

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



**DISEÑO Y PUESTA EN FUNCIONAMIENTO DE
UN HUMEDAL ARTIFICIAL A ESCALA DE
LABORATORIO PARA EL TRATAMIENTO DE
AGUAS CONTAMINADAS**

TRABAJO FIN DE GRADO

Junio-2016

AUTORA: Débora Antón Antón

TUTORES: Ignacio Meléndez Pastor

María Belén Almendro Candel

Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente.

Área de Ingeniería Química

Título: Diseño y puesta en funcionamiento de un humedal artificial a escala de laboratorio para el tratamiento de aguas contaminadas.

Resumen: La conservación de los humedales resulta de gran importancia para garantizar el mantenimiento de sus funciones y servicios como ecosistemas. Una de sus funciones más relevantes es la retención y/o transformación de sustancias tóxicas y nutrientes. El objetivo de este trabajo fue el diseño y construcción de humedales artificiales a escala de laboratorio, que permitieran evaluar su capacidad para el tratamiento de aguas con cargas contaminantes orgánicas y nutrientes similares a las del río Vinalopó. Se construyeron dos sistemas de humedales, uno de tipo superficial y otro subsuperficial, que permitieran experimentar diferentes mecanismos de depuración. Tras un periodo de establecimiento, se realizó un control de su capacidad de depuración. Se obtuvieron elevados porcentajes de reducción de la demanda química de oxígeno, amonio, nitratos, fosfatos y sólidos en suspensión totales. De acuerdo con los datos de los análisis efectuados se ha demostrado que los humedales a escala de laboratorio tienen una alta capacidad de eliminación o asimilación de nutrientes causantes de la contaminación de las aguas.

Palabras clave: Humedal artificial, contaminación de aguas, humedal superficial, humedal subsuperficial.

Title: Design and operation of a laboratory-scale constructed wetland for water pollution treatment

Abstract: Wetlands conservation is of great importance to ensure the maintenance of their functions and ecosystem services. One of its most important wetlands function is the retention and/or processing of toxic substances and nutrients. The objective of this work was the design and construction of laboratory-scale constructed wetlands, to assess their capability for the treatment of organic pollutants and nutrients loads similar to the Vinalopó River. A surface and a subsurface wetland system were built in order to experience different pollutants removal mechanisms. After a period of establishment, water treatment capacity was evaluated. High percentages of chemical oxygen demand, ammonium, nitrates, phosphates and total suspended solids reduction were obtained. Our laboratory-scale constructed wetlands had a high capability for the removal or assimilation of nutrients causing water pollution.

Keywords: Constructed wetland, water pollution, surface wetland, subsurface wetland.

Agradecimientos

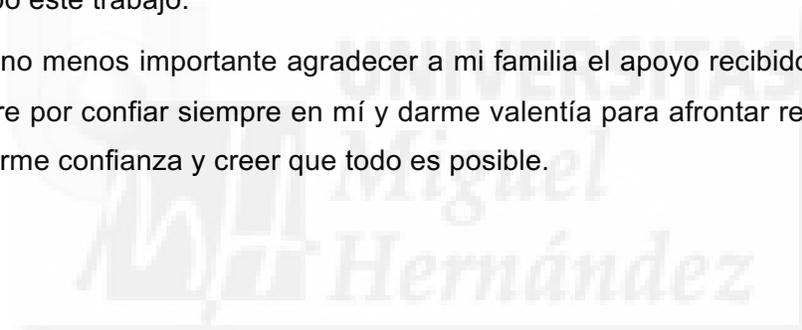
Este trabajo ha sido posible gracias al Dr. Ignacio Meléndez Pastor, director del trabajo fin de grado, por su gran paciencia, las horas dedicadas a mi aprendizaje y al apoyo recibido. Gracias por querer embarcarse en esta experiencia muy satisfactoria que ha sido la realización de este trabajo experimental.

Agradecer la colaboración de la Dra. M^a Belén Almendro Candel por la aportación de conocimientos y el tiempo invertido en la determinación de nitratos.

A Cristina Mullor Real y Jordi Blasco Ferre, amigos y compañeros, por la colaboración, aportación y entusiasmo desde el principio del trabajo.

Al Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente por facilitar los medios necesarios para llevar a cabo este trabajo.

Por último y no menos importante agradecer a mi familia el apoyo recibido durante estos años. A mi madre por confiar siempre en mí y darme valentía para afrontar retos difíciles y a mi pareja por darme confianza y creer que todo es posible.



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES Y OBJETIVOS	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS SISTEMAS HUMEDALES	4
3.2. SUSTRATOS DE RELLENO	6
3.3. VEGETACIÓN	7
3.4. CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS Y SISTEMA DE BOMBEO.	8
3.5. SISTEMÁTICA DE CONTROL DE LA EVOLUCIÓN DEL HUMEDAL Y MÉTODOS DE ANÁLISIS	9
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1. CONTROL SEMANAL MEDIANTE SONDAS	12
4.2. CONTROL ANALÍTICO DE CARGA ORGÁNICA Y NUTRIENTES	17
5. CONCLUSIONES Y PROYECCIÓN FUTURA	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27
6.1. RECURSOS DE INTERNET CONSULTADOS	29
7. ANEXO I. REPORTAJE FOTOGRÁFICO DE LA EVOLUCIÓN DE LOS HUMEDALES	30

1. Introducción

Los humedales son ecosistemas caracterizados por la presencia temporal o permanente de una lámina de agua, existiendo una gran diversidad de tipologías según su régimen de inundación, vegetación asociada o características del agua, entre otros parámetros. Según el Artículo 1.1 de la Convención de Ramsar (1971) se considera humedal a las “*extensiones de marismas, pantanos, turberas o superficies cubiertas de agua de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros*”.

