior á adición de substrato.

Faremos os uso da representación  $\text{Ln}(\text{VCO}_2)$  fronte ao tempo para determinar os puntos de inflexión da curva de  $\text{VCO}_2$  fronte ao tempo. O  $\text{Ln}(\text{VCO}_2)$  aumenta inicialmente de forma acusada (mestura e adaptación), despois aumentar cunha pendente constante aínda que reducida (crecemento exponencial), para comezar a decrecer con pendentes crecentes cando o substrato comeza a achegarse a  $K_s$ . Por debaixo de  $K_s$ , a pendente da curva de  $\text{Ln}(\text{VCO}_2)$  será constante, até o esgotamento completo do substrato externo. A



partir dese momento, a evolución de  $VCO_2$  deberase só ao consumo endógeno e a pendente da curva de  $\ln(VCO_2)$  fronte ao tempo reducirase bruscamente, pasando a un novo tramo de pendente constante e moi reducida. A pendente nesta zona dependerá do valor de decrecemento da  $VCO_2$  end2, que en xeral debe ser moi reducida en comparación coa pendente de tramos anteriores.

Pero en moitos casos a  $VCO_2$  end2 tardará en alcanzarse, e non sempre se alcanza no período de respirometría rexistrado. Vexamos a representación do  $\ln(VCO_2)$  fronte ao tempo no exemplo da Figura 3. O tramo que vai de 11 a 21 h mostra unha representación lineal de  $\ln VCO_2$  fronte ao tempo. Mais a  $VCO_2$  a 11 h resulta de 4,6 mg  $O_2/L \cdot h$ , moi superior á  $VCO_2$  end previa á adición de acetato (2,1 mg  $O_2/L \cdot h$ ). Se consideráramos todo o tramo de 11 a 21 h como respiración endóxena, o coeficiente de decaemento  $b'_H$  resultaría de 0,041  $h^{-1}$ , moi superior ao teórico e ao calculado en condicións máis contrastadas. A existencia de fenómenos de almacenamento de substrato podería explicar este comportamento. Este caso é exemplo da dificultade de identificar os diferentes parámetros dos modelos cinéticos, incluso no caso dun experimento con elevada separación entre a adición de substrato orgánico e nitroxenado como o da Figura 3.

Neste caso, podemos considerar práctico tomar o valor final dispoñible, na Figura 3 o valor a 20-21 h (3,1 mg  $O_2/L \cdot h$ ), anterior á adición de amoníaco. Ou o valor  $VCO_2$  end posterior ao esgotamento do amoníaco, de 2,72 mg  $O_2/L \cdot h$ , que por extrapolación se obtería a 24 h. Este punto identifícase claramente como o punto de corte da proxección lineal do  $\ln$  dos tramos anterior e posterior ao consumo de amoníaco.

Unha vez determinado o punto final de consumo de cada substrato, no tramo de consumo de substrato exógeno calculamos a  $VCO_2$  end mediante a seguinte ecuación:

$$VCO_2 \text{ end } (t) = VCO_2 \text{ end } t_1 + (VCO_2 \text{ end } t_2 - VCO_2 \text{ end } t_1) / (N^\circ \text{ medicións})$$

Este método de cálculo equivale a aplicar unha evolución lineal entre  $VCO_2$  end previa ( $t_1$ ) e posterior ( $t_2$ ) ao período de consumo de substrato exógeno. É unha aproximación, pois o crecemento que puido ter lugar non ten por que seguir unha evolución lineal no tempo.

#### **2.4.3. Oxíxeno consumido ( $\Delta O_2$ ), substrato consumido e rendemento en biomasa ( $Y_H, Y_A$ )**

Para obtermos o oxíxeno consumido, procedemos ao cálculo da área baixo a curva  $VCO_2$  exo, no tramo que corresponda. O oxíxeno consumido ( $\Delta O_2$ , mg  $O_2/L$ ) dános directamente a demanda de oxíxeno total do substrato engadido, sexa este unha auga residual de composición descoñecida, ou un substrato simple engadido nunha concentración ou cantidade coñecida.

A demanda de oxíxeno (DO) do substrato será:

$$DO \text{ (mg } O_2/L \text{ substrato)} = \Delta O_2 \cdot V_L / V_S$$

onde  $V_L$  é o volume líquido no sistema, e  $V_S$  o volume do substrato engadido. Desta forma, a DO aparece expresada por unidade de volume do substrato engadido, que é de aplicación directa ao caso de augas residuais.

Ademais, a partir do oxíxeno consumido ( $\Delta O_2$ , mg  $O_2/L$ ) podemos calcular, alternativamente:

- a) O substrato consumido, facendo uso do rendemento teórico
- b) O rendemento, se coñecemos o substrato utilizado.

Substrato: materia orgánica,  $S_S$  (mg DQO/L)

- Cálculo do rendemento:  $Y_H$  (g DQO-B/g DQO-S) =  $1 - \Delta O_2 / S_S$
- Cálculo do substrato empregado:  $S_S = \Delta O_2 / (1 - Y_H)$
- Rendemento teórico:  $Y_H = 0,67$  mg DQO-B/g DQO-S

onde  $Y_H$  é o rendemento en biomasa heterotrófica, expresado como DQO-B (DQO da biomasa) por unidade de substrato (DQO-S).

A ecuación anterior para  $S_S$  pode aplicarse entre o momento da adición de substrato ( $t_s$ ) e un tempo calquera  $t$  previo ao esgotamento do substrato:

$$S_S(t) = S_{ts} - \Delta O_2(t) / (1 - Y_H)$$

En ambos casos, estamos a considerar un rendemento  $Y_H$  constante, que só poderemos calcular para o período completo de consumo de substrato.

Substrato: amonio,  $S_{NH}$  (mg  $NH_4^+-N/L$ )

- Cálculo do rendemento:  $Y_A$  (g DQO-B/g N) =  $4,57 - \Delta O_2 / S_{NH}$
- Cálculo do substrato empregado:  $S_{NH} = \Delta O_2 / (4,57 - Y_A)$
- Rendemento teórico:  $Y_A = 0,24$  mg DQO-B/g N

onde  $Y_A$  é o rendemento en biomasa autotrófica nitrificante, expresado como DQO-B (DQO da biomasa) por unidade de substrato (N).

Igualmente, a evolución de  $S_{NH}$  no tempo sería:

$$S_{NH}(t) = \Delta O_2(t) / (4,57 - Y_A)$$

#### **2.4.4 Velocidade de consumo de oxíxeno máxima volumétrica ( $VCO_{2m}$ ) e superficial ( $VCO_{2Sm}$ )**

A  $VCO_{2m}$  volumétrica (mg  $O_2/L \cdot h$ ) obtense directamente da lectura do máximo da curva de  $VCO_2$ , mentres a  $VCO_2$  superficial obtense a partir da anterior pola seguinte ecuación:

$$VCO_2Sm \text{ (g O}_2\text{/m}^2\text{·d)} = VCO_2m \text{ (mg O}_2\text{/L·h)} \cdot V_L/A_T \cdot (24/1000)$$

Desta forma, a  $VCO_2Sm$  é proporcional á  $VCO_2m$ . Esta expresión pode aplicarse tanto á  $VCO_2m$  total ou exóxena.

#### 2.4.5 Velocidade máxima de eliminación de substrato

Nas columnas experimentais utilizadas como respirómetro, a velocidade máxima de eliminación de substrato ( $VSEm$ ) para o substrato orgánico ( $S_s$ ) facilmente biodegradable ven dada por:

$$VSEm \text{ (g DQO/m}^2\text{·d)} = VCO_2Sm / (1 - Y_H)$$

E para o nitróxeno eliminado (nitrificado + asimilado por diversos procesos, precipitado, etc):

$$VSENm \text{ (g N/m}^2\text{·d)} = VCO_2m_{NH_3} \text{ (mg O}_2\text{/L·h)} \cdot V_L/A_T \cdot (24/1000) / (4,57 - Y_A)$$

Estas velocidades obteríanse unicamente en situación de non limitación de substrato exóxeno nin de oxíxeno. Por tanto, para obter  $VSEm$  empregaremos a  $VCO_2m$  correspondente ao substrato exóxeno. No caso de  $VSENm$ , empregaremos o rendemento experimental determinado. Se non dispomos deste, podemos empregar o rendemento teórico para nitrificación (0,24 mg DQO-B/g N), pero neste caso a  $VSENm$  sería a debida unicamente ao proceso de nitrificación biolóxica (N nitrificado + asimilado polos microrganismos nitrificantes).

#### 2.4.6 Constantes de afinidade heterotrófica ( $K_s$ ) e autotrófica ( $K_{s,NH}$ )

En presenza de substrato exóxeno, e sen limitación de oxíxeno, o modelo de Monod indica que a velocidade de respiración ven dada pola seguinte expresión:

$$VCO_2 \text{ exo} = VCO_2'm \text{ exo} \cdot S_s / (K_s + S_s)$$

Tomando as inversas, podemos linealizar esta expresión para obter os valores dos parámetros cinéticos:

$$1/VCO_2 \text{ exo} = (K_s / VCO_2'm \text{ exo}) \cdot (1/S_s) + 1/VCO_2'm \text{ exo}$$

Para aplicarmos esta ecuación, precisamos estimar a evolución de  $S_s$  no tempo (Vanrolleghem et al., 1999):

$$S_s(t) = S_s(t-1) - \Delta O_2(t) \text{ exo} / (1 - Y_H) = S_{s,0} - (\Delta O_2(t) \text{ tot} - \Delta O_2(t) \text{ end}) / (1 - Y_H)$$

onde  $\Delta O_2(t) \text{ tot}$  é a área baixo a curva de respiración total e  $\Delta O_2(t) \text{ end}$  é a área baixo a curva de respiración endóxena, en ambos casos entre  $t$  e  $t-1$ . A estimación de  $S_s$  comezará desde o momento de adición do substrato  $S_{s,0}$ , cuxa concentración inicial  $S_{s,0}$  debemos coñecer.

Na representación de  $1/VCO_2 \text{ exo}$  vs  $1/S_s$  obteremos a  $VCO_2'm \text{ exo}$  a partir da ordenada na orixe e  $K_s$  a partir da ordenada e da pendente.

O problema é que neste tipo de experimentos con ácido acético, o valor da ordenada na orixe (=  $1/VCO_2'm$  exo) raramente mostra validez, pois é habitual obter valores negativos. Porén, hai outras vías para calcular o valor de  $K_S$  sen facer uso do valor de  $VCO_2'm$  exo obtido do modelo de Monod:

- Dando por válido o valor de  $VCO_2m$  (isto é, se foi obtido a valores de  $S_S \gg K_S$ ), e dispoño dos valores de  $S_S$  no tempo:

$$K_S = S_S \text{ para } VCO_2 = VCO_2m/2$$

É dicir, calculamos  $K_S$  como a concentración de  $S_S$  que fai  $VCO_2 = \frac{1}{2}$  da  $VCO_2m$  rexistrada no respirograma.

- A partir do valor de  $VCO_2m$  exo como máximo da curva e da pendente da ecuación de linealización de Monod:

$$K_S = \text{pte} \cdot VCO_2m$$

Un procedemento similar aplícase para  $S_{NH}$  e  $K_{S,NH}$ , sendo  $S_{NH}(t)$ :

$$S_{NH}(t) = S_{NH}(t-1) - \Delta O_2(t) \text{ exo} / (4,57 - Y_A) = S_{NH}(t-1) - (\Delta O_2(t) \text{ tot} - \Delta O_2(t) \text{ end}) / (4,57 - Y_A)$$

onde  $\Delta O_2(t) \text{ tot}$  é a área baixo a curva de respiración total e  $\Delta O_2(t) \text{ end}$  é a área baixo a curva de respiración endóxena, en ambos casos entre  $t$  e  $t-1$ , durante a nitrificación do amoníaco. A estimación de  $S_{NH}$  comezará desde o momento de adición do substrato  $S_{NH}$ , cuxa concentración inicial  $S_{NH,0}$  debemos coñecer.

#### 2.4.7 Velocidade específica máxima de crecemento ( $\mu_m$ )

De acordo con Almeida et al. (2002) para o proceso heterotrófico, pode calcularse este parámetro como a pendente do  $\ln(VCO_2)$  fronte ao tempo:

$$\ln [VCO_2(t) / VCO_2(t=0)] = \mu \cdot t$$

ou ben

$$\ln [VCO_2(t)] = \mu \cdot t + \ln [VCO_2(t=0)]$$

Esta expresión permite calcular a velocidade específica máxima de crecemento ( $\mu_m$ ) cando se aplica nun rango de condicións de crecemento exponencial, sen limitación de substrato nen de oxíxeno ( $S \gg K_S$ ,  $[O_2] \gg K_{O_2}$ ). Nestas condicións, empregando materia orgánica como substrato obtemos a velocidade específica de crecemento heterotrófico ( $\mu_{mH}$ ) e empregando amonio a a velocidade específica de crecemento autotrófico ( $\mu_{mA}$ ).

En realidade, o valor da pendente representa o valor de  $\mu_m - b$ , como indican Vanrolleghem et al. (1999), pero pode considerarse igual a  $\mu_m$  se o valor de  $b$  é suficientemente menor. Cando se obtén experimentalmente o valor de  $b$ , restarase do valor da pendente para obter  $\mu_m$ .

A medición segura de  $\mu_m$  require un rango amplo de tempo en condicións de crecemento exponencial sen limitación por substrato, o que pode acadarse para valores de  $S_S/X_H >$

0,2-0,5 (Spérandio and Etienne, 2000; Almeida and Butler, 2002). Por outra banda, Vanrolleghem et al. (1999) observan que cando se dá  $S_s/X_H \gg 1$ , o crecemento relativo que ten lugar é moi elevado e a biomasa no conxunto do experimento xa non representa a biomasa inicial, senón a que creceu durante o mesmo.

Nos experimentos en columna con recirculación, compre deixar pasar un tempo equivalente a 3-4 veces o TRH tras a adición de substrato, para que se mesture o substrato engadido e se active completamente o sistema. O cálculo dos valores iniciais de  $\mu_m$  e  $X_H$  realizarase a partir dese momento.

#### 2.4.8 Concentración de biomasa activa X

De acordo con Almeida et al. (2002) e unha vez calculado  $Y_H$  e  $\mu_H$ , nas condicións anteriores, pode calcularse a concentración de biomasa heterotrófica mediante a seguinte ecuación:

$$X_H(t) = [Y_H / (1 - Y_H)] \cdot [VCO_2(t) / \mu_H]$$

As condicións de non limitación do crecemento indicadas arriba implican  $S_s \gg K_s$ ,  $[O_2] \gg K_{O_2}$ ,  $S_s/X_H > 0,2-0,5$  e inclúe a simplificación de que  $b_H \ll \mu_H$  (Vanrolleghem et al., 1999).

O rendemento  $Y_H$  calculouse como valor medio para todo o proceso, mais poderá considerarse próximo ao rendemento en condicións de crecemento exponencial cando a concentración inicial de substrato foi suficientemente elevada. A velocidade corresponde ás condicións de crecemento exponencial. Empregando para  $VCO_2(t)$  o valor de  $VCO_{2m}$  a ecuación daranos a concentración de biomasa nese momento, que será a equivalente á concentración existente no medio tras o consumo de substrato, incluíndo por tanto o crecemento habido durante o experimento:

$$X_H \text{ final (mg DQO-B/L)} = [Y_H / (1 - Y_H)] \cdot [VCO_{2m} / \mu_H]$$

Así mesmo, pódese calcular a concentración de biomasa ao comezo do experimento, empregando o valor ce  $VCO_2$  tras o pulso de substrato  $S_s$  e o curto proceso de adaptación, xa que  $\mu_H$  é un valor medio para todo o intervalo desde o inicio do pulso ( $S = S_0$ ) até o momento de  $VCO_{2m}$  ( $S \gg K_s$ ). Neste intervalo, ao considerar tanto  $Y_H$  como  $\mu_H$  constantes, obtemos que  $X_H$  aumenta proporcionalmente con  $VCO_{2m}$ :

$$X_H \text{ inicial (mg DQO-B/L)} = [Y_H / (\mu_H (1 - Y_H))] \cdot VCO_2 \text{ inicial}$$

Onde "inicial" refírese ao momento inmediato tras a adición de substrato e a adaptación ao mesmo.

Para a biomasa autotrófica activa  $X_A$ , a ecuación equivalente é a seguinte:

$$X_A(t) = [Y_A / (4,57 - Y_A)] \cdot [VCO_2(t) / \mu_A]$$

Se consideramos o rendemento teórico de  $Y_A = 0,24$  g DQO-B/g N nitrificado, e aplicándoa para  $VCO_{2m}$ , a expresión anterior queda como:

$$X_A \text{ final (mg DQO-B nitrificante/L)} = 0,0554 \cdot [VCO_{2m,A} / \mu_A]$$

#### 2.4.9 Coeficientes de decaemento da biomasa heterotrófica $b_H$

Vanrolleghem et al. (1999) indica un método consistente en facer o seguimento da velocidade de respiración endóxena dun lodo en condicións de aireación e sen alimentación. Unha regresión lineal de  $\ln(\text{VCO}_2 \text{ end})$  fronte ao tempo debe dar unha liña recta de pendente  $b'_H$ . O coeficiente de decaemento calcúlase como:

$$b_H = b'_H / [1 - Y_H(1 - f_p)]$$

onde  $f_p$  é a fracción particulada inerte da biomasa desaparecida, que tipicamente resulta do 20%.

O coeficiente de decaemento da biomasa autotrófica ( $b_A$ ) non se pode medir por este método. En realidade, sería máis correcto considerar que o método anterior nos ofrece a suma de  $b_H$  e  $b_A$  (respiración do substrato liberado tanto pola biomasa heterotrófica como autotrófica). Desta forma, só considerando que  $b_A$  é moi inferior a  $b_H$ , podemos considerar que o método anterior nos ofrece  $b_H$ . Determinar por separado ambos coeficientes require de métodos máis laborioso (Vanrolleghem et al., 1999).

#### 2.5 Cálculos

Tanto a representación dos respirogramas como todos os cálculos necesarios foron realizados cun programa Excel. A adecuación do encaixe dos mínimos cadrados (regresión lineal simple e múltiple) foi valorada polo cadrado do coeficiente de determinación ( $R^2$ ), o  $R^2$  axustado, o valor de F e probabilidade estatística ( $p$ ). Unha combinación dos procedementos de regresión e de regresión cos mellores subconxuntos de variables independentes foi utilizado para seleccionar mellor modelos multivariados (Navidi, 2006). Empregouse a análise da varianza unidireccional e en dúas bandas (ANOVA) para comparar os conxuntos de datos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Experimentos con auga residual real

Como se indicou no apartado 2.1, as experiencias respirométricas foron realizadas tras 18 e 72 días de operación en columna FV (Experiencias FV1 e FV2, respectivamente) e despois de 90 días de operación na columna FH. Os resultados obtidos están indicados na Táboa 2.

A  $\text{VCO}_2$  endóxena está relacionada coa cantidade de biomasa e outros sólidos lentamente biodegradables acumulados no medio filtrante, e resultou lixeiramente máis elevada para a columna FV que para a FH. Isto pode ser debido á maior VCS aplicada na unidade FV.

O resultado de  $\text{VCO}_2$  total e exóxena foi preto de 3 veces máis elevada na columna FV que na FH. Con todo, mentres que a taxa de transferencia de oxíxeno superficial (VTOS, ou do inglés Surface Oxygen Transfer Rate, SOTR) caeu no rango esperado na columna

FV (Vázquez et al., 2013), a VTOS na columna FH foi maior que os valores esperados para o funcionamento normal dos humidais de FH. A explicación a isto pode ser que durante a respirometría, a unidade FH sofre un forte cambio nas condicións redox en relación ás condicións de operación ordinarias.

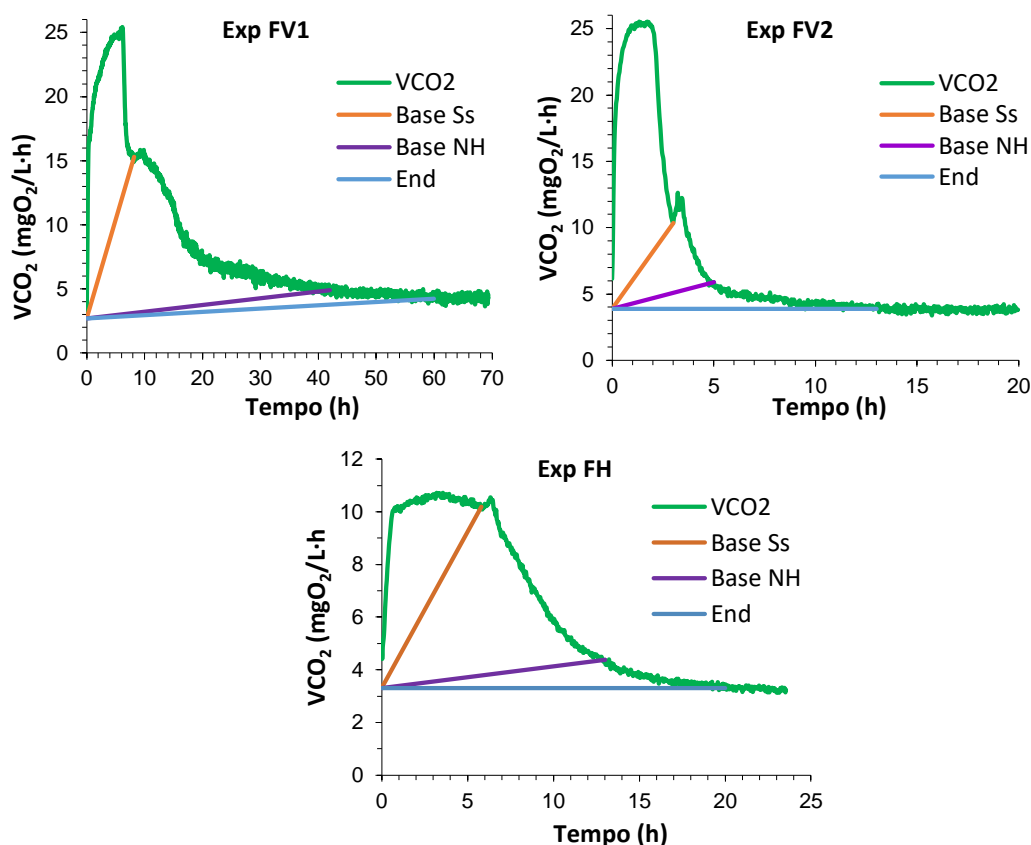


Figura 2. Respirogramas obtidos nas columnas FV e FH, distinguindo áreas relativas aos distintos substratos compoñentes de auga residual real (S<sub>s</sub> e S<sub>NH</sub>).

A demanda de oxíxeno (DO) total foi maior na experiencia FV1 debido a unha maior concentración en DQO pero sobre todo en amoníaco. Os experimentos permiten obter a demanda de oxíxeno causadas por tres compoñentes principais: materia orgánica facilmente biodegradable, materia orgánica lentamente biodegradable, e nitróxeno nitrificable, con valores absolutos e relativos indicados na Táboa 2. Porén, os criterios gráficos para identificar as areas correspondentes a cada substrato non están moi claros, existindo na bibliografía diferentes prácticas ao respecto. Por tanto, non podemos asignar moita precisión a estes resultados que indican un 51-81% da materia orgánica facilmente biodegradable (e por diferenza até 100%, un 19-49% de materia orgánica lentamente biodegradable), e unha demanda de oxíxeno debida ao nitróxeno que vai do 21 ao 59% da DO total. Porén, os datos obtidos concordan co feito de que se trata dunha auga residual suplementada con vinagre, o cal contén en case un 100% DQO facilmente biodegradable (ácido acético).

**Táboa 2. Parámetros aplicados nas respirometrías en columnas FV e FH con operación en paralelo.**

	FV1	FV2	FH
Tempo tras a posta en marcha da columna (d)	18	72	90
Volume ARU engadida (= $V_L = V_s$ , L)	1,570	1,625	4,00
DQO inicial (mg/L)	354	220	265
SST iniciais (mg/L)	nd	8	13
pH inicial	7,1	6,9	7,0
Caudal recirculación (L/h)	5,70	5,76	5,76
TRH (h) = $V_L/Q$	0,28	0,28	0,69
DQO eliminada (mgO <sub>2</sub> /L)	299	204	211
VCO <sub>2m</sub> (mgO <sub>2</sub> /L·h)	25,41	25,52	10,71
VCO <sub>2end2</sub> (mgO <sub>2</sub> /L·h)	4,25	3,87	3,31
OD total (= $\Delta O_2$ total, mg O <sub>2</sub> /L)	314,54	66,17	67,25
$\Delta O_2$ m.o. rápidamente biodegradable (mg O <sub>2</sub> /L)	96,98	42,20	19,59
$\Delta O_2$ m.o. lentamente biodegradable (mg O <sub>2</sub> /L)	30,97	10,03	18,92
$\Delta O_2$ m.o. (total) (mg O <sub>2</sub> /L)	127,95	52,23	38,51
S <sub>s</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)	227	165	107
DQO rapidamente biodegradable (%DQO eliminada)	75,8	80,80	50,87
DQO lentamente biodegradable (%DQO eliminada)	24,2	19,20	48,13
$\Delta O_2$ nitrificación (mg O <sub>2</sub> /L)	186,49	13,94	28,74
% $\Delta O_2$ nitrificación (sobre $\Delta O_2$ total)	59,3	21,06	42,7
Y <sub>H</sub> (gDQO-B/gDQO-S)	0,572	0,744	0,817
$\mu_H$ (h <sup>-1</sup> ) (tramo inicial)	0,266	0,183	0,064
X <sub>H</sub>	128	406	746
b <sub>H</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,001	0,011	0,021
S <sub>s</sub> /X <sub>H</sub> <sup>a</sup>	1,77	0,40	0,14
VCO <sub>2Sm</sub> , exo (gO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> ·d)	119,9	119,4	46,1
VSEm (g DQO/m <sup>2</sup> ·d)	280,3	467,1	252,2

<sup>a</sup> Obtido S<sub>s</sub> como  $\Delta O_2$  m.o. rapidamente biodegradable/(1-Y<sub>H</sub>)

O rendemento heterotrófico Y<sub>H</sub>, aínda que variable, sitúase arredor do valor estándar de 0,67 g DQO-B/g DQO-S (Andreottola et al., 2007). Pero os valores típicos acostuman variar dependendo do tipo de substrato, como indica Henze et al. (2008) diferenciando entre substratos con azucre (0,7 g DQO-B/g DQO-S) e sen azucre (0,6 g DQO-B/g DQO-S). As velocidades específicas de crecemento iniciais son claramente maiores en FV que en FH, estando condicionadas por unha maior concentración de biomasa heterotrófica en FH, aínda que esta aparece menos activa que a biomasa heterotrófica de FV. Estes



valores de  $\mu_H$  son inferiores aos indicados como típicos por Henze et al. (2008) para cultivos bacterianos heterotróficos aerobios (0,35-0,55 h<sup>-1</sup>, sendo maiores en presenza de azúcares). O coeficiente de decaemento observado ( $b_H$ ) foi moi baixo en FV1, mentres que nos experimentos FV2 e FH caeu dentro do rango de 0,005-0,025 h<sup>-1</sup> indicado por Andreottola et al. (2002).

A concentración de biomasa heterotrófica creceu en FV desde a primeira experiencia (día 18 de operación, 128 mg DQO-B/L) até a segunda experiencia (día 72 de operación, 432 mg DQO-B/L).  $X_H$  foi maior en FH aos 90 días de operación que en FV aos 72 días de operación. Este valor de  $X_H$  en FH podería estar sobreestimado, e de forma simultánea  $\mu_H$  infraestimado, debido á baixa relación  $S_s/X_H$  neste experimento. Este problema ten sido posto de manifesto por Spérandio and Etienne (2000) para valores de  $S_s/X_H$  da orde de 0,25.

### 3.2 Experimentos con ácido acético na columna FV

A columna FV da sección 3.1, a continuación, foi utilizada para estudar adicionalmente o potencial e a precisión deste método respirométrico. Realizáronse oito experiencias respirométricas con concentracións de substrato de 214 a 1560 mg DQO/L (engadido como acetato). Os resultados de experimentos seleccionados móstranse na Figura 3a e na Táboa 3. A Táboa 3 inclúe a media para 3 experimentos con concentración de  $S_s$  arredor de 500 mg DQO/L e as Figuras 3b a 3d a evolución de diversos parámetros coa concentración de substrato.

Obtivéronse con precisión a  $VCO_2$  máxima heterotrófica e os rendementos heterotrófico ( $Y_H$ ) e de almacenamento ( $Y_{H\text{ STO}}$ ), porén, non en todos os casos se chegou a atinxir o final da degradación do substrato exógeno, o que fai que  $VCO_2$  end2 sexa nalgúns casos elevada. Isto afecta ao rendimento  $Y_H$ , para o que se obtiveron valores lixeiramente superiores aos que se obterían no caso de completar os experimentos até a eliminación completa do substrato  $S_s$ .

A  $VCO_{2m}$  (tot e exo) aumentou co substrato  $S_s$  até valores de  $S_s$  arredor de 500 mg DQO/L, e logo decreceu, mentres que a taxa de crecemento específica ( $\mu_H$ ) decreceu co aumento de  $S_s$  (Fig. 3a,b). Os 3 ensaios con concentración  $S_s$  de  $525 \pm 9$  mg DQO/L ofreceron valores similares de  $VCO_{2m}$  ( $37,5 \pm 3,1$  mg O<sub>2</sub>/L·h),  $Y_H$  ( $0,74 \pm 0,08$  g DQO-B/g DQO-S),  $Y_{H\text{ STO}}$  ( $0,84 \pm 0,02$  g DQO-B/g DQO-S) e  $\mu_H$  ( $0,046 \pm 0,011$  h<sup>-1</sup>) (Táboa 3). Ademais, tanto  $Y_H$  como  $Y_{H\text{ STO}}$  resultaron constantes e independente de  $S_s$ , cun valor medio de  $0,74 \pm 0,05$  e  $0,84 \pm 0,02$  g DQO-B/g DQO-S, respectivamente, en todo o rango de 214 a 1590 mg DQO/L (n= 8).

O cálculo da velocidade específica de crecemento heterotrófico  $\mu_H$  presentou dificultades, xa que o  $\ln(VCO_2)$  fronte ao tempo non sempre resultou constante en todo o tramo de aplicación. A concentracións de  $S_s$  inferiores a 530 mg/L, a pendente do  $\ln(VCO_2)$  decrecía no tempo, de tal forma que se obtivo un rango de valores (Táboa 3), desde  $\mu_H$  inicial a  $\mu_H$  final (esta próxima ao punto de  $VCO_2$  máxima). Para concentracións de  $S_s$  elevadas, este comportamento cambiou, como xa adianta a forma da curva da

respirometría. Os experimentos Ss 3 e Ss 4 (Figura 3a) mostran que a curva de  $VCO_2$  atinxe un máximo inicial e comeza a descender, orixinando nesa situación valores nulos ou negativos de  $\mu_H$ . A continuación, a  $VCO_2$  recupérase progresivamente, orixinando unha zona de crecemento exponencial, pero con valores de  $\mu_H$  inferiores aos rexistrados nos experimentos con concentracións Ss máis baixas. Este comportamento pode explicarse considerando inhibición por substrato a elevadas concentracións de Ss e recuperación parcial a medida que se consume o substrato. Nas experiencias 3 e 4 (Táboa 3) a inhibición ocorre por encima de 750 mg DQO/L. Na experiencia 4, o mínimo da curva VCO observado entre o máximo inicial e o máximo final, tras a adición de Ss, corresponde a unha concentración de 800 mg DQO/L, aumentando a velocidade de crecemento ( $\ln VCO$ ) a concentracións inferiores para facerse constante por debaixo dos 750 mg DQO/L. Na experiencia 3, o mínimo rexístrase a unha concentración de 1200 mg DQO/L, observándose entre 1200 e 750 mg DQO/L un crecemento discreto da biomasa, de arredor do 20% do máximo obtido para concentracións inferiores a 750 mg DQO/L.

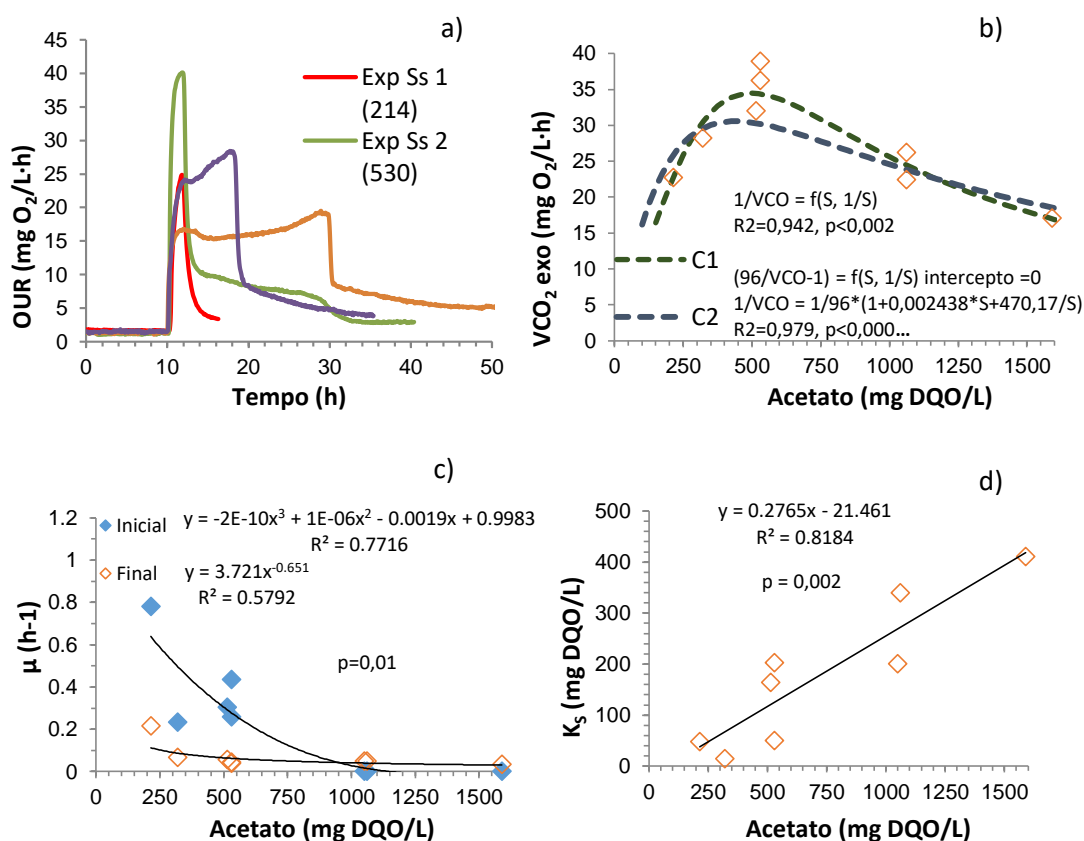


Fig. 3. (a) Exemplo dalgunhas curvas respirométricas (Ss 1 a Ss 4, na orde en que se realizaron), (b, c, d) efecto da concentración de substrato Ss (acetato) sobre diversos  $VCO_{2m}$  (b),  $\mu_{H,m}$  (c), e  $K_{S,A}$  (d).

Así,  $\mu_H$  diminuíu ao aumentar a concentración de Ss (Figura 3c). Para unha concentración Ss de 525 mg DQO/L,  $\mu_H$  variou no rango de 0,05-0,33 h<sup>-1</sup>, un rango similar ao encontrado na mesma columna con auga residual (Táboa 2), e por tanto inferior aos valores de referencia (0,35-0,55 h<sup>-1</sup>) indicados por Henze et al. (2008).

**Táboa 3. Parámetros respirométricos en 4 experiencias con substrato Ss en unha columna de FV.**

Experimento <sup>a</sup>	Exp Ss 1	Exp Ss 2	Exp Ss 3	Exp Ss 4	Media 1 <sup>b</sup>
Ss (HAc) mg DQO/L	214	530	1590	1060	525±9
VCO <sub>2</sub> end1 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	1,64	1,18	1,38	1,52	1,68±0,43
VCO <sub>2</sub> end2 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	3,67	2,88	5,23	3,95	Nv
VCO <sub>2</sub> m tot (mg O <sub>2</sub> /L·h)	24,81	40,15	19,46	28,46	37,5±3,1
VCO <sub>2</sub> m exo* (mg O <sub>2</sub> /L·h)	22,72	38,86	17,14	26,19	35,7±3,5
Y <sub>STO</sub> (g DQO-B/g DQO-S)	0,814	0,863	0,854	0,841	0,844±0,018
Y <sub>H</sub> (g DQO-B/g DQO-S)	0,79	0,641	0,752	0,778	0,735±0,084
K <sub>s</sub> (mg/L) Monod**	48,4	51,1	410,9	201,1	140±79
μ <sub>H</sub> inicial-final (h <sup>-1</sup> )	0,784- 0,215	0,434- 0,039	0-0,035	0-0,050	0,332±0,091- 0,047±0,009
X <sub>H</sub> inicial (mg DQO-B/L)	77	139	1442	939	342±203
VCO <sub>2</sub> Sm,exo (g O <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> ·d)	124,9	214,6	94,1	144,1	196,6±19,2
VSEm (g DQO/m <sup>2</sup> ·d)	594,6	596,0	379,3	649,2	781,8±206,0
Ss/X <sub>H</sub>	2,8	3,8	1,1	1,1	1,5
b <sub>H</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,018	0,004	~0	~0	Nv

<sup>a</sup> Experimentos Ss 1 a Ss 4 correspóndense coas curvas mostradas na Fig. 3. <sup>b</sup> Media 1 corresponde a tres experimentos feitos a concentracións similares de Ss incluíndo Exp. Ss 2. \* VCO<sub>2</sub>m exo = (VCO<sub>2</sub> tot – VCO<sub>2</sub>end) max. nv: cálculo non viábel.

O modelo de Monod non é directamente aplicable aos datos de VCO<sub>2</sub> a partir das experiencias individuais de degradación heterotrófica de acetato. Xa que logo da VCO<sub>2</sub> máxima, a pendente da curva de VCO<sub>2</sub> adoita diminuír co tempo, o modelo de Monod sen embargo prevé un aumento da pendente co tempo e os valores derivados non teñen sentido físico. Pola contra, os valores de K<sub>s</sub> na Táboa 3 e na Fig. 3d obtivéronse como o valor correspondente a ½ Ss VCO<sub>2</sub>m, directamente desde a curva VCO<sub>2</sub>. Os valores de K<sub>s</sub> obtidos aumentaron coa concentración de Ss (ver Fig. 3d), mentres que un valor medio de 140 ± 79 mg DQO / L foi obtido para Ss de 525 ± 9 mg DQO / L (Táboa 3).

O coeficiente de decaemento b<sub>H</sub> non sempre se puido calcular, xa que nalgúns experimentos non se acadou a zona de respiración endóxena. Os datos disponibles indican que polo xeral era moi baixo, aínda que variou no rango de 0-0,05 h<sup>-1</sup>. Desta forma, quedarían dentro do rango de 0,005 – 0,025 h<sup>-1</sup> indicado por Andreottola et al. (2002)

Como se indica na Fig. 3c, as concentracións elevadas de Ss causaron inhibición, obténdose máxima VCO<sub>2</sub>m a 500 mg DQO / L, e diminuíndo a medida que Ss aumenta ata 1560 mg DQO / L. Mediante regresión múltiple, tratouse de buscar unha correlación

para  $VCO_{2m}$  en función de  $S_s$ . Para a correlación C1 da Figura 3b aplícase un modelo Monod con inhibición por substrato:

$$VCO_2 = VCO_{2m} \cdot S / (K_s + S + S^2/K_i)$$

Que se pode escribir como:

$$1/VCO_2 = 1/VCO_{2m} + (K_s/VCO_{2m}) \cdot (1/S) + 1/(K_i \cdot VCO_{2m}) \cdot S$$

ecuación para a que obtemos os parámetros por correlación múltiple de  $1/VCO_2$  como función de  $(S, 1/S)$ . O resultado do axuste dá un intercepto negativo ( $=1/VCO_{2m}$ ), polo que os valores derivados para as constantes carecen de significado.

A ecuación modificouse da seguinte maneira:

$$VCO_{2m}/VCO_2 - 1 = K_s \cdot (1/S) + (1/K_i) \cdot S$$

que se pode someter a regresión como  $(VCO_{2m}/VCO_2 - 1)$  en función de  $(S, 1/S)$ , dando valores a  $VCO_{2m}$  e facendo intercepto = 0. Esta correlación ensaiouse para  $VCO_{2m} = 40, 60, 96$  e  $120 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ , de tal forma que o axuste mellora moito a medida que aumenta  $VCO_{2m}$  até 96 e xa pouco máis até 120. O axuste para  $VCO_{2m} = 96 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{d}$ , correlación C2 na Figura 3b, deu os seguintes parámetros:

$$1/VCO_2 = 1/96 \cdot (1 + 0,002438 \cdot S + 470,17/S)$$

$$R^2 = 0,979, R^2 \text{ adx.} = 0,808, F = 137 \text{ (} p=0,000 \text{)}$$

$$K_i = 1/0,002438 = 410 \text{ mg/L (} p=0,000 \text{)}$$

$$K_s = 470 \text{ mg/L (} p=0,001 \text{)}$$

Tanto  $F$  como os coeficientes son altamente significativos e presentan significado físico. Segundo este modelo, a  $VCO_{2m}$  acadaría os  $96 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{d}$ , triplicando os valores máximos obtidos experimentalmente,  $K_s$  tamén resultaría elevada ( $470 \text{ mg DQO/L}$ ) e  $K_i$  tomaría o valor de  $410 \text{ mg DQO/L}$ .

### 3.3 Experimentos con amonio na columna FV

Realizáronse 4 experimentos con amonio como substrato, intercalados entre os experimentos con acetato a concentración non superior a  $530 \text{ mg/L}$  descritos na sección 3.2. As curvas de  $VCO_{2\text{exo}}$ , unha vez descontada a  $VCO_{2\text{end}}$ , móstranse na Figura 4 e os parámetros derivados, na Táboa 4.

A concentración de amonio variou de  $10$  a  $28 \text{ mg N/L}$ . Só dous parámetros, a  $VCO_2$  máxima autotrófica ( $VCO_{2m,A}$ ; nitrificación) e a constante de saturación media se obtiveron con precisión (Táboa 4).  $VCO_{2m,A}$  mantívose no rango de  $4,9$ - $6,7 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ , cunha media de  $6,1 \pm 0,8 \text{ mg O}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ .

O modelo de Monod é de aplicación directa para o proceso de nitrificación de cada experiencia individual, dando unha  $K_{S,A}$  entre  $0,9$  e  $5,8 \text{ mg NH}_4^+-\text{N/L}$ , e de  $2,4 \pm 1,1 \text{ mg de NH}_4^+/\text{L}$  de media. Con todo, o relativamente alto valor de  $K_{S,A}$  obtido para o Exp.  $S_{NH}$  3 pode ser debido á inhibición causada por un pH baixo, como se discute abaixo. Valores

algo máis baixos foron obtidos cando o cálculo de  $K_{S,A}$  se fixo como a concentración de  $\text{NH}_4^+$  para  $\frac{1}{2} \text{VCO}_{2m,A}$ , excepto para Exp.  $S_{\text{NH}} 3$ .

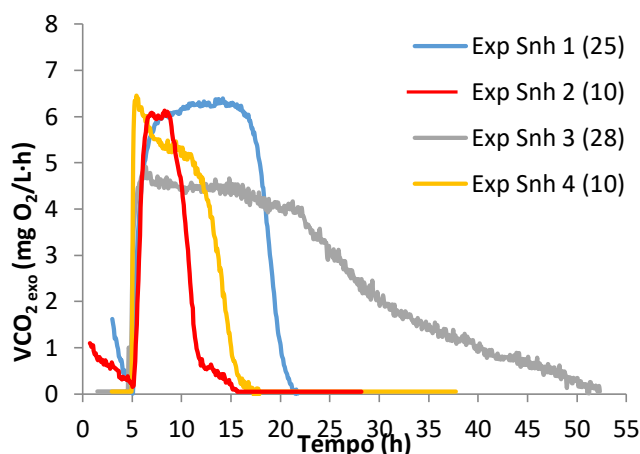


Fig. 4. Curvas de  $\text{VCO}_2$  exo para diversos experimentos con amoníaco como substrato. Entre parénteses a concentración de amonio engadida (mg N/L).