Los humedales son ecosistemas altamente complejos debido a la gran riqueza y diversidad de componentes bióticos y abióticos que albergan. A pesar de su reducida extensión a escala global, con menos de un 9% de la superficie terrestre (Zedler y Kercher, 2005), poseen una gran variedad de biotopos y hábitats intermedios entre los ambientes terrestres y acuáticos, por lo que son muy importantes en la conservación de la biodiversidad y en el desarrollo económico. Poseen unos atributos o valores intrínsecos que los distinguen de otros ecosistemas y es ahí donde reside su gran importancia en el sistema vital del planeta (MAGRAMA, 2000). Sin embargo, son ecosistemas cuya superficie se ve continuamente reducida, tanto por el drenaje de las zonas húmedas para su conversión en otros usos antrópicos (agricultura, urbano, industrias), como por efectos derivados del cambio climático, tales como las sequías que afectan al suministro de agua, o el aumento del nivel del mar que destruye los humedales costeros (Zedler y Kercher, 2005).

Nuestro conocimiento de las funciones de los humedales y su valor para nuestra sociedad, está en claro aumento en los últimos años (RAMSAR, 2002). A medida que la superficie de humedales disminuye, sus funciones clave (servicios del ecosistema) también desaparecen. Se reconocen cuatro funciones clave de importancia global, realizadas por los humedales como valor de los servicios del ecosistema, resultado de las múltiples interacciones bio-físico-químicas que se desarrollan en los mismos (Zedler y Kercher, 2005): 1) albergan una enorme biodiversidad; 2) son capaces de mejorar la calidad de las aguas; 3) permiten un control hídrico, de gran importancia en el control de las inundaciones; y 4) tienen un papel clave y complejo en el secuestro de carbono.

La construcción de humedales como sistemas de tratamiento de aguas residuales, se basa en el aprovechamiento de su capacidad intrínseca para la mejora de la calidad de las aguas, unido a sus funciones biológicas y estéticas que garantizan un bajo impacto

ambiental. Los primeros experimentos de humedales para el tratamiento de aguas residuales se realizaron en Alemania a inicios de la década de 1950 por la Dra. Käthe Seidel (Vymazal, 2011). Estos humedales artificiales (*constructed wetlands* en inglés) han sido definidos como "sistemas de ingeniería, diseñados y construidos para utilizar las funciones naturales de los humedales, de la vegetación, los suelos y de sus poblaciones microbianas para el tratamiento de contaminantes en aguas residuales" (ITRC, 2003). Las aplicaciones de los humedales artificiales son tremendamente variadas, pues incluyen el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, escorrentías urbanas, residuos y escorrentías agropecuarias o incluso drenajes ácidos mineros (USEPA, 2000)

Existen dos tipologías básicas de humedales artificiales (USEPA, 2000; GIZ, 2011): humedales de flujo superficial o libre donde el agua circula por encima del sustrato continuamente, y humedales de flujo subsuperficial donde el agua circula a través del sustrato de manera vertical u horizontal. Para diseñar estos sistemas aparentemente de "tecnología sencilla" pero biológicamente complejos, son necesarios profesionales con conocimientos del tratamiento de aguas residuales (GIZ, 2011). El proceso de depuración que se lleva a cabo en los humedales artificiales es complejo y se realiza mediante la combinación de procesos físicos, químicos y biológicos; incluyendo la sedimentación, precipitación, filtración, nitrificación, descomposición, adsorción de partículas del suelo, asimilación por el tejido vegetal y transformaciones microbiológicas. El proceso más importante es la filtración biológica, realizada por el biofilm que está compuesto de bacterias aerobias y facultativas (Pérez Reyes et al., 2006).

Son sistemas flexibles que pueden ser utilizados individualmente en los hogares o en comunidades enteras o incluso a escala de laboratorio. Presentan múltiples ventajas, dado que pueden ser adaptados según la ubicación deseada, es posible optimizar su tamaño o combinar varios sistemas según la carga hidráulica y contaminante, su capacidad para la depuración de las aguas es mayor que la de los humedales naturales, son de fácil aplicación, bajo coste y bajas exigencias operativas. (Pérez Reyes et al., 2006). Además, la escasez de recursos hídricos en cantidad y calidad, que se ve acentuada por el cambio climático, donde cada vez más regiones están experimentando sequías o inundaciones, implicará la necesidad de optimizar la gestión del agua y su reutilización, por lo que el empleo de este tipo de tecnologías de tratamiento no convencionales son clave para la adaptación a los efectos del cambio climático (GIZ, 2011).

2. Antecedentes y objetivos

Los humedales son extraordinariamente importantes, no solo desde el punto de vista de albergar una rica biodiversidad o ser atractivos paisajísticamente, sino que tienen un papel activo y vital en el mantenimiento de los ciclos hídrico y biogeoquímicos. Son zonas seriamente amenazadas por las presiones antrópicas y el cambio climático, por lo que deben ser protegidas para el mantenimiento de sus valores y funciones. Además, es reseñable que las zonas húmedas son el mayor tesoro ambiental de nuestro entorno (humedales de El Hondo, Salinas de Santa Pola, Clot de Galvany, Embalse de Elche, etc.), tan exiguo en recursos hídricos, como degradados se encuentran los mismos por la actividad humana.

La motivación del desarrollo del presente trabajo radica en el papel fundamental que juegan los humedales en la retención y/o transformación de sustancias tóxicas y nutrientes, tales como fósforo y nitrógeno, en los humedales semiáridos de nuestro entorno, en lo que las comunidades de carrizo (*Phragmites australis*) deben desempeñar un papel importante en la disminución de la carga contaminante de las aguas. Este interés por el papel de los humedales en el mantenimiento de la calidad de los recursos hídricos, da continuidad a la línea de Trabajos Fin de Grado en Ciencias Ambientales desarrollada en el Área de Ingeniería Química, cuyo objetivo es la mejora de la calidad de las aguas superficiales mediante el mantenimiento de los humedales naturales y el desarrollo de humedales artificiales.

Por todo ello se decidió realizar un experimento de diseño y puesta en marcha a escala de laboratorio, de humedales artificiales en los que realizar una primera aproximación a su capacidad de depuración de las aguas con una carga contaminante comparable a la existente en el río Vinalopó. Este objetivo incluía la necesidad de construir un sistema de humedal artificial a escala de laboratorio, creemos que pionero en nuestra universidad. Para ello se conceptualizaron dos sistemas de tratamiento, un humedal superficial y un humedal subsuperficial, que deberían ser diseñados, construidos, puestos en funcionamiento y analizada su capacidad de depuración en condiciones experimentales controladas.

3. Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo durante los meses de Octubre a Mayo (curso académico 2015-2016). Se realizó una primera fase de diseño, construcción y plantación de la

vegetación (octubre-marzo), y una segunda fase experimental y de control analítico (marzo-mayo), en la que las dos unidades de humedal fueron puestas en funcionamiento. La instalación de los humedales se desarrolló en el invernadero de la Universidad Miguel Hernández sito en el Campus de Elche, permitiéndose de este modo un control de las entradas de agua a los humedales, al evitarse la incorporación de las posibles precipitaciones.

3.1. Características físicas de los sistemas humedales

Se decidió la construcción de dos unidades de humedales artificiales de tipologías diferentes (Figura 1):

- **Humedal artificial de flujo superficial** (humedal 1), que presenta un flujo de agua libre y un lecho de suelo típico de los humedales del entorno de Elche (gleisol).
- **Humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal** (humedal 2), cuyo flujo de agua discurre por los poros de un relleno compuesto fundamentalmente por grava volcánica.



Figura 1. Fases iniciales de construcción del humedal de flujo superficial (izquierda) y del humedal de flujo subsuperficial horizontal (derecha).

Los humedales fueron contruidos utilizando como medio de contención cajas de polipropileno de unos 60 litros de volumen. Se dispusieron los contenedores con una pendiente del 1%, para que la dirección predominante del flujo de agua fuera conforme a la longitud máxima de las cajas (de derecha a izquierda en las imágenes de la Figura 1). En el interior de ambos humedales se fijaron tubos de PVC de una pulgada de diámetro, a los que

se les practicaron tres líneas verticales de orificios separados uniformemente, a través de los que podía circular el agua. Dichas tuberías tenían la función de ejercer como tubos toma-muestras, minimizando la alteración del flujo predominante del agua y permitiendo la toma de muestras a diferentes profundidades. Los tubos se dispusieron en zigzag en la base de los contenedores, para que fueran más representativos de las condiciones generales del humedal. La incorporación del agua a tratar al humedal se realizó mediante una tubería procedente de un sistema de bombeo peristáltico (ver sección 3.4), vertiéndose en una tubería de polietileno perforada (tuberías de menor diámetro en Figura 1) de igual modo que los tubos de PVC. Esta tubería de polietileno perforada, se dispuso en una sección rellena de grava blanca de diámetro medio. La finalidad conjunta de ambos elementos era promover una buena distribución del agua a tratar por toda la sección del humedal (ligeramente trapezoidal, con 33 cm de ancho en la parte superior y 30 cm de ancho en la parte inferior del recipiente), con la finalidad de que los procesos de depuración de los humedales se desarrollaran uniformemente conforme a un reactor de flujo pistón (Tchobanoglous et al., 2003). La salida del agua se realizó por desborde a través de una ranura de 10 cm de anchura, dispuesta a 23 cm de altura respecto a la base del contenedor, estableciéndose de este modo la altura de la lámina de agua respecto a la base de los contenedores.

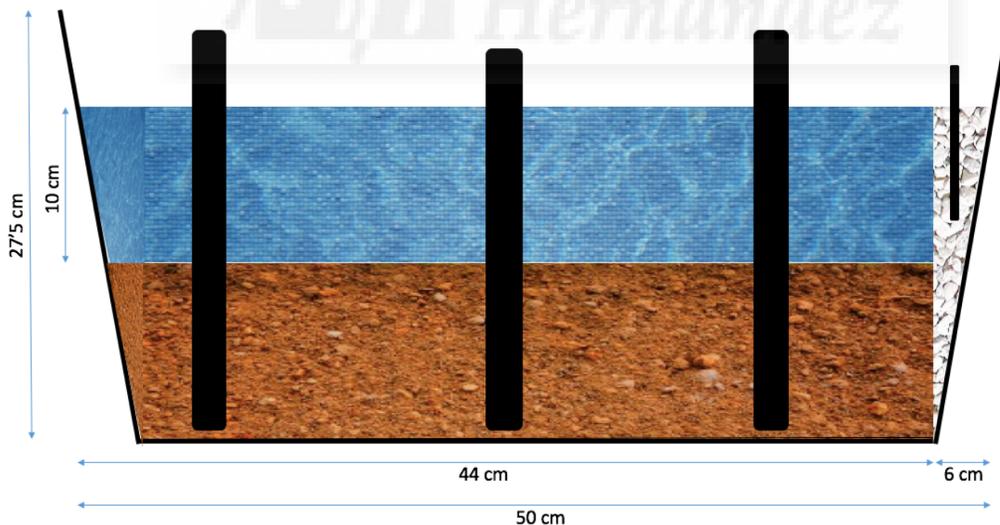


Figura 2. Dimensiones del humedal superficial.

Además de los elementos anteriormente descritos, el humedal 1 era un sistema de tipo humedal superficial, que se constituye en base a un lecho de suelo y una lámina somera de agua (Figura 2). Este sistema contaba con un lecho de 13 cm de espesor de suelo típico de humedales del sureste peninsular y 10 cm de altura de la lámina de agua.