A demanda de oxíxeno para a nitrificación expresada como CEO (consumo específico de oxíxeno) varía de 3,0 a 4,5 mg  $\text{O}_2/\text{mg NH}_4^+$  causando unha grande variación de rendimento autotrófico  $Y_A$  (0,1-1,6 g DQO-B/g N). Os datos mostran un incremento na demanda de oxíxeno desde as primeiras experiencias ás últimas, o que se podería deber a un cambio progresivo na flora microbiana e nos procesos de conversión de nitróxeno, resultado de someter o sistema a condicións de non limitación de oxíxeno durante os sucesivos experimentos respirométricos.

Só nos dous primeiros experimentos se puido calcular a velocidade de crecemento e a concentración de biomasa autotróficos, con valores moi similares que deron medias de  $\mu_A$  de  $0,014 \pm 0,001 \text{ h}^{-1}$  e de  $X_A$  de  $26,8 \pm 2,3 \text{ mg DQO-B/L}$ . Morvannou et al. (2011) obtivo un valor de  $\mu_A$  de  $0,037 \text{ h}^{-1}$  para humidais FV mediante respirometría en fase sólida, próximo ao valor de referencia para as bacterias oxidantes de amonio (AOB, ammonia oxidizing bacteria) de  $0,038 \text{ h}^{-1}$  dado por Henze et al. (2008). Os valores obtidos no presente estudo son claramente inferiores.

Non se calculou o coeficiente de decaemento autotrófico ( $b_A$ ), xa que non se pode obter deste tipo de experimentos nos que a caída da velocidade de respiración endóxena está dominada pola presenza maioritaria de biomasa heterotrófica.

A acidificación do medio, que resulta do proceso de nitrificación, foi probablemente a causa da redución da  $\text{VCO}_2$  tras o máximo inicial nas experiencias  $S_{\text{NH}} 3$  e  $S_{\text{NH}} 4$ . Por esta razón, nestes experimentos non se puido calcular a velocidade de crecemento nin a concentración de biomasa autotrófica. A maior cantidade de amoníaco e maior caída do pH na experiencia  $S_{\text{NH}} 3$  (Táboa 4) explicaría tamén a lenta caída da  $\text{VCO}_2$  na zona de esgotamento de substrato e o valor máis elevado de  $K_{S,A}$ .

Brouwer et al. (1998) obtiveron respirogramas para lodos activados cunha cola dobre de nitróxeno, o que significa que a taxa de conversión do nitrito en nitrato (bacterias oxidantes de nitritos) é menor que a amoníaco en nitrito (AOB) e, en consecuencia, o nitrito é acumulado. Unha cola dobre de nitróxeno non se observou no presente estudo, así a oxidación de amoníaco foi o paso limitante.

**Táboa 4. Parámetros respirométricos en 4 experiencias con substrato  $S_{NH}$  en unha columna de FV.**

	Exp $S_{NH}$ 1	Exp $S_{NH}$ 2	Exp $S_{NH}$ 3	Exp $S_{NH}$ 4	Media
$S_{NH}$ (mgN/L)	25	10	30	10	18,8±10,3
pH final	nv	6,6	5,6	6,5	6,2±0,6
VCO <sub>2</sub> end1 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	3,67	3,09	0,78	0,45	2,0±1,6
VCO <sub>2</sub> m tot (mg O <sub>2</sub> /L·h)	9,39	9,51	5,79	6,84	7,9±1,9
VCO <sub>2</sub> m exo* (mg O <sub>2</sub> /L·h)	6,35	6,66	4,86	6,41	6,1±0,8
VCO <sub>2</sub> end2 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	2,75	2,92	1,94	0,72	2,1±1,0
CEO (mg O <sub>2</sub> /mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N)	3,24	3,01	3,92	4,48	3,66±0,670
Y <sub>A</sub> (g DQO-B/gN)	1,33	1,56	0,66	0,09	0,91±0,67
K <sub>s,A</sub> (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/L) **	2,50 (1,06)	2,47 (1,19)	3,53 (6,12)	0,91 (0,91)	2,4±1,1 (2,3±2,5)
μ <sub>A</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,014	0,013	nv	nv	0,014±0,001
X <sub>A</sub> (mg DQO-B/L)	25,1	28,4	nv	nv	26,8±2,3
VCO <sub>2</sub> Sm,exo (g O <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> ·d)	34,9	36,6	26,7	35,3	33,4±4,5
NVSE (g N/m <sup>2</sup> ·d)	10,8	12,2	6,5	7,9	9,4±2,6

\* VCO<sub>2</sub>m exo = (VCO<sub>2</sub> tot – VCO<sub>2</sub> end) max. \*\* para  $S_{NH}$ , (K<sub>s</sub>) primeiro calculada mediante aplicación directa do modelo Monod, entre parénteses, calculada para VCO<sub>2</sub>m,A/2. . nv: cálculo non viábel.

### 3.4 Respirometría en matraz

Despois das experiencias descritas nos apartados 3.1 a 3.3, obtívose unha mostra de 50 g de medio filtrante da columna FV, representativa das dúas capas MF1 e MF2 (descritas no apartado 2.1.1.), que se empregou para realizar unha serie de ensaios respirométricos en matraz, cun volume líquido de 500 mL (Fig. 1). Así, a concentración de medio filtrante no matraz foi de 0,10 kg/L líquido. A cantidade total de medio na columna era de 3150 g, o volume líquido nas respirometrías era de 1600 mL, e por tanto, a concentración de medio na columna era de 1,97 kg medio/L líquido. A concentración de medio no matraz foi 19,7 veces menor que na columna. Isto facilita acadar valores da relación S/X máis elevados e condicións de non limitación por substrato durante suficiente tempo de proceso, así como un crecemento significativo.

Realizáronse 4 experimentos sucesivos (Exp.1 a Exp. 4), alternando acetato e amonio como substratos simples. Os resultados obtidos móstranse na Fig. 5 e na Táboa 5. As dúas respirometrías con HAc mostraron un incremento claro da VCO<sub>2</sub>t, debido ao crecemento da biomasa heterotrófica, como consecuencia de empregar unha alta

relación S/X. A  $VCO_{2m}$  inicial foi de  $1,55 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ . Esta  $VCO_{2m}$  multiplicada polo factor de 19,7 foi equivalente a unha  $VCO_{2m}$  na columna de  $30,5 \text{ mgO}_2/\text{L}\cdot\text{h}$ , valor equivalente ao medido previamente (Fig. 3). O mesmo podemos dicir de  $Y_{H-STO}$  e  $Y_H$ , con valores no método matraz moi similares aos obtidos directamente na columna. Tamén os valores de  $\mu_H$  quedan dentro do rango obtido nas columnas, pero obtidos neste método con maior precisión. Ao igual que nas columnas,  $\mu_H$  decrece ao aumentar a concentración de biomasa. A partir da  $VCO_{2m}$  inicial (isto é, antes de que ocorra crecemento no matraz), obtense unha  $VCO_{2Sm}$  de  $139,8 \text{ g O}_2/\text{m}^2\cdot\text{d}$  e unha  $VSEm$  de  $575,2 \text{ g DQO}/\text{m}^2\cdot\text{d}$ , moi próximas ás obtidas na columna cunha concentración similar de substrato (Exp Ss 1, Táboa 3).

Tamén a concentración de biomasa heterotrófica inicial,  $23,4 \text{ mg DQO-B/L}$ , equivale a  $461 \text{ mg DQO-B/L}$  na columna, valores no rango dos obtidos previamente (Táboa 3). Debido ao crecemento, a biomasa heterotrófica incrementouse desde 23 a  $108 \text{ mg DQO-B/L}$  durante o experimento FV M1, e obtense unha continuidade co experimento FV M2, con  $X_H$  inicial de  $107 \text{ mg DQO-B/L}$  e  $X_H$  final de  $207 \text{ mg DQO-B/L}$ .

Desta forma, os resultados obtidos indican que o método simple da respirometría no matraz ofrece os mesmos resultados que o método da columna. A obtención de todos os parámetros no método do matraz é moi precisa, obtendo linealidade para o cálculo de  $\mu_H$  en todo o rango de incremento da  $VCO_2$  (Fig. 5). Con todo, no experimento 3 da Fig. 5 dispomos unicamente de 4 datos no tramo de linealización, polo que se considera conveniente reducir o intervalo de medición da  $VCO_2$ , podendo facelo cada 0,5 h en vez de cada hora, e incrementar a concentración de substrato ao rango de  $300 \text{ mg DQO/L}$ . A relación  $S_s/X_H$  inicial foi de 8,5 e 1,9 nos experimentos Ss M1 e Ss M2, suficiente para medir o crecemento con suficiente precisión.

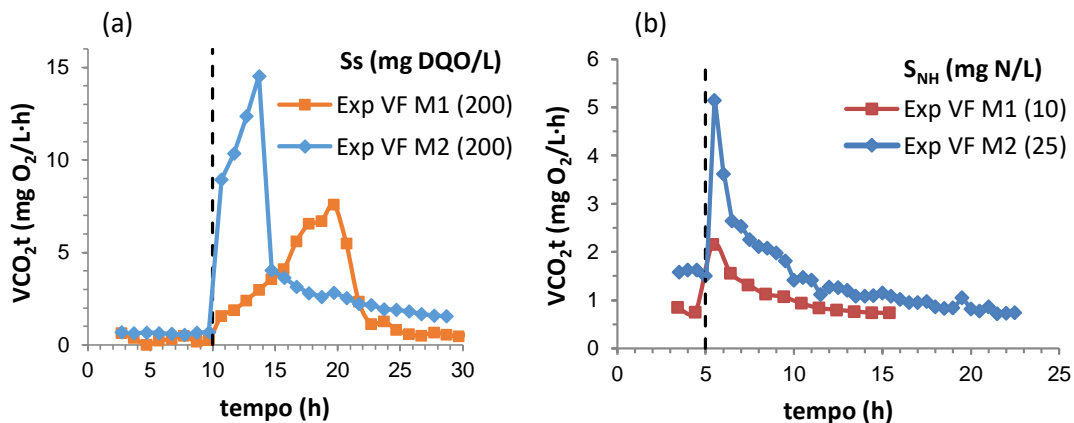


Fig. 5. Gráficas de respirometrías en matraz con substrato  $S_s$  (a) e  $S_{NH}$  (b). Adición de substrato ás 10 h (a) e ás 5 h (b). Lenda: entre parénteses concentración de substrato engadido.

Táboa 5. Parámetros respirométricos en 4 experiencias con substratos Ss e S<sub>NH</sub> en matraces con mostras de medio filtrante de FV.

	Exp.1: FV-M Ss	Exp.2 FV-M S <sub>NH</sub>	Exp.3: FV-M Ss	Exp.4: FV-M S <sub>NH</sub>
S (mg DQO/L, mgN/L) <sup>a</sup>	200	10	200	25
VCO <sub>2</sub> end 1 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	0,26	0,75	0,64	1,50
VCO <sub>2</sub> end 2 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	0,45	0,74	1,57	0,86
VCO <sub>2m</sub> tot (mg O <sub>2</sub> /L·h)	7,17	2,16	14,54	5,14
VCO <sub>2m</sub> exo (mg O <sub>2</sub> /L·h)	6,66	1,42	13,65	3,67
VCO <sub>2m</sub> exo inicial (mg O <sub>2</sub> /L·h)	1,29	1,42	6,96	3,67
VCO <sub>2m</sub> tot inic. (mg O <sub>2</sub> /L·h)	1,55	2,16	7,6	5,14
Área exo (mg O <sub>2</sub> /L)	48,55	3,80	60,15	6,63
ΔO <sub>2</sub> /S (g O <sub>2</sub> /g DQO, g O <sub>2</sub> /g N)	0,243	0,38	0,301	0,265
Y <sub>STO</sub> (g DQO-B/g DQO-S)	0,812	-	0,816	-
Y <sub>H</sub> (g DQO-B/gDQO-S),	0,757	-	0,699	-
Y <sub>A</sub> g DQO-B/g N)	-	4,19	-	4,31
Ks (mg DQO/L)	(17,7)	nv	(60,8)	Nv
μ <sub>H</sub> , μ <sub>A</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,206	nv	0,164	Nv
X <sub>H</sub> , X <sub>A</sub> inicial-final (mg DQO-B/L)	23,4-108,0	nv	107,4-206,5	Nv
VCO <sub>2Sm</sub> (g O <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> ·d) <sup>b</sup>	139,8-721,6	153,9	754-1479	397,6
VSE (g DQO/m <sup>2</sup> ·d, g N/m <sup>2</sup> ·d) <sup>b</sup>	575,2-2970	404,9	2505-4914	1529
Ss/X <sub>H</sub> inicial	8,5	nv	1,9	Nv

<sup>a</sup> Substratos: HAc (Ss) e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (S<sub>NH</sub>). <sup>b</sup> Para Exp.1 e Exp. 3 danse os valores obtidos a partir de VCO<sub>2m</sub> exo inicial e máxima en cada experimento. nv: cálculo non viábel.

No que respecta ás respirometrías con amonio en matraz, os resultados non se poden considerar definitivos. O valor teórico de ΔO<sub>2</sub>/S<sub>NH</sub> para nitrificación é de 4,33 mg O<sub>2</sub>/mg N, mais en ambos experimentos obtense menos do 10% deste valor, o que dá lugar a un rendemento anormalmente elevado. O pH final de 6,9 (Exp. 2) e 6,2 (Exp., 4) indica que non houbo problemas de acidificación importantes. Por outro lado, a posible volatilización de amoníaco polo efecto da aireación, nestas condicións de pH estarían minimizadas. As curvas de VCO<sub>2</sub> indican que xa ao comezo a concentración de amoníaco está próxima ao valor de Ks, xa que a VCO<sub>2</sub> máxima obtense ao comezo e á continuación decrece de forma acusada. Por isto, ademais, non foi posible calcular μ<sub>A</sub> nin X<sub>A</sub>.

Porén, os valores de VCO<sub>2m</sub> exo con amonio (1,4 e 3,7 mgO<sub>2</sub>/L·h en Exp. 2 e Exp. 4, respectivamente) foron claramente superiores aos previsibles, se temos en conta a concentración de biomasa no matraz en relación á columna. As VCO<sub>2</sub> equivalentes serían de 28 (Exp.2) e 74 (Exp.4) mgO<sub>2</sub>/L·h, cando na columna a VCO<sub>2m</sub> exo con amoníaco variou no rango de 6-16 mgO<sub>2</sub>/L·h. Dado que o número de experimentos no matraz foi moi limitado, será necesaria máis investigación para resolver estes aspectos. Por outra banda, o coeficiente de decaemento b<sub>H</sub> non se determinou nestes experimentos.



### 3.5 Aplicación da respirometría a un sistema de dobre etapa FV1+FV2

Despois de catro meses de funcionamento, o sistema FV1 + FV2 descrito na sección 2.1.3, repousou durante 4 días e a continuación foi determinada a taxa de consumo de oxíxeno endógeno ( $V_{CO_2}$  end, en modo de recirculación pero sen substrato engadido). A  $V_{CO_2}$  inicial foi de 9,8 e 1,5  $mg\ O_2/L\cdot h$  para FV1 e FV2 respectivamente. A  $V_{CO_2}$  estabilizouse en preto de 6  $mg\ O_2/L\cdot h$  para FV1 e preto de 0 para FV2, despois de 3 (FV1) e 1,5 (FV2) h de aireación. O consumo de oxíxeno acumulado para acadar a estabilización foi de 5,9 (FV1) e 1,1 (FV2)  $mg\ O_2/L$ , o que é unha medida da DQO lentamente biodegradable presente en cada unidade tras o período de repouso.

A continuación móstranse as sucesivas experiencias respirométricas que foron realizadas en ambas as columnas, como se indica na Figura 6. Estes incluíron unha primeira experiencia con ácido acético e nutrientes como substrato ( $S_{AcH+nut}$ , Exp. 1), seguido por unha experiencia con auga residual sintética ( $S_{ARS}$ , Exp. 2), un terceiro experimento con amoníaco ( $S_{NH}$ , Exp. 3) e unha experiencia final con ácido acético e nutrientes ( $S_{AcH+nut}$ , Exp. 4). En todas as experiencias indicadas nas Fig. 6, o pH final estivo entre 7,0 e 7,6, de modo que non tivo lugar a acidificación do medio durante estas experiencias.

Os resultados (Fig. 6a, Táboa 6) mostran claramente a  $V_{CO_2}$  inicial moito máis elevada na primeira columna (26  $mg\ O_2/L\cdot h$ ) en comparación coa da segunda columna (2  $mg\ O_2/L\cdot h$ ). Con todo, mentres que non se apreciou crecemento na columna FV1, na columna FV2 sí se obtivo unha elevada taxa de crecemento ( $\mu_H = 0,158\ h^{-1}$ ,  $R^2 = 0,993$ ). O crecemento heterotrófico en FV2 continuou durante a Exp. 4 (Fig. 6d,  $\mu_H = 0,074\ h^{-1}$ ,  $R^2 = 0,994$ ), acadando unha  $V_{CO_2}$  de 27  $mg\ O_2/L\cdot h$ , próximo ao da columna FV1. Sen embargo nas experiencias con ARS non se apreciou crecemento heterotrófico debido á limitación do substrato, pero en cambio sí se mostrou crecemento de biomasa autotrófica (nitrificación).

En todas as experiencias con acetato (Exp. 1 e Exp. 4, táboa 6) obtivéronse valores razoables de  $Y_{H,STO}$  (0,66-0,75 g DQO-B/g DQO-S), pero baixos para  $Y_H$  (0,49-0,65 g DQO-B/g DQO-S).  $K_S$  variou entre 115 e 211  $mg\ DQO/L$  en ambas columnas. A biomasa heterotrófica,  $X_H$ , calculouse só na columna FV2, aumentou de 24  $mg\ DQO-B/L$  no inicio da Exp. 1 até 366  $mg\ DQO-B/L$  ao remate da Exp. 4. Debido á maior  $V_{CO_2m}$  na columna FV1,  $X_H$  nesta columna pode ser probablemente máis elevada que a  $X_H$  final na columna FV2, e, polo tanto, en gran parte superior (polo menos nun factor de 10) que a  $X_H$  inicial na columna de FV2.

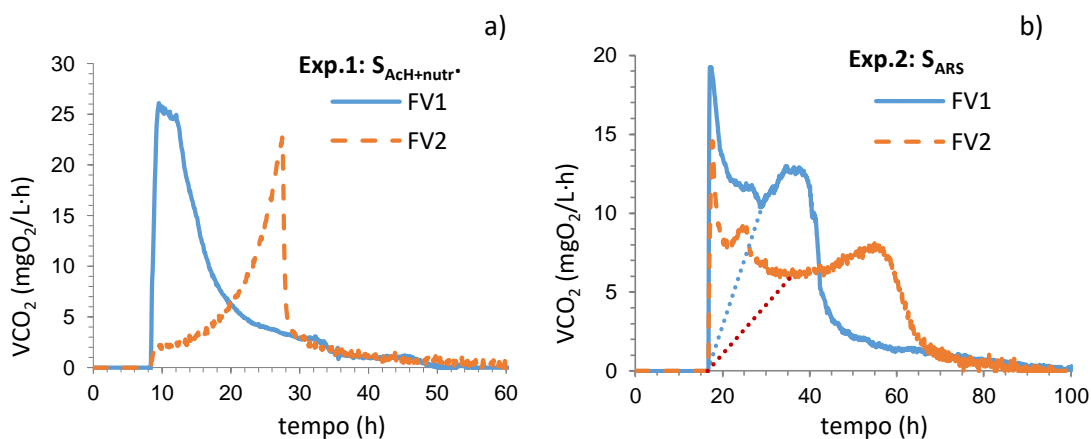
Os respirogramas obtidos cando se empregou ARS como substrato (substrato mixto) son congruentes cos resultados de respirogramas con substrato simple, aínda que a identificación de consumo de oxíxeno por microbiota heterotrófica e autotrófica non foi unha tarefa clara.

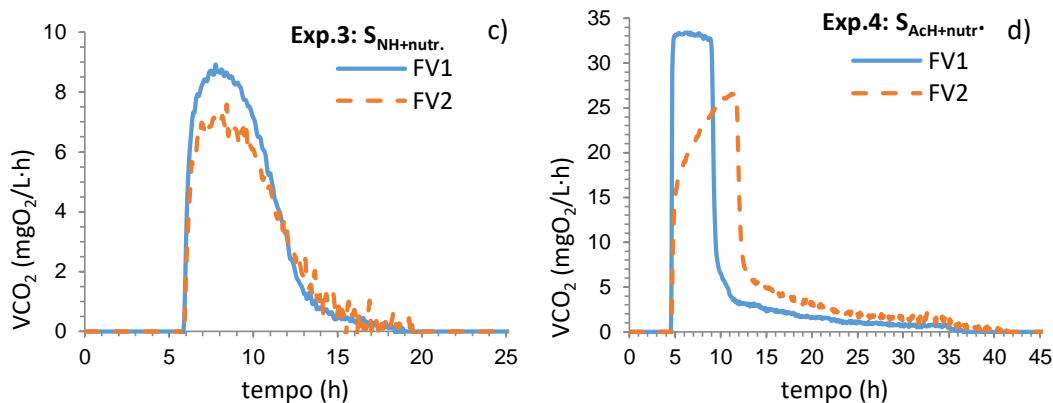
Nos experimentos con ARS obtívose a  $V_{CO_2m}$  de forma inmediata tras a adición de substrato, iniciándose a continuación un decrecemento acusado da  $V_{CO_2}$ . Esta forma da curva e o feito de que a  $V_{CO_2m}$  fose en ambas columnas inferior á obtida no Exp. 1, indica que existía limitación por substrato orgánico facilmente biodegradable. Tras este

decrecemento inicial observouse un primeiro repunte (segundo máximo), máis acusado en FV2 que en FV1, e finalmente un terceiro máximo claramente diferenciado en ambas columnas. O consumo total de oxíxeno foi de 384 (FV1) e 349 (FV2) mg/L, algo menor en FV2 debido quizás á menor actividade, maior tempo de degradación e maior crecemento relativo.

Podemos considerar que o máximo inicial nos respirogramas con ARS (Exp. 2) corresponde á degradación da fracción facilmente biodegradable, constituída por ácido acético e outros compoñentes en menor medida. Tamén o segundo máximo podería corresponder a fraccións facilmente degradables, aínda que non tanto como o acetato. O feito de obtermos un segundo máximo máis acusado en FV2 que en FV1 podería deberse á degradación destas fraccións, para as que loxicamente a columna FV1 estaría máis adaptada que a FV2. Esta distribución concorda co observado nas respirometrías realizadas na columna de FV con auga residual real suplementada con acetato (apartado 3.1). O terceiro máximo considerámolo determinado polo remate da fase exponencial nitrificante, quedando finalmente a cola dos respirogramas asignada á degradación da fracción lentamente biodegradable remanente. A división do respirograma en tres áreas (Ss, Snh e Xs) indícase na Figura 6b, e os parámetros resultantes danse na Táboa 6.

Esta interpretación distribúe dunha forma razoable o consumo total de oxíxeno entre a degradación heterotrófica e autotrófica, xa que se obtén un rendemento  $Y_H$  de 0,685-0,686 g DQO-B/g DQO-S, en ambos casos moi próximo ao valor de referencia (0,67 gDQO-B/gDQO-S, Andreottola et al., 2007), e un consumo de oxíxeno de 2,0-2,4 gO<sub>2</sub>/g N. Porén, a distribución do substrato orgánico entre as fraccións Ss e Xs depende non só da composición do substrato da ARS, senón tamén do sistema microbiano. Mentres o acetato contribúe cun 30% da DQO na ARS, a respirometría deu un Ss do 49,5% (FV1) e 73,1% (FV2). Por tanto, estes valores deben considerarse como relativos ao proceso global, incluída a nitrificación. A porcentaxe de DQO que sufriu almacenamento estimouse no 24% (FV1) e 17% (FV2), explicándose o valor máis alto en FV1 pola maior concentración de biomasa presente.





**Figura 6.** Respirogramas obtidos das columnas FV1 e FV2 en diferentes condicións: (a) Exp. 1: VCO<sub>2</sub> con acetato e nutrientes, (b) Exp. 2: VCO<sub>2</sub> con auga residual sintética, (c) Exp. 3: VCO<sub>2</sub> con amonio e nutrientes, (d) Exp. 4: VCO<sub>2</sub> con acetato e nutrientes.

A VCO<sub>2m</sub> autótrófica durante Exp. 2 (Fig. 6b) foi maior en FV1 (13,0 mg O<sub>2</sub>/L·h) que en FV2 (9,7 mgO<sub>2</sub>/L·h), indicando unha maior capacidade nitrificante total na primeira columna que na segunda. O rendimento autotrófico Y<sub>A</sub> de 2,1 (FV1) e 2,6 (FV2) g DQO-B/gN foi maior que o de referencia, como tamén se obtivo nas experiencias previas descritas na Sección 3.2. Observouse crecemento autótrófico en ambas columnas durante Exp. 2, dando valores precisos de μ<sub>A</sub> de 0,028 (FV1) e 0,017 (FV2) h<sup>-1</sup>, R<sup>2</sup>= 0,994), o cal conduciu a concentracións de biomasa autótrófica similares, de 26 (FV1) e 31 (FV2) mg DQO-B/L.

**Táboa 6. Parámetros respirométricos en 4 experiencias con substratos S<sub>s</sub>, S<sub>NH</sub> e S<sub>ARS</sub> en dúas columnas de FV dispostas en serie (FV1+FV2; apdo. 2.1.3.).**

	Exp.1: FV1 S <sub>s</sub>	Exp.1: FV2 S <sub>s</sub>	Exp.2: FV1 S <sub>ARS</sub>	Exp.2: FV2 S <sub>ARS</sub>	Exp.3: FV1 S <sub>NH</sub>	Exp.3: FV2 S <sub>NH</sub>	Exp.4: FV1 S <sub>s</sub>	Exp.4: FV2 S <sub>s</sub>
S (mg DQO/L, mgN/L) <sup>a</sup>	500	500	600	600	10	10	500	500
VCO <sub>2</sub> end 1 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	5,36	-0,2	2,7	0	3,2	0,44	3,21	0,30
VCO <sub>2</sub> end 2 (mg O <sub>2</sub> /L·h)	7,7	0,5	3,1	0,8	3,3	0,37	4,12	0,76
VCO <sub>2m</sub> tot (mg O <sub>2</sub> /L·h)	31,6	22,7	21,9	14,3	12,2	8,1	36,5	26,9
VCO <sub>2m</sub> exo (mg O <sub>2</sub> /L·h)								
-Heterotrófica	26,1	22,9	19,2	14,6	-	-	33,38	26,6
-Autotrófica	-	-	13,0	9,7	8,93	7,6	-	-
VCO <sub>2</sub> exo inicial (mg O <sub>2</sub> /L·h)		2,0						15,0
CEO (=ΔO <sub>2</sub> /S)								
- g O <sub>2</sub> /g DQO	0,512	0,352	0,314	0,315	-	-	0,400	0,466
- gO <sub>2</sub> /g N	-	-	2,44	2,00	4,70	4,16	-	-
Y <sub>STO</sub> (g DQO-B/g DQO-S)	0,715	0,745	0,749	0,825	nv	nv	0,722	0,663
Y <sub>H</sub> (g DQO-B/g DQO-S),	0,485	0,648	0,686	0,685	-	-	0,600	0,534
Y <sub>A</sub> (g DQO-B/g N)	-	-	2,12	2,57	-0,13	0,41	-	-
K <sub>s</sub> *	(212)	(115)	-	-	4,1(1,6)	5,7(1,9)	(125)	(147)

$\mu_H$ ( $h^{-1}$ )	-	0,158	-	-	-	-	-	0,069
$\mu_A$ ( $h^{-1}$ )	-	-	0,028	0,017	0,091	0,029	-	-
X (mg DQO-B/L)								
- $X_H$ inicial	-	23,6	-	-	-	-	-	204,3
- $X_H$ final	-	264,1	-	-	-	-	-	366,3
- $X_A$	-	-	25,7	31,2	5,4	14,5	-	-
$VCO_{2m}$ (g $O_2/m^2 \cdot d$ )	164,7	12,6-	121,2	92,1	-	-	210,6	167,8
	-	143,2	82,0	61,2	56,3	48,0	-	-
		-						
VSE (g DQO/ $m^2 \cdot d$ )	319,8	35,8-	386,0	292,4	-	-	526,6	360,2
VSEN (g N/ $m^2 \cdot d$ )	-	406,8	33,5	30,6	12,0	11,5	-	-
		-						
$S_s/X_H$ inicial		21,2						2,5
$b_H$ ( $h^{-1}$ )	0,006	0,025	0,002	0,047	-	-	0,011	0,046

<sup>a</sup> Substratos: AcH (Ss) e  $NH_4^+$ -N ( $S_{NH}$ ), \*Ks modelo Monod (entre paréntese, Ks obtida como S para  $VCO_2=VCO_{2m}/2$ ). nv: cálculo non viábel.

Usando só amonio como substrato (Exp. 3), a  $VCO_{2m}$  autotrófica foi de novo lixeiramente inferior na columna FV2 (7,6 mg  $O_2/L \cdot h$ ) respecto a FV1 (8,9 mg  $O_2/L \cdot h$ ), pero en calquera caso máis baixos que a obtida para a respiración autotrófica con ARS (Exp. 2). Durante Exp. 3 o consumo de oxíxeno debido á nitrificación aumentou, e diminuíu  $Y_A$ , respecto ao Exp. 2, seguindo a tendencia descrita na sección 3.2. A  $K_{S,A}$  obtida a partir do modelo de simulación de Monod foi elevada (4,1-5,7 mg  $NH_4^+/L$ ), aínda que a partir da  $VCO_{2m}$  experimental se obtiveron valores inferiores (1,6-1,9 mg  $NH_4^+/L$ ). Os valores de  $\mu_A$  e, polo tanto,  $X_A$  foron menos precisos que os obtidos no Exp. 2.

O coeficiente de decaemento  $b_H$  foi maior en FV2 ( $0,039 \pm 0,012 h^{-1}$ ) que en FV1 ( $0,006 \pm 0,005 h^{-1}$ ), atopándose ambos próximos aos valores de referencia anotados por Andreottola et al. (2002) entre 0,005 e  $0,025 h^{-1}$ .

Os resultados obtidos suxiren que ambas columnas acumularon biomasa autotrófica e obtiveron unha nitrificación potencial con resultados moi próximos (12,0 e 11,5 g N/ $m^2 \cdot d$  en FV1 e FV2, respectivamente), e tamén obtiveron similares concentracións de sólidos volátiles totais e extraíbles (SVT e SVE) (ver apartado 2.1.3), a pesar da grande diferenza de carga orgánica aplicada (VCO) e, probablemente, da biomasa heterotrófica presente en cada columna. Unha nitrificación potencial similar en ambas columnas determinouse tamén mediante ensaios en descontinuo, aínda que ofrecendo valores claramente inferiores respecto aos obtidos neste apartado (2,6 g N/ $m^2 \cdot d$ , ver capítulo 3). Os ensaios respirométricos descritos neste capítulo leváronse a cabo nas propias columnas do sistema FV1+FV2 cuxa operación se describiu no Capítulo 3, ao remate do Período II de operación. A menor velocidade de nitrificación obtida nos ensaios descontinuos ao remate do período V (Capítulo 3) podería deberse en parte a que os ensaios en descontinuo ofrezan valores inferiores en comparación coa respirometría, ou tamén á redución da capacidade nitrificante que de feito se observou no sistema desde o período III ao V (Capítulo 3).

#### 4. DISCUSIÓN

Unha das principais dificultades na modelización de augas residuais complexas é o número de parámetros a identificar. Incluso cando o modelo se estrutura para minimizar o número de parámetros, permanecen demasiados como para aplicar procedementos matemáticos de identificación única (Almeida et al., 2002). En ocasións o coeficiente de decaemento  $b_H$  experimental resulta moi superior ao teórico (Táboa 7 de abaixo), comportamento que se podería explicar pola existencia de fenómenos de almacenamento. Este caso é exemplo da dificultade de identificar os parámetros dos modelos cinéticos, incluso facendo unha boa separación entre a adición de substrato orgánico e nitroxenado. Tamén, como indican Spèrandio e Etienne (2000) a identificación de parámetros depende moito da calidade do experimento (precisión, frecuencia, etc.) e da calidade da información que poidan ofrecer, e que se vai usar para fixar as condicións de operación.

Algúns dos parámetros que se poden obter mediante ensaios respirométricos, os valores de referencia e os obtidos no presente estudo, recóllense na Táboa 7.

Tendo en conta que a concentración de medio no matraz foi 19,7 veces menor que na columna, obsérvase que os resultados son proporcionais en canto a  $VCO_2m$ ,  $Y_{STO}$ ,  $Y_H$  e  $\mu_H$ . Os coeficientes  $Y_H$  e  $Y_{STO}$  adoitan ser independentes da cantidade de biomasa presente (Ortigara et al., 2011).

Táboa 7. Parámetros obtidos nas respirometrías. Valores de referencia e presente estudo.

Parámetro	Valores de referencia		Este traballo
	Lodo en suspensión	Humidais construídos	
$Y_{STO,H}$ (gDQO-B/gDQO-S)	0,75-0,96 <sup>c,h</sup>	0,75-0,77 <sup>c</sup>	0,66-0,86
$Y_H$ (gDQO-B/gDQO-S),	0,75 – 0,79 <sup>f</sup>	0,56-0,59 <sup>c</sup>	0,49-0,83
	0,57 <sup>b</sup>	0,60-0,70 <sup>a</sup> (0,67) <sup>b</sup>	
$\Delta O_2/S_{NH}$ (gO <sub>2</sub> /g N)			4,16 – 4,70
$Y_A$ (gDQO-B/gN)	0,36 - 0,56 <sup>g</sup>	0,24 <sup>c</sup> – 0,60 <sup>a</sup>	-0,13-4,3
	0,24 <sup>b</sup>		
$K_{S,H}$ (mg DQO/L)	0,1-20 (20) <sup>b</sup>		18-212 (411)
$K_{S,A}$ (mg N/L)	0,3-1,5 (1,0) <sup>b</sup>		0,9-6,1
$\mu_H$ (d-1)	1,9-8,8 <sup>b,e</sup>	8,4-13,2 <sup>a</sup>	0,8-18,7
$\mu_A$ (d-1)		0,5-0,9 <sup>a</sup>	0,3-2,2
		(0,888) <sup>d</sup>	
$b_H$ (d <sup>-1</sup> )	0,1-0,6 <sup>b</sup>	0,0012 <sup>c</sup>	0-1,3
	0,38 <sup>c</sup> ; 0,62 <sup>b,e</sup>	(0,62) <sup>e</sup>	(0,35±0,39, n=13)

<sup>a</sup> Henze et al., 2008; <sup>b</sup> varios autores, entre eles: Spanjers et al., 1999, Spèrandio e Etienne, 2000, Andreottola et al., 2002; Andreottola et al., 2005; <sup>c</sup> Ortigara et al., 2011; <sup>d</sup> Morvannou et al., 2011; <sup>e</sup> Lagarde et al., 2005; <sup>f</sup> Strotmann et al., 1999; <sup>g</sup> Brouwer et al., 1998; <sup>h</sup> Karahan-Gül et al., 2002.

A montaxe do sistema experimental resulta simplificado no método en matraz respecto a columna, xa que se reduce o tempo de duración do experimento, emprégase un único oxímetro, e o tamaño de mostra é menor (facilitando a reproducibilidade dun mesmo ensaio de forma simultánea). Así, pódense obter resultados respirométricos en matraz con maior rapidez e con menos parámetros variables. Así, no matraz trabállase con

relación S/X mais elevada e condicións de non limitación por substrato, o cal tamén permite obter con maior precisión a velocidade específica de crecemento ( $\mu_H$ ,  $\mu_A$ ).

Entre as limitacións do sistema en matraz atópase a representatividade da mostra, tendo en conta que no proceso de extracción da columna, pode verse afectada a viabilidade da biomasa, especialmente a microbiota heterotrófica do sistema de FH. A combinación de ciclos de aireación e non aireación en matraz en determinadas ocasións pode resultar en insuficientes datos para definir a  $VCO_2$ .

Os ensaios respirométricos en columna permiten obter resultados mais achegados á realidade, tendo en conta que non é necesaria a extracción de mostra e se traballa coa biomasa existente no humidal, e ao non ter que combinar períodos de aireación e non aireación, é posible obter maior cantidade de datos por hora, e así definir con maior precisión a  $VCO_2$ .

Nos ensaios en columna é importante definir ben as condicións de operación, como poder garantir a non limitación de oxíxeno durante todo o ensaio para poder facer o cálculo dos parámetros cinéticos, e alongar o ensaio até obter a liña base de respiración endóxena ao remate do substrato. Como exemplo, o coeficiente de decaemento da biomasa ( $b_H$ ) non sempre se puido calcular debido a que en determinados experimentos, como os feitos na columna de FV, non se acadou esta zona de respiración endóxena. Outro exemplo pode ser a VTOS na columna de FH, que deu valores maiores dos esperados para o funcionamento normal dos humidais de FH, o cal se pode explicar polas condicións redox que durante as respirometrías sofren un forte cambio nas unidades de FH.

O modelo de Monod non é de aplicación aos experimentos con substratos complexos, como ARU ou ARS, ou ao menos dunha forma simple, xa que o modelo de Monod prevé un aumento da pendente co tempo e os valores de decaemento derivados non teñen sentido físico. Por iso, para obter  $K_s$ , optamos polo cálculo directo desde a curva de  $VCO_2$  (correspondendo a  $\frac{1}{2} S_s \cdot VCO_{2m}$ ).

Táboa 8. Taxas de respiración superficiais e volumétricas ( $VCO_{2S}$ ,  $R_v$ ) e eliminación de nitróxeno ( $VSEN$ ) no presente estudo e na bibliografía.

Sistema	$VCO_{2S_{m,nh3}}$ (g $O_2/m^2 \cdot d$ )	$R_{v,max}$ (mg $O_2/L \cdot h$ )	$VSEN$ (g N/ $m^2 \cdot d$ )
Este estudo			
FV respirometría con $NH_3$ (n=4)	33,4±4,5	3,8±0,5	9,4±2,6
FV1 sistema dobre etapa	66-82	7,4-9,2	12,0-33,5
FV2 sistema dobre etapa	48-61	5,4-6,9	11,5-30,6
Bibliografía			
Andreottola et al., 2007	26,4	1,8	6,1
Ortigara et al., 2011	nd	11,6	nd
Morvannou et al., 2011 (n=2)	364 <sup>a</sup> ; 787 <sup>b</sup>	41±9	84,7 <sup>a</sup> ; 183 <sup>b</sup>
Langergraber and Simunek, 2005 <sup>c</sup>	nd	30,5	Nd

<sup>a</sup> Considerando H 0,37, columnas do presente estudo. <sup>b</sup> Considerando H 0,8 m, típica de moitos sistemas FV; <sup>c</sup> Datos obtidos por simulación con HYDRUS CW2D.  $R_v$ : taxa de nitrificación volumétrica máxima (mg $O_2/L \cdot h$ ). nd: non dispoñible.

O consumo de oxíxeno calculado por respirometrías en humidais construídos de fluxo vertical, mostran no presente estudo que a unidade que recibe maior carga orgánica e nitroxenada (FV1) é, como cabía de esperar, a que responde con maior consumo de oxíxeno, en termos de  $S_s$  e  $S_{NH}$ , así como unha VSEN lixeiramente mais elevada. Respecto a bibliografía recollida sobre o tema, obsérvase que os resultados do presente estudo atópanse no rango dos resultados das respirometrías en HC en fase líquida (Andreottola et al., 2007, Ortigara et al., 2011), sen embargo son bastante mais baixos que os resultados obtidos por simulación e en fase sólida, nos estudos de Langergraber e Morvannou, respectivamente (Táboa 8).

## 5. CONCLUSIONES

Avaliouse o uso dun sistema de respirometría en columnas como o previamente descrito por Andreottola et al. (2007) para HC de fluxo vertical, máis sinxelo e económico que o métodos da respirometría en fase sólida, Avaliouse tamén o uso dunha metodoloxía diferente, desenvolvida a partir do método publicado por Lasaridi e Stentiford (1998), e que permite unha simplificación e abaratamento adicionais da técnica.

A determinación de parámetros cinéticos polo primeiro dos métodos respirométricos atopou dificultades debido a que moitos dos parámetros son dependentes entre sí. Para minimizar a súa variabilidade é imprescindible manter moi estables as condicións de operación e toma de mostras. Atópase na bibliografía unha ampla variedade de parámetros obtidos a partir de métodos respirométricos, mais con condicións de operación diferentes, o cal fai que moitas das veces os rangos obtidos non sexan coincidentes.

Nas curvas respirométricas obtidas, cada parámetro pode extraerse a partir dun determinado treito da curva, despois de identificalo e transformalo axeitadamente. No procedemento de este estudo propóñense algúns dos requirimentos básicos a ter en conta para a obtención de parámetros derivados, sinalando os pasos a seguir e o posible tratamento de datos.

Observouse que a maiores concentracións de  $S_s$ , a  $VCO_2$  diminuíu. A velocidade de crecemento específico ( $\mu$ ) aumentou coa  $S_s$  até valores arredor de 500 mg/L, a partir dos cales diminuíu. O modelo de Monod pode aplicarse aos procesos de nitrificación pero non aos datos de  $VCO_2$  para a degradación heterotrófica do acetato. Estudouse o efecto da concentración de acetato (no rango de 214 a 1560 mg DQO/L) e probouse que causa inhibición a valores elevados, obténdose como máxima  $VCO_2$  500 mg DQO/L.

A respirometría en humidais construídos de fluxo vertical mostra no presente estudo que a unidade FV1, que recibe maior carga orgánica e nitroxenada, responde cun maior consumo de oxíxeno, en termos de  $S_s$  e  $S_{NH}$ , así como unha VSEN lixeiramente mais elevada que a unidade FV2.

Por último, o método simple da respirometría en matraz ofrece os mesmos resultados que o método da columna no caso dos procesos de degradación heterotrófica da materia orgánica, sendo moi precisa a obtención de todos os parámetros neste método, particularmente no que se refire á velocidade de crecemento  $\mu_H$ . Porén, a aplicación

de este método ao estudo do proceso autotrófico de nitrificación require de máis investigación.

## 6. REFERENCIAS

- Aiyuk, S., Verstraete, W. (2004). Sedimentological evolution in an UASB treating SYNTHES, a new representative synthetic sewage, at low loading rates. *Bioresour. Technol.* 93, 269 – 278.
- Almeida, M.C., Butler, D. (2002). In-Sewer Wastewater Characterization and Model Parameter Determination Using Respirometry. *Water Environment Research*, 70 (3), 295-305.
- Andreottola, G., Foladori, P., Gelmini, A., Ziglio, G. (2002). Biomass active fraction evaluated by a direct method and respirometric techniques. *Water Science and Technology* 46 (1–2), 371–379.
- Andreottola G., Oliveira E., Foladori P., Peterlini R. and Ziglio G. (2007). Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Science & Technology* 56 (3), 255–261.
- Brouwer, H., Klapwijk, A., Keesman, K.J. (1998). Identification of activated sludge and wastewater characteristics using respirometric batch-experiments. *Wat. Res.* 32 (4), 1240 – 1254.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M. (2017). Aerobic and anaerobic biodegradability of accumulated solids in horizontal subsurface flow constructed wetlands. *International Biodeterioration & Biodegradation* 119, 396–404.
- Gil-Rodríguez, M. (2006). Eliminación biológica de amonio y materia orgánica en la potabilización de aguas. *Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería* 22 (4), 427 – 436.
- Henze, M., van Loosdrecht, C.M., Ekama, G.E., Brdjanovic, D. (2008). *Biological Wastewater Treatment*, IWA Publishing, London.
- Karahan-Gül, Ö., Artan, N., Orthon, D., Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M. (2002). Respirometric assesment of storage yield for different substrates. *Water Science and Technology*, 46(1-2), 345–352.
- Lagarde, F., Tusseau-Vuillemin, M.H., Lessard, P., Heduit, A., Dutrop, F., Mouchel, J.M. (2005). Variability estimation of urban wastewater biodegradable fractions by respirometry. *Water Research* 39, 4768–4778.
- Langergraber, G., Simunek, J. (2005). Modelling variably saturated water flow and multicomponent reactive transport in constructed wetlands. *Vadose Zone Journal* 4 (4), 924-938.
- Lasaridi, K., Stentiford, E.I. (1998). A simple respirometric technique for assessing compost stability. *Wat. Res.* 32 (12), 3717-3723.
- Morvannou, A., Choubert, J.M., Vanclooster, M., Molle, P. (2011). Solid respirometry to characterize nitrification kinetics: A better insight for modelling nitrogen conversion in vertical flow constructed wetlands. *Wat. Res.* 45, 4995-5004.
- Navidi, W. (2006). *Statistics for engineers and scientists*. México: McGraw-Hill.