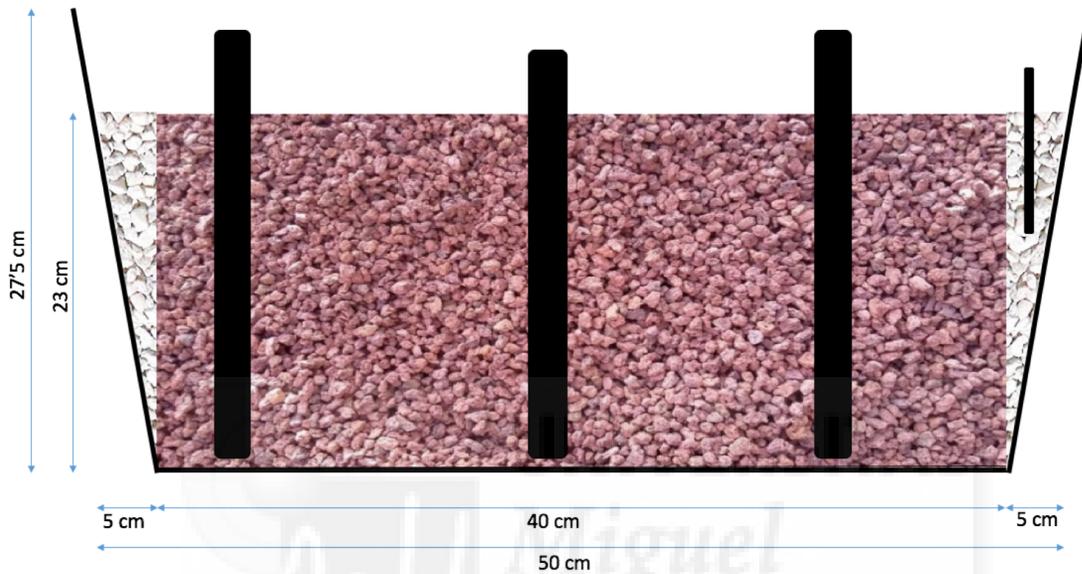


Figura 3. Dimensiones del humedal subsuperficial

Además de los elementos básicos comunes de ambos contenedores, el humedal 2 era un sistema de tipo humedal subsuperficial, en el que se dispone de un lecho de grava a través del que circula el flujo de agua (Figura 3). Se utilizó un relleno de grava volcánica de aspecto rojizo y granulometría media-fina (diámetro aproximado 6 mm), hasta llegar a cubrir la lámina de agua. Se dispuso de otro bloque de grava blanca en el extremo final del humedal, conformándose un bloque de grava volcánica de 40 cm de longitud. Por encima de ambas gravas se dispuso arena de sílice de granulometría fina (1-2 mm) para evitar el afloramiento de la lámina de agua a la superficie externa.

3.2. Sustratos de relleno

Los humedales fueron rellenos con diferentes sustratos (suelo, grava o arena) según la tipología de humedal y con una función específica en el control del flujo de agua.

El suelo empleado en el humedal superficial fue recolectado en el Pantano de Elche. Se corresponde con un suelo típico de humedal denominado gleisol (IUSS Grupo de Trabajo WRB, 2007). Estos suelos suelen tener un color pardo grisáceo debido a la presencia de hierro en estado reducido, debido a las condiciones anaeróbicas que en ellos se desarrollan. El suelo empleado se caracteriza por tener una textura franco limosa, una conductividad eléctrica en extracto acuoso elevada, en torno a 2 dS/m, un pH ligeramente alcalino en torno a 8,1 y contenido en materia orgánica en torno a 7,5 g/kg, que es bastante superior a la de los suelos circundantes fuera de la zona húmeda (Polo et al., 2015). Este suelo ejerció de soporte a las raíces de la vegetación.

Por otra parte se dispuso de grava blanca de granulometría media y grava volcánica de granulometría media-fina. Se analizó la porosidad de ambos sustratos, empleando para ello el método de las densidades reales y aparentes (Ibáñez et al., 2012). La grava blanca presentó un 47% de porosidad, habiéndose dispuesto este sustrato en la zona de entrada de agua del humedal, además de también en la salida del humedal subsuperficial. Esta capa contribuye al proceso de distribución. Su función es proteger el área de entrada, distribuyendo de forma efectiva el agua que entra en el humedal y evitando su acumulación en la superficie. La grava volcánica de color rojizo fue cribada a un tamaño mínimo de 4 mm, siendo su tamaño promedio de 6 mm. Su porosidad por densidades fue del 49%. La función de esta grava fue la de ejercer de soporte al desarrollo microbiano y las raíces de la vegetación.

3.3. Vegetación

Se decidió que ambos humedales contaran con vegetación autóctona propia de los humedales. Para la selección de plantas para ambos humedales artificiales se tuvieron en cuenta las siguientes características (GIZ, 2011):

- Especies locales y autóctonas.
- Especies que crecen naturalmente en los humedales o riberas de los ríos debido a que sus raíces ya están adaptadas a crecer en condiciones de agua saturada.
- Plantas con raíces extensas y sistema de rizomas subterráneos que les permita obtener más oxígeno.
- Capaces de soportar altas cargas de contaminantes, así como cortos periodos de sequía y temporadas de encharcamiento del suelo.

Siguiendo las anteriores indicaciones se escogió el carrizo (*Phragmites australis* (Cav.) Steud.), debido a sus características de alta tolerancia a la inundación de sus raíces, adaptación al crecimiento en sustratos de porosidad variada y resistencia a la presencia de elevadas cargas contaminantes. Se recolectaron tallos de carrizo en un canal situado dentro del Campus de la UMH. Tales tallos fueron plantados en los sustratos de ambos humedales (grava volcánica o suelo), con una densidad de 40 plantas por metro cuadrado de humedal.

3.4. Características hidráulicas y sistema de bombeo.

La forma del sistema debe asegurar que el agua circule a baja velocidad, hacer efectivo el tiempo de residencia deseado y maximizar la superficie de contacto de la lámina de agua y el aire al favorecer la entrada de oxígeno (Pérez Reyes et al., 2006). Para ello los humedales se dispusieron ligeramente inclinados (1%), desarrollándose el flujo de agua por gravedad.

La capacidad hidráulica de un humedal puede ser definida como el volumen de agua capaz de procesar el humedal artificial en un determinado tiempo. Este periodo de tiempo, denominado tiempo de retención hidráulico, representa el tiempo promedio esperado que una molécula de agua necesitará para fluir desde un extremo a otro del humedal. Los tiempos de retención típicos para la eliminación de materia orgánica (DBO_5) oscilan entre los 2 y los 5 días, mientras que para la eliminación de compuestos nitrogenados deben ser superiores a 7 días (Idris et al., 2010).

El dimensionado hidráulico del humedal se fundamentó en la determinación del caudal de flujo de agua a suministrar condicionado por los sistemas de bombeo disponibles y el tiempo de retención hidráulico deseado. Se decidió que ambos sistemas humedales tuviesen un tiempo de retención hidráulico superior a los 7 días, que permitiría la eliminación de materia orgánica carbonada y la transformación de ciertos compuestos nitrogenados. Se dispuso de sendos sistemas de bombas peristálticas con un caudal de 1,97 mL/minuto, que suministrarían agua a cada uno de los humedales. Se determinó un tiempo de retención hidráulico de 11 días, condicionado por las características del medio poroso del humedal subsuperficial, adaptándose a posteriori la altura de la lámina de agua del humedal superficial para que el tiempo de retención hidráulico fuera en ambos casos parejo.

Con la finalidad de garantizar un aporte continuado de agua, se prepararon un par de depósitos de agua iguales, a partir de los cuales se tomaría el agua mediante las bombas

peristálticas y sería conducido el caudal de 1,97 mL/minuto de agua a cada uno de los humedales. El agua dispuesta en ambos depósitos debía disponer de compuestos contaminantes a depurar por parte de los humedales. Para tal fin se preparó un agua contaminada sintética (Guido-Zárate y Durán-de-Bazúa, 2008), que fue preparada en el laboratorio y a la que se le adicionaron: 2 g de sacarosa, 0,652 g KNO_3 , 0,171 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ y 1 mL H_3PO_4 al 2,8%. Las concentraciones de cargas orgánicas y nutrientes del agua sintética, están relacionadas con las concentraciones encontradas en el río Vinalopó en estudios previos (Melendez-Pastor et al., 2016)

3.5. Sistemática de control de la evolución del humedal y métodos de análisis

Una vez contruidos los humedales y plantada la vegetación, se inició el aporte de agua sintética. Los humedales artificiales requieren de un periodo de establecimiento, en el que la vegetación plantada enraíza y sobre todo, se desarrollan las comunidades microbianas responsables fundamentales de la depuración de los contaminantes del agua (García y Corzo, 2008).

Nuestro periodo experimental abarcó 12 semanas, en las que se realizaron diferentes tipos de controles del sistema humedal. Desde el momento del inicio del experimento se realizó un control semanal de la evolución del humedal mediante sondas de pH, conductividad eléctrica (CE), oxígeno disuelto (OD) y temperatura (T). La finalidad de este trabajo era el de controlar la evolución de tales parámetros mediante el empleo de los tubos tomamuestras. Además se ejerció un control periódico de las bombas peristálticas, revisión de la entrada y salida de cada humedal para evitar obstrucciones, control del nivel del agua y reposición de agua sintética y control de las enfermedades en la vegetación de los humedales, tales como insectos (pulgones) (GIZ, 2011). Para controlar el pH se utilizó una sonda portátil Crison pH 25, para la conductividad eléctrica se utilizó una sonda portátil Crison CM 35 y con una sonda portátil *Cell Ox325* de WTW *Oxi 330* se midió el oxígeno disuelto y la temperatura del agua. Las mediciones se realizaron de manera constante a la misma profundidad de todos los tubos tomamuestras.

Transcurridas 8 semanas, se continuó con el control mediante sondas y además se realizó la cuantificación semanal de parámetros físico-químicos contaminantes, tanto de los depósitos de aprovisionamiento de agua, como en el punto de muestro situado al final de los humedales. Durante las cuatro últimas semanas se incorporaron controles analíticos de

demanda química de oxígeno (DQO), sólidos en suspensión totales (SST), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) amonio (NH_4^+) y fosfatos (PO_4^{3-}). Se escogió este periodo de tiempo para realizar las analíticas debido a que el sistema se encontraba más establecido. Los sólidos en suspensión totales se analizaron por medio del método estándar (APHA-AWWA-WEF, 2012), recuperándose el agua filtrada para la determinación de nutrientes (DWGWA, 2009). La determinación del resto de parámetros se realizó mediante el empleo de un fotómetro de la marca Thermo Scientific Orion AQ3700. Este instrumento permite la determinación cuantitativa de un gran número de parámetros químicos mediante el empleo de sus kits correspondientes. Se emplearon kits para la demanda química de oxígeno con un rango de medida de 0-150 mg/L, nitratos con un rango de medida de 1-30 mg/L N- NO_3^- , nitritos con un rango de medida de 0,05-0,50 mg/L N- NO_2^- , amonio con un rango de 0,02-2,5 mg/L N- NH_4^+ y fosfatos con un rango de 0,06-5 mg/L de ortofosfatos. La determinación de la DQO se realizó mediante oxidación por dicromato potásico en medio ácido, sometiéndose los tubos de ensayo del kit durante 2 horas a 148°C para realizar la oxidación a reflujo continuo.

3.6. Análisis estadísticos

Los datos experimentales fueron analizados estadísticamente mediante estadísticos descriptivos, análisis de las distribuciones de frecuencias, comparaciones entre las medias y análisis de correlación entre las variables.

La estadística descriptiva (de tendencia central y medidas de dispersión) se calculó en función de los sistemas constituyentes del experimento (humedal superficial, humedal subsuperficial y depósitos de agua sintética). Algunos píxeles atípicos fueron detectados en base a las frecuencias de distribución y gráficos de caja. Se empleó la prueba de Shapiro-Wilk para el análisis de la distribución de frecuencias de las diferentes variables, con la finalidad de determinar si se ajustaban a una distribución normal o no. Dados los resultados obtenidos, se optó por el empleo de métodos no paramétricos en las comparaciones entre las medias y análisis de correlación entre las variables.

La comparación entre las medias de las variables estudiadas, se analizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Esta prueba no paramétrica se utiliza para determinar si las medias de dos o más grupos divergen entre sí de manera significativa. La prueba de Kruskal-Wallis es una alternativa no paramétrica al análisis normalizado de la varianza (ANOVA) de un solo factor. Se emplearon como factores para el test de Kruskal-Wallis, la

fecha de muestreo, el sistema constituyente del experimento y el punto de muestreo (tubos tomamuestras o depósitos).