- Ortigara A.R.C., Foladori P. and Andreottola G. (2011). Kinetics of heterotrophic biomass and storage mechanism in wetland cores measured by respirometry. *Water Science & Technology* 64 (2), 409-415.
- Spanjers, H., Takács, I., Brouwer, H. (1999). Direct parameter extraction from respirograms for wastewater and biomass characterization. *Water Sci. Technol.* 39 (4), 137–145.
- Spérandio, M., Etienne, P. (2000). Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various  $S_o/X_o$  ratios. *Wat. Res.* 34 (4) 1233-1246.
- Strotmann, U.J., Geldem, A., Kuhn, A., Gendig, C., Klein, S. (1999). Evaluation of a respirometric test method to determine the heterotrophic yield coefficient of activated sludge bacteria. *Chemosphere*, 38 (15) 3555-3570.
- Vanrolleghem, P. A., Spanjers, H., Petersen, B., Ginestet, P. & Takacs, I. (1999). Estimating (combinations of) activated sludge model No. 1 parameters and components by respirometry. *Water Sci. Technol.* 39 (1), 195–214.
- Vázquez, M.A., de la Varga, D., Plana, R., Soto, M. (2013). Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting. *Ecological Engineering* 50, 37– 43.
- Vymazal, J. (2013). The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: A review of a recent development.

**CAPÍTULO 5.**  
**OPERACIÓN DUN SISTEMA DE HUMIDAIIS**  
**CONSTRUÍDOS DE FLUXO VERTICAL E**  
**HORIZONTAL EN SERIE CON *BYPASS***

# **OPERACIÓN DUN SISTEMA DE HUMIDAIIS CONSTRUÍDOS DE FLUXO VERTICAL E HORIZONTAL EN SERIE CON *BYPASS***

1. INTRODUCCIÓN
2. MATERIAIS E MÉTODOS
  - 2.1. Características da auga residual sintética
  - 2.2. Configuración do sistema FV/FH-b
  - 2.3. Condicións de operación
  - 2.4. Análises e ensaios biolóxicos
3. RESULTADOS E DISCUSIÓN
  - 3.1. Operación e eliminación de carga orgánica
  - 3.2. Eliminación de nitróxeno
  - 3.3. Perfís de fluxo
  - 3.4. Emisións gasosas
  - 3.5. Sólidos e actividade microbiana
4. DISCUSIÓN
5. CONCLUSIÓNS
6. REFERENCIAS



## RESUMO

A combinación de humidais construídos (HCs) de fluxo subsuperficial horizontal (FH) e vertical (FV) para dispoñelos en humidais híbridos, buscan a mellora na nitrificación e denitrificación grazas á combinación de condicións anaerobias/anóxicas e aerobias. No presente estudo inclúese a configuración de unha primeira unidade de HC con FV e a continuación unha segunda unidade con FH, aplicando bypass de alimentación de auga residual sintética (ARS) cara a segunda unidade en distintas proporcións, co obxectivo de estudar o seu efecto e determinar a proporción óptima. O sistema estivo en funcionamento durante 254 días, distinguindo 6 períodos de operación. Aplicáronse taxas de carga de 7 – 11 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e de 2,1 – 3,4 g NT/m<sup>2</sup>·d (sistema global).

A eliminación de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> resultou moi elevada (>98%) no sistema global, acadando a eliminación do 95% de SST e DQO xa na primeira unidade de FV (agás para SST no período III, que foi do 88%). O caudal influente na segunda unidade FH aumentou de 0 a 50 % (respecto ao influente a unidade FV) por causa do bypass, acadando eliminacións > 90% de SST e DQO nesta unidade nos períodos IV – VI de carga máis elevada. A eliminación de NT seguiu a evolución marcada pola columna FH, acadando co bypass do 50% a mellora na eliminación desde o 31 ao 50% de NT, e sendo atribuíble a unidade de FV unha eliminación practicamente constante no rango do 13 – 16%.

A velocidade máxima de nitrificación ( $V_{SN_{max}}$ ) obtívose na columna de FV (5,5 gN/m<sup>2</sup>·d), mentres que na unidade de FH se obtivo a velocidade máxima de denitrificación ( $V_{SD_{max}}= 1,8$  gN/m<sup>2</sup>·d), e para o sistema global a VSN e VSD foron de 2,2 e 1,6 gN/m<sup>2</sup>·d, respectivamente.

De todos modos, a nitrificación e denitrificación potencial (ensaios batch) foi de 15,0 e 58,9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Incluso aplicando o 50% de bypass, as condicións de operación na unidade de FH (OD, POR, DQO/NT) non foron idóneas para acadar esta taxa de denitrificación potencial. Por outra banda, non se detectaron emisións gasosas de metano e as de oxido nitroso foron relativamente baixas.

## 1. INTRODUCCIÓN

Os humidais construídos (HCs) están establecidos como un sistema alternativo ás tecnoloxías convencionais de tratamento de augas residuais en pequenas comunidades, como un tratamento sustentable e de baixo custo (Vymazal 2007, 2013; Wu et al., 2015). Os HCs eliminan de modo efectivo a materia orgánica e os sólidos en suspensión da auga residual, mais os HCs nunha única etapa non son capaces de acadar os límites máis estritos de descarga de nitróxeno, debido á necesidade de combinación de condicións anaerobias/anóxicas e aerobias. Os HCs de fluxo vertical (FV) posúen predominantemente condicións aerobias e eliminan eficazmente o amonio pero raramente ocorre neles a denitrificación, mentres que os HCs de fluxo subsuperficial horizontal (FH) presentan condicións anaerobias/anóxicas principalmente o cal favorece

a denitrificación, pero estes sistemas atopan dificultades para nitrificar o amonio (Vymazal, 2007).

A combinación de varias unidades de HCs resulta na disposición de sistemas híbridos de humidais, os cales son capaces de mellorar as taxas de eliminación de Nitróxeno e outros contaminantes, motivo polo que nos últimos anos está a aumentar o interese no estudo destes HCs (Ávila et al., 2013; Vymazal, 2013; Vymazal and Kröpfelová, 2015). De todos modos, incluso nos humidais híbridos a eficacia de eliminación de NT non resulta moi elevada (Gaboutloeloe et al., 2009; Vymazal, 2013; Tanner et al., 2012).

Unha vía principal para a eliminación de nitróxeno nos HCs é a amonificación (conversión de N orgánico a  $\text{NH}_3$ ), seguida de nitrificación (paso de  $\text{NH}_3$  a  $\text{NO}_2^-$  e a  $\text{NO}_3^-$ ) e de denitrificación (paso de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  e a  $\text{N}_2$  gas) (Saeed and Sun, 2012; Meng et al., 2014). A nitrificación é un proceso microbiano quimiautotrófico aerobio e para as bacterias nitrificantes o paso limitante é a dispoñibilidade de oxíxeno disolto. A denitrificación é un proceso tamén microbiano, heterotrófico anóxico, non se considera normalmente un paso limitante na eliminación de nitróxeno, se ben pode selo cando falta unha fonte de carbono ou hai exceso de osixenación (Xu et al., 2013).

Outras vías de eliminación de nitróxeno son a asimilación por parte da biomasa, a redución disimilatoria do nitrato, o consumo polas plantas, a volatilización e a adsorción (Vymazal, 2007; Saeed and Sun, 2012). Ademais hai rutas novidasas como nitrificación – denitrificación parcial, Anammox, Canon que tamén contribúen á eliminación global de nitróxeno (Saeed and Sun, 2012).

Vymazal (2013) enquisou 60 HCs híbridos de 24 países con datos rexistrados desde o 2003 ao 2012, anotando como o sistema máis empregado o composto por HCs de FV + FH, para o tratamento de augas residuais urbanas (ARUs) e industriais (ARIs), e acadando lixeiramente maior eficiencia de eliminación de amonio con respecto a outras configuracións híbridas. O sistema FH + FV atopouse só para o tratamento de ARUs. Os HCs de fluxo superficial (FS) tamén se atopan habitualmente nalgunha etapa das configuracións híbridas de HCs.

Todos os tipos de HCs híbridos e multietapa son comparables con humidais de FV de etapa simple en termos de eliminación de amonio, sen embargo son máis eficientes para a eliminación de NT a combinación e/ou suma de varias etapas de HCs (Vymazal, 2013). Os HCs multietapa, en combinación de unidades diferentes ou do mesmo tipo de HC poden estar compostos por dúas, tres ou máis unidades, en función das características da auga residual a tratar, como acontece con algunhas tipoloxías de ARIs. Algúns destes sistemas multietapa poden tratar directamente augas de alta carga como as de matadoiro (3188 mg DQO/L), salas de muxido (5000 mg DQO/L), curtido (11500 mgDQO/L), entre outras (Vymazal, 2013).

Centrándose nas taxas superficiais de eliminación (VSE) de nitróxeno total (NT), Vymazal (2013) non atopou diferenzas significativas nin na eliminación de amonio (diferentes tipos de HCs híbridos con resultados entre 2,1 e 2,5  $\text{gN-NH}_3/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ), nin na de nitróxeno total (entre 2,3 e 4,3  $\text{g NT}/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ). Ao ser moi variables os parámetros de deseño e

operación nos HCs enquisados, deixan unha carencia de significado nos resultados obtidos na eliminación de nitróxeno nos diferentes sistemas híbridos, xa que alén do tipo de HC, son moi variables as tipoloxías de AR a tratar, as condicións ambientais, a concentración influente e velocidade de carga, as áreas con condicións de saturación/non saturación hidráulica, entre outras. Por exemplo, humidais híbridos en dúas etapas presentaron taxas de proporción de áreas FH/FV comprendidas entre 0,5 – 7,6 e entre 0,9 – 3,1 para FV + FH e para FH + FV, respectivamente (Gaboutloeloe et al., 2009; Vymazal, 2013).

Recentemente, atópanse propostas de deseños máis sofisticados que teñen o obxectivo de mellorar a eliminación de nitróxeno así como de poder aumentar as cargas aplicadas nunha menor área requirida.

Co obxectivo de aumentar a denitrificación en humidais híbridos compostos por FV + FH, Tanner et al. (2012) sinalaron que o uso de biorreactores carbonáceos con fonte de C orgánico de subministro lento (por exemplo astillas de madeira) permite mellorar as taxas de denitrificación, tendo en conta que o subministro de carbono orgánico endóxeno das zonas de desintegración da biomasa vexetal e a exudación da raíz a miúdo resultan insuficientes para acadar a denitrificación completa nesta configuración de humidais híbridos. Outro mecanismo de mellora das taxas de denitrificación é a aplicación de multi-alimentación ou by-pass, con influente fresco cara a a segunda unidade de FH (Stefanakis et al., 2011; Hu et al., 2012; Wang et al., 2014).

Tamén a recirculación se emprega en diferentes configuracións de humidais híbridos co obxectivo de aumentar os procesos de nitrificación e denitrificación simultáneas (Brix et al., 2003; Brix and Arias, 2005; Ayaz et al., 2012; Foladori et al., 2013; Vázquez et al., 2013).

Entre os obxectivos desta investigación atópase o estudo e comparación da configuración híbrida en dúas etapas de HCs compostos por FV + FH, e a aplicación de diferentes taxas de multialimentación operando nas mesmas condicións.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Características da auga residual sintética**

Utilizouse unha auga residual sintética que simulaba as características típicas dunha auga residual urbana, para o que nos baseamos no substrato elaborado por de Aiyuk e Verstraete (2004). Trátase de un substrato complexo, con variedade de compostos químicos, ingredientes alimentarios e metais traza que, ademais de carga orgánica, achega nutrientes e sólidos en suspensión á auga residual. Este substrato adaptámolo no presente estudo para reducir a concentración de sólidos en suspensión (obtidos de compoñentes alimentarios), tendo en conta que os HCs normalmente reciben a auga residual pretratada ou procedente de un tratamento primario (Álvarez et al., 2008).

Preparouse un substrato concentrado coa seguinte composición (mg/L): urea (1600), acetato de sodio (2250), cloruro de amonio (200), peptona (300), fosfato de magnesio (500), fosfato de potasio (400), sulfato de ferro (100), cloruro de calcio (100), amidón (1000), leite en po (2000), fermento (900), aceite de soia (500),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (10),  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (15),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (2),  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (5),  $\text{PbCl}_2$  (2),  $\text{ZnCl}_2$  (5). O concentrado mantense refrixerado a 4 °C. O influente ás columnas preparouse a partir do concentrado por dilución con auga da billa, mantívose refrixerado a unha temperatura media de  $10,6 \pm 0,7$  °C durante un máximo de 3 días. Regulouse o pH ( $7,1 \pm 0,3$ ) e engadíuse  $\text{NaHCO}_3$  (500 mg/L) durante determinados períodos, como se indicará no apartado de resultados. As características xerais do influente sintético, unha vez diluído, indícanse na Táboa 1.

**Táboa 1.** Características da auga residual sintética empregada como alimentación.

pH	SST	DQO	DBO <sub>5</sub>	N total	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
$7,1 \pm 0,3$	$121 \pm 15$	$589 \pm 66$	$253 \pm 20$	$75,5 \pm 5,9$	$7,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 1,9$	$10,7 \pm 1,6$

Conc. en mg/L. n=9, excepto P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (n=2). Segundo se indicará no apartado de resultados, nalgúns períodos de operación das columnas engadiuse  $\text{NaHCO}_3$  (500mg/L) na alimentación.

## 2.2. Configuración do sistema FV/FH-b

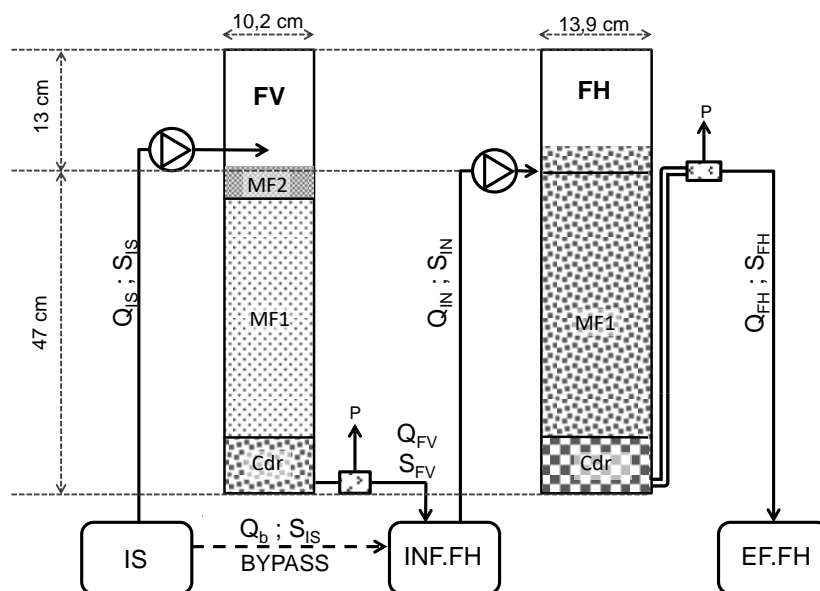
O sistema híbrido de humidais FV/FH-b está composto por dúas columnas de laboratorio en serie: en primeiro lugar a unidade FV, deseñada segundo o modelo proposto por Andreottola et al. (2007) con características de non saturación, seguida da columna FH (Figura 1), adaptada a partir do modelo anterior para simular condicións características dos sistemas subsuperficiais de FH de saturación hidráulica, e de maior tamaño que a primeira unidade, sendo a proporción de áreas entre ambas de 2,0. En determinados períodos do estudo tamén se aplicou bypass ou multialimentación de auga residual fresca a FH en distintas proporcións.

Nestas unidades de laboratorio non se levou a cabo a plantación de macrófitas debido ao curto tempo de operación en cada período de estudo, podendo así excluír a variabilidade achegada polo desenvolvemento das plantas, e baseándonos tamén en estudos previos de HCs en unidades de laboratorio sen vexetación (Wu et al., 2011; Li et al., 2014; Torrijos et al., 2016). En xeral, cabería esperar mellores resultados coa presenza de plantas e con maior tempo de operación grazas ao efecto de maduración (Carballeira et al., 2016).

As columnas son cilindros de metacrilato de 60 cm de altura e diámetro interno de 10,2 (FV) e 13,9 cm (FH), que se enchen con material granítico de recheo ata unha altura útil de 47 cm, diferenciando capas con distinto tamaño de partícula. De abaixo a arriba (Fig. 1) en primeiro lugar atópanse 10 cm de capa de drenaxe (Cdr), composta por grava fina (D60 = 5,2 mm, Porosidade = 45,8 %) en FV e grava grosa (D60 = 12,5 mm, Porosidade =



45,4 %) en FH. A continuación, separadas por unha malla plástica de 2 mm<sup>2</sup> de paso de luz, sitúase a capa de medio filtrante (MF1), composto por 32 cm de area grosa (D60 = 2,5 mm, Porosidade = 36,0 %) en FV e por 40 cm de grava fina (D60 = 5,2mm, Porosidade = 45,8 %) en FH. En FV sitúase unha segunda capa de medio filtrante (MF2) despois de MF1, composto por 5 cm de area fina (D60 = 0,9 mm, Porosidade = 16,3 %), e en FH a alimentación entra 3 cm baixo a superficie de MF1.



**Figura 1.** Configuración do sistema FV/FH-b, onde: IS: influente sintético (auga residual); Q: caudal; S: concentración; Q<sub>FV</sub>, Q<sub>FH</sub>: caudal efluente das unidades FV e FH, respectivamente; Q<sub>b</sub>: bypass, caudal IS a columna FH; Cdr: capa drenante; MF: medio filtrante; P: puntos de mostraxe.

Á saída de cada columna sitúanse pequenos depósitos que reteñen un volume de uns 40 mL, antes de ser vertido nas respectivas garrafas de recollida de efluentes (posto P, Fig. 1). Nestes depósitos fanse as tomas de mostra e as medicións de parámetros in situ con eléctrodos portátiles, no líquido recente acumulado despois de seren baleirados e limpados.

### 2.3. Condicións de operación e seguimento.

As columnas están situadas en cámara termostática a 20°C, e os depósitos de influentes e efluentes atópanse refrixerados a 10°C.

O réxime de alimentación da auga residual faise en pulsos con axuda de bombas peristálticas e temporizadores. A columna FV alimentouse 3 días cada semana, con 8 pulsos/día (Período I) e 9 pulsos/día (Períodos II – VI), quedando a columna en descanso durante os outros 4 días da semana. A columna FH recibiu 16 pulsos diarios durante os 7 días da semana sen descanso.

A DBO<sub>5</sub> e as velocidades de carga superficiais orgánica e hidráulica (VCOS e VCHS) aplicadas foron os criterios para determinar as condicións iniciais de operación (VCOS =

6,9 gDBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, VCHS = 27,3 mm/d, DQO/DBO<sub>5</sub> = 2,1). Despois da aplicación de estas condicións de posta en marcha, adáptanse condicións de operación que definiron 6 períodos de estudo, co obxectivo de optimizar a eficiencia de eliminación de NT.

A operación iniciouse cun caudal influente de 637 mL/d a FV e mantívose practicamente constante ao longo da operación, mais nos sucesivos períodos foise aumentando o caudal directo a FH (bypass) até alcanzar ao final o 50% do caudal influente a FV. Outro dos parámetros que se variou foi a alcalinidade do influente, pola necesidade de controlar o pH. Para seleccionar as condicións de estado estacionario (ou pseudo-estacionario) en cada período, observáronse os resultados de parámetros analizados no efluente, o que nos permite distinguir o tempo de adaptación ás novas condicións.

As dimensións superficiais das columnas (Fig. 1) foron usadas para calcular as cargas aplicadas ao sistema, obtendo a VCHS global mediante a fracción de caudal influente e o sumatorio da superficie das columnas [Ec. 1a], e pola súa banda, a VCOS global mediante o produto da VCHS e a concentración [Ec. 2a]. Para cada unidade, a VCHS, VCOS, VCE (velocidade de carga eliminada), e as porcentaxes de eliminación obtivéronse mediante as seguintes ecuacións de aplicación a FV e FH, respectivamente:

$$VCHS = \frac{Q_i}{A}; \quad VCHS_{FV} = Q_i/A_{FV}; \quad VCHS_{FH} = Q_{IN}/A_{FH} \quad [\text{Ec. 1a}; \text{Ec. 1b}; \text{Ec. 1c}]$$

$$VCOS = VCHS \cdot S_{IS}; \quad VCOS_{FV} = VCHS_{FV} \cdot S_{IS}; \quad VCOS_{FH} = VCHS_{FH} \cdot S'_{IN} [\text{Ec. 2a}; \text{Ec. 2b}; \text{Ec. 2c}]$$

$$VCE_{FV} = VCHS_{FV} \cdot (S_{IS} - S_{FV}); \quad VCE_{FH} = VCHS_{FH} \cdot (S'_{IN} - S_{FH}) \quad [\text{Ec. 3a}; \text{Ec. 3b}]$$

$$\%E_{FV} = VCE_{FV} \cdot 100/VCOS_{FV}; \quad \%E_{FH} = VCE_{FH} \cdot 100/VCOS_{FH} \quad [\text{Ec. 4a}; \text{Ec. 4b}]$$

$$Q_{IN} = Q_{FV} + Q_b \quad [\text{Ec. 5}]$$

$$S'_{IN} = (Q_{FV} \cdot S_{FV} + Q_b \cdot S_{IS})/Q_{IN} \quad [\text{Ec. 6}]$$

$$b = (Q_b/Q_{FV}) \cdot 100 \quad [\text{Ec. 7}]$$

onde Q é o caudal, S a concentración e A a área da sección transversal das columnas. Tomáronse medidas dos caudais Q<sub>IS</sub>, Q<sub>b</sub>, Q<sub>IN</sub> e Q<sub>FV</sub> (Fig. 1), tendo en conta que Q<sub>FV</sub> é menor que Q<sub>IN</sub> debido a perdas por evaporación e retirada de mostras. Así mesmo, medíronse as concentracións S<sub>IS</sub>, S<sub>FV</sub> e S<sub>FH</sub> (Fig. 1), mentres a concentración aplicada á segunda unidade (S'<sub>IN</sub>) obtívoase mediante a ecuación indicada [Ec. 6].

O seguimento do sistema fíxose mediante análises semanais da composición dos efluentes de cada columna (agás DBO<sub>5</sub> que só se determinou no efluente final debido ao elevado volume de mostra requirido), mediante a integración de mostras diarias que se almacenaron a 4°C. As mostras así obtidas foron sometidas en laboratorio a análise de sólidos en suspensión totais e volátiles (SST e SSV), demanda química e biolóxica de oxíxeno (DQO e DBO<sub>5</sub>), nitróxeno amoniacal, nítrico e total (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NT). Os parámetros determinados in situ unha vez á semana (posto P, Fig. 1) foron o pH, potencial oxido-redución (POR) e oxíxeno disolto (OD).

Todos os parámetros foron determinados por duplicado seguindo os criterios de Standard Methods (APHA, 2005). O amoníaco determinouse mediante un eléctrodo selectivo (Crison 9663). O nitrato determinouse mediante espectrofotometría UV (Biochrom Libra S60), método da 2ª derivada, e o nitróxeno total pola súa conversión en nitrato por dixestión oxidativa con persulfato potásico e determinación como nitrato.

### Comportamento hidráulico das columnas FV e FH

Ademais ao longo da operación do sistema realizouse un seguimento quincenal da velocidade de infiltración en FH e de perfís de fluxo en FV, co obxectivo de estimar o potencial de colmatación hidráulica das columnas.

Na columna FH determinouse a velocidade de drenado en descarga libre da metade superior da columna, o que corresponde a unha carga hidráulica de entre 45 e 27 cm de auga. Na columna FV determinouse a evolución do caudal efluente tras un pulso de alimentación en condicións ordinarias de funcionamento. Debido ao funcionamento con 3 días de alimentación e 4 días de descanso da columna FV, o perfil de fluxo obtívose sempre no segundo día de alimentación semanal. Xa que na primeira etapa estivo situada a unidade FV, e polo tanto recibiu a maior carga orgánica e de sólidos, fíxose especial atención á súa evolución de infiltración e de risco de colmatación.

### Emisións gasosas en FV e FH

Así mesmo, realizáronse 3 campañas de determinación de emisións gasosas (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O) durante a operación do sistema. Para isto, pecháronse hermeticamente as cabeceiras das columnas, e dotouse a columna FV dunha bolsa Tedlar con 0,5L (1L de volume máximo) funcionando a modo de pulmón para facilitar a drenaxe dos pulsos de alimentación e a posibilidade de succión de aire durante os pulsos. As mostras tomáronse con xiringa de 1mL a través de un septum localizado na parte superior da columna e foron analizadas nun equipo de cromatografía con detector de conductividade térmica (TCD). A velocidade superficial de emisión (VSE) obtense para cada gas mediante a seguinte ecuación (de la Varga et al., 2015):

$$VSE = \frac{V_g}{A_R} \cdot \frac{m_m}{v_m} \cdot \frac{273}{(273+T_i)} \cdot \left[ \frac{d(\%)/dt}{100} \right] \cdot 24 \cdot 1000 \quad [\text{Eq. 8}]$$

onde V<sub>g</sub> é o volume da atmosfera confinada na cabeceira da columna, A<sub>R</sub> é a area transversal da columna, T<sub>i</sub> a temperatura inicial da atmosfera confinada, e d(%)/dt é pendente da ecuación de regresión lineal da % de gas na atmosfera confinada fronte ao tempo. Así mesmo, a ecuación fai uso do volume molar (v<sub>m</sub>) (22.4 mL/mmol a 273 K) e da masa molar (m<sub>m</sub>) (44 mg/mmol para CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O e 16 mg/mmol para CH<sub>4</sub>).

## 2.4. Análises e ensaios biolóxicos

Ao remate do estudo obtivéronse mostras de medio granular e determinouse o seu contido en biomasa (materia orgánica medida como sólidos volátiles) e actividade biolóxica, incluíndo actividade metanoxénica, nitrificante e denitrificante. En ambas

columnas o medio filtrante principal (MF1) foi dividido en dúas metades para obter mostras separadas da metade superior (MF1a) e inferior (MF1b). A maiores obtívose mostra da capa MF2 da columna FV.

Nestas mostras determináronse os sólidos totais (ST), sólidos volátiles (SV), sólidos en suspensión volátiles (SSV) distinguindo os extraíbles por lavado (SSVe) e os retidos na grava (SSVr). Así mesmo, antes da posta en marcha e ao remate do estudo determinouse a porosidade, densidade e a retención de auga nos medios das columnas.

Para os ensaios biolóxicos (Táboa 2) empregáronse reactores de 125 e 250 mL (FV) e 250 e 500 mL (FH) de volume total, nos que se engadiu unha mostra de medio granular húmido de 45 g (FV) e 100 g (FH). Así mesmo, engadiuse un volume de fase líquida (substrato) con composición que variou segundo o ensaio considerado (Táboa 2). Os substratos suplementarios que se empregaron para a determinación das actividades específicas máximas foron 500 mgDQO/L (acetato de sodio) para a actividade metanoxénica, 50 mgN/L (NO<sub>3</sub>K) para a actividade denitrificante, e 50 – 100 mgN/L (NH<sub>4</sub>Cl) con 1000 mgNaHCO<sub>3</sub>/L para a actividade nitrificante.

En todos os ensaios engadíronse macro e micronutrientes en proporción de 1 mL/L das solucións stock definidas por Ferreiro e Soto (2003).

Nos tres tipos de ensaio fíxose seguimento dos nitratos na fase líquida mediante espectrofotometría UV, segundo se detallou máis arriba, e nos ensaios anaeróbicos (actividade metanoxénica) e anóxicos (actividade denitrificante) fíxose o seguimento da composición gasosa en cabeceira dos reactores.

Todos os ensaios foron realizados por triplicado e a temperatura constante de 20°C.

**Táboa 2.** Condicións utilizadas nos ensaios biolóxicos.

ENSAIO	METANOXÉNICO		DENITRIFICANTE		NITRIFICANTE	
	FV	FH	FV	FH	FV	FH
Medio sólido (g)	45	100	45	100	45	100
Medio líquido (mL)	30	100	40	100	50	150
Fase gas (mL)	76	154	66	154	56	104
Seguimento	Comp. fase gas		NO <sub>3</sub> -N + Fase gas		NO <sub>3</sub> -N	
Composición do medio líquido						
Substrato HAc (mg/L)	500		300	300	-	-
Substrato NO <sub>3</sub> K (mgN/L)	-		50	50	-	-
Substrato NH <sub>4</sub> Cl (mgN/L) <sup>a</sup>	-		-	-	50-90	50-90
NaHCO <sub>3</sub> (mg/L)	-		-		1000	
Macro e micro nutrientes <sup>b</sup>	1mL/L		1mL/L		1mL/L	

<sup>a</sup>Inicialmente utilizáronse 100 mgN/L e posteriormente reduciuse a 50 mgN/L. <sup>b</sup>Engadiuse 1 mL de cada solución de macro e micro nutrientes (composición indicada por Ferreiro e Soto, 2003) por L de medio líquido.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Operación e eliminación de carga orgánica

As características de operación en ambas columnas FV e FH indícanse na Táboa 3. Os parámetros de operación (VCHS, VCOS e principalmente o  $Q_b$ ) fóronse variando ao longo do tempo de estudo, resultando na diferenciación de 6 períodos de operación consecutivos.

Entre o 81% e o 99% do caudal influente a FV alimentouse en serie á columna FH, debéndose a diferenza até o 100% a diversos factores tais como as perdas por evaporación en FV, a obtención de mostras do efluente FV para análise e o ocasional desaxuste entre as bombas de alimentación a ambas unidades. O caudal do bypass a FH estableceuse como unha porcentaxe do caudal influente a FV.

**Táboa 3.** Caudais (Q) e Velocidades de carga (VCHS e VCOS) para cada columna e período. Media  $\pm$  Desviación estándar.

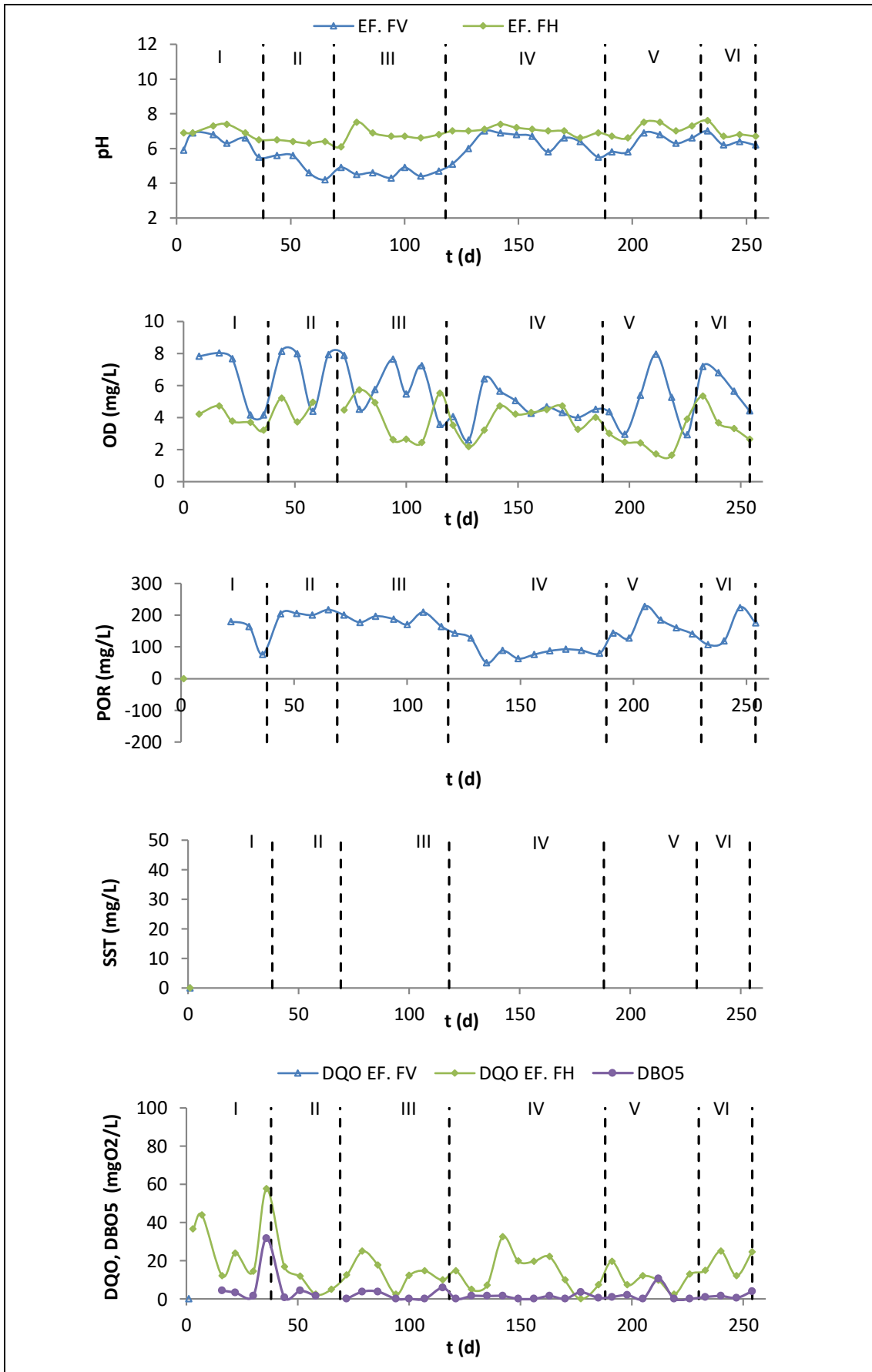
PERIODO (días)		I (0 – 36)	II (37 – 65)	III (66 – 115)	IV (116 – 185)	V (186 – 226)	VI (227 – 254)
Q (mL/d)	Inf.FV	637 $\pm$ 11,3	636 $\pm$ 47,6	708 $\pm$ 11,4	671 $\pm$ 40,9	692 $\pm$ 27,8	629 $\pm$ 16,9
	de FV a FH	633 $\pm$ 1,3	608 $\pm$ 32,0	609 $\pm$ 17,7	582 $\pm$ 32,9	576 $\pm$ 29,1	580 $\pm$ 6,9
	Bypass	0	0	69 $\pm$ 2,0	164 $\pm$ 9,3	324 $\pm$ 16,4	327 $\pm$ 3,9
Bypass (% Inf. FV)		0	0	10	25	50	50
VCHS (mm/d)	Global	27,3	27,2	33,4	35,9	44,4	40,4
	FV	77,9	77,8	86,6	82,1	84,4	76,9
	FH	41,7	40,0	44,6	49,2	59,3	59,7
VCOS Global (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	3,3	3,3	4,0	4,3	5,4	4,9
	COD	16,1	16,0	19,6	21,2	26,2	23,8
	BOD5	6,9	6,9	8,4	9,1	11,2	10,2
	TN	2,1	2,1	2,5	2,7	3,4	3,1
VCOS FV (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	9,4	9,4	10,5	9,9	10,2	9,3
	COD	45,9	45,8	51,0	48,3	49,7	45,3
	BOD5	19,7	19,7	21,9	20,8	21,3	19,5
	TN	5,9	5,9	6,5	6,2	6,4	5,8
VCOS FH (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	0,4	0,3	1,2	1,5	3,0	2,7
	COD	1,2	0,9	4,0	7,7	14,1	13,1
	TN	2,4	2,6	3,0	3,3	4,0	4,1
COD/TN Influyente FH		0,5	0,3	1,3	2,3	3,5	3,2

A VCHS mantívose practicamente constante en FV no rango de 77 – 87 mm/d, e foi aumentando en FH de 40 a 60 mm/d, e polo tanto no sistema global desde o período I ao período VI debido maiormente ao efecto do bypass, desde 27 a 40 mm/d (Táboa 3). A VCOS variou de 7 a 11 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d no sistema global, mentres atinxiu unha media de

$20,5 \pm 1,0$  g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d ( $47,7 \pm 2,4$  g DQO/m<sup>2</sup>·d) en FV. A VCOS influente á columna FH foi moi reducida durante a operación sen bypass (aprox. 1 g DQO/m<sup>2</sup>·d), incrementándose posteriormente até os 13-14 g DQO/m<sup>2</sup>·d (non se determinou o dato de VCOS en DBO<sub>5</sub>) nos períodos V e VI con un 50% de bypass. O efecto do bypass permitiu incrementar a relación DQO/NT desde 0,3 durante a operación sen bypass até 3,2 - 3,5 nos períodos V e VI (Táboa 3), existindo unha forte correlación ( $R^2= 0,973$ ) entre o bypass e a relación DQO/NT. Desta forma, en todo momento se estivo en velocidades de carga moderadas ou próximas ás de deseño (Cooper, 2005; Pedescoll et al., 2011), con 20 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d en FV (ou 5,7 g N/m<sup>2</sup>·d), mentres en FH o bypass supuxo un incremento na VCOS que variou no rango de 0 – 5,3 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d.

A Figura 2 mostra a evolución do pH, OD, POR e parámetros de carga orgánica nos efluentes das columnas FV e FH e permítenos analizar a resposta de cada columna ao cambio nas condicións de operación de un período a outro. Tras a posta en marcha (Período I), rexistrouse unha caída progresiva do pH no efluente da columna FV, que atinxiu o valor de 4,2 ao final do período II. Durante todo o período III, o pH no efluente FV seguiu baixo e constante, no intervalo 4,2 - 4,9. Por esta razón, nos períodos IV e VI engadiuse bicarbonato sódico na alimentación a FV (500 mg NaHCO<sub>3</sub>/L), o que conseguiu elevar rapidamente o pH efluente a valores próximos a 7,0. O efluente da columna de FH mantivo o seu pH no rango 6,5 – 7,5 durante todo o estudo. O OD variou amplamente no rango de 2 a 8 mgO<sub>2</sub>/L, sendo lixeiramente máis elevado no efluente da columna FV. O comportamento foi similar para o POR, que variou no rango de 0 a 200 mV, agás ocasionais valores negativos no efluente da columna FH. Os valores de SST e DQO foron en xeral moi reducidos, coa excepción dos picos rexistrados no período III para o efluente FV, o que puido deberse a un efecto transitorio dos baixos valores de pH.

A Táboa 4 mostra os valores medios dos parámetros de seguimento para cada período de operación. Como criterio xeral, para a obtención destes valores medios desbotáronse os valores correspondentes ás dúas primeiras semanas tras o cambio de condicións (isto corresponde cos dous primeiros puntos tras o cambio de período na Figura 2). A evolución dos parámetros medidos indica unha operación moi estable ao longo do tempo, agás nos caso do pH en FV no que se actuou para corríxilo como se indicou arriba.



**Figura 2.** Evolução do pH, OD, POR e parâmetros de carga orgânica nos efluentes da coluna FV e FH (nos períodos IV e VI engadiuse 500mg NaHCO<sub>3</sub>/L no influente a FV).

A adición de bicarbonato na alimentación para aumentar a alcalinidade resultou unha medida eficaz xa que no período IV o pH no efluente FV estabilizouse en 6,6 de media (Táboa 4). Esta adición tamén tivo un efecto sobre o pH no efluente FH, que pasou de 6,7 (Período III) a 7,1 (Período IV). No período V deixouse de engadir bicarbonato, sen que se observase unha recaída do pH no efluente de ningunha das columnas. Finalmente, no período VI retomouse a adición de bicarbonato, mais agora sen efecto aparente sobre o pH efluente das dúas unidades.

**Táboa 4.** Valores medios dos parámetros de seguimento para cada columna e período de operación.

Período		I	II	III	IV	V	VI
pH	FV	6,6 ± 0,25	5,0 ± 0,71	4,6 ± 0,24	6,6 ± 0,40	6,6 ± 0,30	6,5 ± 0,40
pH	FH	7,2 ± 0,3	6,4 ± 0,1	6,7 ± 0,1	7,1 ± 0,2	7,3 ± 0,3	7,0 ± 0,4
OD	FV	6,6 ± 2,1	7,1 ± 1,8	5,9 ± 1,6	4,9 ± 0,9	4,5 ± 1,4	6,0 ± 1,2
OD	FH	4,1 ± 0,6	4,6 ± 0,8	3,6 ± 1,5	4,1 ± 0,6	2,6 ± 1,1	3,7 ± 1,1
ORP	FV	172 ± 10,3	207 ± 7,1	186 ± 18,3	78 ± 16,0	176 ± 45,2	156 ± 54,3
ORP	FH	-33 ± 17,7	166 ± 1,0	36 ± 129,0	69 ± 8,4	124,3 ± 63,3	124,3 ± 46,8
SST	FV	9,3 ± 0,6	8,0 ± 1,6	15,0 ± 5,3	4,5 ± 3,8	7,8 ± 1,6	5,3 ± 3,0
SST	FH	4,7 ± 3,5	2,5 ± 1,8	3,8 ± 2,3	2,1 ± 0,9	2,8 ± 2,0	2,1 ± 1,3
SSV	FV	7,3 ± 0,6	6,0 ± 1,6	11,4 ± 5,9	4,3 ± 3,9	4,5 ± 1,8	3,5 ± 1,9
SSV	FH	4,0 ± 2,5	1,8 ± 0,6	3,0 ± 1,9	1,5 ± 0,9	1,3 ± 1,2	1,8 ± 1,5
DQO	FV	28,9 ± 13,4	22,5 ± 7,3	30,7 ± 14,9	29,9 ± 10,0	20,1 ± 14,1	22,3 ± 7,9
DQO	FH	16,9 ± 6,3	9,1 ± 6,5	11,4 ± 5,8	15,9 ± 10,9	9,1 ± 5,8	19,2 ± 6,6
DBO <sub>5</sub>	FH	3,1 ± 1,4	2,2 ± 1,9	1,9 ± 2,7	1,1 ± 1,3	0,0 ± 0,0	1,8 ± 1,6

Conc. en mg/L, excepto POR (mV) e pH. Media ± Desviación estándar

Os valores medios de OD ( $5,8 \pm 1,6$  mg/L) e POR (162 mV) no efluente de FV foron significativamente máis elevados ( $p < 0,05$ ) que os rexistrados no efluente de FH ( $3,8 \pm 1,1$  mgO<sub>2</sub>/L e 81 mV), sen atopar diferenzas entre períodos.

A concentración en FH cabería esperarse menor aos valores rexistrados, de tal forma que esta concentración indica que a columna FH non consegue as condicións anóxicas buscadas, característica que tamén se corrobora no POR e que se traduciu nunha dificultade para o proceso de denitrificación e dunha eliminación parcial de nitróxeno, como se verá máis adiante. Os valores máis baixos de OD no efluente FH rexistráronse durante o Período III (2,4 mg/L) e sobre todo durante o Período V (1,6 mg/L), mais en ambos casos de forma transitoria (Figura 2). A caída do contido en OD buscábase mediante o incremento do *bypass*. A utilización dun 10 e 25% de *bypass*, períodos III e



IV, mostráronse claramente insuficientes, e finalmente tamén a utilización dun 50% (períodos V e VI). A caída temporal do contido en OD nos períodos III e V suxire que o sistema se adapta á demanda de oxíxeno adicional causada polo bypass en FH, volvendo a rexistrar valores de novo elevados de OD no efluente.

Igualmente, o potencial redox no efluente de FH resultou elevado, cando cabería esperarse máis negativo. No efluente FH os resultados de POR son dispares, con moita desviación e con media por encima de cero en todos os períodos salvo no Período I.