Finalmente se realizó un análisis de correlación entre las variables experimentales. Se empleó el método no paramétrico de correlación por rangos de Spearman, para evaluar la relación entre variables (McDonald, 2008). Este coeficiente es una medida de asociación lineal que utiliza los rangos (números de orden) de cada grupo de sujetos y compara dichos rangos (Martínez Ortega et al., 2009). Todos los análisis estadísticos se han desarrollado con el lenguaje R y un entorno para computación y gráficos estadísticos (R Core Team, 2013).

4. Resultados y discusión

El presente estudio se desarrolló en las instalaciones del invernadero de la UMH durante ocho meses, se llevó a cabo desde los meses de Octubre-2015 a Mayo-2016. Teniendo en cuenta la cantidad de radiación solar que incidía en el invernadero, se instaló un parasol que cubría la superficie de los humedales, las bombas peristálticas, los depósitos de agua y demás componentes, con el fin de evitar posibles problemas y/o complicaciones en los humedales como el desgaste de materiales, la proliferación de fitoplancton, la excesiva evaporación, el aumento de temperatura y demás factores que pudiesen comprometer el desarrollo del proyecto.

La vegetación (*Phragmites australis*) que recolectamos del canal de las instalaciones de la UMH, tuvo un periodo de aclimatación al invernadero y posteriormente se plantó en las unidades de humedal artificial. La mayoría de los ejemplares tuvieron un crecimiento y desarrollo positivo desde su plantación hasta la finalización del trabajo.

El carrizo presentó funciones de especial importancia para los humedales de estudio, actuando de sustento para los sedimentos del fondo. Debido a que la vegetación disminuye la velocidad de los ríos, el carrizo contribuyó a la acumulación y retención de sustancias tóxicas y nutrientes. Gracias al desarrollo de la vegetación se mejoró la transferencia de oxígeno a las raíces permitiéndoles sobrevivir en condiciones de inundación (GIZ, 2011).

El desarrollo del crecimiento microbiano dio lugar a la formación del biofilm, adhiriéndose a la superficie de las raíces y a las partículas del sustrato.

La fase final del experimento tuvo lugar durante el mes de Junio de 2016 debido a las altas temperaturas (superiores a 45°C) en el interior del invernadero de la UMH, causando una proliferación de fitoplancton.

En el Anexo I se muestran las imágenes de la evolución de los humedales durante la fase experimental.

4.1. Control semanal mediante sondas

Para la realización de los análisis se tuvieron en cuenta los factores de fecha de muestreo, que hace referencia a la fecha en la que se realizó el análisis, el sistema del experimento, considerando tres tipos de sistemas: el humedal de flujo superficial, humedal de flujo subsuperficial y los depósitos, y el punto de muestreo (mediante los tubos tomamuestras o en los depósitos).



Figura 4. Disposición de los puntos de muestreo en el humedal superficial (izquierda) y en el humedal subsuperficial (derecha).

En la figura 4 se puede ver representada en la parte derecha de cada imagen la entrada de agua y en la parte izquierda la salida de agua de cada humedal. Los puntos 1, 2 y 3 hacen referencia al humedal 1 de flujo superficial (izquierda) y los puntos 4, 5 y 6 hacen referencia al humedal 2 de flujo subsuperficial. Los depósitos incluyen el punto 7 que hace referencia al agua que quedaba en el bidón y el punto 8 que hace referencia al agua nueva (sintética) del bidón.

La tabla 1 muestra los estadísticos descriptivos de rango, media \pm desviación estándar y el test de Kruskal-Wallis para las cuatro propiedades de control mediante sondas. El test de Kruskal-Wallis se aplicó considerando los factores fecha de muestreo, punto de muestreo en los sistemas humedales, y el tipo de sistema humedal.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos y test de Kruskal-Wallis para las cuatro propiedades de control mediante sondas.

Variables	Sistemas	Rango	$\bar{X} \pm \sigma$	Kruskal-Wallis		
				Muestreo	Punto	Sistema
CE ($\mu\text{S/cm}$)	Depósitos	629-980	802 \pm 101	0,035*	<0,001***	<0,001***
	Subsuperficial	920-2430	1378 \pm 435			
	Superficial	1301-2000	1568 \pm 178			
OD (mg/L)	Depósitos	2,05-9	5,57 \pm 2,11	0,322n.s.	<0,001***	<0,001***
	Subsuperficial	0,12-1,3	0,42 \pm 0,29			
	Superficial	0,2-4,52	1,69 \pm 1,16			
pH	Depósitos	7,31-8,56	7,95 \pm 0,39	<0,001***	0,004**	<0,001***
	Subsuperficial	6,78-8,06	7,56 \pm 0,32			
	Superficial	6,91-8	7,53 \pm 0,30			
T ($^{\circ}\text{C}$)	Depósitos	15,8-30,5	22,1 \pm 4,1	<0,001***	0,616n.s.	0,524n.s.
	Subsuperficial	15,2-26,7	21,5 \pm 3,5			
	Superficial	14,6-26,5	21,0 \pm 3,5			

*** : $p \leq 0,001$; ** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$; n.s.: no significativa

La concentración promedio de conductividad eléctrica en los depósitos del agua fue menor (802 $\mu\text{S/cm}$) que en ambos sistemas humedales (mayor de 1300 $\mu\text{S/cm}$ en ambos humedales). De hecho, se encontraron diferencias significativas para la conductividad eléctrica, según el punto de muestreo ($p \leq 0,001$) y el tipo de sistema ($p \leq 0,001$), no siendo la variación significativa en función de la fecha de muestreo. Este resultado sugiere un aporte de sales por parte de los sustratos empelados en los humedales.