Mentres que se observou unha lixeira correlación entre o OD e POR no efluente de FV ( $R^2$  0,33), esta desapareceu entre estes parámetros no efluente de FH ( $R^2$  0,002). En cambio, o OD no efluente de FH aumentou significativamente co do efluente de FV ( $R^2$  0,550;  $p$  0,091) e decreceu co aumento do bypass ( $R^2$  0,51;  $p$  0,112) ou a taxa DQO/NT no influente de FH ( $R^2$  0,56; 0,089). Estas correlacións indican que se cumpriu de forma efectiva o obxectivo do bypass de aumentar a taxa DQO/NT no influente de FH (Táboa 5) e de diminuír o OD e POR nesta unidade, obtendo OD de 4,3 (0% bypass) e 3,2 mg/L (50% bypass), a pesar que puido resultar insuficiente para acadar maior desnitrificación na unidade FH, tendo maior influencia a concentración de OD achegada desde o efluente de FV.

Ao longo do estudo non se observou tendencia marcada nos parámetros de carga orgánica, coa excepción dunha concentración máis elevada en SST e SSV no efluente FV no Período III. O resultado global foi de  $8,3 \pm 4,9$  mg SST/L no Efluente de FV e de  $2,9 \pm 2,0$  mg SST/L no de FH, aparecendo en xeral o 75 % como SSV. A DQO tamén se mantivo constante ao longo do estudo, sendo a media no efluente de FV de  $26,4 \pm 11,0$  mgO<sub>2</sub>/L, e no de FH de  $13,8 \pm 8,0$  mgO<sub>2</sub>/L. A DQO influente a unidade FH aumentou de 25 mg/L (0% bypass) até 228 mg/L (50% bypass). Da DBO<sub>5</sub> só se obtiveron resultados do efluente final (FH) por motivo de dispoñibilidade de volume de mostra para esta analítica. Sempre se obtivo unha DBO<sub>5</sub> moi baixa, usando sempre como inhibidor da nitrificación aliltiurea, cunha media de  $1,6 \pm 1,8$  mg O<sub>2</sub>/L.

A eliminación de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> resultou moi elevada (>96%) no sistema global en todos os períodos (Figura 3). Tamén a eliminación de SST e DQO foi moi elevada na unidade FV (>95%, agás para SST no período III, que foi do 88%), e por tanto tamén foi elevada a eliminación de DBO<sub>5</sub>, se ben este parámetro non foi determinado no efluente FV. En FH, a concentración influente a FH foise incrementando como consecuencia do bypass e a porcentaxe de eliminación de SST e DQO aumentou de forma continuada desde o 40-50% do período I, ao período II (60-70%) e III (86%), e situouse por riba do 90% nos seguintes períodos.

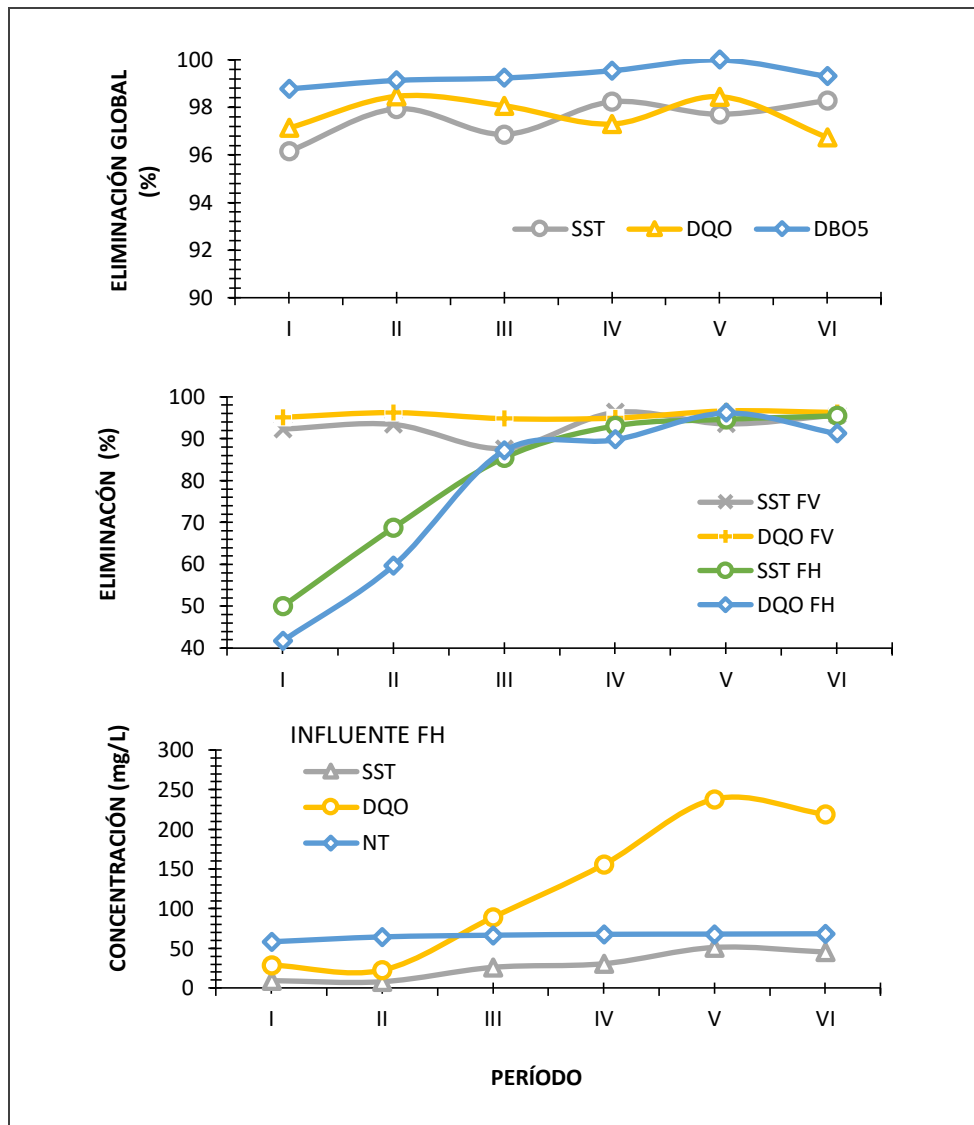


Figura 3. Porcentaxe de eliminación de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> no sistema global e en cada unha das unidades e concentración influente a FH.

### 3.2. Conversión e eliminación de nitróxeno

A Figura 4 mostra a evolución do NT, así como o nitróxeno nítrico e o amoniacal, nos efluentes das dúas columnas, e a Táboa 5 os valores medios obtidos para cada período de operación. As capacidades de nitrificación e denitrificación obtidas indícanse na Táboa 6. Por outra banda, como se indica na táboa 1, o contido en nitróxeno total na alimentación foi de  $75,5 \pm 5,9$  mg N/L, estando maiormente en forma orgánica.

O contido en nitróxeno total no efluente FV mantívose constante ao longo de todo o estudo, obténdose unha media de  $64,0 \pm 5,8$  mg N/L. Pola contra, no efluente FH o contido en NT aumentou desde 33 mg/L no período I a 52 mg/L nos períodos III e IV, e volveu a descender a 38 mg/L no período VI. Esta evolución pode explicarse observando a evolución das formas nítrica e amoniacal do nitróxeno dun a outro período, xunto coas condicións de operación aplicadas.

Na columna FV, a concentración efluente de amoníaco estabilizouse nuns 20 mg N/L e a de nitrato nuns 40-45 mg N/L nos períodos I, II e III, obténdose nestas condicións unha capacidade máxima de nitrificación de 4,0 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/m<sup>2</sup>·d (Táboa 6). Como se indicou máis arriba, o pH no efluente da columna FV era moi baixo, de 4,6 no período III. No período IV, tras a adición de bicarbonato, elevouse o pH a 6,6 e aumentou a capacidade nitrificante, acadándose unha velocidade de nitrificación máxima de 5,1 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/m<sup>2</sup>·d, correspondente a concentracións efluentes de 7 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L e 61 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L (Figura 4). Este descenso na concentración de amoníaco e incremento na concentración de nitrato no efluente FV confirmar a importancia de regular o pH para evitar a inhibición da nitrificación por baixos pH. No período V, tras deixar de engadir bicarbonato, a capacidade nitrificante viuse reducida até valores similares aos previos do períodos II e III, e recuperaríase de novo no período VI en que se engadiu de novo bicarbonato. Porén, compre reparar que a non adición de bicarbonato durante o período V non implicou un descenso no pH medido no efluente FV (Táboa 4), o que pode cuestionar a utilización do pH como parámetro único para determinar as condicións de alcalinidade axeitadas.

No efluente FH, a concentración de nitrato foi aumentando progresivamente ata o período IV en que acadou un máximo arredor de 45 mg N/L, descendendo posteriormente até valores no rango de 10-20 mg N/L. As elevadas concentracións de nitrato no efluente FH durante os períodos I a IV indican unha escasa capacidade denitrificante, que se pode explicar pola tamén elevada concentración de OD e POR nesta columna, así como pola falta de materia orgánica necesaria para o proceso de denitrificación. Como xa se indicou, o obxectivo do bypass era dobre, por unha banda achegar materia orgánica necesaria para a denitrificación, e por outra favorecer as condicións anóxicas ao consumirse o oxíxeno na degradación da materia orgánica alimentada co bypass. Pero a situación so mellorou nos Períodos V e VI, en que se reduciu a concentración de nitrato e aumentou a eliminación de nitróxeno, aplicando un bypass do 50%.

A eliminación de NT en FV foi practicamente constante, no rango do 13-16%, agás no período I (23%). En FH, a eliminación de NT decreceu progresivamente durante os primeiros 5 meses de operación (mediados do período IV) cando alcanzou un mínimo do 20%, para aumentar posteriormente até atinxir o 40% no período VI. Probablemente, o descenso na porcentaxe de eliminación de NT en FH entre os períodos I e IV puido ser debida ao descenso do pH influente, debido ao efecto negativo de baixos pH sobre os microorganismos nitrificantes. No sistema global, a eliminación de NT seguiu a evolución marcada pola columna FH, atinxindo finalmente un 50% NT eliminado no Período VI.

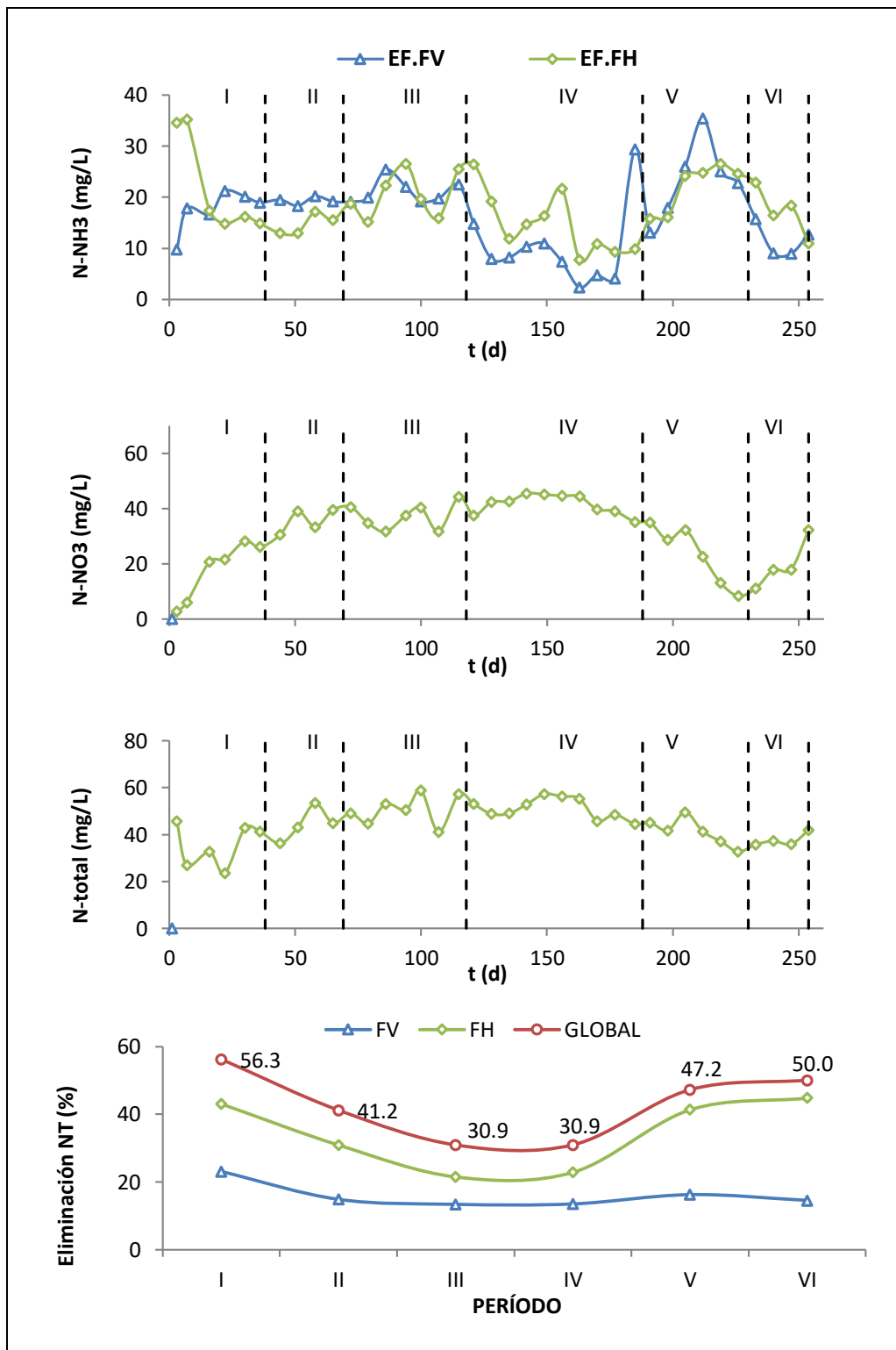


Figura 4. Evolución dos compostos de nitróxeno ao longo do estudo e porcentaxes de eliminación de nitróxeno total.

**Táboa 5.** Compostos de nitróxeno nos efluentes do sistema FV/FH-b.

Período	Efluente FV			Efluente FH		
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NT	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NT
I	39,1 ± 2,3	19,3 ± 2,4	58,1 ± 3,8	23,4 ± 4,1	16,2 ± 1,3	33,0 ± 9,7
II	43,3 ± 2,0	19,3 ± 0,8	64,3 ± 6,6	35,5 ± 4,4	14,7 ± 2,1	44,4 ± 7,1
III	45,3 ± 3,0	21,8 ± 2,5	65,4 ± 9,1	37,0 ± 5,5	22,0 ± 4,4	52,2 ± 7,0
IV	60,9 ± 5,3	6,9 ± 3,2	65,4 ± 4,9	42,9 ± 2,6	13,2 ± 4,8	52,2 ± 4,4
V	41,3 ± 0,3	24,6 ± 1,6	63,3 ± 3,6	17,8 ± 12,7	25,1 ± 1,3	39,8 ± 8,7
VI	53,7 ± 6,1	11,6 ± 3,3	64,6 ± 3,3	19,6 ± 8,9	17,2 ± 4,9	37,7 ± 2,9

Conc. en mg/L. Media ± Desviación estándar.

### Capacidade nitrificante de desnitrificante en cada columna

A velocidade superficial de nitrificación (VSN) mínima estímase a partir da diferenza na concentración influente e efluente de nitrato multiplicada por velocidade de carga hidráulica (VCH). Esta é unha VSN mínima, xa que parte do nitróxeno eliminado tamén puido eliminarse pola vía nitrificación-desnitrificación, polo que previamente teríase que ter nitrificado. Se consideramos que todo o nitróxeno eliminado se eliminou por esta vía (é dicir, consideramos nulas as perdas por volatilización, absorción, captura polas plantas e acumulación na biomasa, así como por outros procesos biolóxicos distintos da nitrificación-desnitrificación), a velocidade superficial de desnitrificación (VSD) máxima sería igual á velocidade superficial de eliminación de nitróxeno total (VSEN). Ademais, a VSN máxima será a suma da VSN mínima e a VSD máxima Este procedemento de cálculo tradúcese nas seguintes ecuacións:

$$VSN_{mín.} = VCHS \cdot (S_{NO3-N\ Ef.} - S_{NO3-N\ Inf.}) \quad [\text{Ec. 9}]$$

$$VSD_{mín} = VCHS \cdot (S_{NO3-N\ Inf.} - S_{NO3-N\ Ef.}) \quad [\text{Ec. 10}]$$

$$VSD_{máx.} = VCHS \cdot (S_{NT\ Inf.} - S_{NT\ Ef.}) \quad (\text{polo tanto } VSD_{mín} = -VSN_{mín}) \quad [\text{Ec. 11}]$$

$$VSN_{máx.} = VSN_{mín.} + VSD_{máx.} \quad [\text{Ec. 12}]$$

Respecto a estas ecuacións asúmense varias simplificacións:

- A VSN<sub>mín</sub> (e VSD<sub>mín</sub>) igualan a taxa de formación (e eliminación) de nitrato, o cal normalmente e atopa máis baixo que a VSN real debido a que parte do nitrato xenerado pode ser eliminado na mesma unidade (é dicir, procesos de nitrificación e denitrificación simultánea). Para unha determinada unidade, a VSN<sub>mín</sub> e a VSD<sub>mín</sub> poden ser positivas ou negativas, pero só os resultados positivos teñen significado.
- A VSD<sub>máx</sub> iguala a VSE do NT, o que considera que todo o nitróxeno se elimina debido á denitrificación. Esta asunción non ten en conta outras vías de

eliminación como a volatilización, adsorción, acumulación na biomasa e outros procesos.

- Finalmente, a ecuación para a  $VSN_{m\acute{a}x}$  [Ec. 12] só considera que todo o nitróxeno eliminado se debe a desnitrificación e que debeu ser previamente nitrificado.

Os resultados da estimación de velocidades superficiais de nitrificación e desnitrificación, con estas aproximacións, indícanse na táboa 6. As velocidades obtidas son claramente maiores na unidade FV que na FH. As maiores velocidades corresponden á nitrificación en FV, con valores no rango de 3,9 a 5,5 gN/m<sup>2</sup>·d, e máximos no período IV, resultado da regulación do pH. Nesta mesma unidade, as velocidades de desnitrificación foron practicamente constantes e situáronse arredor de 0,9 g/m<sup>2</sup>·d, unhas 5 veces inferior á velocidade de nitrificación.

A velocidade de desnitrificación en FH foi tamén baixa, similar á obtida en FV, no rango de 0,6-1,0 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos I e IV. Porén resultou claramente maior nos períodos V e VI, nos que se acadou unha desnitrificación de 1,7-1,8 g N/m<sup>2</sup>·d. A velocidade superficial de nitrificación en FH foi tamén baixa, no rango de 0,4-1,1 g N/m<sup>2</sup>·d, unhas 7 veces inferior á acadada en FV.

Para o sistema global, a VSN resultou de 1,7 ± 0,1 (I – III) e 2,2 ± 0,1 (IV – VI) g N/m<sup>2</sup>·d, mentres a VSD foi claramente inferior, cun valor medio de 0,9±0,2 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos I – IV, e aumentando a 1,6 ± 0,1 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos V – VI. Esta taxa está algo por debaixo dos valores medios acadados por Vymazal (2013) de 2,3 ± 2,1 g N/m<sup>2</sup>·d para sistemas híbridos de FV+FH. Nas condicións deste estudo, a VSD máxima pasou de ser o 52% da VSN máxima nos períodos sen bypass ao 71% da VSN nos últimos períodos cun bypass do 50%.

**Táboa 6.** Velocidades superficiais de nitrificación (VSN) mínima e máxima e velocidades superficiais de desnitrificación (VSD) máxima.

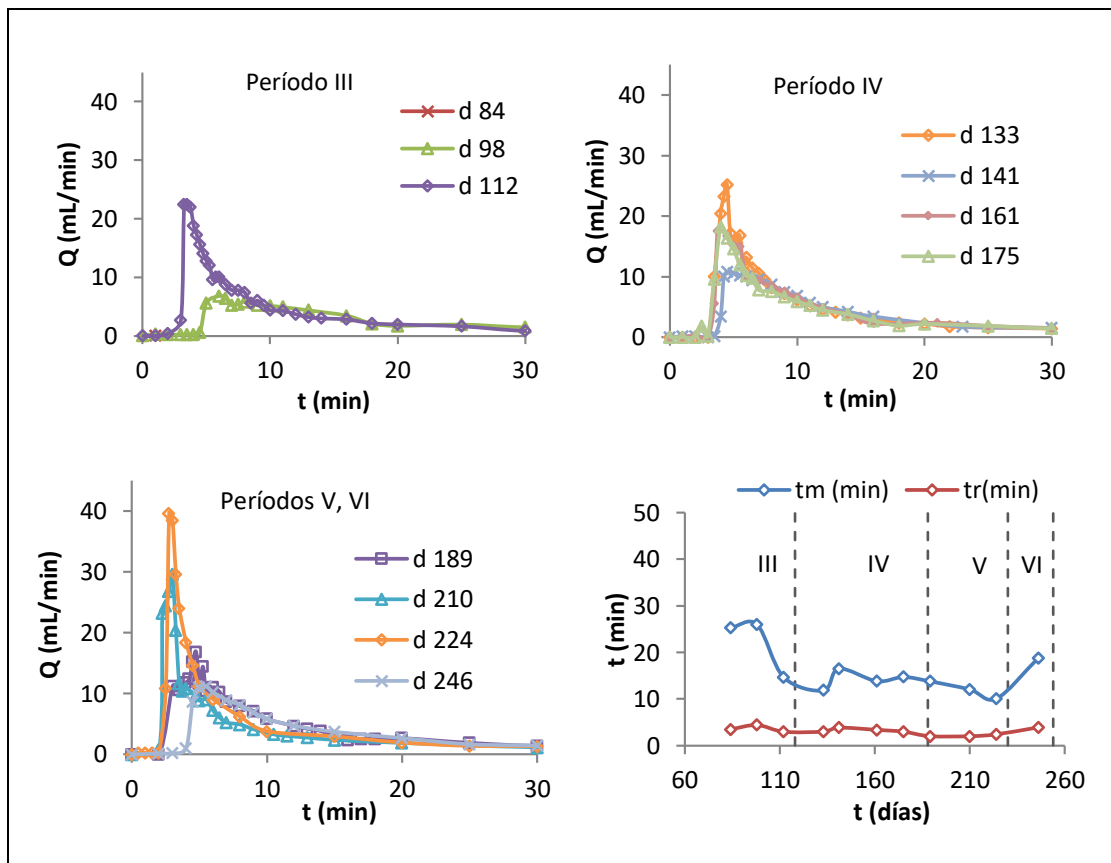
P	FV			FH			Global (FV+FH)		
	VSD <sub>max</sub>	VSN <sub>min</sub>	VSN <sub>max</sub>	VSD <sub>max</sub>	VSN <sub>min</sub>	VSN <sub>max</sub>	VSN <sub>min</sub>	VSD <sub>max</sub>	VSN <sub>max</sub>
I	1,36	2,7	4,05	1,04	-0,65	0,39	0,52	1,16	1,67
II	0,87	3,0	3,89	0,80	-0,31	0,49	0,84	0,85	1,69
III	0,87	3,5	4,41	0,64	-0,18	0,46	1,08	0,78	1,86
IV	0,83	4,6	5,46	0,76	-0,26	0,50	1,38	0,84	2,22
V	1,03	3,1	4,14	1,67	-0,56	1,11	0,59	1,58	2,17
VI	0,84	3,8	4,62	1,83	-1,01	0,82	0,61	1,53	2,14
M	1,0	3,5	4,4	1,12	-0,50	0,63	0,84	1,12	1,96

P: Período; M: Media; Unidades: g N/m<sup>2</sup>·d.

### 3.3. Perfís de fluxo nas columnas FV e FH

Os perfís de fluxo na columna FV permítennos diagnosticar o estado de colmatación da columna mediante a observación e comparación directa das curvas de fluxo, así como

de parámetros derivados tais como o tempo medio ( $t_m$ ) e o tempo de retardo ( $t_r$ ), podendo así prever a colmatación. Na Figura 5 móstranse os perfís de caudais de infiltración na columna FV desde o día 84 en adiante, así como a evolución do tempo medio de retención e o tempo de retardo. A táboa 7 presenta os valores medios de diferentes parámetros de fluxo. Non se observou fenómeno de colmatación durante o estudo. Para os períodos analizados, a recuperación do volume dos pulsos foi sempre superior ao 88%.



**Figura 5.** Perfil de fluxo de caudais na columna FV durante os Períodos III - VI e evolución do tempo medio ( $t_m$ ) e tempo de retardo ( $t_r$ ).

Os resultados de tempo medio ( $t_m$ ), que é o tempo que tarda en saír o 50% do volume do pulso alimentado, indican que o pulso é drenado correctamente, sendo a media de todo o estudo de 16 minutos. O tempo de retardo ( $t_r$ ), que é o tempo que tarda en comezar a drenar a columna (correspóndese co corte das pendentes no tramo inicial da curva de perfil a caudal crecente co eixe de tempo), sempre foi moi curto, máximo no período III con 3,6 minutos.

**Táboa 7.** Resumo das características dos perfís de fluxo de caudais na columna FV.

Per. (n) <sup>a</sup>	V pulso (mL)	V recuperado tras t min (%)				Q máx (mL/min)	tm (min)	tr (min)
		Final	60 min	30 min	15 min			
III (3)	179 ± 27,0	88 ± 0,0	69 ± 5,8	57 ± 5,7	43 ± 6,7	14 ± 7,9	22,0 ± 6,3	3,6 ± 0,7
IV (4)	178 ± 8,7	98 ± 1,8	81 ± 2,0	67 ± 3,2	51 ± 3,7	18 ± 5,9	14,3 ± 1,9	3,3 ± 0,4
V (3)	178 ± 12,6	97 ± 2,2	80 ± 2,6	68 ± 2,0	55 ± 3,2	29 ± 11,4	12,0 ± 1,9	2,1 ± 0,2
VI (1)	165		77	61	44	11	18,8	3,9

Media ± Desviación estándar. <sup>a</sup>Entre parénteses indícase o número de determinacións.

Na columna FH, o caudal de drenaxe inicial (50% superior da capa de auga) foi de 3442 ± 56 mL/min como media ao longo de todo o período de estudo, de tal forma que non se obtiveron resultados significativamente diferentes entre períodos. Este é un caudal elevado que indica ausencia total de colmatación.

### 3.4. Determinación de emisións gasosas: CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O.

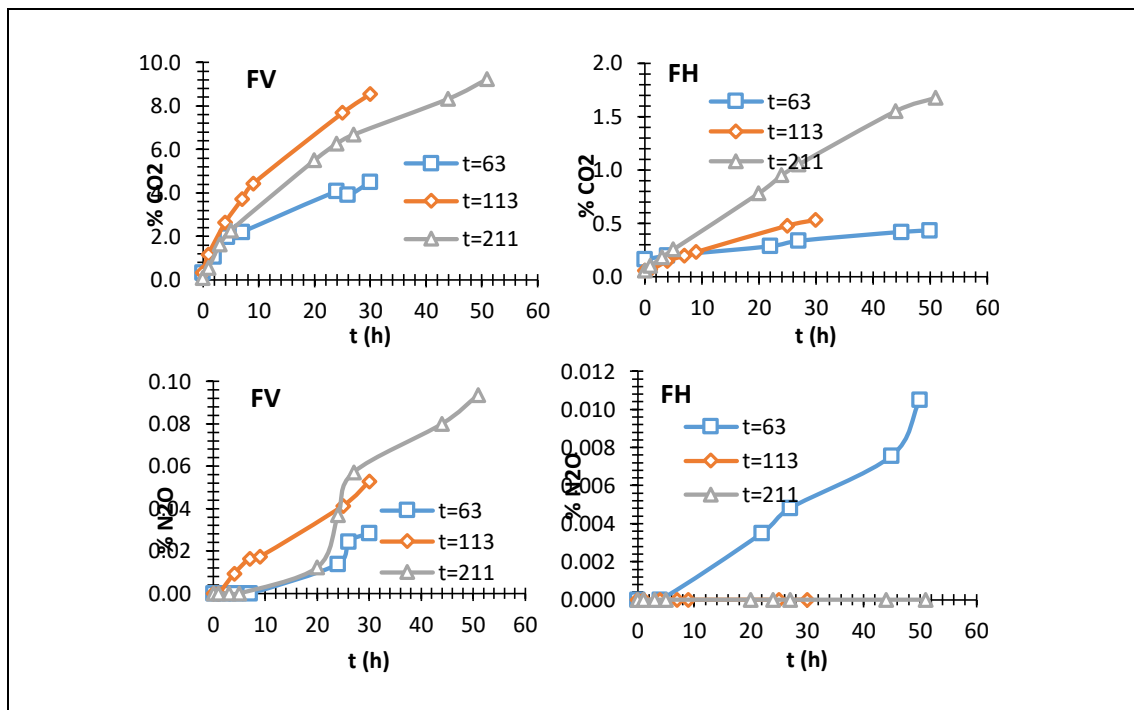
Fixéronse tres campañas de seguimento ao longo do tempo do estudo, como se describe a continuación. A primeira campaña comezouse no día 63 do estudo, correspondéndose nos últimos días do Período II, durante 30 horas en FV e 50 horas en FH. Na segunda campaña, coincidente cos últimos días do período III, iniciouse o día 112 de estudo e continuou durante 30 horas en ambas columnas. A terceira campaña de seguimento coincidiu durante o período de adaptación ao Período V, de aumento bypass ao 50%. Esta campaña prolongouse durante 51 horas en cada columna, co obxectivo de observar o comportamento do N<sub>2</sub>O. Durante esta campaña, o control de temperatura da cámara termostatzada foi defectuoso, rexistrándose temperaturas entre 23 e 26°C.

Na cabeceira da columna FV instalouse unha bolsa Tedlar con uns 500 mL aire a modo de pulmón para facilitar o funcionamento dos pulsos, que provoca contracción e expansión da atmosfera da zona de cabeceira neste tipo de unidades ríxidas. Observouse como a bolsa se expandía ao comezar o pulso e como se contraía a medida que se producía a drenaxe, sen que se esgotase completamente a capacidade de expansión ou contracción. Compre ter en conta que o pulso de alimentación, duns 180 mL, inxectábase nun período curto polo xeral inferior a 2 minutos. Ao remate (antes de abrir as columnas) observouse menor cantidade de aire na bolsa, aproximadamente uns 250mL nas tres ocasións.

Na Figura 6 preséntanse as curvas completas de evolución da %CO<sub>2</sub> e %N<sub>2</sub>O. En ningunha das campañas de seguimento se detectou produción de metano, nin en FV nin en FH. A



evolución da % de CO<sub>2</sub> na columna FH resultou lineal en todo o período de medición, e particularmente nun período inferior a 30 h. Neste período, as % de CO<sub>2</sub> situábanse por debaixo do 1%, o que se debe a unha baixa velocidade de consumo de oxíxeno nesta columna. Desta forma, nese período de tempo, a atmosfera na cabeceira da columna pode considerarse pouco afectada polo seu peche e confinamento. Como resultado considerouse que é correcto estender o período de medición por un tempo de 30 h sen que afecte aos procesos microbiolóxicos e doutro tipo que teñen lugar na columna. Este período fixouse tanto para a obtención de velocidades de emisión de CO<sub>2</sub> como de N<sub>2</sub>O.



**Figura 6.** Producción de CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O na columna FV e FH para as tres campañas de seguimento de emisións gasosas.

Pola contra, a evolución da % de CO<sub>2</sub> na columna FV foi perdendo pendente a partir das primeiras 4-5 h, e de forma máis acusada a partir das 10 h, unha vez que se superaba un 2-3% de CO<sub>2</sub> na atmosfera confinada. Nun período de 30 horas atinxíase entre un 4 e 8% de CO<sub>2</sub>, o que indica unha velocidade de consumo de oxíxeno maior nesta columna. Os cambios na composición da atmosfera na cabeceira da columna claramente afectaron os procesos microbiolóxicos de degradación e conversión, polo que se considerou necesario limitar o período de medición a unhas 5-7 h. Este período fixouse tanto para a obtención de velocidades de emisión de CO<sub>2</sub> como de N<sub>2</sub>O. A evolución irregular das curvas de N<sub>2</sub>O en FV a tempos elevados (Figura 6) podería estar afectada pola modificación da composición da atmosfera, en particular pola limitación de oxíxeno.

Así mesmo, a interpretación dos resultados está condicionada aos límites de detección do método, en particular para o N<sub>2</sub>O. A análise cromatográfica implica un límite de detección de 0,005% de N<sub>2</sub>O. Para un período de medición de 5 h, este límite resulta en 80 mgN<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d na columna FV e en 43 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d na columna FH, debido á diferente relación entre o volume da atmosfera confinada e a superficie de captación. O límite de detección a un tempo de 30 h en FH vese reducido até os 7,3 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d. Para CH<sub>4</sub>, os límites de detección resultan de 30 e 3 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d para FV e FH, respectivamente.

Con estes criterios, na Táboa 8 indícanse os valores de emisión de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O e CH<sub>4</sub> obtidos, e na Figura 7 móstranse as correlacións por regresión lineal para a súa obtención. A partir da pendente das ecuacións de regresión da Figura 7, os valores de velocidade superficial de emisión (VSE) obtéñense mediante a ecuación [Eq. 8].

Considerando un factor de conversión de 0,5 g COT/g DBO<sub>5</sub> (Mander et al., 2014), así como de 0,5 g DBO<sub>5</sub>/g DQO para o influente a FH, podemos obter os factores de emisión de CO<sub>2</sub> a partir das velocidades de carga orgánica de carbono orgánico total (COT) e das velocidades de emisión. Os resultados indican factores de emisión de CO<sub>2</sub> (%COT) en FV do 75 % (día 63), 110 % (día 113) e 91,5 % (día 211), cunha media do 91,5 %. Porén, en FH resultaron moi inferiores, con valores de 6,4 %, 18,9 % e 11,1 %, respectivamente, e unha media do 11,1 %. As menores velocidades de carga e un pH máis elevado poderían explicar que a maior parte do carbono mineralizado abandone FH como CO<sub>2</sub> disolvido no efluente e non como gas.

En canto aos factores de emisión de N<sub>2</sub>O como porcentaxe do NT influente, os límites de detección de 80 e 7,3 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d para FV e FH, respectivamente, e considerando as VCSN aplicadas (6,5 e 3-4 g NT/m<sup>2</sup>·d en FV e FH, respectivamente, Táboa 3), levarían a factores de emisión de N<sub>2</sub>O do 0,4 %NT (FV) e 0,07 %NT (FH), que son valores relativamente baixos, dentro dos rangos de emisión referidos como habituais por Mander et al. (2014). Para as dúas campañas nas que se obtivo unha medida superior ao límite de detección (día 113 en FV e día 63 en FH), os factores de emisión de N<sub>2</sub>O resultaron de 1,0 %NT (FV) e 0,08 %NT (FH). No sistema global, os factores de emisión de N<sub>2</sub>O resultaron por tanto inferiores a 1,1% NT. Desta forma, aínda que o límite de detección de emisións de N<sub>2</sub>O non son todo o baixos que sería desexable, os valores obtidos permiten ao menos contrastar que as emisións de N<sub>2</sub>O están dentro dos rangos considerados normais e que que non constitúen un factor de impacto elevado en relación coa emisión de gases de efecto invernadoiro.

**Táboa 8.** Velocidade superficial de emisión (VSE) de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O nas columnas FV e FH.

Día operación	FV (mg/m <sup>2</sup> ·d)			FH (mg/m <sup>2</sup> ·d)		
	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub>
t= 63	30227	0 (<80)	0 (<30)	236	7,9	0 (<3)
t= 113	44227	199	0 (<30)	694	0,0 (<7,3)	0 (<3)
t= 211	35743	0 (<80)	0 (<30)	1428	0,0 (<7,3)	0 (<3)

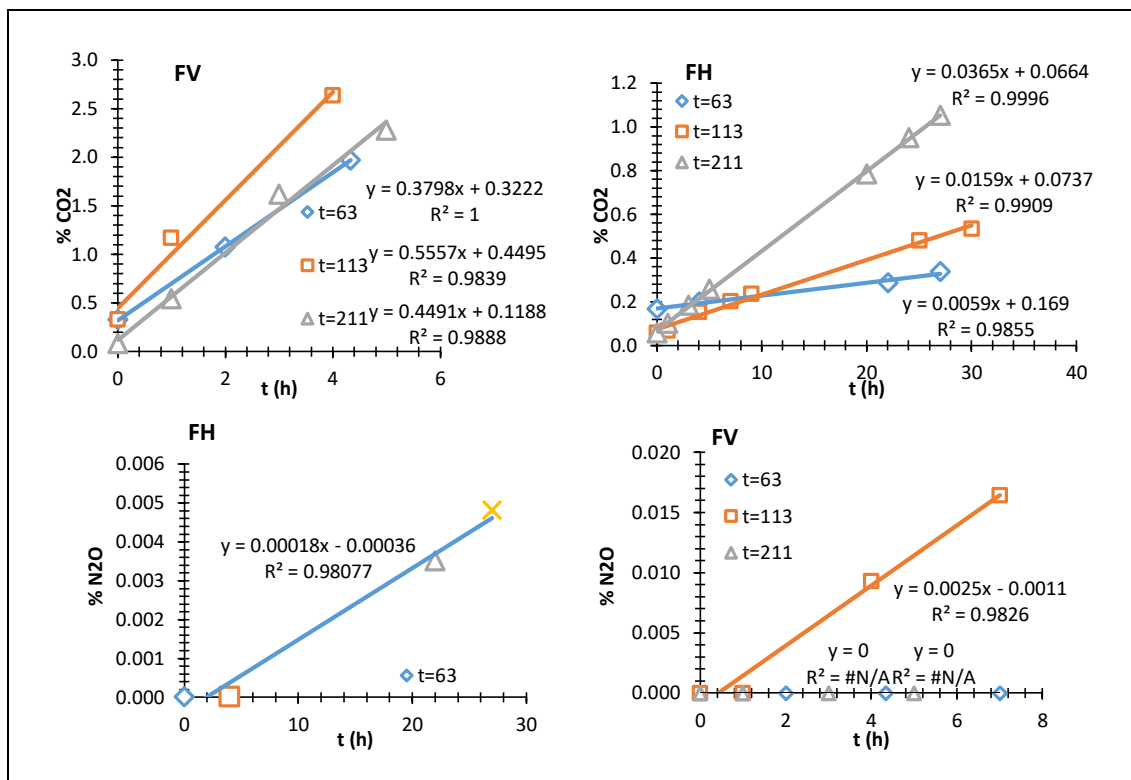


Figura 7. Períodos e axustes por regresión para a obtención das velocidades de emisións de CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O.

Como se indicou arriba, non se detectaron emisións de metano en ningunha das columnas. Os límites de detección deste gas son moi reducidos, 30 e 3 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d para FV e FH, respectivamente, que levan a factores de emisión de CH<sub>4</sub> inferiores ao 0,25 % COT influente en cada columna e no sistema global. Comparativamente, Mander et al. (2014) indicou factores de emisión medios do 16,9% para humidais construídos de fluxo superficial, 4,5% para humidais FH e 1,2% para FV.

### 3.5. Concentración de biomasa e actividades microbianas

Os resultados da caracterización dos medios filtrantes danse na Táboa 9. En primeiro lugar medíronse as alturas dos diferentes medios, concluíndo que non houbo compactación apreciable en ningún dos medios. A densidade do medio drenado situouse no rango de 1,35 – 1,44 kg/L. A porosidade drenable resultou moi inferior para a capa MF2 de FV e moi similar no resto dos medios. A retención de auga foi elevada na capa superior MF2 da columna FV, con un 12% do peso do medio (mostra húmida), seguida polo resto do medio filtrante FV (8-9%) e finalmente polo medio FH (4,5-5,1%), sen grandes diferenzas entre a parte superior e inferior. A porosidade drenable e a retención de auga gardan unha relación lineal inversa ( $R^2$  0,706;  $p$  0,075). No caso da columna FV, unha maior retención de auga (e por tanto una menor porosidade drenable) poden considerarse beneficiosas, xa que facilitan un maior tempo de contacto. Porén, un valor excesivo podería ser indicativo de procesos de colmatación,

un risco que no presente estudo non se observou como se puxo de manifesto nos resultados acadados para os perfís de fluxo en FV.

**Táboa 9.** Caracterización dos medios filtrantes ao final do estudo.

	Mostra	Densidade (g/mL)	Porosidade (%)	%H <sub>2</sub> O	%SV (g.s.)	AN (mgN/L·h)	ADN (mgN/L·h)
	MF2	1,37	19,5	12,1 ± 0,3	0,78 ± 0,04	2,11 ± 0,08	7,14 ± 0,97
FV	MF1a	1,40	36,7	8,1 ± 0,1	0,65 ± 0,01	0,81 ± 0,02	3,01 ± 0,25
	MF1b	1,44	37,9	9,0 ± 0,2	0,50 ± 0,07	0,52 ± 0,01	2,70 ± 0,30
FH	MF1a	1,35	38,4	5,1 ± 0,3	0,29 ± 0,04	0,35 ± 0,11	2,30 ± 0,29
	MF1b	1,42	39,7	4,5 ± 0,3	0,33 ± 0,06	0,04 ± 0,01	1,38 ± 0,12

AN: actividade nitrificante. ADN: actividade denitrificante. g.s.: grava seca

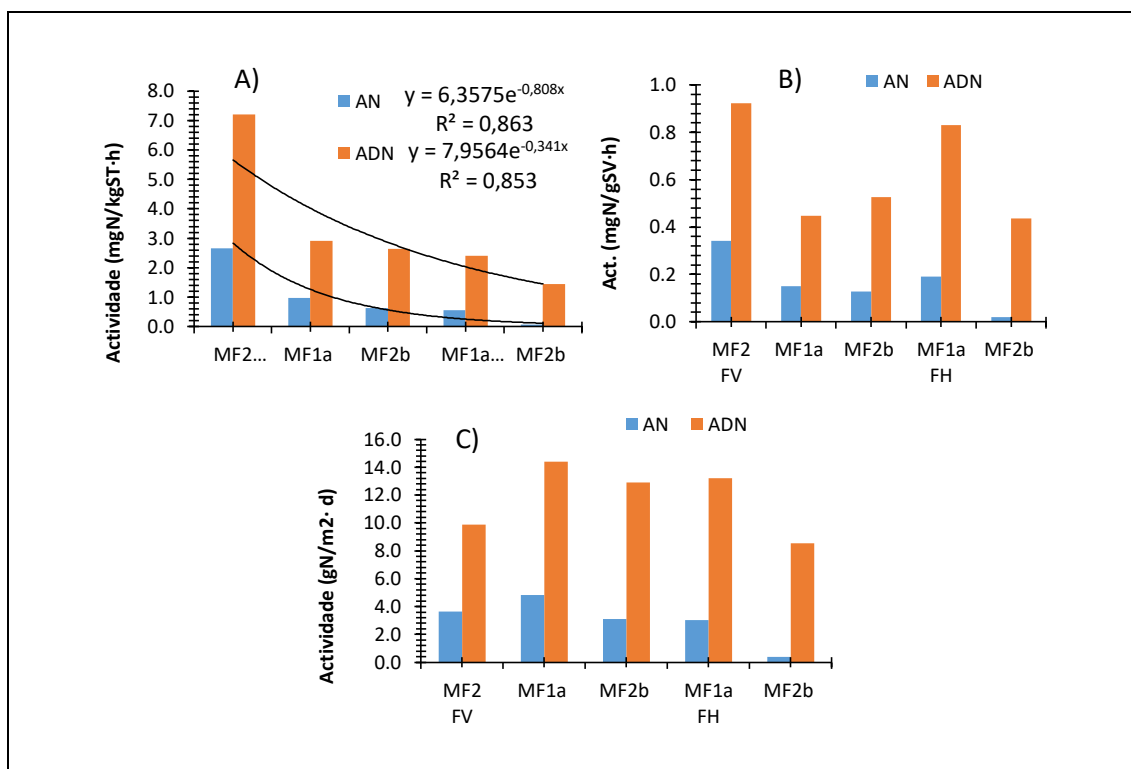
O contido en biomasa determinouse como o contido total en SV totais nas mostras de medio filtrante drenado. As concentracións foron reducidas, decrecendo no sentido de fluxo na columna FV no rango de 0,5 – 0,8 %SV/g.s. e resultando inferior pero uniforme na columna FH, arredor de 0,3 %SV/g.s. A concentración de SV garda unha estreita relación directa coa retención de auga ( $R^2$  0,855;  $p$  0,025).