Como complemento a los resultados numéricos presentados en la Tabla 1, se realizaron diferentes gráficos de tipo diagramas de cajas, que facilitaron la interpretación de los resultados. En la figura 5 se muestra la relación entre la CE y la semana de muestreo. Podemos ver una clara disminución de la CE a lo largo de las semanas, obteniendo un valor máximo en las primeras semanas de muestreo de aproximadamente 1900 $\mu\text{S/cm}$ y un valor mínimo de 1100 $\mu\text{S/cm}$ a lo largo de las dos últimas semanas de estudio.

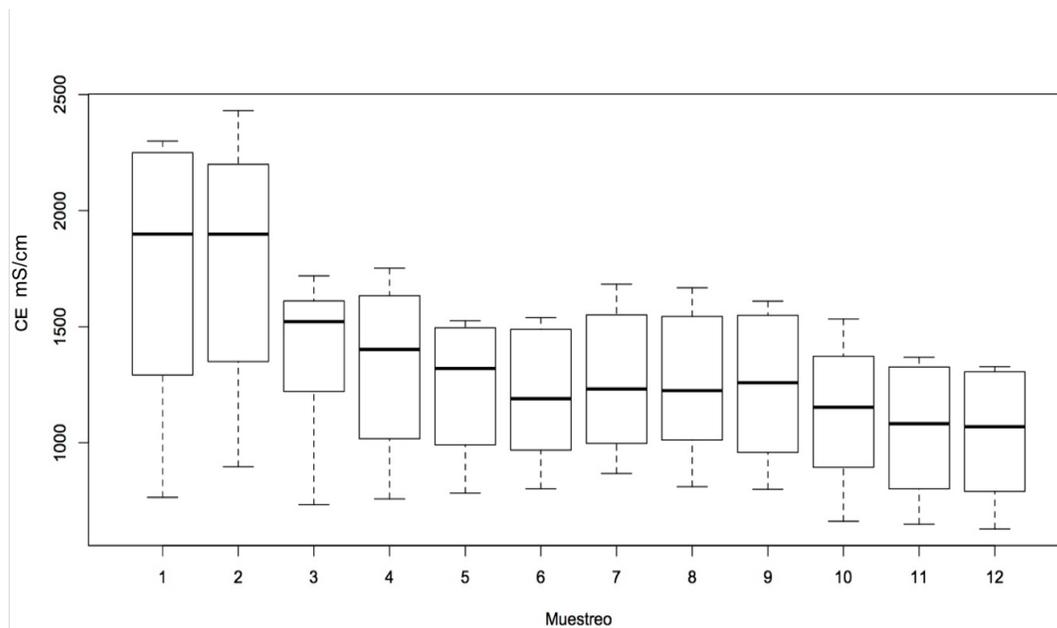


Figura 5. Diagramas de cajas de la evolución temporal (muestreo) de la conductividad eléctrica ($\mu\text{S/cm}$) del conjunto de los sistemas humedales.

La gráfica de la figura 6 muestra la variación de la CE por punto de muestreo. Los puntos 1, 2 y 3 que hacen referencia al humedal 1 (superficial) se puede apreciar un incremento de CE a la entrada (1600 $\mu\text{S/cm}$) y a la salida (1750 $\mu\text{S/cm}$) del humedal. Los puntos 4, 5 y 6 que hacen referencia al humedal 2 (subsuperficial) se puede apreciar un aumento progresivo de la CE desde 1100 $\mu\text{S/cm}$ hasta valores en torno a 1250 $\mu\text{S/cm}$, mientras que los puntos 7 y 8 que hacen referencia a los depósitos se mantiene la CE por debajo de los 1000 $\mu\text{S/cm}$.

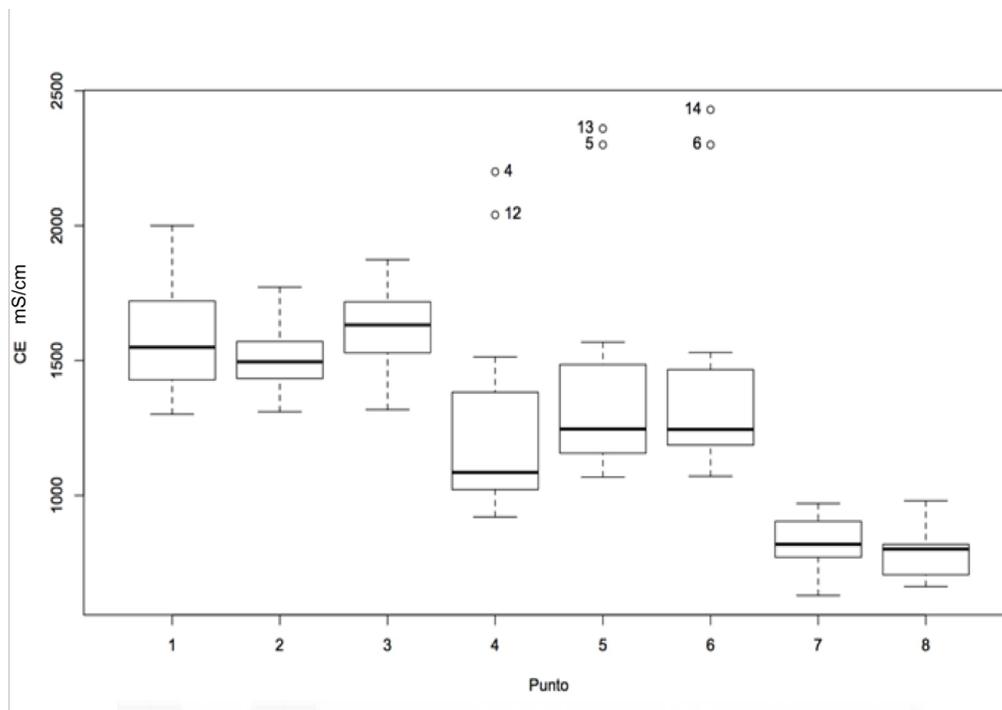


Figura 6. Diagramas de cajas de la evolución por punto de muestreo de la conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) del conjunto de los sistemas humedales.