Na Táboa 10 indícanse as actividades volumétricas obtidas nos ensaios biolóxicos. A actividade metanoxénica foi nula en todas as mostras tanto da columna FV como FH, durante ao menos un período de 14 días de incubación. Ademais, nestes ensaios anaerobios non se detectou formación de N<sub>2</sub>O. Tampouco se detectou a formación de metano nin de N<sub>2</sub>O nos ensaios denitrificantes. De acordo coa Táboa 2, en todos os ensaios con mostras procedentes da columna FV engadiuse unha cantidade similar de mostra de grava, que foi de 45,1 ± 0,2 g de medio húmido, mentres nos ensaios con mostras de FH engadíronse 100,6 ± 0,5 g medio húmido. Por esta razón, a interpretación dos datos de actividade microbiana indicados na Táboa 10 débense expresar en unidades que permitan a súa comparación. Os resultados exprésanse na Figura 8 por kg de grava seca, por unidade de superficie, e por unidade de SV.

Tanto a actividade nitrificante como a denitrificante por kg de grava decrecen na dirección de fluxo, a AN no rango de 2,7 a 0,06 mg N/kg ST·h, e a ADN no rango de 7,2 a 1,4 mg N/kg ST·h, o que indica que as actividades denitrificantes potenciais son claramente maiores que as actividades nitrificantes (Figura 8A). Os valores globais resultaron de 1,0 (FV) e 0,3 (FH) mg N/kg ST·h para a actividade nitrificante, e de 3,3 (FV) e 1,9 (FH) mg N/kg ST·h para a actividade denitrificante. Ambas actividades expresadas nestas unidades aparecen correlacionadas positivamente coa concentración en SV ( $R^2 > 0,68$ ,  $p < 0,1$ ). Así, as actividades expresadas por unidade de SV (actividades específicas) resultan máis homoxéneas (Figura 8B). Pero incluso nestas unidades, a biomasa da parte superior de cada columna aparece máis concentrada en flora microbiana nitrificante e denitrificante, polo que segue decrecendo en cada columna na dirección de fluxo. A ADN atinxe os 0,8-0,9 mg N/g SV·h na cabeceira de ambas

columnas, e decrece a 0,4-0,5 mg N/g SV·h no resto das columnas. O comportamento é similar no que se refire á AN, pero cunha estratificación máis acusada e con valores claramente inferiores.

Finalmente, na Figura 8C preséntase a achega de cada capa de medio filtrante á actividade por unidade de área. Tendo en conta os datos de densidades de grava (kg ST/m<sup>2</sup>) en cada capa, podemos obter a contribución de cada capa de material á actividade nitrificante e denitrificante máxima por unidade de área. Globalmente, a actividade nitrificante potencial alcanzou os 11,6 g N/m<sup>2</sup>·d en FV1 e os 3,4 g N/m<sup>2</sup>·d en FH2, mentres a actividade denitrificante atinxiu os 37,2 e 21,7 g N/m<sup>2</sup>·d en FV1 e FH2, respectivamente. A contribución de cada capa a estas actividades máximas móstrase na Figura 4. Todas as capas achegan unha actividade denitrificante elevada (8-14 g N/m<sup>2</sup>·d), mentres a actividade nitrificante foi menor pero uniforme (3 – 5 g N/m<sup>2</sup>·d) coa excepción da metade inferior de FH2, onde caeu a 0,4 g N/m<sup>2</sup>·d. Compre destacar a achega da capa MF2 en FV, tendo en conta o seu reducido espesor (5 cm fronte a 16-19 cm das capas MF1a e MF1b). As actividades nitrificante e denitrificante máximas globais (suma das dúas columnas) resultaron de 15,0 g N/m<sup>2</sup>·d e 58,9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. A pesar de que a actividade desnitrificante potencial era maior que a actividade nitrificante potencial, o sistema global acumulaba máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final, o que indica que a etapa desnitrificante foi limitante fronte a etapa nitrificante. Isto pode acharse a unhas condicións ambientais e de substrato (O<sub>2</sub>, POR, relación DQO/NT) pouco propicias para a desnitrificación, a pesar do elevado *bypass* aplicado nos períodos finais finais do proceso.



**Figura 8.** Actividade nitrificante (AN) e denitrificante (ADN) nas mostras de grava procedentes de diferentes zonas das columnas expresadas en diferentes bases.

#### 4. DISCUSIÓN

Como foi indicado por Fan et al. (2013 a,b), para acadar boa eliminación de DQO, N-NH<sub>3</sub> e NT simultaneamente, é de interese prestarlle atención a dous aspectos: (1) dispoñer de ambientes aerobios e anaerobios no leito do humidal, e (2) subministrar unha fonte de carbono na auga residual. Estas condicións satisfanse no sistema híbrido de humidais FV/FH-b do presente estudo, no cal a unidade de FV forneceu de condicións aerobias nitrificantes e a unidade de FH destinouse a proporcionar condicións anóxicas ou anaerobias. Ademais de isto, o bypass subministrou unha fonte de carbón facilmente biodegradable adicional na segunda unidade de FH, mellorando nela as condicións de nitrificación.

Vymazal (2007) estudou HCs de etapa única e obtivo unha taxa media de eliminación de NT de 0,7 g N/m<sup>2</sup>·d (42%, n=137) nos de FH, e de 1,7 g N/m<sup>2</sup>·d (45%, n=51) nos de FV. A eliminación de NT nas etapas individuais do noso sistema atópanse en 0,9 (FV) e 0,7 (FH) g N/m<sup>2</sup>·d (VSD<sub>máx</sub> sen bypass, Táboa 6). O relativamente baixo resultado na presente unidade de FV podería explicarse pola ausencia de plantas. De feito, Vymazal (2007) estimou que a eliminación de nitróxeno vía colleita da biomasa aérea da vexetación emerxente correspóndese aproximadamente con 0,3 – 0,6 g NT/m<sup>2</sup>·d. Carballeira et al. (2016 a) rexistrou en unidades de FH con plantas que acadaban ata o 70% de eliminación de nitróxeno con respecto a unidade FH control (sen plantas). Así, a taxa de eliminación de NT na unidade FV do noso sistema estivo no rango dos datos rexistrados, mentres que a taxa de eliminación de NT na unidade FH foi máis alta nos períodos sen bypass se consideramos a ausencia das plantas. Isto pode ser atribuído ao feito de que a unidade FH recibe auga residual pre-nitrificada. A efectividade da alternancia de condicións aeróbicas e anaeróbicas nos sistemas híbridos FV e FH sen bypass foi estudado por Gaboutloeloe et al. (2009). Estes autores revisaron varios sistemas híbridos FV+FH e indicaron que o principal factor limitante era a acumulación de nitrato, debido principalmente ao agotamento do carbono durante a fase aerobia. O mesmo ocorreu no noso sistema durante a operación sen bypass e con unha baixa proporción deste, que a taxa DQO/NT no influente de FH foi moi baixa (0,3 – 1,3) nos períodos II e III (Táboa 3). Nestas condicións, o sistema FV/FH-b eliminou un 31 – 41% de NT con unha carga de 6,9 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 2,1 g NT/m<sup>2</sup>·d. Con taxas de bypass máis elevadas, a proporción DQO/NT no influente aumentouse ata 3,2 – 3,5 e o sistema foi capaz de eliminar o 50% de NT con 10 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 3,1 g NT/m<sup>2</sup>·d (período VI, Táboa 3). Este aumento na eliminación do NT foi debido á redución de nitrato no efluente desde 35 a 20 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. Así, unha elevada taxa de bypass no sistema foi capaz de mellorar a eliminación de NT. Estes resultados son prometedores porque podemos esperar aínda unha maior eficiencia en sistemas con plantas e o sistema híbrido FV/FH-b podería acadar suficiente eliminación de amonio e NT co obxectivo de cumprir cos límites de descarga. Porén, os estudos no efecto do bypass de influente á segunda unidade de HCs híbridos FV+FH non están suficientemente datados, polo que se fan necesarias investigacións adicionais especialmente en sistemas a escala real e con plantas.

Diversos estudos acordan co obxectivo do bypass para mellorar a eliminación de NT en HCs de mareas e de FV saturados. Yang et al. (2011) empregou un sistema de HCs de laboratorio con fluxo intermitente para conseguir mellor aireación e estimular a oxidación da materia orgánica e do nitróxeno amoniacal mediante a aplicación de multialimentación: 80% do fluxo influente dirixido a primeira unidade, e 20% á segunda, proporcionando así tamén unha fonte de carbono para a denitrificación. Obtiveron eficiencias medias de eliminación do 65% DQO, 68% DBO<sub>5</sub>, 34% N-NH<sub>3</sub>, con VCOS de 47 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 23 gN-NH<sub>3</sub>/m<sup>2</sup>·d. Así, a taxa de nitrificación acadou os 7,8 g N-NH<sub>3</sub>/m<sup>2</sup>·d, pero o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NT non foron monitorizados neste estudo.

Hu et al. (2012) adoptaron unha configuración de multialimentación nun HC intermitente de catro etapas, e obtiveron taxas crecentes de eliminación de NT do 23 – 59 % sen bypass ata o 61 – 83 % con el, aplicando unha carga de 20 g N/m<sup>2</sup>·d dependendo do esquema de multialimentación e a distribución do fluxo. A fracción de distribución do fluxo foi considerado o factor máis importante nos humidais con multialimentación ou bypass, e pode ser estimado en base teórica, sendo función da taxa DQO/NT.

Por outra banda, Fan et al. (2013a) atoparon que unha estratexia de multialimentación (como pode ser a distribución no tempo: alimentando a metade ao comezo do ciclo e a outra metade durante o ciclo) conseguiu aumentar a eliminación de nitróxeno desde o 74 ao 82 % en HCs de FV operados en batch, e con aplicación de aireación intermitente con VCOS de 24 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 3,2 g N/m<sup>2</sup>·d.

Wang et al. (2014) estudaron o efecto da multialimentación no funcionamento de un HC de FV de tratamento de augas residuais porcinas. Os resultados mostraron que a relación de derivación tivo influencia significativa na eliminación de nitróxeno, mentres que non tivo unha grande influencia na eliminación de DQO, DBO<sub>5</sub>, SST e PT. A eliminación de NT foi a máis elevada e as emisións de N<sub>2</sub>O as máis baixas cando a relación de derivación foi de 1:2 (é dicir, cando un terzo do influente á primeira unidade se deriva a zona media da unidade de FV).

Stefanakis et al. (2011) estudaron o efecto de dous esquemas de multialimentación aplicando unha distribución espacial do influente en diversos puntos ao longo de unha unidade de FH, aplicando 2,7 – 11 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 0,5 – 2,0 g NTK/m<sup>2</sup>·d. A eliminación de DBO<sub>5</sub> e NTK estivo entre 77 e 91% e entre 48 e 87 %, respectivamente. Os autores concluíron que para adoptar multialimentación nun HC de FH pode ser positivo cando se selecciona unha configuración adecuada.

Como xa se indicou, o efecto o bypass nos HCHs de FV+FH non está reportado, pero os nosos resultados acordan cos citados estudos sobre o efecto positivo da multialimentación en diferentes tipos de HCs e das súas configuracións.

Ademais da proporción de bypass aplicada, tamén é importante nos humidais híbridos a proporción entre as áreas de cada unidade. Vymazal (2013) revisou 19 exemplos de FV+FH e obtivo unha relación de área media FH/FV de 2,7 (desde 0,5 até 7,6), e os primeiros HCHs presentaban relacións maiores (Gaboutloeloe et al. 2009). No presente

estudo a relación de áreas FH/FV foi de 2,0. Traballamos coa hipótese que unha proporción considerablemente menor FH/FV de 0,5 ou menor, pode ser positiva para mellorar a denitrificación e a eliminación de NT.

Como foi rexistrado por diversos autores a eliminación efectiva de nitróxeno nos HCs xeralmente require unha relación DQO/NT de 5 ou maior. Hu et al. (2014) atopou a denitrificación limitada no 60% nos humidais mareais debido a deficiencia de carbono no influente con taxa DQO/NT de 3,3 – 3,7, mentres que aumentándoa a 7 – 9, o sistema era quen de acadar eliminación efectiva de NT do 86%.

Foladori et al. (2013) rexistraron unha denitrificación parcial con unha relación de DQO/NT de 6,0 no influente. Isto é de grande importancia porque a degradación heterotrófica de materia orgánica normalmente ocorre rápido e antes de que o nitróxeno amoniacal sexa nitrificado polos microorganismos autotróficos, esgotando así a materia orgánica da auga residual nas zonas finais de sistemas lineais nos cales o nitrato sí está presente normalmente. Zhu et al. (2014) rexistrou que a eficiencia de eliminación de NT,  $\text{N-NO}_3^-$  e DQO aumentaba coa maior relación DQO/NT desde 1 até 7, e que a eficiencia de eliminación era óptima con relación DQO/NT entre 5 e 7. Unha relación máis elevada promovía a actividade denitrificante pero ao consumirse a materia orgánica tamén se consume o OD e a nitrificación do  $\text{NH}_3$  inhíbese (Fan et al., 2013 b; Zhu et al., 2014). Zhao et al. (2010) obtivo unha elevada eficiencia de eliminación de nitróxeno cando a proporción C/N se atopaba entre 2,5 e 5 en HCs de FV saturados, mentres que se mantíña unha boa capacidade de eliminación de carbono orgánico con relación C:N 10:1. No noso estudo, a taxa DQO/NT estivo por baixo da necesaria para acadar denitrificación avanzada. Porén, o aumento do bypass con relación de áreas FH/FV de 2, mellora a concentración de amonio no efluente. Como alternativa a relación de áreas de 0,5 pode proporcionar maior relación DQO/NT con un baixo bypass e entón mellorar a eliminación de NT.

É destacable que as emisións de gases invernadoiro obtidas no presente sistema foron relativamente baixas para o  $\text{N}_2\text{O}$  e non se detectaron para o  $\text{CH}_4$ . Este resultado concorda co estudo de Yan et al. (2012), que rexistraron que as baixas e medias relacións C/N eran beneficiosas para reducir as emisións gasosas. A xeración nula de metano na unidade de FH pode deberse aos elevados valores de OD e POR rexistrados, e por outra banda, á competición dos microorganismos denitrificantes sobre os metanoxénicos en canto á materia orgánica facilmente biodegradable (Thiere et al., 2011).

## 5. CONCLUSIÓNS

O bypass do 50% de influente cara a segunda unidade FH aumentou efectivamente a relación DQO/NT desde 0,3 até 3,5, aumentando a eliminación de NT do 31 ao 50%. Porén, a taxa de denitrificación na unidade de FH permaneceu baixa debido ás inadecuadas condicións de operación, como o OD (3,2 mg/L) e o POR (124 mV). Para o



sistema global as taxas de nitrificación e denitrificación potencial acadaron 15,0 e 58,9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente, pero as máximas taxas medidas estiveron só en 2,2 e 1,6 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Estes resultados son prometedores porque podemos agardar unha eficiencia maior en sistemas con plantas, así como unha emisión de gases de efecto invernadoiro moi baixa.

A configuración en dúas etapas para simular HCs híbridos en laboratorio permitiu centrarse nos fenómenos de conversión e eliminación de nitróxeno, así como na eliminación de contaminantes orgánicos (en forma de SST, DQO e DBO<sub>5</sub>), grazas á posibilidade de manter constantes determinadas condicións ambientais tais como a temperatura, o pH, a composición influente simulando auga residual urbana, e tamén grazas á posibilidade de manter baixo control parámetros de deseño como a velocidade de carga hidráulica e orgánica.

O tempo de operación de 254 días permitiu distinguir 6 períodos definidos a partir da configuración inicial, aplicando modificacións co obxectivo de aumentar a capacidade e de mellorar a operación, pero sen desestabilizar os sistemas, mediante axustes de carga hidráulica e orgánica e por incorporación de bypass en proporcións crecentes, que ademais de proporcionar fonte de carbono á segunda unidade tamén permitiu aumentar a carga sobre o sistema global.

A eliminación de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> resultou moi elevada (>96%) no sistema global, acadando a eliminación do 95% de SST e DQO xa na primeira unidade de FV, sendo a segunda unidade FH a responsable da eliminación de SST e DQO (>90%) durante os períodos de aplicación de bypass. A eliminación de NT seguiu a evolución marcada pola columna FH, obtendo os mellores resultados de denitrificación cun 50% de NT eliminado, grazas ao aumento do bypass até o 50% (3,4 COD/TN) respecto ao influente da primeira unidade. A utilización dun 10 e 25% de bypass mostráronse claramente insuficientes. No sistema global obtívose VSN de ata 2,2 ± 0,1 g N/m<sup>2</sup>·d, sendo a VSD claramente inferior, sen superar os 1,6 ± 0,1 g N/m<sup>2</sup>·d.

A caída do pH pode reducir a cinética do proceso. Observouse que a adición dun sistema tampón na alimentación como control de pH é beneficioso para a nitrificación. Deste modo, a maior VSN<sub>Max.</sub> foi acadada nos períodos con control de pH, obtendo 5,1 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/m<sup>2</sup>·d, correspondéndose co descenso na concentración de amoníaco e incremento de nitrato no efluente de FV, o cal confirma a importancia de regular o pH para evitar a inhibición da nitrificación por baixos pH.

Os valores de OD e POR máis altos do que cabería esperar poden ser debidos a unha insuficiente relación COD/TN, que non permite suficiente desenvolvemento da microbiota anaerobia. As caídas puntuais en OD suxiren que o sistema se adapta á demanda de oxíxeno adicional causada polos aumentos de bypass en FH, recuperándose logo e volvendo a rexistrar valores elevados de OD no efluente. Nestas condicións a denitrificación foi a etapa limitante, na unidade de FH.

Nas condicións estudadas non se observou fenómeno de colmatación durante o estudo, e a recuperación do volume dos pulsos foi sempre superior ao 88%.

Despois de probar distintos tempos de medición gasosa, é correcto estender o período de medición gasosa por un tempo de 30 horas en FH e de 5 – 7 horas en FV sen que afecte aos procesos microbiolóxicos que teñen lugar na columna. Para maiores tempos en FV a produción irregular de N<sub>2</sub>O podería estar afectada pola modificación da composición da atmosfera, en particular pola limitación de oxíxeno.

A interpretación dos resultados de emisións gasosas está condicionada aos límites de detección do método, en particular para o N<sub>2</sub>O. Para FV (5h) o límite resulta en 80 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d e 30 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, e en FH (30h) este límite vese reducido até os 7,3 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d e 3 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d.

Os resultados indican factores de emisión de CO<sub>2</sub> (%COT) en FV do 91,5 %, e en FH resultaron moi inferiores, con valor medio do 11,1 %. As menores velocidades de carga e un pH máis elevado poderían explicar que a maior parte do carbono mineralizado abandone FH como CO<sub>2</sub> disolvido no efluente e non como gas.

Os valores obtidos permiten contrastar que as emisións de N<sub>2</sub>O están dentro dos rangos considerados normais e que non constitúen un factor de impacto elevado en relación coa emisión de gases de efecto invernadoiro.

O contido en biomasa decrece no sentido de fluxo na columna FV no rango de 0,8-0,5 %SV/g.s. e resulta inferior pero uniforme na columna FH, arredor de 0,3 %SV/g.s., sendo baixa concentración en ambos casos.

Tanto a actividade nitrificante como a denitrificante por kg de grava decrecen na dirección de fluxo, a AN no rango de 2,7 a 0,06 mg N/kg ST·h, e a ADN no rango de 7,2 a 1,4 mg N/kg ST·h, o que indica que as actividades denitrificantes potenciais son claramente maiores que as actividades nitrificantes. A pesar de isto, o sistema global acumula máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final, o que indica que a etapa desnitrificante foi limitante fronte a etapa nitrificante, como se indicou arriba. Isto pode acharse a unhas condicións ambientais e de substrato (O<sub>2</sub>, POR, relación DQO/NT) pouco propicias para a desnitrificación, a pesar do elevado bypass aplicado nos períodos finais do proceso.

Polo tanto, un sistema FV+FH en serie mostra dificultades para garantir unha boa denitrificación e eliminación global do nitrato.

## 6. REFERENCIAS

Andreottola, G., Oliveira, E., Foladori, P., Peterlini, R., Ziglio, G., 2007. Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 56, 255 – 261.

- Aiyuk, S., Verstraete, W., 2004. Sedimentological evolution in an UASB treating SYNTHES, a new representative synthetic sewage, at low loading rates. *Bioresour. Technol.* 93, 269 – 278.
- Álvarez, J.A., Ruíz, I., Soto, M., 2008. Anaerobic digesters as a pretreatment for constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 33, 54-67.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington.
- Ávila, C., Garfí, M., García, J., 2013. Three-stage hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse in warm climate regions. *Ecol. Eng.* 61, 43 – 49.
- Ayaz, S.Ç., Aktas, Ö., Fındık, N., Akça, L., Kinacı, C., 2012. Effect of recirculation on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system. *Ecol. Eng.* 40, 1 – 5.
- Barros, P., Ruíz, I., Soto, M., 2008. Performance of an anaerobic digestrewetland system for a small community. *Ecol. Eng.*, 33, 142-149.
- Białowiec, A., Davies, L., Albuquerque, A., Randerson, P.F., 2012. The influence of plants on nitrogen removal from landfill leachate in discontinuous batch shallow constructed wetland with recirculating subsurface horizontal flow. *Ecol. Eng.* 40, 44–52.
- Brix, H., Arias, C.A., Johansen, N.H., 2003. Experiments in a two-stage constructed wetland system: nitrification capacity and effects of recycling on nitrogen removal. In: Vymazal, J. (Ed.), *Wetlands-nutrients, Metals and Mass Cycling*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 237 – 258.
- Brix, H., Arias, C.A., 2005. The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic wastewater: new Danish guidelines. *Ecol. Eng.* 25, 491 – 500.
- Button, M., Nivala, J., Weber, K.P., Aubron, T., Müller, R.A., 2015. Microbial community metabolic function in subsurface flow constructed wetlands of different designs. *Ecol. Eng.* 80, 162–171.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M., 2016a. Effect of plants and surface loading rate on the treatment efficiency of shallow subsurface constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 90, 203 – 214.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M., 2016b. Methanogenic activity of accumulated solids and gas emissions from planted and unplanted shallow horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* (in press).
- Cooper, P., 2005. The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates *Water Sci. Technol.* 51(9), 91-97.
- De la Varga, D., Díaz, A., Ruiz, I., Soto, M., 2013. Avoiding clogging in constructed wetlands by using anaerobic digesters as pre-treatment. *Ecol. Eng.* 52, 262-269.
- De la Varga, D., Ruiz, I., Álvarez, J.A., Soto, M., 2015. Methane and carbon dioxide emissions from constructed wetlands receiving anaerobically pretreated sewage. *Sci. Total Environ.* 538, 824-833.
- Fan, J., Liang, S., Zhang, B., Zhang, J., 2013a. Enhanced organics and nitrogen removal in batch-operated vertical flow constructed wetlands by combination of intermittent aeration and step feeding strategy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 2448-2455.
- Fan, J.L., Wang, W.G., Zhang, B., Guo, Y.Y., Ngo, H.H., Guo, W.S., Zhang, J., Wu, H.M., 2013b. Nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: Impact of influent COD/N ratios. *Bioresour. Technol.* 143, 461-466.

- Foladori, P., Ruaben, J., Ortigara, A.R.C., 2013. Recirculation or artificial aeration in vertical flow constructed wetlands: a comparative study for treating high load wastewater. *Bioresour. Technol.* 149, 398 – 405.
- Ferreiro, N., Soto, M., 2003. Anaerobic hydrolysis of primary sludge: influence of sludge concentration and temperature. *Water Sci. Technol.* 47(12), 239-246.
- Gaboutloeloe, G., Chen, S., Barber, M., Stöckle, C., 2009. Combinations of horizontal and vertical flow constructed wetlands to improve nitrogen removal. *Water Air Soil Pollut.* 9, 279 – 286.
- Hu, Y.S., Zhao, Y.Q., Zhao, X.H., Kumar, J.L.G., 2012. Comprehensive analysis of stepfeeding strategy to enhance biological nitrogen removal in alum sludge-based tidal flow constructed wetlands. *Bioresour. Technol.* 111, 27 – 35.
- Hu, Y., Zhao, Y., Rymszewicz, A., 2014. Robust biological nitrogen removal by creating multiple tides in a single bed tidal flow constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 470–471, 1197-1204.
- Li, F., Lu, L., Zheng, X., Ngo, H.H., Liang, S., Guo, W., Zhang, X., 2014. Enhanced nitrogen removal in constructed wetlands: Effects of dissolved oxygen and step-feeding. *Bioresour. Technol.* 169, 395-402.
- Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S.F., Jamsranjav, B., Kasak, K., Truu, J., Tournebize, J., Mitsch, W.J., 2014. Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: A review. *Ecol. Eng.* 66, 19-35.
- Meng, P., Pei, H., Hu, W., Shao, Y., Li, Z., 2014. How to increase microbial degradation in constructed wetlands: Influencing factors and improvement measures. *Bioresour. Technol.* 157, 316 – 326.
- Narváez, L., Cunill, C., Cáceres, R., Marfà, O., 2011. Design and monitoring of horizontal subsurface-flow constructed wetlands for treating nursery leachates. *Bioresour. Technol.* 102, 6414-6420.
- Pedescoll, A., Corzo, A., Álvarez, E., Puigagut, J., García, J., 2011. Contaminant removal efficiency depending on primary treatment and operational strategy in horizontal subsurface flow treatment wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 372-380.
- Saeed, T., Sun, G., 2012. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *J. Environ. Manage.* 112, 429 – 448.
- Song, X., Ding, Y., Wang Y., Wang, W., Wang G., Zhou, B., 2015. Comparative study of nitrogen removal and bio-film clogging for three filter media packing strategies in vertical flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 74, 1-7.
- Stefanakis, A.I., Akrotas, C.S., Tsihrintzis, V.A., 2011. Effect of wastewater stepfeeding on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 37, 431 – 443.
- Tanner, C.C., Sukias, J.P.S., Headley, T.R., Yates, C.R., Stott, R., 2012. Constructed wetlands and denitrifying bioreactors for on-site and decentralised wastewater treatment: comparison of five alternative configurations. *Ecol. Eng.* 42, 112 – 123.
- Thiere, G., Stadmark, J., Weisner, S.E.B., 2011. Nitrogen retention versus methane emission: Environmental benefits and risks of large-scale wetland creation. *Ecol. Eng.* 37, 6-15.

- Torrijos, V., Gonzalo, O.G., Trueba-Santiso, A., Ruiz, I., Soto, M., 2016. Effect of bypass and effluent recirculation on nitrogen removal in hybrid constructed wetlands for domestic and industrial wastewater treatment. *Water Res.* 103, 92-100.
- Vázquez, M.A., de la Varga, D., Plana, R., Soto, M., 2013. Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting. *Ecol. Eng.* 50, 37 – 43.
- Vymazal, J., 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380, 48-65.
- Vymazal, J., 2013. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: a review of a recent development. *Water Res.* 47, 4795 – 4811.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L., 2015. Multistage hybrid constructed wetland for enhanced removal of nitrogen. *Ecol. Eng.* 84, 202 – 208.
- Wang, Y., Yang, H., Ye, C., Chen, X., Xie, B., Huang, C., Zhang, J., Xu, M., 2013. Effects of plant species on soil microbial processes and CH<sub>4</sub> emission from constructed wetlands. *Env. Pollut.* 174, 273-278.
- Wang, Z., Liu, C., Liao, J., Liu, L., Liu, Y., Huang, X., 2014. Nitrogen removal and N<sub>2</sub>O emission in subsurface vertical flow constructed wetland treating swine wastewater: effect of shunt ratio. *Ecol. Eng.* 73, 446 – 453.
- Wu, S., Kusch, P., Brix, H., Vymazal, J., Dong, R., 2014. Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: A nitrogen and organic matter targeted review. *Water Res.* 57, 40-55.
- Wu, S., Wallace, S., Brix, H., Kusch, P., Kirui, W.K., Masi, F., Dong, R., 2015. Treatment of industrial effluents in constructed wetlands: Challenges, operational strategies and overall performance, a review. *Environ. Pollut.* 201, 107-120.
- Wu, S., Zhang, D., Austin, D., Dong, R., Pang, C., 2011. Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecol. Eng.* 37, 1789-1795.
- Xu, D., Li, Y., Howard, A., Guan, Y., 2013. Effect of earthworm *Eisenia fetida* and wetland plants on nitrification and denitrification potentials in vertical flow constructed wetland. *Chemosphere* 92, 201 – 206.
- Yan, C., Zhang, H., Li, B., Wang, D., Zhao, Y.J., Zheng, Z., 2012. Effects of influent C/N ratios on CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> emissions from vertical subsurface flow constructed wetlands treating synthetic municipal wastewater. *J. Hazard. Mater.* 203-204, 188-194.
- Yang, Y., Zhao, Y.Q., Wang, S.P., Guo, X.C., Ren, Y.X., Wang, L., Wang, X.C., 2011. A promising approach of reject water treatment using a tidal flow constructed wetland system employing alum sludge as main substrate. *Water Sci. Technol.* 63(10), 2367- 2373.
- Zapater-Pereyra, M., Ilyas, H., Lavrni, S., van Bruggen, J.J.A., Lens, P.N.L., 2015. Evaluation of the performance and space requirement by three different hybrid constructed wetlands in a stack arrangement. *Ecol. Eng.* 82, 290-300.
- Zhao, Y.J., Liu, B., Zhang, W.G., Ouyang, Y., An, S.Q., 2010. Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands in responding to variation in influent C/N ratios of simulated urban sewage. *Bioresour. Technol.* 101, 1693-1700.
- Zhu, H., Yan, B., Xu, Y., Guan, J., Liu, S., 2014. Removal of nitrogen and COD in horizontal subsurface flow constructed wetlands under different influent C/N ratios. *Ecol. Eng.* 63, 58-63.

**CAPÍTULO 6.**  
**OPERACION DUN SISTEMA DE HUMIDAI S CONSTRUÍDOS**  
**DE FLUXO HORIZONTAL E VERTICAL EN SERIE CON**  
**RECIRCULACIÓN**

# **OPERACION DUN SISTEMA DE HUMIDAI S CONSTRUÍDOS DE FLUXO HORIZONTAL E VERTICAL EN SERIE CON RECIRCULACIÓN**

RESUMO

7. INTRODUCCIÓN
8. MATERIAIS E MÉTODOS
  - 8.1. Características da auga residual sintética
  - 8.2. Configuración do sistema FH/FV-R
  - 8.3. Condicións de operación
  - 8.4. Análises e ensaios biolóxicos
  - 8.5. Perfís verticais
9. RESULTADOS E DISCUSIÓN
  - 9.1. Operación e eliminación de carga orgánica
  - 9.2. Conversión e eliminación de nitróxeno
  - 9.3. Perfís de fluxo
  - 9.4. Emisións gasosas
  - 9.5. Sólidos e actividade microbiana
10. CONCLUSIÓN S
11. REFERENCIAS





## RESUMO

O efecto de varias taxas de recirculación (R), velocidades de carga superficial (VCS) e frecuencias de pulso foi verificado nun sistema híbrido de configuración R(FH+FV) consistente nunha primeira unidade de fluxo horizontal (FH) seguida dunha unidade de fluxo vertical (FV) e provisto de recirculación do efluente final á unidade FH.

A eliminación de SST e DQO oscilou entre o 94 e o 99%, mentres que a eliminación de  $\text{DBO}_5$  foi sempre superior ao 98%. A eliminación de NT variou do 71% ao 84% dependendo das condicións operativas, indicando unha eliminación elevada e fiable de NT, así como capacidade de auto-regulación do pH. O aumento de R (2,7-4,9) reduciu a concentración final de nitrato de efluentes. Ao aumentar a VCS (16-62 g DQO/m<sup>2</sup>·d, 2,0 a 8,0 g TN/m<sup>2</sup>·d), aumentou a concentración de nitrato no efluente FH pero non afectou a concentración de nitrato e amoníaco final. Nas condicións de funcionamento, a eficiencia óptima para eliminación de NT e amoníaco corresponderon a cargas de 20-40 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 2,7-5,2 g NT/m<sup>2</sup>·d, taxas de recirculación de 3,8-4,9 e 8-12 pulsos por día en FV. Nestas condicións, o sistema global alcanzou eliminacións de TN do 82-84% e concentracións por baixo de 15 g/L de NT e 5 g/L de nitróxeno amoniacal.

A actividade específica de nitrificación presentou valores similares en ambas as unidades, mentres que a actividade específica de desnitrificación mostrou valores moito maiores na unidade FH que en FV. As taxas de nitrificación e desnitrificación potencial total (sistema híbrido) foron 11,2 e 66,1 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Os resultados indican que o sistema aproveitou de forma máis eficiente o potencial de nitrificación que o de desnitrificación, e que o tamaño relativo de ambas as unidades (relación de áreas FH/FV = 1.9) estaba preto do óptimo. Os resultados de ensaios de actividade metanoxénica e as medicións de emisión de metano foron coincidentes. Contabilizáronse baixas taxas de emisión de gases de efecto invernadoiro.

## 1. INTRODUCCIÓN

Os humidais construídos (HCs) están establecidos como un sistema alternativo ás tecnoloxías convencionais de tratamento de augas residuais en pequenas comunidades, como un tratamento sustentable e de baixo custo (Vymazal 2007, 2013; Wu et al., 2015). Os HCs eliminan de modo efectivo a materia orgánica e os sólidos en suspensión da auga residual, pero moitas das veces non son capaces de acadar os límites máis estritos de descarga de nitróxeno, debido á necesidade de combinación de condicións anaerobias/anóxicas e aerobias. Os HCs de fluxo vertical (FV) posúen predominantemente condicións aerobias e eliminan eficazmente o amonio pero raramente ocorre neles a denitrificación, mentres que os HCs de fluxo subsuperficial horizontal (FH) presentan condicións anaerobias/anóxicas principalmente o cal favorece a denitrificación, pero estes sistemas atopan dificultades para nitrificar o amonio (Vymazal, 2007). A combinación de varias unidades de HCs resulta na disposición de sistemas híbridos de humidais, os cales son capaces de mellorar as taxas de eliminación

de nitróxeno e outros contaminantes, motivo polo que nos últimos anos está a aumentar o interese no estudo destes HCs híbridos (HCHs) (Ávila et al., 2013; Vymazal, 2013; Vymazal and Kröpfelová, 2015). Os HCHs móstranse máis eficientes na eliminación de sólidos (91,3% SST), DQO (84,3%) e nitróxeno (80,7% N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 80,8% N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 75,4% NT), comparándoos con HCs de etapa única (Zhang et al., 2015). De todos modos, incluso nos HCHs a eficacia de eliminación de NT non resulta moi elevada (Gaboutloeloe et al., 2009; Vymazal, 2013; Tanner et al., 2012).

A vía principal para a eliminación de nitróxeno nos HCs é a amonificación (conversión de N orgánico a NH<sub>3</sub>), seguida de nitrificación (paso de NH<sub>3</sub> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e de denitrificación (paso de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e a N<sub>2</sub> gas) (Saeed and Sun, 2012; Meng et al., 2014). A nitrificación é un proceso microbiano quimiautotrófico aerobio e para as bacterias nitrificantes o paso limitante é a dispoñibilidade de osíxeno disolto. A denitrificación é un proceso tamén microbiano, heterotrófico anóxico, non se considera normalmente un paso limitante na eliminación de nitróxeno, se ben pode selo cando falta unha fonte de carbono ou hai exceso de osixenación (Xu et al., 2013).

Outras vías de eliminación de nitróxeno son a asimilación por parte da biomasa, a redución disimilatoria do nitrato, o consumo polas plantas, a volatilización e a adsorción (Vymazal, 2007; Saeed and Sun, 2012). Ademais hai rutas novidasas como nitrificación – denitrificación parcial, Anammox, Canon, que tamén contribúen á eliminación global de nitróxeno (Saeed and Sun, 2012).

Vymazal (2013) enquisou 60 HCs híbridos de 24 países con datos rexistrados desde o 2003 ao 2012, anotando como o sistema máis empregado o composto por HCs de FV + FH, para o tratamento de augas residuais urbanas (ARUs) e industriais (ARIs). O sistema FH + FV atopouse principalmente para o tratamento de ARUs, como é o caso do presente estudo. Os HCs de fluxo superficial (FS) tamén se atopan habitualmente nalgunha etapa das configuracións híbridas de HCs.

Os HCHs compostos por FH+FV revisados por Vymazal (2013) acadaron unha elevada eliminación de DQO e SST (maior do 77 e do 81 %, respectivamente). Para o tratamento de ARUs en sistemas de HCHs compostos por FH+FV, obtivéronse diferentes resultados en canto á eliminación de nitróxeno. Masi e Martinuzzi (2007) en Italia, traballaron con un sistema simple sen recirculación e obtiveron a eliminación do 33% de NT. Outros resultados son os acadados por Obarska-Pempkowiak et al. (2005) en Polonia, que conseguiron eliminar o 71% de NT, e por Ayaz et al. (2011, 2012) en Turquía, que operaron o sistema con e sen recirculación, obtendo melloras desde o 64% sen recirculación, ao 80% de eliminación NT aplicando recirculación nun ratio de 1:1.

Todos os tipos de HCHs son comparables con humidais de FV de etapa simple en termos de eliminación de amonio, sen embargo son máis eficientes para a eliminación de NT coa combinación de varias etapas (Vymazal, 2013).

Centrándose nas taxas superficiais de eliminación (VSE) de nitróxeno total (NT), Vymazal (2013) non atopou diferenzas significativas nin na eliminación de amonio (diferentes tipos de HCs híbridos con resultados entre 2,1 e 2,5 g N-NH<sub>3</sub>/m<sup>2</sup>·d), nin na de nitróxeno

total (entre 2,3 e 4,3 g NT/m<sup>2</sup>·d). Ao ser moi variables os parámetros de deseño e operación nos HCs enquisados, deixan unha carencia de significado nos resultados obtidos na eliminación de nitróxeno nos diferentes sistemas híbridos, xa que alén do tipo de HC, son moi variables as tipoloxías de AR a tratar, as condicións ambientais, a concentración influente e velocidade de carga, as áreas con condicións de saturación/non saturación hidráulica, entre outras. Por exemplo, humidais híbridos en dúas etapas presentaron taxas de proporción de áreas FH/FV comprendidas entre 0,5 – 7,6 e entre 0,9 – 3,1 para FV + FH e para FH + FV, respectivamente (Gaboutloeloe et al., 2009; Vymazal, 2013).

Recentemente, atópanse propostas de deseños máis sofisticados que teñen o obxectivo de mellorar a eliminación de nitróxeno así como de poder aumentar as cargas aplicadas nunha menor área requirida.

A recirculación emprégase en diferentes configuracións de humidais híbridos co obxectivo de aumentar os procesos de nitrificación e desnitrificación simultáneas (Brix et al., 2003; Brix and Arias, 2005; Ayaz et al., 2012; Foladori et al., 2013; Vázquez et al., 2013). Concretamente en sistemas híbridos compostos por FH+FV co obxectivo de mellorar a eliminación de NT, a recirculación desde o efluente nitrificado da unidade de FV, cara a unidade previa de FH permite a mellora da desnitrificación (Ayaz et al., 2012, Foladori et al., 2013). En outros estudos a recirculación aplícase nos HCs de FV: con pretratamento, recirculando parte do efluente nitrificado cara a fosa séptica onde ten lugar a desnitrificación e hai dispoñibilidade de DQO (Brix e Arias, 2005), ou sen pretratamento, recirculando o efluente cara a entrada do HC FV co obxectivo de prolongar o tempo de contacto da AR no sistema e mellorar a difusión de OD (Sklarz et al., 2009). Así mesmo, a recirculación do efluente tamén se ten empregado en sistemas de FV francés e en FV intermitente (Prost-Boucle e Molle, 2012, Zhao et al., 2004).

Entre os obxectivos desta investigación atópase o estudo e comparación da configuración híbrida en dúas etapas de HCs compostos por FH + FV, e a aplicación de diferentes taxas de recirculación operando nas mesmas condicións.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Características da auga residual sintética**

Utilizouse unha auga residual sintética que simulaba as características típicas dunha auga residual urbana, para o que nos baseamos no substrato elaborado por de Aiyuk e Verstraete (2004). Trátase de un substrato complexo, con variedade de compostos químicos, ingredientes alimentarios e metais traza que, ademais de carga orgánica, achega nutrientes e sólidos en suspensión á auga residual. Este substrato adaptámolo no presente estudo para reducir a concentración de sólidos en suspensión (obtidos de compoñentes alimentarios), tendo en conta que os HCs normalmente reciben a auga residual pretratada ou procedente de un tratamento primario (Álvarez et al., 2008).

Preparouse un substrato concentrado coa seguinte composición (mg/L): urea (1600), acetato de sodio (2250), cloruro de amonio (200), peptona (300), fosfato de magnesio (500), fosfato de potasio (400), sulfato de ferro (100), cloruro de calcio (100), amidón (1000), leite en po (2000), fermento (900), aceite de soia (500),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (10),  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (15),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (2),  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (5),  $\text{PbCl}_2$  (2),  $\text{ZnCl}_2$  (5). O concentrado mantense refrixerado a 4 °C. O influente ás columnas preparouse a partir do concentrado por dilución con auga da billa, mantívose refrixerado a unha temperatura media de  $10,6 \pm 0,7$  °C durante un máximo de 3 días. Regulouse o pH ( $7,1 \pm 0,3$ ) e engadíuse  $\text{NaHCO}_3$  (500 mg/L) durante determinados períodos, como se indicará no apartado de resultados. As características xerais do influente sintético, unha vez diluído, indícanse na Táboa 1.

**Táboa 1.** Características da auga residual sintética empregada como alimentación.

pH	SST	DQO	DBO <sub>5</sub>	N total	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
$7,1 \pm 0,3$	$121 \pm 15$	$589 \pm 66$	$253 \pm 20$	$75,5 \pm 5,9$	$7,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 1,9$	$10,7 \pm 1,6$

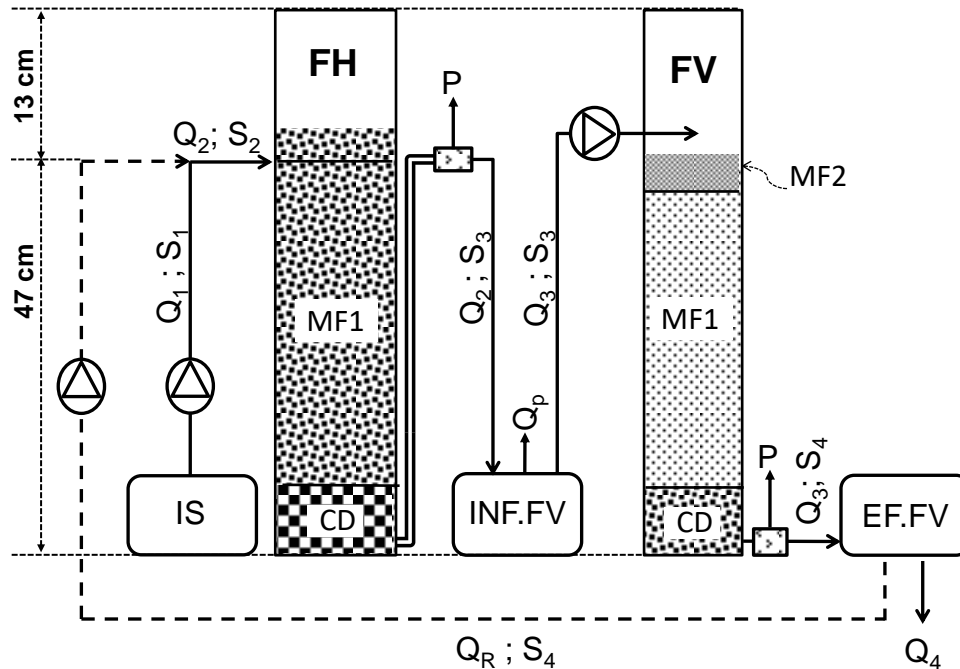
Conc. en mg/L. n=9, excepto P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (n=2). Segundo se indicará no apartado de resultados, nalgúns períodos de operación das columnas engadiuse  $\text{NaHCO}_3$  (500mg/L) na alimentación.

## 2.2. Configuración do sistema FH/FV-R

O sistema FH/FV-R está composto por dúas columnas de laboratorio en serie: en primeiro lugar a unidade FH, seguida da columna FV, e o efluente de esta unidade recirculouse en parte a FH, como se representa na Figura 1.

As columnas de laboratorio son cilindros de metacrilato de 60 cm de altura que foron deseñadas segundo o modelo proposto por Andreottola et al. (2007) para unidades de FV con características de non saturación, e adaptadas a partir do modelo anterior para simular condicións características dos sistemas subsuperficiais de FH con saturación hidráulica, e de maior tamaño que a unidade de FV, sendo a proporción de áreas entre ambas de 1,9 (diámetro interno FV 10,2 cm e FH 13,9 cm). As columnas rechéanse con material granítico ata unha altura útil de 47 cm, diferenciando capas con distinto tamaño de partícula, ao que se suma unha altura de resguardo de 13 cm.

Na base de cada columna colocouse unha capa de drenaxe (CD) de 10 cm de altura composta por grava grosa en FH ( $D_{60} = 12,5$  mm,  $\text{CU} = 1,7$ , Porosidade (P) = 45,4 %), e por grava fina en FV ( $D_{60} = 5,2$  mm,  $\text{CU} = 2,3$ , P= 45,8 %). A continuación, separándose por unha malla plástica de 2 mm<sup>2</sup> de paso de luz, sitúase a capa de medio filtrante (MF1) composto por 40 cm de grava fina en FH, e por 32 cm de area grosa ( $D_{60} = 2,5$  mm,  $\text{CU} = 2,6$ , P = 40%) en FV. Nesta unidade de FV sitúase unha segunda capa de medio filtrante (MF2) sobre MF1, composto por 5 cm de area fina ( $D_{60} = 0,9$  mm,  $\text{CU} = 7,5$ , P = 39,5 %), e en FH a alimentación entra 3 cm baixo a superficie de MF1.



**Figura 1.** Configuración do sistema FH/FV-R, onde: IS: influente sintético (auga residual); INF.FV: influente a FV; EF.FV: efluente de FV; MF: medio filtrante; CD: Capa drenante; P: punto de toma de mostras; Q: caudal; S: concentración.

Á saída de cada columna sitúanse pequenos depósitos que reteñen un volume de uns 40 mL, antes de ser vertido nas respectivas garrafas de recollida de efluentes (posto P, Fig. 1). Nestes depósitos fanse as tomas de mostra e as medicións de parámetros *in situ* con eléctrodos portátiles, no líquido recente acumulado despois de seren baleirados e limpados. As columnas situáronse nunha cámara termostatizada a 20 °C, e os depósitos de influentes e efluentes atópanse refrixerados a 10°C.

Nestas unidades de laboratorio non se levou a cabo a plantación de macrófitas debido ao curto tempo de operación en cada período de estudo, podendo así excluír a variabilidade achegada polo desenvolvemento das plantas, e baseándonos tamén en estudos previos de HCs en unidades de laboratorio sen vexetación (Wu et al., 2011; Li et al., 2014; Torrijos et al., 2016). En xeral, cabería esperar mellores resultados coa presenza de plantas e con maior tempo de operación grazas ao efecto de maduración (Carballeira et al., 2016).

### 2.3. Condicións de operación e seguimento

Os parámetros básicos de operación recóllense na Táboa 2. O réxime de alimentación da auga residual faise en pulsos con axuda de bombas peristálticas e temporizadores. Ambas columnas alimentáronse os 7 días da semana sen descanso, na columna FH con 16 pulsos/día e na FV con 8 pulsos/días nas condicións iniciais, que se foron incrementando ata 16 pulsos/días na etapa final de estudo.

O efluente da columna FV era recirculado, en parte, a columna FH. A proporción de recirculación aplicada inicialmente, definida como a relación entre o caudal recirculado e o caudal efluente final, foi inicialmente do 268% e foise aumentando co avance do estudo, até un máximo do 491% no período VI. Tamén se foi aumentando o caudal influente a FH ao longo do estudo ata un 400% sobre o caudal influente inicial.

Segundo estes parámetros distínguense 7 Períodos (I – VII) de operación consecutivos. As modificacións que se aplican para distinguir os períodos teñen como obxectivo mellorar a operación e/ou aumentar a capacidade, pero sen desestabilizar os sistemas.

**Táboa 2.** División de períodos e parámetros de operación no sistema FH/FV-R.

PERÍODO	Días (n)	Q <sub>1</sub> (mL/d)	R (= Q <sub>R</sub> /Q <sub>4</sub> )	Pulsos/día FV
I	0 – 37 (37)	621	2,68	8
II	38 – 68 (30)	621	3,62	8
III	69 - 117 (48)	792	3,54	8
IV	118 - 187 (69)	827	3,76	8
V	188 – 230 (42)	1220	3,96	8
VI	231 – 285 (54)	1604	4,91	12
VII	286 – 338 (52)	2462	3,81	16

Ao remate do Período V desmontáronse as columnas para a obtención de mostras para ensaios de actividade microbiana en descontinuo. O sistema montouse de novo reemplazando o medio retirado por grava limpa recollida da planta piloto, e continuouse a súa operación durante dous períodos adicionais (VI e VII).

A velocidade de carga hidráulica (VCH) superficial, a velocidade de carga superficial influente (VCS) e eliminada (VCE), e as porcentaxes de eliminación netas (%E) obtivéronse mediante as seguintes ecuacións de aplicación a FH e FV, respectivamente (Serrano et al., 2011):

$$VCH_{FH} = \frac{Q_1}{A_{FH}} ; \quad VCH_{FV} = \frac{Q_3}{A_{FV}} \quad [\text{Ec. 1a, 1b}]$$

$$VCS_{FH} = VCH_{FH} \cdot S_1$$

$$VCS_{FV} = Q_1 \cdot S_1 \cdot \left(1 - \frac{\%E_{FH}}{100} - Q_p \cdot S_3\right) / A_{FV} \quad [\text{Ec. 2a, 2b}]$$

$$VCE_{FH} = \frac{[(Q_1 \cdot S_1 + Q_R \cdot S_4) - (Q_1 + Q_R) \cdot S_3]}{A_{FH}} \quad [\text{Ec. 3a, 3b}]$$

$$VCE_{FV} = (Q_1 + Q_R - Q_p) \cdot \frac{S_3 - S_4}{A_{FV}}$$

$$\begin{aligned} \%E_{FH} &= VCE_{FH} \cdot 100/VCS_{FH} \\ \%E_{FV} &= VCE_{FV} \cdot 100/VCS_{FV} \end{aligned} \quad [\text{Ec.4a, 4b}]$$

$$\begin{aligned} Q_2 &= Q_1 + Q_R \\ Q_R &= Q_3 - Q_4 \\ Q_p &= Q_2 - Q_3 \end{aligned} \quad [\text{Ec. 5a, 5b, 5c}]$$

$$S_2 = \frac{S_1 \cdot Q_1 + S_3 \cdot Q_R}{Q_1 + Q_R} \quad [\text{Ec. 6}]$$

$$R = \frac{Q_R}{Q_4} \quad [\text{Ec. 7}]$$

onde Q é o caudal, S a concentración e A a área da sección transversal das columnas, segundo a nomenclatura indicada na Figura 1.

Tomáronse medidas dos caudais  $Q_1$ ,  $Q_3$  e  $Q_4$ , mentres  $Q_2$ ,  $Q_R$  e  $Q_p$  calculáronse a partir das Ec. 5a-c. Así mesmo, medíronse as concentracións  $S_1$ ,  $S_3$  e  $S_4$ , mentres a concentración  $S_2$  obtívose mediante a Ec. 6 indicada.

O seguimento do sistema fíxose mediante análises semanais da composición dos efluentes de cada columna (agás  $\text{DBO}_5$  que só se determinou no efluente final debido ao elevado volume de mostra requirido), mediante a integración de mostras diarias que se almacenaron a 4°C. As mostras semanais integradas obtivéronse da seguinte forma: toma diaria de 30 mL do efluente FH e 150 mL do FV ( $Q_2$  e  $Q_4$ , Fig. 1).

As mostras así obtidas foron sometidas en laboratorio a análise de sólidos en suspensión totais e volátiles (SST e SSV), demanda química e biolóxica de osíxeno (DQO e  $\text{DBO}_5$ ), nitróxeno amoniacal, nítrico e total ( $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  e NT). Os parámetros determinados *in situ* unha vez á semana (posto P, Fig. 1) foron o pH, potencial oxido-redución (POR) e osíxeno disolto (OD).

Todos os parámetros foron determinados por duplicado seguindo os criterios de Standard Methods (APHA, 2005). O amoníaco determinouse mediante un eléctrodo selectivo (Crison 9663). O nitrato determinouse mediante espectrofotometría UV (Biochrom Libra S60), método da 2ª derivada, e o nitróxeno total pola súa conversión en nitrato por dixestión oxidativa con persulfato potásico e determinación como nitrato. Os eléctrodos e medidores portátiles para a determinación dos parámetros *in situ*, foron os seguintes modelos: YSI ProODO para o OD, Hanna HI 9811-5 para o pH, Crison pH25

con electrodo 5262 para o POR, termómetro QUARTZ de máximas e mínimas temperaturas situado no refrixerador de alimentación (Teka TS130) e temperatura rexistrada polo sensor da cámara termostática.

Ao longo da operación do sistema realizouse un seguimento quincenal da velocidade de infiltración en FH e de perfís de fluxo en FV, co obxectivo de estimar o risco de colmatación hidráulica das columnas. Na columna FH determinouse a velocidade de drenado en descarga libre da metade superior da columna. Na columna FV determinouse a evolución do caudal efluente tras un pulso de alimentación en condicións ordinarias de funcionamento.

Así mesmo, realizáronse 4 campañas de determinación de emisións gasosas (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O). Para isto, pecháronse hermeticamente as cabeceiras das columnas, e dotouse a columna FV dunha bolsa Tedlar con 0,5L (1L de volume máximo) funcionando a modo de pulmón para facilitar a drenaxe dos pulsos de alimentación e a posibilidade de succión de aire durante os pulsos. As mostras tomáronse con xiringa de 1mL a través de un septum localizado na parte superior da columna e foron analizadas nun equipo de cromatografía con detector de conductividade térmica (TCD). A velocidade superficial de emisión (VSE) obtívose para cada gas mediante a seguinte ecuación (De la Varga et al., 2015):

$$VSE = \frac{V_g}{A_R} \cdot \frac{m_m}{v_m} \cdot \frac{273}{(273+T_i)} \cdot \left[ \frac{d(\%)/dt}{100} \right] \cdot 24 \cdot 1000 \quad [\text{Ec. 8}]$$

onde  $V_g$  é o volume da atmosfera confinada na cabeceira da columna,  $A_R$  é a area transversal da columna,  $T_i$  a temperatura inicial da atmosfera confinada, e  $d(\%)/dt$  é a pendente da ecuación de regresión lineal da % de gas na atmosfera confinada fronte ao tempo. Así mesmo, a ecuación fai uso do volume molar ( $v_m$ ) (22.4 mL/mmol a 273 K) e da masa molar ( $m_m$ ) (44 mg/mmol para CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O e 16 mg/mmol para CH<sub>4</sub>).

## 2.4. Análises e ensaios biolóxicos

Ao remate do Período V obtivéronse mostras de medio granular e determinouse o seu contido en biomasa: materia orgánica medida como sólidos volátiles, totais (SVT) e extraíbles (SVE) e actividade biolóxica, incluíndo actividade metanoxénica (AM), nitrificante (AN) e denitrificante (AD). Na columna de FH o medio filtrante principal (MF1) foi dividido en dúas metades para obter mostras separadas da metade superior (MF1a) e inferior (MF1b). Na columna de FV obtívose unha única mostra de MF1 e outra de MF2.

Así mesmo, antes da posta en marcha e ao remate do estudo determinouse a porosidade, densidade e a retención de auga nos medios das columnas.

Para estes ensaios biolóxicos (Táboa 3) empregáronse reactores de 125 e 250 mL (FV) e de 250 e 500 mL (FH) de volume total, nos que se engadiu unha mostra de medio granular húmido de 45 g (FV) e 100 g (FH). Así mesmo, engadiuse un volume de fase líquida (substrato) con composición que variou segundo o ensaio considerado (Táboa



3). Os ensaios foron realizados por triplicado e a temperatura constante de 20°C. Esas condicións, ademais de adaptárense aos requirimentos de cada tipo de ensaio, adaptáronse ao tamaño de grava e concentración de sólidos nas mostras, así como aos métodos de seguimento a utilizar. En todos os ensaios engadíronse nutrientes nas cantidades indicadas por Ferreiro e Soto (2003). O seguimento da evolución do nitrato na fase líquida dos ensaios nitrificantes e denitrificantes realizouse mediante espectrofotometría UV (Biochrom Libra S60) segundo se detallou máis arriba. Para a determinación de AM, analizouse a fase gas tomando mostras de 0,8 mL que se inxectaron nun cromatógrafo equipado con un detector de condutividade térmica (Hewlett Packard Series II 5890).

**Táboa 3.** Condicións utilizadas nos ensaios biolóxicos.

ENSAIO	METANOXÉNICO		DENITRIFICANTE		NITRIFICANTE	
	FH	FV	FH	FV	FH	FV
Medio sólido (g)	100	45	100	45	100	45
Medio líquido (mL)	100	30	100	40	150	50
Fase gas (mL)	154	76	154	66	104	56
Seguimento	Comp. fase gas		NO <sub>3</sub> -N + Fase gas		NO <sub>3</sub> -N	
<b>Composición do medio líquido</b>						
Substrato HAc (mg/L)	500		300	300	-	-
Substrato NO <sub>3</sub> K (mgN/L)	-		50	50	-	-
Substrato NH <sub>4</sub> Cl (mgN/L)	-		-	-	94	94
NaHCO <sub>3</sub> (mg/L)	-		-	-	1000	
Macro e micro nutrientes <sup>a</sup>	1mL/L		1mL/L		1mL/L	

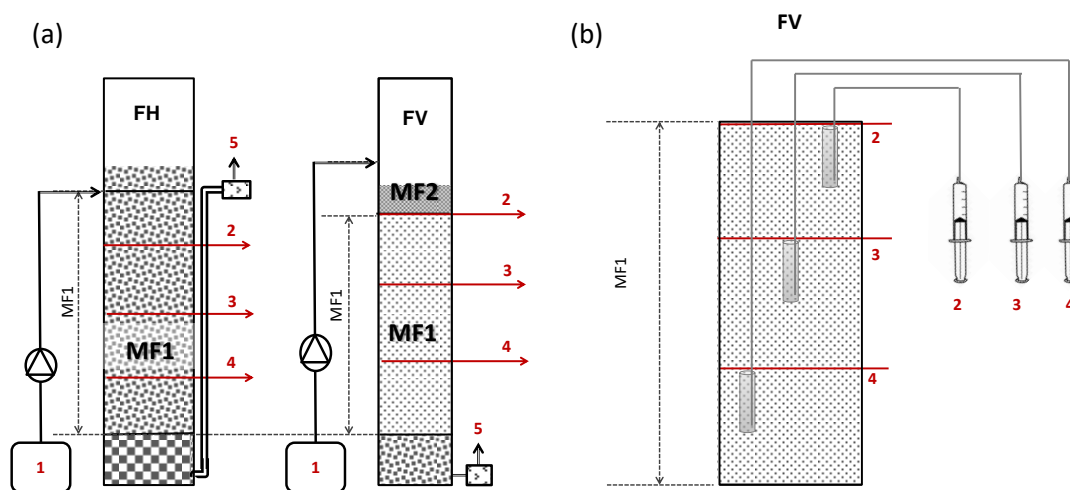
<sup>a</sup>Engadiuse 1 mL de cada solución de macro e micro nutrientes (composición indicada por Ferreiro e Soto, 2003) por L de medio líquido.

## 2.5. Perfís verticais

Na montaxe das columnas despois do período V, incorporáronse no seu interior tubos de toma de mostras a distintas alturas, co obxectivo de poder estudar diferentes parámetros en altura e comprobar a cinética interna de funcionamento das columnas FH e FV.

A situación dos tubos de toma de mostra é a que se indica na Figura 2. As mostras 1 e 5 correspondían ao influente e efluente, respectivamente, de cada columna. As mostras intermedias correspondían con seccións situadas nas alturas de  $\frac{1}{4}$  (posición 2),  $\frac{1}{2}$  (3) e  $\frac{3}{4}$  (4) do medio filtrante MF1 en FH, e nas alturas 0 (2),  $\frac{1}{3}$  (3) e  $\frac{2}{3}$  (4) do medio filtrante MF1 en FV. Os tubos de mostras colocáronse transversalmente a distancia de  $\frac{1}{2}$  do radio da columna. A extracción de mostras, como se representa na Figura 2(b), fíxose con xiringas de 20 mL acoladas a unha goma que as une ao tubo de acumulación. Na columna FH, inundada, tómanse 15 mL de mostra en cada xiringa. Na columna FV, non saturada, o

volumen de muestra dependeu do recollido por cada tubo nun pulso de alimentación, que foi de 3 – 5 mL, xa que previamente ao pulso considerado retirábase o líquido acumulado de pulsos anteriores. Estas análíticas fixéronse nos días 307 e 366 de operación (Período VII).



**Figura 2.** Posición das mostras a distintas alturas (1,2,3,4,5) nas columnas FV e FH (a). Representación da extracción de mostras na columna FV (b).

### 3. RESULTADOS do Sistema FH/FV-R

#### 3.1. Operación e eliminación de carga orgánica

As características de operación en ambas columnas FH e FV indícanse na Táboa 4. Os parámetros de operación (VCHS, VCOS e taxa de recirculación  $Q_R$ ) fóronse variando ao longo do tempo de estudo, resultando na diferenciación de 7 períodos de operación consecutivos. A evolución dos principais parámetros de seguimento semanal móstranse na Figura 3. A Táboa 5 mostra os valores medios para cada período, obtidos despois da estabilización do sistema tras o cambio de condicións. O sistema estivo en operación durante 338 días, tempo no que se foron modificando algunhas das condicións de operación, tais como o caudal de alimentación, a relación de recirculación de efluente FV, ou a frecuencia dos pulsos de alimentación (Táboa 2).

Iniciouse a operación cunha VCS de 6,7 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$  no sistema global, que se foi incrementando até os 26,7 g  $\text{DBO}_5/\text{m}^2\cdot\text{d}$  ao final do estudo, de modo que durante todo o tempo de operación o sistema se atopou en velocidades de carga moderadas, pasando desde cargas características de humidais de FH ás dos humidais de FV (Cooper, 2003; García e Corzo, 2008). A posta en marcha e adaptación do sistema ás condicións iniciais podemos observa-la na Figura 3, en particular na evolución da DQO no efluente de ambas unidades, que progresivamente van descendendo para estabilizarse en valores moi reducidos, duns 20 mg/L, que se mantiveron posteriormente durante os períodos I-V de operación. Durante o período de posta en marcha (I) tamén se apreciou un descenso acusado do pH no efluente FV, que se situou no rango de 5,1-5,5. No período II o pH do

EF.FV continuou a ser ácido ( $5,7 \pm 0,5$ ) pero foise recuperando nos seguintes períodos sen necesidade de neutralizar. Nos períodos restantes en FV e durante todo o estudo en FH, o pH mantívose estable e próximo a neutralidade, cuns valores medios de  $7,0 \pm 0,2$  en FH e de  $6,6 \pm 0,2$  en FV (períodos III-VII). A evolución dos restantes parámetros foi bastante estable ao longo do estudo (Figura 3).

O cambio de condicións ao pasar dun período a outro, entre os períodos I e V, non precisou dun tempo de adaptación significativo. A situación foi diferente, porén, para o cambio nas condicións do período V ao VI e ao VII, como se pode apreciar na Figura 3. Xa no período V se observou un incremento na concentración de SST no efluente FH, que se mantería nos períodos VI e VII. Ao comezo do período VI, durante 2-3 semanas, observouse un incremento na DQO efluente, o que puido ser debido tanto ao incremento da VCS, que pasou de 13 a 17 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, como á retirada de parte do medio colonizado para os ensaios de actividade. O incremento posterior da VCS até 27 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d (período VII) requiriu un período de adaptación de 4 semanas.

**Táboa 4.** Caudais e Velocidades de carga para cada columna e período. Media  $\pm$  Desviación estándar.

PERIODO (días)	I (0 – 37)	II (38 – 68)	III (69 – 117)	IV (118 – 187)	V (188 – 230)	VI (231 – 285)	VII (286 – 338)	
Q <sub>1</sub> (IS) (mL/d)	621 $\pm$ 11	621 $\pm$ 8	792 $\pm$ 43	827 $\pm$ 42	1220 $\pm$ 19	1604 $\pm$ 14	2462 $\pm$ 152	
Q <sub>R</sub> (mL/d)	1248	1875	2330 $\pm$ 354	2557 $\pm$ 306	4448 $\pm$ 293	7536 $\pm$ 1290	9216 $\pm$ 724	
Q <sub>3</sub> (mL/d)	1872	2475	3106 $\pm$ 472	3410 $\pm$ 408	5560 $\pm$ 367	9420 $\pm$ 1612	11520 $\pm$ 905	
VCH (mm/d)	Global	26,6	26,6	33,9	35,4	52,2	68,7	105,4
	FH	40,9	40,9	52,2	54,5	80,2	105,7	162,2
	FH + R	130,7	168,6	211,7	232,0	373,5	621,4	763,7
	FV + R	229,1	302,5	380,1	417,3	680,5	1152,9	1409,9
VCS Global (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	3,2	3,2	4,1	4,3	6,3	8,3	12,8
	COD	15,7	15,7	20,0	20,9	30,7	40,5	62,1
	BOD <sub>5</sub>	6,7	6,7	8,6	9,0	13,2	17,4	26,7
	TN	2,0	2,0	2,6	2,7	3,9	5,2	8,0
VCS FH (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	5,0	5,0	6,3	6,6	9,7	12,8	19,6
	COD	24,1	24,1	30,7	32,1	47,3	62,2	95,6
	BOD <sub>5</sub>	10,4	10,4	13,2	13,8	20,3	26,7	41,0
	TN	3,1	3,1	3,9	4,1	6,1	8,0	12,2
VCS FV (g/m <sup>2</sup> ·d)	TSS	2,3	2,0	4,5	1,9	11,5	38,1	35,7
	COD	2,5	3,3	3,9	4,5	9,3	14,9	38,1
	TN	5,7	5,7	7,3	7,6	11,2	14,8	22,7

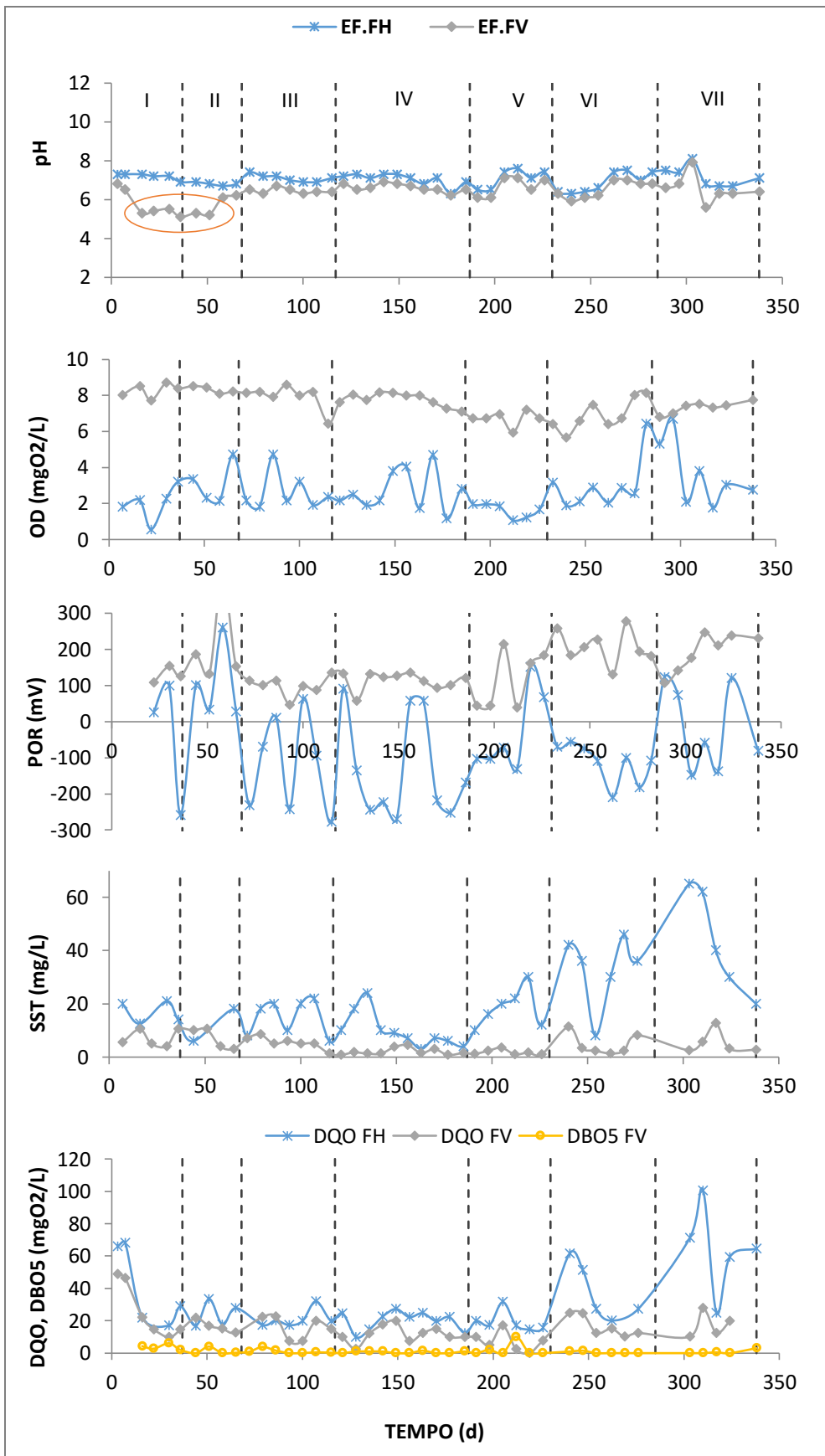


Figura 3. Evolução do pH, OD, POR e parâmetros de carga orgânica nos efluentes da coluna FH e FV.

En canto ao OD e POR obsérvase diferenza de comportamento entre a columna FH e FV, sendo a FH máis anaerobia (Fig. 3). Os valores medios do estudo foron, para o OD, de  $2,7 \pm 1,3$  mg/L no efluente FH e de  $7,5 \pm 0,8$  mg/L no efluente FV; e para o POR,  $-68 \pm 134$  mV en FH e  $151 \pm 71$  mV en FV. Non se observaron diferenzas claras entre períodos nestes dous parámetros, mostrándose bastante variables entre semanas de seguimento, especialmente o POR. Tampouco se detectou correlación entre os valores de OD e POR en cada columna ( $R^2$  0,04 na FH e 0,02 na FV). Porén, en FV podemos detectar unha caída progresiva aínda que reducida dos valores de OD e POR entre os períodos II e V, tendencia que se rompeu nos períodos VI e VII con aumentos tanto en OD como POR, probablemente ocasionada polo incremento do número de pulsos desde os 8 pulsos por día (Períodos I-V) aos 12 (VI) e 16 (VII) (Táboa 2).

**Táboa 5.** Valores medios dos parámetros de seguimento no efluente de cada columna e período (PER.) de operación.

PER.		I	II	III	IV	V	VI	VII
pH	FH	$7,2 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,1$	$7,0 \pm 0,1$	$7,0 \pm 0,3$	$7,1 \pm 0,4$	$7,3 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,2$
	FV	$5,3 \pm 0,2$	$5,7 \pm 0,5$	$6,5 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,1$
OD	FH	$2,1 \pm 1,1$	$3,1 \pm 1,2$	$2,9 \pm 1,1$	$2,9 \pm 1,3$	$1,6 \pm 0,4$	$3,5 \pm 2,0$	$2,5 \pm 0,7$
	FV	$8,3 \pm 0,4$	$8,3 \pm 0,2$	$7,8 \pm 0,8$	$7,7 \pm 0,4$	$6,7 \pm 0,5$	$7,3 \pm 0,9$	$7,5 \pm 0,2$
POR	FH	$-45 \pm 189$	$105 \pm 109$	$-108 \pm 150$	$-145 \pm 142$	$-32 \pm 121$	$-150 \pm 54$	$-33 \pm 136$
	FV	$129 \pm 23$	$218 \pm 125$	$96 \pm 33$	$116 \pm 14$	$114 \pm 81$	$196 \pm 61$	$227 \pm 14$
SST	FH	$15,8 \pm 4,5$	$12,0 \pm 8,5$	$15,6 \pm 7,1$	$6,6 \pm 2,5$	$18,3 \pm 6,8$	$37,3 \pm 8,1$	$30,0 \pm 10,0$
	FV	$7,5 \pm 3,5$	$6,9 \pm 3,9$	$4,4 \pm 1,8$	$2,3 \pm 1,4$	$1,8 \pm 1,1$	$3,9 \pm 3,7$	$6,2 \pm 5,6$
SSV	FH	$14,7 \pm 4,0$	$11,0 \pm 9,9$	$15,4 \pm 7,3$	$4,4 \pm 1,9$	$14,7 \pm 9,3$	$37,3 \pm 7,0$	$31,3 \pm 6,1$
	FV	$5,5 \pm 3,0$	$5,1 \pm 3,2$	$2,5 \pm 1,3$	$1,7 \pm 1,1$	$1,5 \pm 0,8$	$1,0 \pm 0,9$	$2,4 \pm 0,3$
DQO	FH	$22,6 \pm 5,9$	$23,9 \pm 8,1$	$21,8 \pm 5,8$	$21,5 \pm 4,7$	$19,2 \pm 7,0$	$23,6 \pm 5,1$	$49,6 \pm 21,6$
	FV	$15,2 \pm 5,0$	$16,5 \pm 3,8$	$14,4 \pm 7,0$	$13,1 \pm 4,5$	$7,0 \pm 6,6$	$12,5 \pm 2,5$	$16,1 \pm 5,2$
DBO <sub>5</sub>	FV	$3,7 \pm 1,8$	$1,1 \pm 2,0$	$0,5 \pm 0,7$	$0,5 \pm 0,6$	$2,0 \pm 4,3$	$0,0 \pm 0,0$	$1,2 \pm 1,6$

Conc. en mg/L, excepto POR (mV) e pH. Media  $\pm$  Desviación estándar

A eliminación de sólidos, DQO e DBO<sub>5</sub> (Figura 4) no sistema global sempre foi moi elevada, maior do 93% en todos os períodos, observándose unha lixeira tendencia a mellorar os resultados de eliminación ata o período V, decrecendo posteriormente a VCS máis elevadas (períodos VI e VII) no caso de SST e DQO.

Analizando estes resultados por columnas, a DQO xa se elimina case na súa maior parte na primeira unidade FH. O mesmo ocorre cos sólidos ata o período V, a partir do que se produce un arrastre destes desde FH a FV, debido ao incremento de caudal influente e de recirculación. A saída de SST da columna FH no período VI foi maior que a entrada (Figura 4), o que significa un lavado neto de biomasa previamente acumulada. Así, a VCS durante os períodos I-IV estivo no rango de 2 - 5 g SST/m<sup>2</sup>·d, para aumentar a 12 g SST/m<sup>2</sup>·d no período V e a 38 g SST/m<sup>2</sup>·d no período VI, volvendo a reducirse a 35,7 g SST/m<sup>2</sup>·d no período VII. En todo caso, o sistema foi quen de acadar a eliminación case total dos sólidos na segunda unidade FV, pero será importante avaliar o risco de colmatación de FV nas condicións dos períodos VI-VII, o que se fará máis adiante.

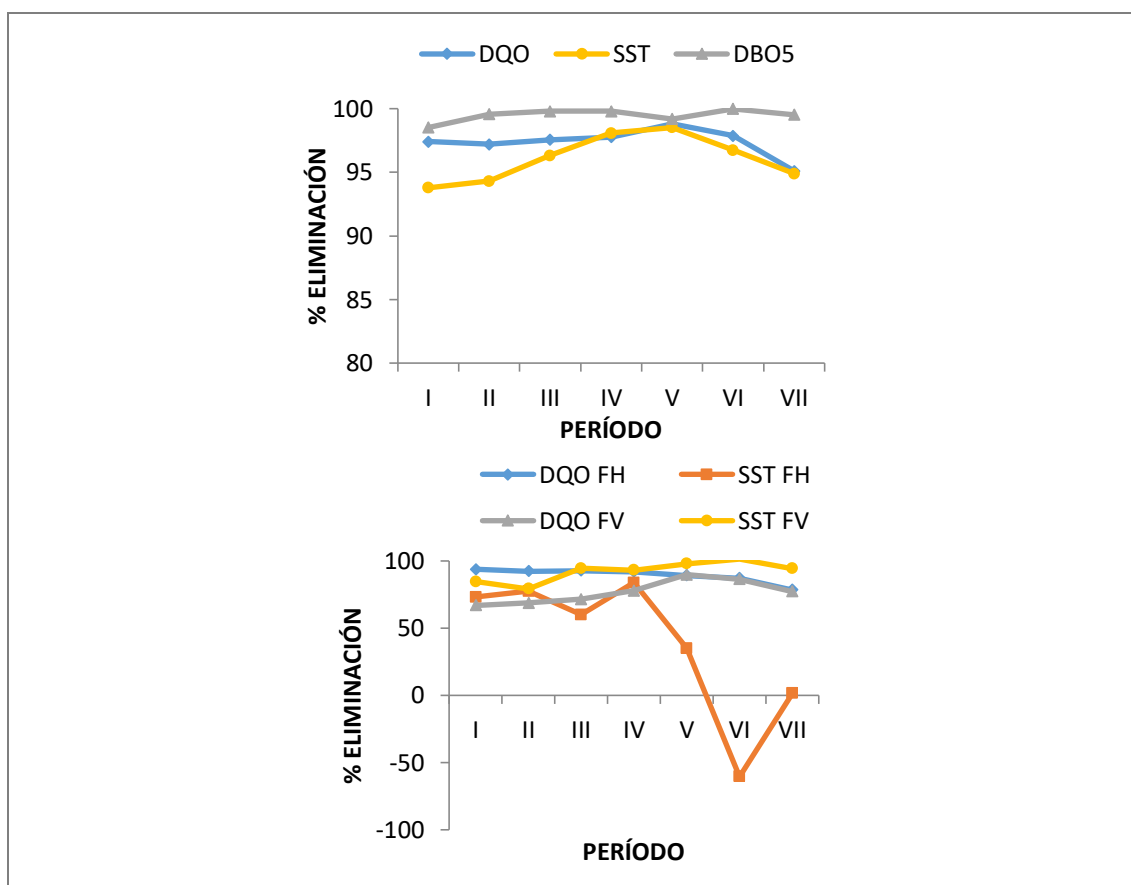


Figura 4. Eliminación de materia orgánica no sistema global FH/FV-R e nas unidades que o compoñen.

### 3.2. Conversión e eliminación de nitróxeno

Como se describiu na alimentación, o nitróxeno total desta era de  $76 \pm 6$  mg N/L, estando maiormente en forma orgánica. En primeiro lugar sitúase a columna FH, que recibe auga residual fresca e tamén efluente da columna FV. Na columna FH buscáronse condicións denitrificantes. Os nitratos proceden do efluente de FV, e a materia orgánica da auga residual fresca. A continuación, a columna FV recibía o efluente de FH co obxectivo principal da súa nitrificación.

A evolución das concentración de nitrato e amoníaco, así como de NT, nos efluentes das dúas columnas móstrase na Figura 5, e os valores medios por períodos amósanse na Táboa 6.

Acadar baixas concentracións de nitrato no efluente FH e de amoníaco no efluente FV é necesario para conseguir unha elevada eliminación de nitróxeno total. Na Figura 5 obsérvase a tendencia do nitrato a ir descendendo no efluente FV a medida que se aumenta a relación de recirculación nos períodos II - IV, e a manter a súa concentración a medida que se foi aumentando a carga nos períodos IV – VII. Tamén na Figura 5 obsérvase a tendencia do amoníaco a ir descendendo no efluente de FH entre I e V. Por outra banda, a concentración de amoníaco no efluente FV mantívose sempre baixa, e case constante ao longo de todos os períodos, mentres que o nitrato no efluente FH aumentou progresivamente. Finalmente, nas últimas gráficas desta figura obsérvase que a concentración de nitróxeno total nos efluentes de FH e FV é practicamente a mesma, o que indica que a segunda columna non elimina nitróxeno. Tamén se observa como a concentración final de NT foi descendendo entre os períodos I e V, estabilizouse no VI e aumentou lixeiramente no VII. Por tanto, a eliminación de nitróxeno aumentou entre I e IV (do 71% ao 84%) e mantívose practicamente constante entre V e VII (78-83%).

Neste sistema a etapa limitante foi a denitrificación, porque sempre se atopou maior concentración de nitrato que de amoníaco no efluente final, sen ser quen a columna FH de conseguir eliminalo por completo do sistema. A pesar disto, o sistema caracterizouse por unha elevada capacidade nitrificante na columna FV e unha tamén elevada capacidade desnitrificante en FH, o que lle conferiu unha elevada eficacia de eliminación de nitróxeno a elevadas velocidades de carga.

A velocidade de carga eliminada (VCE) en termos de nitróxeno para cada columna, mostrouse crecente cos períodos na columna de FH, desde 2,2 até 11 g NT/m<sup>2</sup>·d, sen embargo a columna de FV nitrificante mostrou unha VCE cero ou negativa, o que indica que a súa capacidade nitrificante non estivo compensada coa de eliminación de NT, quedando constante a concentración de NT no seu efluente, excepto no período VI no que si acadou unha VCE de 1,6 g NT/m<sup>2</sup>·d.

**Táboa 6.** Compostos de nitróxeno nos efluentes do sistema FH/FV-R.

PERÍODO	Efluente FH			Efluente FV		
	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N Total	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N Total
I	0,6 ± 0,2	23,9 ± 4,7	21,4 ± 2,9	23,3 ± 1,9	3,3 ± 1,3	21,6 ± 3,2
II	3,3 ± 1,3	16,8 ± 2,4	17,0 ± 4,0	19,0 ± 2,0	2,3 ± 0,6	18,4 ± 4,8
III	1,5 ± 0,3	16,4 ± 1,8	15,5 ± 1,9	14,9 ± 1,9	2,8 ± 0,7	15,0 ± 2,2
IV	5,1 ± 1,6	8,3 ± 3,0	12,0 ± 1,3	11,8 ± 0,6	1,6 ± 1,2	12,3 ± 1,2
V	3,7 ± 1,8	11,9 ± 2,0	13,6 ± 1,5	12,2 ± 1,3	3,6 ± 1,6	13,1 ± 1,3
VI	7,1 ± 0,7	7,5 ± 1,3	14,8 ± 0,9	14,7 ± 1,5	2,1 ± 0,8	13,3 ± 0,8
VII	8,0 ± 1,8	6,7 ± 3,1	14,6 ± 3,6	14,4 ± 2,9	3,8 ± 0,9	16,5 ± 1,4

Concentración en mg/L. Media ± Desv. Estándar.

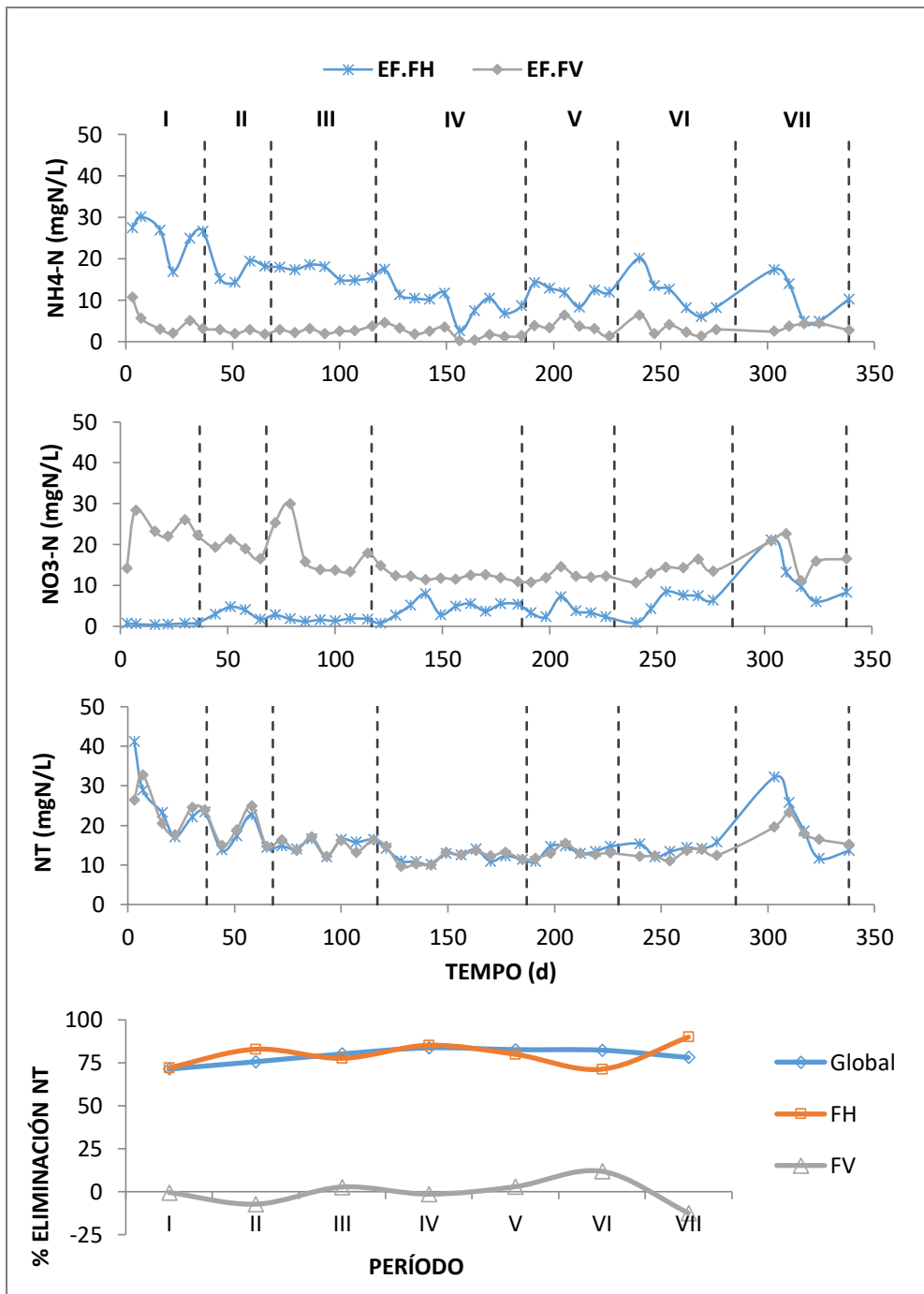


Figura 5. Evolución dos compostos nitrogenados nos períodos do estudo, e porcentaxes de eliminación no sistema global e en cada columna.

### Capacidade nitrificante de desnitrificante en cada columna

Se consideramos que todo o nitróxeno eliminado se eliminou polo proceso de nitrificación-desnitrificación (é dicir, consideramos nulas as perdas por volatilización, absorción, captura polas plantas e acumulación na biomasa, así como por outros procesos biolóxicos distintos da nitrificación-desnitrificación), a velocidade superficial de desnitrificación máxima (VSD máx.) sería igual á velocidade superficial de eliminación de nitróxeno total. A VSD máx. calcúlase mediante a seguinte ecuación:



$$VSD_{m\acute{a}x.} = VCH \cdot (S_{NTInf.} - S_{NTEf.}) \quad [\text{Ec. 9}]$$

Por outra banda, a VSN máxima sería igual á VSD máxima máis a variación na cantidade de nitróxeno nítrico. Esta variación pode definirse como unha velocidade superficial de nitrificación mínima ( $VSN_{mín.}$ ), estimada a partir da diferenza na concentración influente e efluente de nitrato multiplicada por velocidade de carga hidráulica (VCH). Temos así as ecuacións:

$$VSN_{mín.} = VCH \cdot (S_{NO_3-N Ef.} - S_{NO_3-N Inf.}) \quad [\text{Ec. 10}]$$

$$VSN_{m\acute{a}x.} = VSN_{mín.} + VSD_{m\acute{a}x.} \quad [\text{Ec. 11}]$$

Desta forma, se a concentración de nitrato no influente e no efluente son iguais, as VSN e VSD máximas tamén serán iguais. Porén, se se acumula nitrato no efluente, teremos  $VSN_{m\acute{a}x.} > VSD_{m\acute{a}x.}$  (situación típica das columnas FV, pola súa maior capacidade nitrificante), e se se reduce a concentración de nitrato, entón  $VSN_{m\acute{a}x.} < VSD_{m\acute{a}x.}$  (situación típica das columnas FH, pola súa maior capacidade denitrificante).

En sistemas con recirculación, este procedemento de cálculo pode aplicarse con garantías ao sistema global. Para aplicalo a cada unidade por separado, compre facer uso dos valores de VCH e S totais ou reais nos puntos influente e efluente de cada columna. O problema aparece cando a recirculación é elevada, xa que as concentracións influente e efluente tenden a igualarse e por tanto o erro na súa determinación multiplica o erro no cálculo de  $VSN_{m\acute{a}x.}$  e  $VSD_{m\acute{a}x.}$ .

Os resultados da estimación de velocidades superficiais de nitrificación e desnitrificación, con estas aproximacións, indícanse na Figura 6. Podemos observar que estes cálculos mostran unhas columnas cunha situación bastante polarizada, ao existir unicamente nitrificación e non desnitrificación en FV. En FH dábase a situación contraria, xa que toda a desnitrificación se rexistra nesta columna, pero a diferenza de FV, FH tamén rexistra actividade nitrificante, aínda que reducida. As velocidades de desnitrificación máximas en FH coinciden coas velocidades de eliminación de nitróxeno nesa columna, e aumentan progresivamente período tras período desde 2,2 a 11,0 g N/m<sup>2</sup>·d. Tamén aumenta gradualmente a VSNmax en FH, desde cero inicialmente até valores duns 2 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos IV - VI.

En FV aparecen valores de VSD negativos e positivos moi próximos a cero nos períodos I a V, o que indicaría valores negativos e positivos de eliminación de NT, como xa vimos na Figura 5. Como os valores negativos non poden ser reais, concluímos que a VSD en FV foi nula, ao menos como media. So o período VI mostrou un valor claramente positivo (1,6 g N/m<sup>2</sup>·d) que nos indicaría que neste período si se puideron dar condicións para desnitrificación en FV. Porén, en VII aparece un valor negativo que so pode ser consecuencia da falta de seguridade nestes cálculos por columnas separadas (por exemplo, se a concentración de NT no efluente FV en VII fose 3 mg/L inferior, o valor de

$VSD_{max}$  sería cero, polo que podemos considerar que ese valor está dentro da marxe de erro das análises).

A VSN foi case constante, duns 5 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos I-V (agás IV) e aumentou a máis de 6,5 g N/m<sup>2</sup>·d nos períodos VI e VII, respectivamente. A menor VSN no período IV (2,8 g N/m<sup>2</sup>·d) parece estar relacionada co incremento da concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no efluente FH nese período, segundo podemos ver na Figura 5. Tamén o período VII mostra un valor que parece estar afectado pola falta de precisión do cálculo. Con todo, e a pesar desta falta de precisión, estes datos son de interese para analizar en que columna se sitúa cada tipo de proceso de conversión do nitróxeno.

Os valores de VSD e VSN referidos ao sistema global non presentan este tipo de problemas, pois so fan uso da VCH global e das concentracións de influente ao sistema global (auga residual sintética) e efluente final do sistema. Ademais, ao estaren referidos á mesma área total (non así os valores de cada columna, xa que estas presentan áreas diferentes), poden ser comparados directamente. Neste caso, a VSN máxima foi sempre lixeiramente superior a VSD máxima (Figura 6), e ambas aumentaron de forma parela desde o período I ao IV (rango de 1,4 a 2,5 g N/m<sup>2</sup>·d) e sobre todo nos seguintes períodos até valores no período VII de 6,2 (VSD<sub>max</sub>) e 7,3 (VSN<sub>max</sub>) g N/m<sup>2</sup>·d. Estas velocidades globais, segundo o indicado anteriormente, distribuiríanse da seguinte forma: toda a VSD correspondería á columna FH, a VSN estaría entre 1/3 e 1/4 en FH e o resto (entre 2/3 e 3/4) en FV.

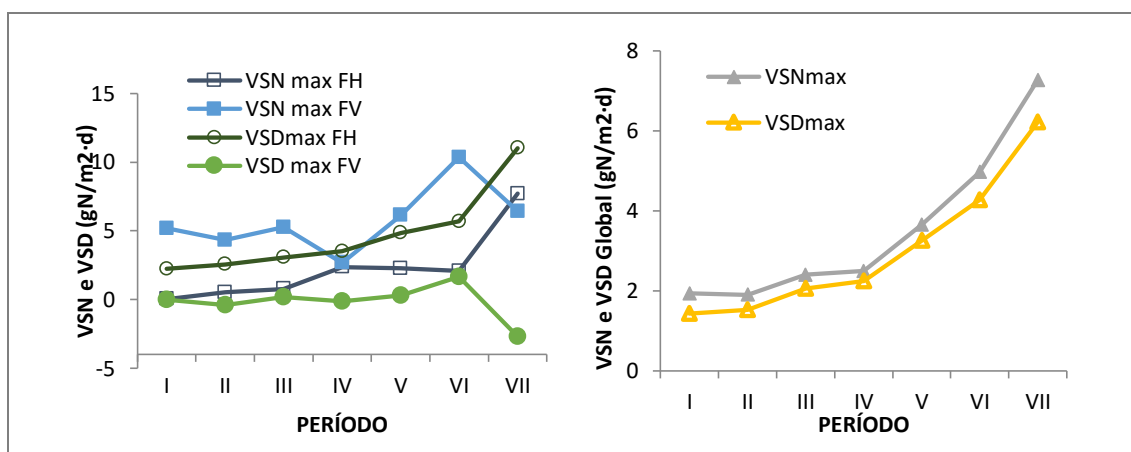


Figura 6. Evolución comparada das velocidades superficiais de nitrificación (VSN) e de desnitrificación (VSD).

### 3.3. Perfís de fluxo de caudais

Na columna FH, a velocidade de drenado ata o Período V foi de 2457 ± 124 mL/min (n = 8 determinacións). Tras o período V, unha rotura do tubo de saída fixo necesario o seu arranxo cun tubo de menor diámetro (de 7 a 2 mm), o que reduciu o Caudal de drenaxe, que a partir deste momento (períodos VI e VII) foi 627 ± 11 mL/min (n= 3 determinacións). Estes resultados mostran que non houbo variación da velocidade de

infiltración ocasionada pola acumulación de sólidos, e por tanto non se detectou ningún indicio de colmatación.

Na columna FV, os controis de fluxo de caudais comezaron a facerse no día 70 de operación (Período III). Na Figura 7 represéntanse os perfís de fluxo en cada período de operación. O caudal influente a FV indícase na Táboa 4 e a frecuencia e nº de pulsos na Táboa 2, datos dos que se poden obter o volume de cada pulso, que pasou de 388 mL no Período III a 720 mL no Período VI. Compróbase que ao aumentar os volumes de alimentación, tamén aumentaba o caudal máximo, pasando dun  $Q_{m\acute{a}x.}$  de 109 mL/min (volume de pulso: 388mL) no período III a un  $Q_{m\acute{a}x.}$  de 147 mL/min (volume de pulso: 785 mL) no período VI, tendencia que se rompeu no último período, que mostrou menor caudal máximo (81 mL/min) e maior tempo de drenaxe.

A evolución de diversos parámetros dos perfís vese detallada na Figura 7. Para os períodos analizados, o volume recuperado foi superior ao 90% ao remate do pulso, e superior ao 81% aos 60 minutos (Figura 8). Os resultados de tempo medio ( $t_m$ ) indican que o pulso era drenado correctamente, sendo a media de todo o estudo de 6,4 minutos e observándose un aumento do  $t_m$  no período VII de estudo, no que alcanzou os 9,3 minutos. O de tempo de retardo ( $t_r$ ) sempre foi moi curto, a media do estudo estivo en 2,9 minutos, sen diferenza de tendencia entre períodos. As tendencias do  $t_m$  e  $t_r$  móstranse na Figura 8. Considerando que no Período VII a columna FV operaba cun réxime de 16 pulso por día, é dicir, con un pulso cada 90 minutos, o retardo no perfil de fluxo durante este período, cun tempo medio inferior a 12 minutos e a recuperación de máis do 90% do volume en 30 minutos indícanos que o sistema continua afastado dunha posible situación de colmatación. En conclusión, non se observou fenómeno de colmatación durante o estudo.

### **3.3. Perfís verticais nas columnas**

A evolución de diversos parámetros coa posición vertical na columna, determinada no Período VII, recóllese na Figura 9. En canto ao pH, en ambas columnas mantense próximo a neutralidade, tendendo, a medida que se descende na columna, a aumentar na columna FH, e a acidificarse na FV, o cal é concordante co carácter denitrificante da columna FH e nitrificante da FV.

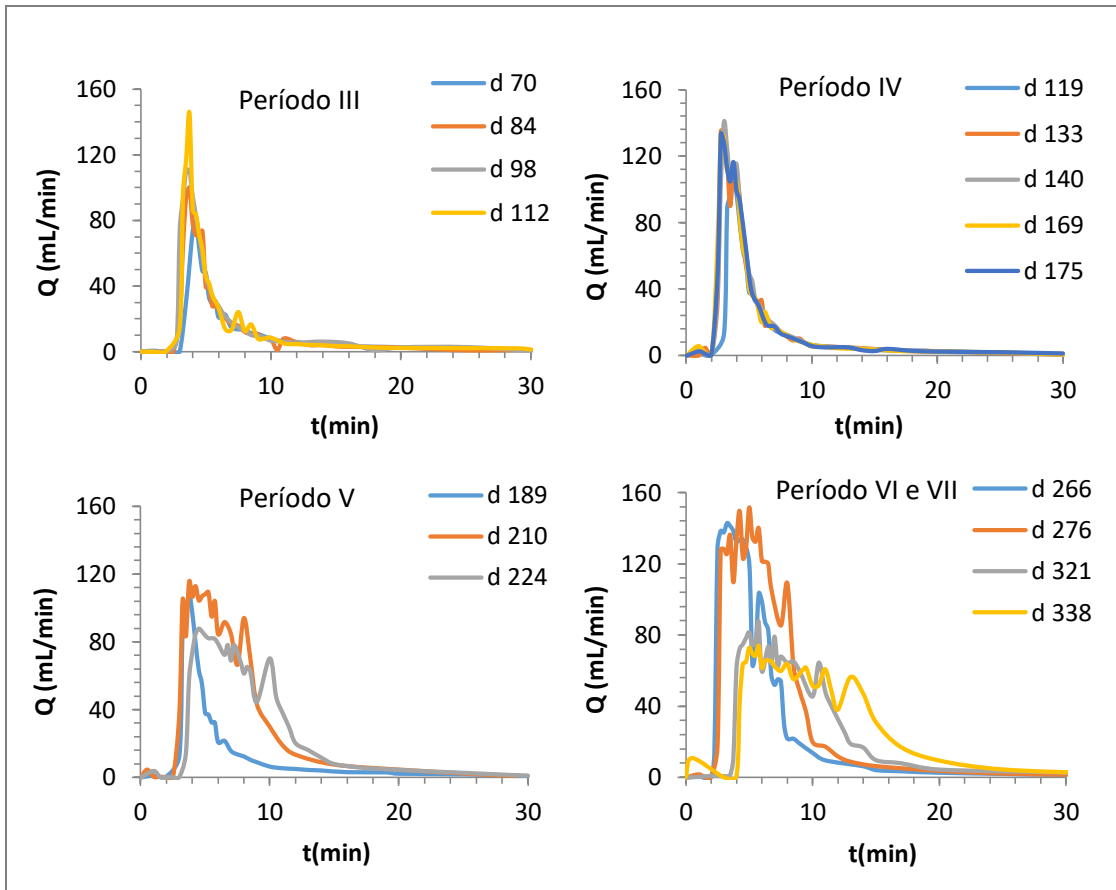


Figura 7. Perfís de fluxo de caudais na columna FV.

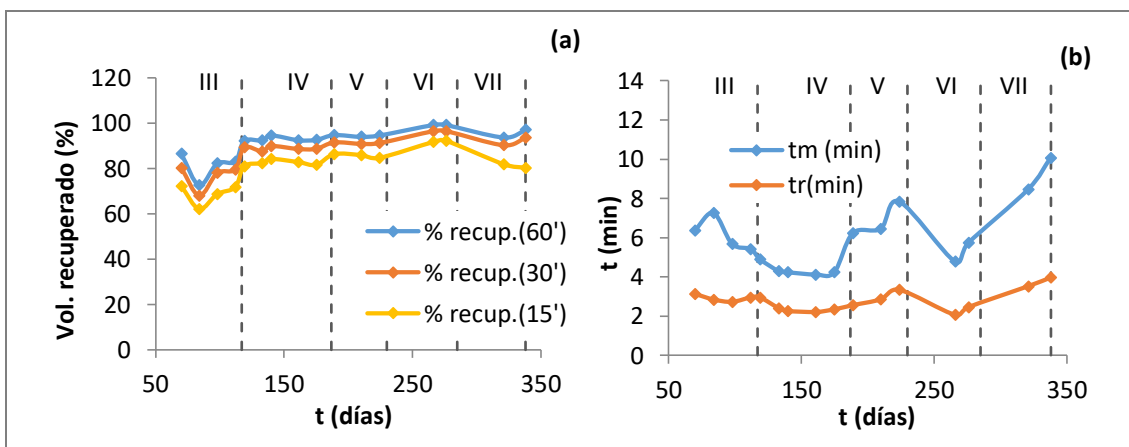


Figura 8. Volume recuperado en FV a distintos tempos do pulso (a). Tempo medio ( $t_m$ ) e tempo de retardo ( $t_r$ ) en FV nos períodos de estudo (b).

O valor do OD é alto no influente de FH (6,9 mg O<sub>2</sub>/L), debido ao alto contido do efluente FV recirculado, e baixa xa no primeiro lugar de toma de mostras, manténdose constante ata o efluente en  $2,2 \pm 0,2$  mg O<sub>2</sub>/L. Na columna FV o OD sempre é maior de 6,1 mg O<sub>2</sub>/L.

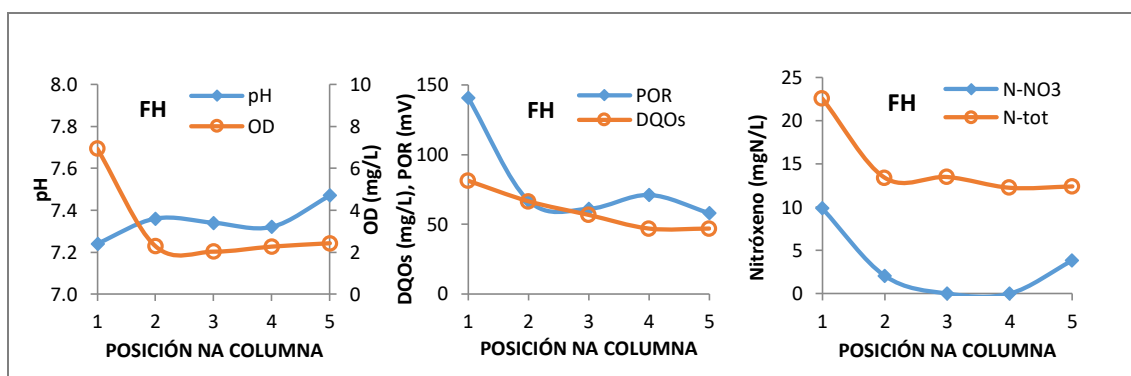
No POR atopáronse sempre valores por encima de cero, tanto na columna FH como na FV, se ben os resultados en FH son máis baixos, pero non chegan a ser negativos, como

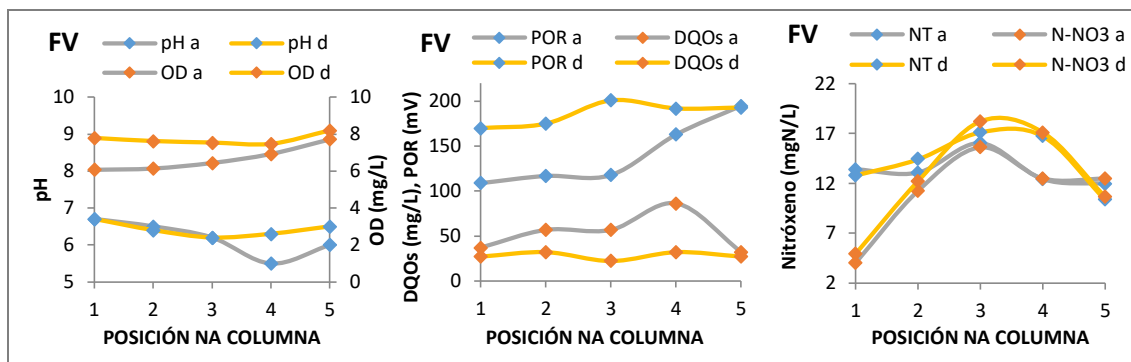
cabería esperar, e como se viña observando no seguimento semanal. En ambas columnas, o POR segue as tendencias observadas para o OD.

A DQO soluble vaise eliminando a medida que se descende na columna FH (influyente 81 mg O<sub>2</sub>/L e efluente 47 mg O<sub>2</sub>/L). Na columna FV non se produce eliminación, pois os resultados de DQOs son similares na entrada e na saída da columna (32 e 30 mg O<sub>2</sub>/L, respectivamente). Os valores obtidos son moi próximos aos resultados de DQO total obtidos nos seguimentos semanais do efluente; no Período VII a DQOt foi 50 (EF.FH) e 29 (EF.FV) mg/L.

O Nitróxeno total que entra na columna FH redúcese case a metade xa no primeiro terzo da columna, e despois non se elimina máis, con respecto ao efluente final, pasando de 22,5 mg NT/L ata 12,4 mg NT/L. O nitrato influente (10 mg N-NO<sub>3</sub>/L) elimínanse por completo na primeira columna FH, e a continuación prodúcese nitrificación na unidade FV, que acada as maiores concentracións de nitrato na súa parte central (ata uns 18 mg N-NO<sub>3</sub>/L), para volver a reducirse lixeiramente na parte final da columna FV. Estes perfís de nitróxeno mostran que a nitrificación ten lugar principalmente no medio filtrante MF2 (capa superior de 5 cm) e no primeiro terzo do medio filtrante MF1. Nesta posición (punto 3 na Figura 9) as curvas de nitróxeno nítrico xa alcanzaron as de nitróxeno total, o que indica que non queda amoníaco para nitrificar.

Na columna FV fíxose o estudo dos diferentes parámetros 10 minutos antes do pulso e tamén 10 minutos despois deste. Os resultados, recollidos na Figura 9, foron os mesmos para pH, nitratos e N total, e con lixeiras diferenzas no OD e POR, máis baixos antes do pulso, e na DQOs, neste caso con valores máis altos antes do pulso. As mostras collidas antes do pulso reflicten o efecto do tempo de drenaxe sobre o medio no interior da columna. Chama a atención que presenten menores valores de OD e POR e maiores valores de DQO, cando cabería agardar o contrario, pois nese tempo de repouso débese airear o medio granular. Podería tratarse do efecto dun retraso en todo o proceso, por exemplo, se a mostra despois do pulso recollera aínda líquidos remanentes de antes do pulso, e os volumes de antes do seguinte pulso corresponderan maiormente aos alimentados no referido pulso. En todo caso, os datos mostran unha evolución cíclica en canto a POR, OD e DQOs que non se observa en pH e NT e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.





**Figura 9.** Perfís verticais na columna FH (arriba) e FV (abaixo) (as posicións 1 - 5 correspóndense coas indicadas na Figura 2). Para FV represéntanse os perfís obtidos 10 minutos antes (a) dun pulso e 10 minutos despois (d) do pulso.

### 3.4. Emisións gasosas: CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O.

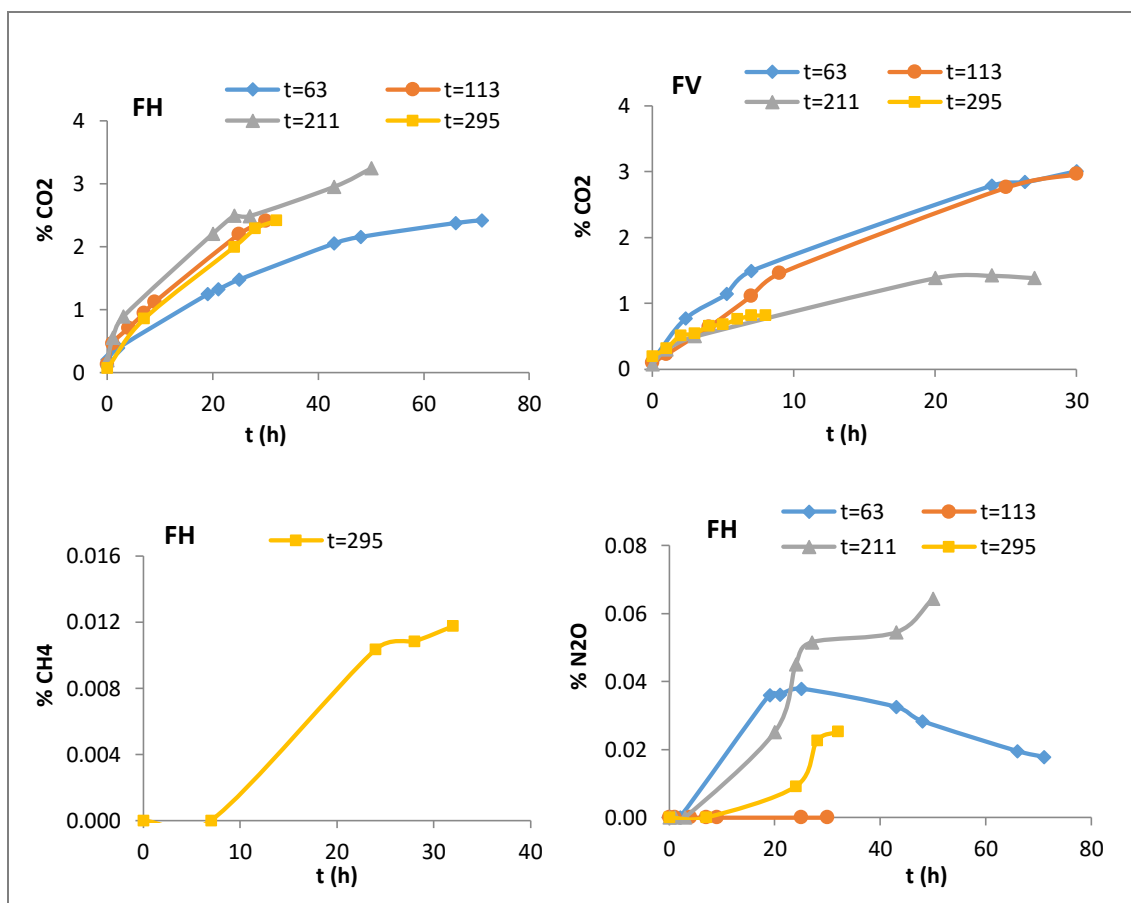
Fixéronse catro campañas de seguimento ao longo do tempo do estudo, nos Períodos II, III, V e VII de operación. As campañas na columna FH estendéronse durante 30 – 70 horas, pero tomáronse para os cálculos as emisións ata as 30 horas de estudo. As campañas na columna FV foron máis curtas de tempo, estendéndose durante 8 - 30 horas, e tomando para os cálculos os resultados obtidos ata as 7 horas.

Nas catro campañas a bolsa Tedlar instalada na cabeceira da columna FV a modo de pulmón levou aproximadamente uns 500 mL aire, ficando ao remate das campañas un volume duns 250 mL. Durante a campaña correspondente ao período V (t = 211) tivo lugar a unha temperatura uns 4 °C máis elevada que no resto de campañas, debido a un problema de funcionamento do termostato da cámara.

Na Figura 10 preséntanse as curvas de evolución da %CO<sub>2</sub>, %CH<sub>4</sub> e %N<sub>2</sub>O nas diferentes experiencias para as columnas FH e FV. Tras un período de adaptación ou equilibrio de menos de 2 h, a evolución da % de CO<sub>2</sub> na columna FH resultou lineal para un período de medición de 30 horas, situándose neste tempo as emisións no rango de 1,5 – 2,5%, que probablemente se corresponden con velocidades de consumo de osíxeno relativamente baixas nesta columna. Desta forma, nese período de tempo, a atmosfera na cabeceira da columna pode considerarse pouco afectada polo seu peche e confinamento. Como resultado considerouse que é correcto estender o período de medición por un tempo de 30 h sen que afecte aos procesos microbiolóxicos e doutro tipo que teñen lugar na columna. Este período fixouse tanto para a obtención de velocidades de emisión de CO<sub>2</sub> como de CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O.

A evolución da % de CO<sub>2</sub> na columna FV está condicionada polo tempo de estudo, debido probablemente ao efecto do peche da columna, xa que o consumo de osíxeno non foi moi superior ao rexistrado na columna FH. Se isto é así, entón o uso da bolsa tedlar non sería suficientemente efectivo para garantir o funcionamento normal da columna. Así, como se ve na Figura 10, a partir de 5 - 7 h (isto é, máis de 2 pulsos seguidos) a pendente de produción de gases vaise reducindo progresivamente. Por este motivo o tempo de

obtención das velocidades de emisións foi restrinxido a unha media de 7h., acadando un máximo de produción na primeira campaña (t=63) de 1,5%CO<sub>2</sub>.



**Figura 10.** Produción de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O nas columnas FH e FV para as catro campañas de seguimento de emisións gasosas (Nota: en FH só se detectou CH<sub>4</sub> nunha das campañas, e en FV non se detectou CH<sub>4</sub> nin N<sub>2</sub>O en ningunha das campañas).

Así mesmo, a interpretación dos resultados está condicionada aos límites de detección do método, en particular para o N<sub>2</sub>O. A análise cromatográfica implica un límite de detección de 0,005% de N<sub>2</sub>O. Para un período de medición de 30 horas en FH, este límite resulta en 7,3 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d, e para as 7 horas de medición en FV o límite resulta en 57 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d. Para o CH<sub>4</sub>, os límites de detección resultan de 2,6 (FH) e 21 (FV) mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d.

Con estes criterios, procédese á obtención das velocidades de variación das porcentaxes de cada gas na atmosfera confinada, por regresión lineal, segundo se indica na Figura 11. A partir da pendente das ecuacións de regresión, obtéñense os valores de velocidade superficial de emisión (VSE) mediante a Ec. 8. Os resultados móstranse na Táboa 7, e mostran como en ningunha das columnas se rexistrou produción de metano, agás durante a última campaña en FH e nunha velocidade moi reducida (6 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d). Tampouco se rexistrou emisión de N<sub>2</sub>O na columna FV, pero si na columna FH, na que variou entre 0 e 82 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d. Por outra banda, obsérvase como a columna FV

registrou velocidades de emisión de CO<sub>2</sub> moi superiores ás de FH, nun factor de 4 veces, a pesar de que a maior parte da materia orgánica, como se viu máis arriba, eliminábase na columna FH. Mentres as emisións de CO<sub>2</sub> en FH aumentan ou se manteñen no tempo, en FV mostran o comportamento contrario a FH.

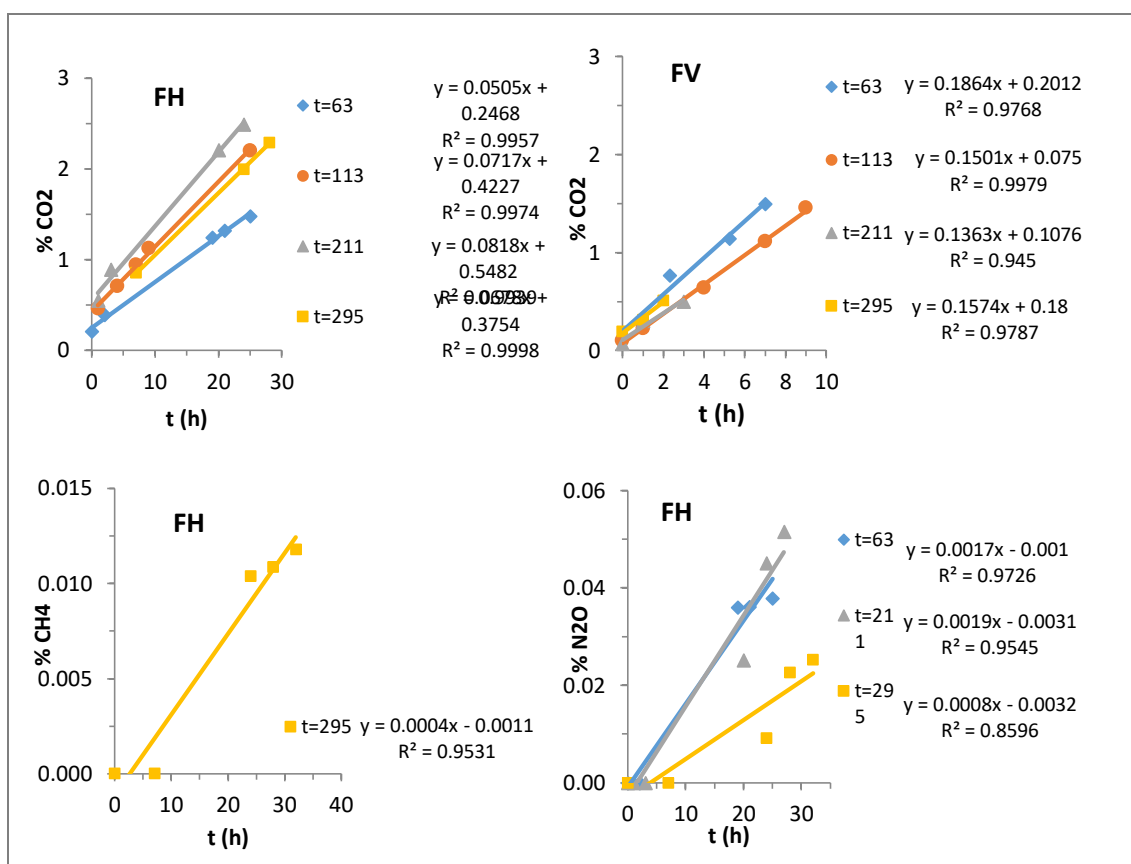


Figura 11. Análise de regresión para a obtención das velocidades de emisións de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O.

Táboa 7. Velocidade superficial de emisión (VSE) de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O nas columnas de FH e FV.

PERÍODO	DÍA	FH			FV		
		VS CH <sub>4</sub>	VS CO <sub>2</sub>	VS N <sub>2</sub> O	VS CH <sub>4</sub>	VS CO <sub>2</sub>	VS N <sub>2</sub> O
II	63	0	2205	74	0	14835	0
III	113	0	3131	0	0	11946	0
V	211	0	3523	82	0	10702	0
VII	295	6	2960	35	0	12527	0

VSE expresadas en mg<sub>gas</sub>/m<sup>2</sup>·d.

Considerando un factor de conversión de 0,5 g COT/g DBO<sub>5</sub> (Mander et al., 2014), así como de 0,5 g DBO<sub>5</sub>/g DQO para o influente a FH, podemos obter os factores de emisión de CO<sub>2</sub> a partir da velocidades de carga orgánica de carbono orgánico total (COT) e das velocidades de emisión. Os resultados indican factores de emisión de CO<sub>2</sub> (%COT) moi



superiores en FV con respecto a FH, acadando un factor de 42 veces superior na primeira campaña (t=63). En FH os resultados estiveron entre o 4 e o 13%, cunha media de 9,5% COT. Na columna FV acadáronse valores altísimos, maiores do 100% nas tres primeiras campañas (II, III e V), e do 36% na campaña VII (t=295). Estes balances de carbono mostran con claridade que boa parte do CO<sub>2</sub> xerado na columna FH non se emitía desde esta como gas, senón que pasaba en disolución a FV e desprendíase como gas desde esta última.

En canto aos factores de emisión (FE) de N<sub>2</sub>O como porcentaxe do NT influente, os límites de detección de 7,3 e 57 mgN<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d para FH e FV, respectivamente, e considerando as VCS de NT aplicadas (3 – 12 e 6-23 g NT/m<sup>2</sup>·d en FH e FV, respectivamente, Táboa 4), levarían a factores de emisión de N<sub>2</sub>O inferiores a 0,15 %NT en FH e a 0,60 % NT en FV. Os valores medidos para o FE N<sub>2</sub>O resultaron nunha media do 0,6% NT en FH mentres que non se detectou N<sub>2</sub>O en FV. Estes son valores relativamente baixos, dentro dos rangos de emisión referidos como habituais por Mander et al. (2014) para sistemas de baixa e media carga.

Aínda que o límite de detección de emisións de N<sub>2</sub>O non son todo o baixos que sería desexable, os valores obtidos permiten ao menos contrastar que as emisións de N<sub>2</sub>O están dentro dos rangos considerados normais e que non constitúen un factor de impacto elevado en relación coa emisión de gases de efecto invernadoiro.

As emisións de metano só foron detectadas na última campaña (t=295) na columna FH, resultando en 6 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, e tendo en conta que o límite de detección para este gas é moi reducido, o factor de emisión resulta no 0,02%COT. Comparativamente, Mander et al. (2014) indicou factores de emisión medios do 16,9% para humidais construídos de fluxo superficial, 4,5% para humidais FH e 1,2% para FV.

### **3.5. Concentración de biomasa e actividade microbiana**

Os resultados obtidos para a caracterización do medio ao final do período V recóllense na Táboa 8. Vese que a retención de auga foi elevada na capa MF2 da columna FV, con un 15% do peso do medio (mostra húmida). No resto dos medios, tanto de FH como de FV, o contido en auga estaba no rango do 5-8%. A densidade do medio drenado situouse no rango de 1,3 – 1,9 kg/L, véndose incrementada pola retención de auga. A porosidade drenable resultou moi inferior para a capa MF2 de FV, debido tamén á maior retención de auga, e moi similar no resto dos medios. A porosidade drenable e a retención de auga gardan unha relación lineal inversa ( $R^2=0,860$ ,  $p=0,023$ ). No caso da columna FV, unha maior retención de auga (e por tanto una menor porosidade drenable) poden considerarse beneficiosas, xa que facilitan un maior tempo de contacto. Porén, un valor excesivo podería ser indicativo de procesos de colmatación, un risco que no presente estudo non se observou como se puxo de manifesto nos resultados acadados para os perfís de fluxo en FV.

O contido en biomasa determinouse como o contido en SV totais nas mostras de medio filtrante drenado. As concentracións decreceron no sentido de fluxo en ambas

columnas, con valores máis baixos na columna FH (0,3-0,5 %SV/g.s.) e máis elevados (0,5-0,6 %SV/g.s.) na columna FV. Aínda que unha maior concentración de SV implica unha maior retención de auga, a correlación entre ambos parámetros é feble e non significativa ( $p>0,1$ ).

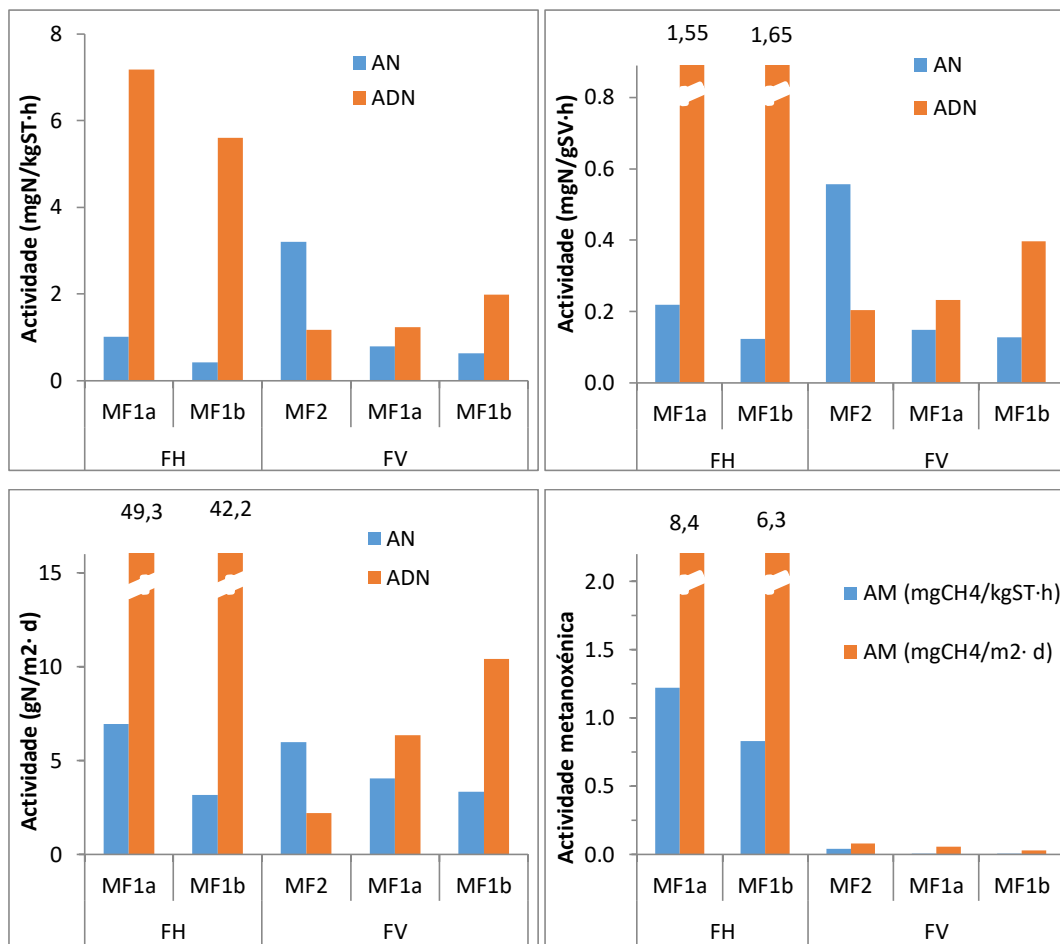
**Táboa 8.** Características dos medios filtrantes (MF) do sistema FH/FV-R ao final do período V, e actividades volumétricas obtidas nos ensaios biolóxicos.

Columna	Mostra	Poros. (%)	Dens. (g/mL)	H <sub>2</sub> O (%g.h.)	%SV (g.s.)	AM (gCH <sub>4</sub> -DQO/gSV·d)	AN (mgN/L·h)	AD (mgN/L·h)
FH	MF1a	35,51	1,59	8,0 ± 0,13	0,46 ± 0,003	0,0254	0,62	6,63
	MF1b	36,59	1,65	6,3 ± 0,88	0,34	0,0234	0,26	5,28
FV	MF2	13,11	1,85	15,0 ± 0,03	0,58 ± 0,005	0,0007	2,48	1,19
	MF1a	32,12	1,34	5,1 ± 0,07	0,53	0,0001	0,67	1,4
	MF1b	37,10	1,36	5,6 ± 0,18	0,50 ± 0,040	0,0001	0,54	2,24

AN: actividade nitrificante. ADN: actividade denitrificante. g.h.: grava húmida. g.s.: grava seca. Densidades obtidas como cociente entre o peso total de material e o volume da sección correspondente da columna, razón pola cal non hai desviación estandard.

Na Táboa 8 indícanse as actividades volumétricas obtidas nos ensaios biolóxicos. A actividade metanoxénica foi apreciable nas mostras da columna FH e case nula nas da columna FV, neste caso, durante ao menos un período de 21 días de incubación. Ademais, nestes ensaios anaerobios non se detectou formación de N<sub>2</sub>O en ningunha das mostras. Tampouco se detectou a formación de N<sub>2</sub>O nos ensaios denitrificantes durante os primeiros 5 días de ensaios, nin de metano, agás trazas nas mostras FH, con cantidades moi inferiores ás rexistradas no mesmo tempo nos ensaios metanoxénicos. Isto indica que en presenza de nitrato, a denitrificación resulta máis competitiva que a metanoxénese, o que está de acordo cos resultados observados na medición de emisións desde as columnas.

De acordo coa Táboa 3, en todos os ensaios con mostras procedentes da columna FH engadiuse unha cantidade similar de mostra de grava, que foi de 101,1 ± 1,2 g de medio húmido, mentres nos ensaios con mostras de FV engadíronse 45,5 ± 0,8 g medio húmido. Por esta razón, a interpretación dos datos de actividade microbiana indicados na Táboa 8 débense expresar en unidades que permitan a súa comparación. Os resultados exprésanse na Figura 12 por kg de grava seca, por unidade de superficie, e por unidade de SV.



**Figura 12.** Actividade nitrificante (AN), denitrificante (ADN) e metanoxénica (AM) nas mostras de grava procedentes de diferentes zonas das columnas expresadas en diferentes bases.

A actividade nitrificante por kg de grava decrece na dirección de fluxo en ambas unidades, mentres a denitrificante faino en FH pero aumenta en FV. A AN presenta valores similares en ambas unidades, no rango de 0,4 a 1,0 mg N/kg ST·h en todas as posicións, agás na parte superior de FV onde atinxe os 3,2 mg N/kg ST·h. Pola contra, a ADN presenta valores no rango de 1,2 a 2,0 mg N/kg ST·h en FV, e valores moito máis altos, de 5-7 mg N/kg ST·h, en FH. Así, as actividades denitrificantes potenciais son claramente maiores que as actividades nitrificantes potenciais en todas as posicións, agás na parte superior de FV (medio MF2, Figura 12A), que rexistra as maiores AN e as menores AD. Os valores globais resultaron de 0,7 (FH) e 1,1 (FV) mg N/kg ST·h para a actividade nitrificante, e de 3,4 (FH) e 1,6 (FV) mg N/kg ST·h para a actividade denitrificante. Os valores de AN e AD expresados por unidade de SV (Figura 12B) mostran un comportamento similar ao indicado para as actividades por unidade de ST.

Na Figura 12C preséntase a achega de cada capa de medio filtrante á actividade por unidade de área. Tendo en conta os datos de densidades de grava ( $\text{kg ST}/\text{m}^2$ ) en cada capa, podemos obter a contribución de cada capa de material á actividade nitrificante e denitrificante potencial por unidade de área. Globalmente, a actividade nitrificante potencial alcanzou os  $10,1 \text{ g N}/\text{m}^2\cdot\text{d}$  en FH e os  $13,4 \text{ g N}/\text{m}^2\cdot\text{d}$  en FV, mentres a actividade

denitrificante atinxiu os 91,5 e 19,0 g N/m<sup>2</sup>·d en FH e FV, respectivamente. Todas as capas achegan unha actividade nitrificante e denitrificante no rango de 3-7 gN/m<sup>2</sup>·d, máis que se eleva a uns 50 g N/m<sup>2</sup>·d para a actividade denitrificante en FH. Compre destacar a achega da capa MF2 en FV á actividade nitrificante, tendo en conta o seu reducido espesor (5 cm fronte a 16-19 cm das capas MF1a e MF1b), xa que achega o 45% da AN total de FV, e mesmo o 25% do sistema global FH+FV. As actividades nitrificante e denitrificante potenciais globais (suma das dúas columnas) resultaron de 11,2 gN/m<sup>2</sup>·d e 66,1 gN/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. A pesar de que a actividade desnitrificante potencial era maior que a actividade nitrificante potencial, o sistema global acumulaba máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final, o que indica que a etapa desnitrificante foi limitante fronte a etapa nitrificante. Isto pode acharse a unhas condicións ambientais e de substrato (O<sub>2</sub>, POR, relación DQO/NT) non suficientemente propicias para a desnitrificación.

Finalmente, na Figura 12D móstranse as actividades metanoxénicas potenciais, que foron practicamente nulas na columna FV (0,2 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d como valor global), e mostraron valores medibles pero baixos na columna FH (14,6 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d como valor global), cun valor para o sistema global FH+FV de 9,6 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d. A medición directa das emisións das columnas deu valores nulos en ambas as dúas columnas no Período V, que foi cando se obtiveron as mostras para os ensaios de actividade metanoxénica. Nestes ensaios rexistráronse actividades metanoxénicas baixas en ausencia de nitrato, pero que eran practicamente nulas en presenza de nitrato. Isto suxire que a recirculación do efluente provoca a competición entre as bacterias metanoxénicas e denitrificantes en favor desta últimas, co resultado de reducir tanto a actividade metanoxénica potencial (presenza de bacterias metanoxénicas activas) como as velocidades reais de produción de metano, que nas condicións deste estudo resultaron ser nulas (períodos I-V) ou moi reducidas (6 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d no período VII).

#### 4. CONCLUSIÓNS

A configuración en dúas etapas para simular HCs híbridos en laboratorio permitiu centrarse nos fenómenos de conversión e eliminación de nitróxeno, así como na eliminación de contaminantes orgánicos (en forma de SST, DQO e DBO<sub>5</sub>), grazas á posibilidade de manter constantes determinadas condicións ambientais tais como a temperatura, o pH, a composición influente simulando auga residual urbana, e tamén grazas á posibilidade de manter baixo control parámetros de deseño como a velocidade de carga hidráulica e orgánica.

O sistema composto por FH/FV-R mostrou unha evolución de parámetros de seguimento bastante estable ao longo dos 7 períodos de estudo, con rápida adaptación ás características de definición dos novos períodos sen que fose necesario tempo de adaptación entre eles. Con excepción dos dous últimos períodos que tiveron lugar a continuación da extracción de medio filtrante (MF) das columnas e repostado con MF limpo. Durante o primeiro período detectouse caída do pH no efluente final até valores

de  $5,7 \pm 0,5$ , que se recuperou por si mesmo nos seguintes períodos sen necesidade de neutralizar e manténdose en  $7,0 \pm 0,2$  en FH e  $6,6 \pm 0,2$  en FV. A eliminación de sólidos, DQO e  $\text{DBO}_5$  no sistema global sempre foi moi elevada, maior do 93% en todos os períodos. Non houbo variación da velocidade de infiltración ocasionada pola acumulación de sólidos, e por tanto non se detectou ningún indicio de colmatación.

Os períodos de estudo caracterizáronse polo aumento da taxa de recirculación (R) e da carga aplicada ao sistema. A recirculación incrementouse 4 veces desde o inicio da operación, que comezou con valores típicos de VCS para HCs de FH, e rematou con valores algo superiores aos típicos de deseño de humidais de FV. Este aumento da proporción de efluente recirculado desde a segunda unidade de FV cara a entrada da primeira unidade de FH conseguiu mellorar as taxas de eliminación de nitróxeno.

Neste sistema a etapa limitante foi a denitrificación, porque sempre se atopou maior concentración de nitrato que de amoníaco no efluente final, sen ser quen a columna FH de conseguir eliminalo por completo do sistema. A pesar disto, o sistema caracterizouse por unha elevada capacidade nitrificante na columna FV e unha tamén elevada capacidade desnitrificante en FH, o que lle conferiu unha elevada eficacia de eliminación de nitróxeno a elevadas velocidades de carga, aumentando desde o 71 ao 84% entre os períodos I e IV, e manténdose despois entre o 78-83% nos períodos V - VII.

A proporción óptima de recirculación (calculada como  $Q_R/Q_4$ , Fig. 1) pareceu ser de aproximadamente  $R=3,7$ , aplicada nos períodos II-V e VII. Con esta taxa a columna de FH desnitrificante acadou eliminacións entre o 78 e o 90 % de NT (VCE desde 2,2 até 11 g NT/m<sup>2</sup>·d), descendendo ao 72-71% con taxas de R de 2,7 (Per. I) e 5,0 (Per. VII). Porén a columna de FV nitrificante mostrou unha VCE cero ou negativa, o que indica que a súa capacidade nitrificante non estivo compensada coa de eliminación de NT, quedando constante a concentración de NT no seu efluente, excepto no período VI no que sí acadou unha VCE de 1,6 g NT/m<sup>2</sup>·d.

Para o sistema global, a VSN máxima foi sempre lixeiramente superior a VSD máxima, e ambas aumentaron de forma paralela desde o período I ao IV no rango de 1,4 a 2,5 g N/m<sup>2</sup>·d, e sobre todo nos seguintes períodos até valores finais de 6,2 (VSD<sub>max</sub>) e 7,3 (VSN<sub>max</sub>) g N/m<sup>2</sup>·d. Estas velocidades globais, distribúense da seguinte forma: toda a VSD correspondería á columna FH, e a VSN estaría entre  $\frac{1}{3}$  e  $\frac{1}{4}$  en FH e o resto (entre  $\frac{2}{3}$  e  $\frac{3}{4}$ ) en FV.

O estudo vertical da conversión e eliminación de nitróxeno nas columnas, mostrou que na primeira unidade de FH o NT xa se reduce case á metade no primeiro terzo da columna, pasando de 22,5 ata 12,4 mg NT/L, e despois non se elimina máis, con respecto ao efluente final. Na unidade de FV prodúcese nitrificación que acadou as maiores concentracións na parte central da columna (ata uns 18 mgN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L), indicando que a AN ocorre principalmente na capa de MF2 e primeiro terzo da MF1.

Nas catro campañas de seguimento de emisións gasosas non se rexistrou produción de metano, agás durante a última campaña en FH e nunha velocidade moi reducida (6 mgCH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d). Tampouco se rexistrou emisión de N<sub>2</sub>O na columna FV, pero si na columna FH, na que variou entre 0 e 82 mg N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>·d.

Os ensaios de actividade específica nas columnas mostraron que todas as capas achegan unha actividade nitrificante (AN) e denitrificante (AD) no rango de 3-7 gN/m<sup>2</sup>·d. A AD atinxiu os 91,5 e 19,0 gN/m<sup>2</sup>·d en FH e FV, respectivamente, sendo polo tanto moito máis denitrificante (unhas 5 veces) a unidade de FH. No tocante á AN cabe destacar a capa MF2 da columna de FV, que con só 5 cm de espesor chega ao 45% da AN total de FV, e mesmo ao 25% do sistema global FH/FV-R.

## 5. REFERENCIAS

- Aiyuk, S., Verstraete, W., 2004. Sedimentological evolution in an UASB treating SYNTHES, a new representative synthetic sewage, at low loading rates. *Bioresour. Technol.* 93, 269 – 278.
- Álvarez, J.A., Ruíz, I., Soto, M., 2008. Anaerobic digesters as a pretreatment for constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 33, 54-67.
- Andreottola, G., Oliveira, E., Foladori, P., Peterlini, R., Ziglio, G., 2007. Respirometric techniques for assessment of biological kinetics in constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 56, 255 – 261.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington.
- Ávila, C., Garfí, M., García, J., 2013. Three-stage hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse in warm climate regions. *Ecol. Eng.* 61, 43 – 49.
- Ayaz, S.C., Findik, N., Akca, J., Erdogan, N., Kinaci, C., 2011. Effect of recirculation on organic matter removal in a hybrid constructed wetland system. *Water Science and Technology* 63 (10), 2360-2366.
- Ayaz, S.C., Aktas, O., Findik, N., Akca, L., Kinaci, C., 2012. Effect of recirculation on nitrogen removal in a hybrid constructed wetland system. *Ecological Engineering* 40, 1-5.
- Brix, H., Arias, C.A., Johansen, N.H., 2003. Experiments in a two-stage constructed wetland system: nitrification capacity and effects of recycling on nitrogen removal. In: Vymazal, J. (Ed.), *Wetlands-nutrients, Metals and Mass Cycling*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 237 – 258.
- Brix, H., Arias, C.A., 2005. The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic wastewater: new Danish guidelines. *Ecol. Eng.* 25, 491 – 500.
- Carballeira, T., Ruiz, I., Soto, M., 2016. Effect of plants and surface loading rate on the treatment efficiency of shallow subsurface constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 90, 203 – 214.
- Cooper P.F., 2003. Sizing vertical flow and hybrid constructed wetland systems. En: *The Use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in constructed Wetlands*, 1st International Seminar. Dias V. y Vymazal J. (eds.), Instituto Nacional da Água, Lisbon, Portugal, pp. 195-218.
- de la Varga, D., Ruiz, I., Álvarez, J.A., Soto, M., 2015. Methane and carbon dioxide emissions from constructed wetlands receiving anaerobically pretreated sewage. *Sci. Total Environ.* 538, 824-833.
- Ferreiro, N., Soto, M., 2003. Anaerobic hydrolysis of primary sludge: influence of sludge concentration and temperature. *Water Sci. Technol.* 47(12), 239-246.

- Foladori, P., Ruaben, J., Ortigara, A.R.C., 2013. Recirculation or artificial aeration in vertical flow constructed wetlands: a comparative study for treating high load wastewater. *Bioresour. Technol.* 149, 398 – 405.
- Gaboutloeloe, G., Chen, S., Barber, M., Stöckle, C., 2009. Combinations of horizontal and vertical flow constructed wetlands to improve nitrogen removal. *Water Air Soil Pollut.* 9, 279 – 286.
- García, J., Corzo, A. (2008). *Depuración con humedales construidos. Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial.* Universitat Politècnica de Catalunya. <http://upcommons.upc.edu/e-prints/handle/2117/649>.
- Li, F., Lu, L., Zheng, X., Ngo, H.H., Liang, S., Guo, W., Zhang, X., 2014. Enhanced nitrogen removal in constructed wetlands: Effects of dissolved oxygen and step-feeding. *Bioresour. Technol.* 169, 395-402.
- Mander, Ü., Dotro, G., Ebie, Y., Towprayoon, S., Chiemchaisri, C., Nogueira, S.F., Jamsranjav, B., Kasak, K., Truu, J., Tourné, J., Mitsch, W.J., 2014. Greenhouse gas emission in constructed wetlands for wastewater treatment: A review. *Ecol. Eng.* 66, 19-35.
- Masi, F., Martinuzzi, N., 2007. Constructed wetlands for the Mediterranean countries: hybrid systems for water reuse and sustainable sanitation. *Desalination* 215, 44-55.
- Meng, P., Pei, H., Hu, W., Shao, Y., Li, Z., 2014. How to increase microbial degradation in constructed wetlands: Influencing factors and improvement measures. *Bioresour. Technol.* 157, 316 – 326.
- Obarska-Pempkowiak, H., Gajewska, M., Wojciechowska, E. (2007). Application, design and operation of constructed wetland systems: case studies of systems in the Gdańsk region, Poland. *Ecology & Hydrobiology*, 7 (3–4), 303–309.
- Prost-Boucle, S., Molle, P., 2012. Recirculation on a single stage of vertical flow constructed wetland: Treatment limits and operation modes. *Ecological Engineering* 43, 81– 84.
- Saeed, T., Sun, G., 2012. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *J. Environ. Manage.* 112, 429 – 448.
- Serrano, L., de la Varga, D., Ruiz, I., Soto, M., 2011. Winery wastewater treatment in a hybrid constructed wetland. *Ecological Engineering* 37, 744–753.
- Sklarz, M.Y., Gross, A., Yakirevich, A., Soares, M.I.M., 2009. A recirculating vertical flow constructed wetland for the treatment of domestic wastewater. *Desalination* 246, 617–624.
- Tanner, C.C., Sukias, J.P.S., Headley, T.R., Yates, C.R., Stott, R., 2012. Constructed wetlands and denitrifying bioreactors for on-site and decentralised wastewater treatment: comparison of five alternative configurations. *Ecol. Eng.* 42, 112 – 123.
- Torrijos, V., Gonzalo, O.G., Trueba-Santiso, A., Ruiz, I., Soto, M., 2016. Effect of bypass and effluent recirculation on nitrogen removal in hybrid constructed wetlands for domestic and industrial wastewater treatment. *Water Res.* 103, 92-100.
- Vázquez, M.A., de la Varga, D., Plana, R., Soto, M., 2013. Vertical flow constructed wetland treating high strength wastewater from swine slurry composting. *Ecol. Eng.* 50, 37 – 43.
- Vymazal, J., 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 380, 48-65.

- Vymazal, J., 2013. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: a review of a recent development. *Water Res.* 47, 4795 – 4811.
- Vymazal, J., Kröpfelová, L., 2015. Multistage hybrid constructed wetland for enhanced removal of nitrogen. *Ecol. Eng.* 84, 202 – 208.
- Wu, S., Zhang, D., Austin, D., Dong, R., Pang, C., 2011. Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecol. Eng.* 37, 1789-1795.
- Wu, S., Wallace, S., Brix, H., Kusch, P., Kirui, W.K., Masi, F., Dong, R., 2015. Treatment of industrial effluents in constructed wetlands: Challenges, operational strategies and overall performance, a review. *Environ. Pollut.* 201, 107-120.
- Xu, D., Li, Y., Howard, A., Guan, Y., 2013. Effect of earthworm *Eisenia fetida* and wetland plants on nitrification and denitrification potentials in vertical flow constructed wetland. *Chemosphere* 92, 201 – 206.
- Zhang, D-Q., Jinadasa, K.B.S.N., Gersberg, R.M., Liu, Y., Tan, S.K., Ng, W.J., 2015. Application of constructed wetlands for wastewater treatment in tropical and subtropical regions (2000–2013). *Journal of Environmental Sciences* 30, 30 – 46.
- Zhao, Y., Sun, G., Allen, S., 2004. Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal flow reed bed system with effluent recirculation. *Sci. Total Environ.* 330, 1–8.



## **CONCLUSIÓN / CONCLUSIONS**



## CONCLUSIONES

O estudo de varias configuracións de CW de dúas etapas que operan baixo condicións ambientais e de deseño similares centrouse na eficiencia de conversión e eliminación de nitróxeno durante o tratamento de augas residuais domésticas sintéticas. O estudo incluíu varias configuracións de sistemas de paso único (FH + FH, FV + FV), a configuración híbrida Bp (FV + FH) (con bypass de alimentación) e o sistema híbrido R (FH + FV) (con recirculación de efluente). A eliminación porcentual de SST, DQO e DBO<sub>5</sub> foi xeralmente superior ao 95%. Non obstante, a eliminación de TN variou en gran medida, do 20 ao 82%, e tamén a velocidade superficial de eliminación (de 0,6 a 8 g de NT/m<sup>2</sup>·d), dependendo principalmente da configuración do sistema.

Entre os sistemas de dobre etapa e paso único, o sistema VF+VF obtivo os mellores resultados alcanzando a nitrificación case completa e unha eliminación moderada de NT (1,7 a 3,5 g de NT/m<sup>2</sup>·d) pero superior á do sistema FH + FH (0,6 g NT/m<sup>2</sup>·d) e HF + VF (0,9 a 1,2 g NT/m<sup>2</sup>·d). Aínda que os sistemas de paso único xeralmente mostran unha eliminación de NT inferior ao 50%, o sistema FV + FV pode chegar até o 63% NT, pero só cando se opera a alta velocidade de carga. O sistema Bp (FV + FH) cun bypass no rango do 40% ao 50% aumentou a taxa de eliminación de NT até o 50-60% de forma sostible aínda que as concentracións de amoníaco e nitrato continuaron sendo elevadas. A recirculación de efluente mellorou significativamente a eficiencia e a taxa de eliminación de TN. O sistema R (FH + FV) mostrou eliminacións de NT sostibles de aproximadamente 80% a velocidades de carga de 2 a 8 g de NT/m<sup>2</sup>·d. É notoria a estabilidade deste sistema, sen incidencia apreciable das condicións operativas variables.

Os dous métodos respirométricos avaliados permiten obter varios dos parámetros cinéticos dos procesos heterotróficos e autótrofos. O primeiro consistiu no uso de columnas de laboratorio que simulan HCs de VF. O segundo consistiu na utilización dunha mostra de medio filtrante procedente dun humidal que se transfere a un vaso de precipitados. Este é un método máis simple e máis preciso para os procesos heterotróficos, pero hai que investigar máis a súa aplicación ao proceso de nitrificación.

A continuación danse as conclusións detalladas obtidas para cada un dos sistemas.

### **Sistemas de dobre etapa FH+FH e FV+FV**

Ambos sistemas obtiveron unha elevada eficacia de eliminación de sólidos en suspensión e materia orgánica. O sistema FH+FH acadou eliminacións do 93-95% SST, 97% DBO<sub>5</sub> e 94-98% DQO operando a VCO de 4-5 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d. O sistema FV+FV acadou eliminacións do 93-96% SST, 98-99% DBO<sub>5</sub> e 95-99% DQO operando a VCO de 8 g SST/m<sup>2</sup>·d, 18 g DBO<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d e 38 g DQO/m<sup>2</sup>·d. Estas eficacias e VCS así como os niveis de OD e POR son característicos dos humidais FH e FV, respectivamente, polo que ambos

sistemas de laboratorio simulan axeitadamente esta tipoloxía de humidais construídos e poden ser utilizadas para o estudo de configuracións híbridas.

As elevadas VCS en SST na unidade FV1 ocasionou problemas de colmatación do leito e redución da velocidade de infiltración, ao tempo que a nitrificación avanzada xunto cunha desnitrificación parcial requiriu a adición de alcalinidade extra para evitar unha caída excesiva do pH. Estes problemas non se observaron no sistema FH pola menor VCS aplicadas. As emisións de metano foron nulas no sistema FV e atinxiron valores de de 121-165 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d no sistema FH, mentres que en ningúns dos dous sistemas se detectaron emisións de N<sub>2</sub>O, ou ben estaban por debaixo dos límites de deteccións. Os resultados dos ensaios de actividade metanoxénica concordaron con estas emisións de metano relativas, e indicaron actividades máximas latentes elevadas que poderían soportar emisións de até 4904 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH1 e de até 2276 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d en FH2 no caso dunha sobrecarga orgánica prolongada.

A acumulación de biomasa (SVT) foi maior no sistema FV+FV, con valores medios de 6.1 e 5.8 mg SVT/g g.s en FV1 e FV2, respectivamente, que en FH+FH, con valores medios de 3.6 e 3.3 mg SVT/g g.s en FH1 e FH2, respectivamente. Unicamente unha parte dos SVT eran extraíbles (biopelícula externa, SVE), nunha porcentaxe que resultou do 17-37% en FV e do 5-8% en FH. Os SVE resultaron 6,5 veces máis elevados en FV que en FH, factor que representa aproximadamente a capacidade de tratamento relativas de ambos sistemas.

O sistema de FV+FV obtivo mellores resultados de eliminación de NT, acadando case a nitrificación completa e unha eliminación moderada de NT (1,7 – 3,5 g NT/m<sup>2</sup>·d e ata 63% con alta VCS, descendendo ao 27% con baixa VCS), e superior ao do sistema de FH+FH (0,6 g NT/m<sup>2</sup>·d e 35%)

A actividade nitrificante obtida nos ensaios en descontinuo foi moi similar en ambos sistemas e en calquera das columnas, alcanzando 0,21 (FV) e 0,30 (FH) mg N/kg ST·h ou 2,6 (FV) e 3,2 (FH) g N/m<sup>2</sup>·d, comparables aos valores indicados na bibliografía. Porén, as actividades nitrificantes específicas resultan moi superiores en FH (29-48 mg N/g SVE·d) en relación a FV (3,9-4,7 mg N/g SVE·d), o que indica unha maior presenza relativa de bacterias nitrificantes no sistema FH a pesar das condicións anaerobias predominantes. Isto explícase polas maiores VCS no sistema FV en comparación con FH e o crecemento predominante da biomasa heterotrófica en FV.

A actividade desnitrificante foi sempre moi superior nos medios das columnas FH (13-19 g N/m<sup>2</sup>·d.) que nos das columnas FV (1-4 g N/m<sup>2</sup>·d.), a diferenza sería aínda maior cando a ADN se expresa por unidade de SVT ou SVE. O sistema FV fixo un mellor aproveitamento tanto da actividade nitrificante como desnitrificante potencial, xa que presentando valores similares ou inferiores ao do sistema FH, acadou velocidades de nitrificación e eliminación de nitróxeno superiores.

## **Respirometría en unidades FV e FH**

A determinación de parámetros cinéticos por métodos respirométricos atopou dificultades debido a que moitos dos parámetros son dependentes entre sí. Para minimizar a súa variabilidade é imprescindible manter moi estables as condicións de operación e toma de mostras. Atópase na bibliografía unha ampla variedade de parámetros obtidos a partir de métodos respirométricos, mais con condicións de operación diferentes, e por iso rangos non coincidentes.

Nas curvas respirométricas obtidas, cada parámetro pode extraerse a partir dun determinado treito da curva, despois de identificalo e transformalo axeitadamente. No procedemento de este estudo propóñense algúns dos requirimentos básicos a ter en conta para a obtención de parámetros derivados, sinalando os pasos a seguir e o posible tratamento de datos.

Observouse que a maiores concentracións de  $S_s$ , a  $VCO_2$  diminuíu. A velocidade de crecemento específico ( $\mu$ ) aumentou coa  $S_s$  até valores arredor de 500 mg/L, a partir dos cales diminuíu.

O modelo de Monod pode aplicarse aos procesos de nitrificación pero non aos datos de  $VCO_2$  para a degradación heterotrófica do acetato. Estudouse o efecto da concentración de acetato (no rango de 214 a 1560 mg DQO/L) e probouse que causa inhibición a valores elevados, obténdose como máxima  $VCO_2$  500 mg DQO/L.

A respirometría en humidais construídos de fluxo vertical mostra no presente estudo que a unidade FV1, que recibe maior carga orgánica e nitroxenada, responde cun maior consumo de oxíxeno, en termos de  $S_s$  e  $S_{NH}$ , así como unha VSEN lixeiramente mais elevada que a unidade FV2.

## **Sistema Bp(FV+FH)**

O bypass do 50% de influente cara a segunda unidade FH aumentou efectivamente a relación DQO/NT desde 0,3 até 3,5, aumentando a eliminación de NT do 31 ao 50%. Porén, a taxa de denitrificación na unidade de FH permaneceu baixa debido ás inadecuadas condicións de operación, como o OD (3,2 mg/L) e o POR (124 mV). Para o sistema global as taxas de nitrificación e denitrificación potencial acadaron 15,0 e 58,9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente, pero as máximas taxas medidas estiveron só en 2,2 e 1,6 g N/m<sup>2</sup>·d, respectivamente. Estes resultados son prometedores porque podemos agardar unha eficiencia maior en sistemas con plantas, así como unha emisión de gases de efecto invernadoiro moi baixa.

A configuración en dúas etapas para simular HCs híbridos en laboratorio permitiu centrarse nos fenómenos de conversión e eliminación de nitróxeno, así como na eliminación de contaminantes orgánicos (en forma de SST, DQO e DBO<sub>5</sub>), grazas á posibilidade de manter constantes determinadas condicións ambientais tais como a

temperatura, o pH, a composición influente simulando auga residual urbana, e tamén grazas á posibilidade de manter baixo control parámetros de deseño como a velocidade de carga hidráulica e orgánica.

O tempo de operación de 254 días permitiu distinguir 6 períodos definidos a partir da configuración inicial, aplicando modificacións co obxectivo de aumentar a capacidade e de mellorar a operación, pero sen desestabilizar os sistemas, mediante axustes de carga hidráulica e orgánica e por incorporación de bypass en proporcións crecentes, que ademais de proporcionar fonte de carbono á segunda unidade tamén permitiu aumentar a carga sobre o sistema global.

A eliminación de SST, DQO e  $\text{DBO}_5$  resultou moi elevada (>96%) no sistema global, acadando a eliminación do 95% de SST e DQO xa na primeira unidade de FV, sendo a segunda unidade FH a responsable da eliminación de SST e DQO (>90%) durante os períodos de aplicación de bypass. A eliminación de NT seguiu a evolución marcada pola columna FH, obtendo os mellores resultados de denitrificación cun 50% de NT eliminado, grazas ao aumento do bypass até o 50% (3,4 COD/TN) respecto ao influente da primeira unidade. A utilización dun 10 e 25% de bypass mostráronse claramente insuficientes. No sistema global obtívose VSN de ata  $2,2 \pm 0,1 \text{ gN/m}^2\cdot\text{d}$ , sendo a VSD claramente inferior, sen superar os  $1,6 \pm 0,1 \text{ g N/m}^2\cdot\text{d}$ .

A caída do pH pode reducir a cinética do proceso. Observouse que a adición dun sistema tampón na alimentación como control de pH é beneficioso para a nitrificación. Deste modo, a maior  $\text{VSN}_{\text{Max}}$  foi acadada nos períodos con control de pH, obtendo  $5,1 \text{ gN-NH}_4^+/\text{m}^2\cdot\text{d}$ , correspondéndose co descenso na concentración de amoníaco e incremento de nitrato no efluente de FV, o cal confirma a importancia de regular o pH para evitar a inhibición da nitrificación por baixos pH.

Os valores de OD e POR máis altos do que cabería esperar poden ser debidos a unha insuficiente relación COD/TN, que non permite suficiente desenvolvemento da microbiota anaerobia. As caídas puntuais en OD suxiren que o sistema se adapta á demanda de osíxeno adicional causada polos aumentos de bypass en FH, recuperándose logo e volvendo a rexistrar valores elevados de OD no efluente. Nestas condicións a denitrificación foi a etapa limitante, na unidade de FH.

Nas condicións estudadas non se observou fenómeno de colmatación durante o estudo, e a recuperación do volume dos pulsos foi sempre superior ao 88%.

Despois de probar distintos tempos de medición gasosa, é correcto estender o período de medición gasosa por un tempo de 30 horas en FH e de 5 – 7 horas en FV sen que afecte aos procesos microbiolóxicos que teñen lugar na columna. Para maiores tempos en FV a produción irregular de  $\text{N}_2\text{O}$  podería estar afectada pola modificación da composición da atmosfera, en particular pola limitación de osíxeno.

A interpretación dos resultados de emisións gasosas está condicionada aos límites de detección do método, en particular para o  $\text{N}_2\text{O}$ . Para FV (5h) o límite resulta en 80 mg

$\text{N}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{d}$  e  $30 \text{ mg CH}_4/\text{m}^2\cdot\text{d}$ , e en FH (30h) este límite vese reducido até os  $7,3 \text{ mg N}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{d}$  e  $3 \text{ mg CH}_4/\text{m}^2\cdot\text{d}$ .

Os resultados indican factores de emisión de  $\text{CO}_2$  (%COT) en FV do 91,5 %, e en FH resultaron moi inferiores, con valor medio do 11,1 %. As menores velocidades de carga e un pH máis elevado poderían explicar que a maior parte do carbono mineralizado abandone FH como  $\text{CO}_2$  disolvido no efluente e non como gas.

Os valores obtidos permiten contrastar que as emisións de  $\text{N}_2\text{O}$  están dentro dos rangos considerados normais e que non constitúen un factor de impacto elevado en relación coa emisión de gases de efecto invernadoiro.

O contido en biomasa decrece no sentido de fluxo na columna FV no rango de 0,8-0,5 %SV/g.s. e resulta inferior pero uniforme na columna FH, arredor de 0,3 %SV/g.s., sendo baixa concentración en ambos casos.

Tanto a actividade nitrificante como a denitrificante por kg de grava decrecen na dirección de fluxo, a AN no rango de 2,7 a 0,06 mg N/kg ST·h, e a ADN no rango de 7,2 a 1,4 mg N/kg ST·h, o que indica que as actividades denitrificantes potenciais son claramente maiores que as actividades nitrificantes. A pesar de isto, o sistema global acumula máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final, o que indica que a etapa desnitrificante foi limitante fronte a etapa nitrificante, como se indicou arriba. Isto pode acharse a unhas condicións ambientais e de substrato ( $\text{O}_2$ , POR, relación DQO/NT) pouco propicias para a desnitrificación, a pesar do elevado bypass aplicado nos períodos finais do proceso. Polo tanto, un sistema FV+FH en serie mostra dificultades para garantir unha boa denitrificación e eliminación global do nitrato.

### **Sistema R(FH+FV)**

Estudouse o efecto de varias taxas de recirculación (2,7-4,9), velocidades de carga (16-62 g COD/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$ , 2,0 a 8,0 g TN/ $\text{m}^2\cdot\text{d}$ ) e frecuencias de pulso (8-16 pulsos por día) sobre o rendemento dunha configuración híbrida R(HF+VF) provista de recirculación.

A eliminación de SST e DQO oscilou entre o 94 e o 99%, mentres que a eliminación de  $\text{DBO}_5$  foi sempre superior ao 98%. A eliminación de NT variou do 71% ao 84% dependendo das condicións operacionais. O inicio do sistema durou aproximadamente 2 meses, un tempo requirido para a estabilización da eliminación de NT e do pH, pero sendo máis curto (aproximadamente 3 semanas) para a estabilización da eliminación de materia orgánica. O pH do efluente FV caeu inicialmente a valores de 5,1-5,5 pero foise auto-regulando a  $6,6 \pm 0,2$  despois do inicio.

A proporción de DQO/NT no influente a unidade de FH mantívose en  $5,0 \pm 0,3$  independentemente das condicións de funcionamento, tais como a taxa de recirculación e a velocidade de carga. A concentración final de nitrato no efluente diminuíu significativamente cando a taxa de recirculación aumentou ( $R^2 = 0,79$ ,  $p = 0,044$ )

mentres que se mostrou independente da velocidade de carga ( $R^2 = 0,56$ ,  $p = 0,15$ ). A concentración de nitrato no efluentes FH aumentou claramente co aumento da velocidade de carga ( $R^2 = 0,71$ ,  $p = 0,02$ ), mentres que o efecto da velocidade de carga na concentración de amoníaco no efluente FV foi insignificante. Así, as velocidades taxas de carga (30-60 g DQO/m<sup>2</sup>·d para o sistema global) tenden a acumular máis nitróxeno nítrico que amoniacal no efluente final.

Nas condicións de funcionamento, a eficiencia óptima para eliminación de NT e amoníaco corresponderon a carga de 20-40 g DQO/m<sup>2</sup>·d e 2.7-5.2 g NT/m<sup>2</sup>·d, taxas de recirculación de 3.8-4.9 e 8-12 pulsos por día (unidade FV). Nestas condicións, o sistema global alcanzou eliminacións de NT do 82-84% e concentracións no efluente final por baixo de 15 g/L de NT e 5 g/L de nitróxeno amoniacal.

As velocidades superficiais de eliminación oscilaron entre 1,4 e 6,2 g NT/m<sup>2</sup>·d. Toda a actividade de desnitrificación correspondeu á unidade FH, mentres que a eliminación de amoníaco apareceu distribuída entre ambas as unidades, mostrando a unidade FH unha contribución maior a medida que a velocidade de carga aumentou. A actividade de nitrificación específica presentou valores semellantes en ambas unidades, no rango de 0,4 a 1,0 mg N/kg TS·h, agás a parte superior do leito VF onde alcanzou 3,2 mg N/kg ST·h. Doutra banda, a actividade de desnitrificación específica mostrou valores de 1,2 a 2,0 mg N/kg ST h en FV e valores moito maiores (5-7 mg N/kg ST h) en FH. A taxa de nitrificación potencial alcanzou 10,1 g N/m<sup>2</sup>·d en FH e 13,4 g N/m<sup>2</sup>·d en FV en promedio, mentres que a taxa de denitrificación potencial alcanzou os 91,5 e 19,0 g N/m<sup>2</sup>·d en FH e FV, respectivamente.

O tamaño relativo de ambas unidades (relación de área HF/VF = 1.9) foi óptimo, como se indica pola baixa concentración de nitrato no efluente FH e de amoníaco no efluente FV.

Unha operación eficiente a elevadas velocidades de carga e altos ratios de recirculación é posible se se aumenta o número de pulsos (de 8 a 16 pulsacións por día) á unidade FV. O tempo medio de drenaxe de cada volume de pulso variou de 4 a 10 min, indicando a ausencia total de obstrución durante o funcionamento continuo e sen períodos alternos de repouso.

A emisión de metano só se detectou a taxas baixas (6,4 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d) na unidade FH operando coa velocidade de carga máis elevada. Isto deu un factor de emisión de metano inferior ao 0,02% do carbono orgánico total. Esta baixa taxa de emisión de metano débese á competencia pola materia orgánica da nitrificación sobre a metanoxénese na unidade FH. Os resultados dos ensaios de actividade metanoxénica e medicións de emisións de metano foron coincidentes. O factor de emisión de N<sub>2</sub>O estivo por debaixo do 1,0% de NT influente.



## CONCLUSIONS

The performance of several two-step CW configurations operating under similar design and ambient conditions was studied focusing on nitrogen conversion and removal from synthetic domestic wastewater. The study includes several configurations of single pass systems (HF+HF, VF+VF, VF+HF), the hybrid Bp(VF+HF) arrangement (with feeding by-pass), and the hybrid R(HF+VF) system (with effluent recirculation). The percentage removal of TSS, COD and BOD<sub>5</sub> was usually higher than 95%. However, TN removal largely varied from 20 to 82% as well as surface removal rate (from 0.6 to 8 g TN/m<sup>2</sup>·d), depending mainly on the system configuration.

Among all single pass two-step systems, the VF+VF system obtained the better results by reaching nearly complete nitrification and a moderate TN removal (1.7 to 3.5 g TN/m<sup>2</sup>·d) but higher than that of the HF+HF (0.6 g TN/m<sup>2</sup>·d) and HF+VF (0.9 to 1.2 g TN/m<sup>2</sup>·d) systems. While the single pass systems generally showed TN removal below the threshold of 50%, the VF+VF system can reach up to 63% TN but only when operated at high SLR. The Bp(VF+HF) system with a by-pass ratio in the range of 40% to 50% increased the TN removal rate to approximately 50-60% in a sustainable manner although ammonia and nitrate effluent concentrations remained still high. Effluent recirculation significantly improved the TN removal efficiency and rate. The R(HF+VF) system treating synthetic domestic wastewater showed sustainable TN removals of approximately 80% at loading rates ranging from 2 to 8 g TN/m<sup>2</sup>·d. It is noticeable the stability of this system instead of the variable operational conditions.

The two respirometric methods assessed were able to obtain several kinetic parameters of the heterotrophic and autotrophic processes. The first one consisted in lab columns simulating VF CWs. The second one consisted in the use of a sample of filtering media which is and transferred to a beaker. This is a simpler and more precise method regarding the heterotrophic processes but more research is need to define its application to the nitrification process.

The following are detailed conclusions for each system configuration.

### **Two step HF+HF and VF+VF systems**

Operation and efficiency parameters for lab-scale columns are characteristic of the respective kind (HF or VF) of CW indicating the usefulness of the simplified columns to simulate CWs. The HF system, which was operated at overall surface loading rates of 4-5 g BOD<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d, showed removal efficiencies in the ranges of 93-95% TSS, 95-97% BOD<sub>5</sub> and 94-98% COD. At 18 g BOD<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d on average, the VF system reached somewhat higher removal efficiencies of 93-96% TSS, 98-99% BOD<sub>5</sub> and 95-99% COD. Dissolved oxygen and oxidation reduction potential were significantly higher for VF system (>6 mg

$O_2/L$  and  $>100$  mV) than for HF system ( $<4$  mg/L and  $<-80$  mV). In addition, the VF system reached nearly complete nitrification and moderate TN removal (1.7 to 3.5 g TN/m<sup>2</sup>·d) but higher than that of the HF (0.6 g TN/m<sup>2</sup>·d). Whilst the HF system reached only 35% TN removal, the VF system can reach up to 63% TN at high SLR but it decreased to 27% at low SLR.

Clogging was observed in the first unit of the VF system, because of the high TSS loading rate (11-17 g TSS/m<sup>2</sup>·d). Whilst clogging was partially prevented through operation with feeding and resting mode, the results suggest the need for advanced pre-treatment in order to reduce TSS loading rate as well as the use of larger particle media in the first unit of two-step VF CWs. Besides, attention should be paid to alkalinity in order to avoid too low pH values in VF units which would impair ammonia removal. Whilst clogging and pH drop were not observed in HF system, this system showed higher methane emissions (143.5±31.1 mg CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d, 4.2% of TOC fed). Null methane emissions were registered in VF units, and emission factors for N<sub>2</sub>O emissions were below 0.1% (VF) and 0.3% (HF) of TN fed.

Biomass accumulation reached 6.0 (VF) and 3.5 (HF) g TVS/kg TS, measured as extractable volatile solids (EVS) was 6.5-fold higher in VF system (1.3) than in HF system (0.20 g EVS/kg TS). Thus, extractable biomass reflected better the treatment capacity of both systems than total biomass. Biomass content decreased in the direction of flow.

PNRs were similar in both systems (2.6-3.2 g N/m<sup>2</sup>·d), whilst SNA were higher in the HF system (29-48 mg N/g EVS·d) than in VF system (3.9-4.7 mg N/g EVS·d), indicating a higher relative abundance of nitrifying bacteria in HF biofilm. PDRs were 13-19 (HF) and 1-4 (VF) g N/m<sup>2</sup>·d, whilst SDA were 178-195 (HF) and 2.3-5.6 (VF) mg N/g EVS·d. However, VF units exploited better potential nitrification and denitrification rates by removing significant amounts of nitrogen. TN removal rate in VF units reached 40% to 70% of PNR but only 5% of PNR in HF units. This was due to substrate (nitrate) limitation in both HF units and organic matter limitation in the second HF unit. Considering both PNR and substrate and redox conditions, these results clearly suggest effluent recirculation in the VF system, or the substitution of the second HF unit by a VF step and effluent recirculation as options that would improve TN removal through the efficient exploitation of both PNR and PDR. On the other hand, SMA and PSER were null in VF units but high (0.13-0.20 g COD-CH<sub>4</sub>/g EVS·d and 2.3-4.9 g COD-CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>·d) in HF units, being indicative of registered methane emissions.

## Respirometry

Two different respirometric methods were applied to obtain the kinetic and stoichiometric parameters for the heterotrophic and autotrophic processes in CWs. The first one consisted in lab columns simulating VF CWs. The second one consisted in the

use of a sample of filtering media which is and transferred to a beaker, being a simpler method.

The results indicate that the use of single substrates (acetate or ammonium) is better than the use of real or synthetic wastewater. In addition, other kinetic parameters of both processes are obtained if the operational conditions are adequate. The respirometric method appears to be useful to describe the different operational characteristics of VF and HF systems and of the first and the second units of two step (VF) systems.

It was observed that the higher concentrations of easily degradable substrate ( $S_s$ ), the oxygen uptake rate (OUR) decreased. The specific growth velocity ( $\mu$ ) increased with  $S_s$  to values around 500 mg / L, from which it decreased. The parameters of the Monod model can be obtained for nitrification processes but not for heterotrophic acetate degradation. Applied to the VF1+VF2 system, the respirometry showed that the FV1 unit, which received the highest organic and nitrogen load, presented maximum rates of heterotrophic and autotrophic processes higher than those of the FV2 unit.

Finally, the method of the respirometry in the beaker offers the same results as the method of the column in the case of heterotrophic degradation processes of the organic matter, being very precise in obtaining all the parameters, particularly with regard to the growth rate  $\mu_H$ . However, the application of this method to the study of the autotrophic nitrification process requires more research.

### **Bp (VF+HF) system**

The effect of step-feeding (untreated wastewater by-pass) on the performance of lab-scale columns simulating a hybrid vertical flow (VF)-horizontal flow (HF) constructed wetland (CW) system was studied. Step-feeding strategies have been adopted in several kind of CW but this is the first report about the use of step-feeding in VF+HF hybrid systems treating domestic wastewater. Applied loading rates were 7-11 g BOD<sub>5</sub>/m<sup>2</sup>·d and 2.1-3.4 g TN/m<sup>2</sup>·d (overall system). Removal efficiency reached 98% TSS and COD and 99% BOD<sub>5</sub> on average while a 50% by-pass improved TN removal from 31% to 50%. Maximum surface nitrification rate (5.5 g N/m<sup>2</sup>·d) was obtained in VF unit whilst maximum denitrification rate (1.8 g N/m<sup>2</sup>·d) was observed in HF unit. Referred to the overall system, maximum surface nitrification and denitrification rates were 2.2 and 1.6 g N/m<sup>2</sup>·d, respectively. However, potential nitrifying and denitrifying activities (batch assays) were 15.0 g N/m<sup>2</sup>·d and 58.9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectively. Even at 50% by-pass, operational conditions in HF unit (dissolved oxygen, redox, COD/TN ratio) were not suitable enough for denitrification. However, methane emissions were not observed and nitrous oxide emissions were relatively low.

A 50% by-pass ratio effectively increased the COD/TN ratio in HF influent from 0.3 to 3.5, TN removal increasing from 31% to 50%. However, denitrification rate in the HF unit

remained low because of unsuitable operational conditions such as DO (3.2 mg/L) and ORP (124 mV). For the overall system, potential nitrification and denitrification rates reached 15.0 and 58.9 g N/m<sup>2</sup>·d, respectively, but maximum measured rates were only 2.2 and 1.6 g N/m<sup>2</sup>·d, respectively. These results are promising because we can expect a higher efficiency in planted systems as well as very low greenhouse emissions.

### **R(HF+VF) system**

The effect of several recirculation rates (2.7-4.9), loading rates (16-62 g COD/m<sup>2</sup>·d, 2.0 to 8.0 g TN/m<sup>2</sup>·d) and pulsing frequencies (8-16 pulses a day) on the performance of the hybrid R(HF+VF) configuration provided of recirculation was checked.

TSS and COD removal ranged from 94 to 99%, whilst BOD<sub>5</sub> removal was always higher than 98%. TN removal ranged from 71% to 84% depending on the operational conditions. The system start up lasted for about 2 month, a time required for TN removal and pH stabilization, but being shorter (about 3 weeks) for organic matter removal. The pH of VF effluent dropped initially to values of 5,1-5,5 but was self-regulated at 6,6 ± 0,2 after start up.

The COD/TN ratio influent to the HF unit was kept at 5.0±0.3 irrespective of the operation conditions such as recirculation ratio and loading rate. Final effluent nitrate concentration decreased significantly when the recirculation rate increased ( $R^2=0.79$ ,  $p=0.044$ ) whilst was independent of loading rate ( $R^2=0.56$ ,  $p=0.15$ ). HF effluent nitrate concentration clearly increased following the increases loading rate ( $R^2=0.71$ ,  $p=0.02$ ), whilst the effect of loading rate on VF effluent ammonia concentration was negligible. Thus, high loading rates (30-60 g COD/m<sup>2</sup>·d for the overall system) tend to accumulate more nitric nitrogen than ammoniacal nitrogen in the final effluent.

In the operating conditions, optimal efficiency for TN and ammonia removal correspond to loading rates of 20-40 g COD/m<sup>2</sup>·d and 2.7-5.2 g TN/m<sup>2</sup>·d, recirculation rates of 3.8-4.9 and 8-12 pulses at day (VF unit). In these conditions, the overall system reached 82-84 TN removal and effluent concentrations below 15 g/L of TN and 5 g/L of ammonia nitrogen.

Surface removal rates ranged from 1,4 (I) to 6.2 (VII) g TN/m<sup>2</sup>·d. All the denitrification activity corresponded to the HF unit, whilst ammonia removal appeared distributed between both units, the HF unit showing a larger contribution as the SLR increases. Specific nitrification activity (SNA) presented similar values in both units, in the range of 0,4 to 1,0 mg N/kg TS·h, except for the upper part of the VF bed where it reached 3,2 mg N/kg TS·h. On the other hand, the specific denitrification activity (SDA) showed values from 1,2 to 2,0 mg N/kgTS·h in VF, and much higher values (5-7 mg N/kgTS·h) in HF. The potential nitrification rate reached 10,1 g N/m<sup>2</sup>·d in HF and 13,4 g N/m<sup>2</sup>·d in VF on average, while the potential denitrifying rate reached 91,5 and 19,0 g N/m<sup>2</sup>·d in HF and VF, respectively.

The relative size of both units (HF/VF area ratio = 1.9) was optimal, as indicated by the low HF effluent nitrate concentration and VF effluent ammonia concentration.

An efficient operation at high loading rates and recirculation ratios is possible by increasing the number of pulses (from 8 to 16 pulses a day) to the VF unit. The mean draining time of each pulse volume ranged from 4 to 10 min, indicating total absence of clogging during continuous operation without alternated resting periods.

Methane emission was only detected at low rates ( $6.4 \text{ mg CH}_4/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ) in HF unit at the highest loading rate. This gives a methane emission factor below 0.02% of total organic carbon. This low methane emission rate was due to the competition of nitrification by organic matter over methanogenesis in the HF unit. Results from methanogenic activity assays and methane emission measurements matched.  $\text{N}_2\text{O}$  emission factor was estimated to be below 1.0 % TN.