La concentración promedio de oxígeno disuelto fue mayor para los depósitos (5,5 mg/L) que para ambos humedales (0,5-1,6 mg/L). Se obtuvieron diferencias significativas para la concentración de oxígeno disuelto según el punto de muestreo ($p \leq 0,001$) y el tipo de sistema ($p \leq 0,001$), no siendo la variación significativa en función de la fecha de muestreo. La Figura 7 muestra la evolución de la concentración de O_2 disuelto según el tipo de sistema (i.e., depósitos, subsuperficial y superficial). Se puede apreciar como en los depósitos es mayor dicha concentración y a medida que el flujo de agua discurre por ambos humedales, la concentración de oxígeno disuelto disminuye. En el humedal subsuperficial la disminución de O_2 disuelto es mucho mayor que en el humedal superficial llegando a valores mínimos en torno a 0,5 mg/L. Esta disminución de la concentración de oxígeno es atribuible al hecho de que durante la preparación del agua sintética, el suministro de agua empleado tiene una alta concentración de oxígeno, que va disminuyendo conforme fluye hacia los humedales. En cualquier caso, los valores de concentración de oxígeno presentes en los humedales son razonables para el buen funcionamiento de los mismos (Zurita et al., 2006; Galanopoulos et al., 2013).

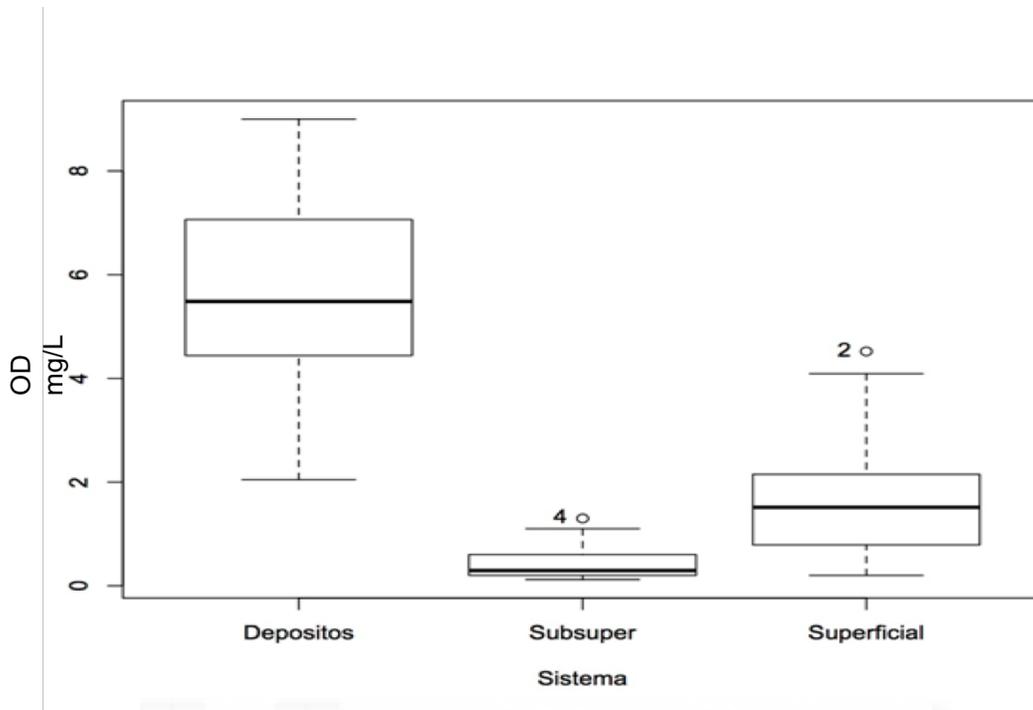


Figura 7. Diagramas de cajas de la evolución por sistema (depósitos, subsuperficial y superficial) del oxígeno disuelto del conjunto de los sistemas humedales.

Mediante el test Kruskal-Wallis se analizó la evolución del pH y la temperatura según la fecha de muestreo, el tipo de sistema y el punto de muestreo (Tabla 1). Para ambas variables no hubo grandes oscilaciones, por lo que podemos afirmar que el pH y la temperatura no son variables determinantes en nuestro trabajo.

El pH osciló entre 7,95 para los depósitos y 7,53 para el humedal superficial. Si bien no son diferencias excesivamente acusadas, se obtuvieron diferencias significativas para los tres factores considerados. Por su parte, la temperatura del agua resultó altamente cambiante en función de la fecha de muestreo, factor para el que se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0,001$). La temperatura del agua es altamente variable según las condiciones atmosféricas presentes. Si bien la temperatura no llegó a disminuir de 14°C, debido a que los humedales se encontraban situados dentro del invernadero, las temperaturas máximas alcanzadas sí que fueron bastante acusadas, alcanzando los 30°C. Esta alta temperatura tiene gran incidencia en el desarrollo de fitoplancton, tal y como se verá en la sección 4.2, debiéndose al calor acumulado en el invernadero, cuyas instalaciones para el control de la temperatura son deficitarias.

Una vez analizadas las variables individualmente, se procedió a explorar las relaciones entre las mismas. Mediante el test de correlación de Spearman se pudo constatar la relación entre las variables controladas mediante sondas (Tabla 2). Se obtuvieron correlaciones significativas inversas entre la conductividad eléctrica y la concentración de oxígeno disuelto ($p \leq 0,01$), y también entre la conductividad eléctrica y la temperatura ($p \leq 0,001$). Se muestra una relación significativa positiva entre la concentración de oxígeno disuelto y el pH ($p \leq 0,001$) y una relación significativa inversa con la temperatura ($p \leq 0,01$). Además podemos observar una correlación significativa inversa entre el pH y la temperatura ($p \leq 0,01$).

Tabla 2. Test de correlación de Spearman para las cuatro propiedades de control mediante sondas.

	CE	OD	pH	T
CE	1	-0,289 **	-0,108 n.s.	-0,368 ***
OD	-0,289 **	1	0,392 ***	-0,276 **
pH	-0,108 n.s.	0,392 ***	1	-0,304 **
T	-0,368 ***	-0,276 **	-0,304 **	1

*** : $p \leq 0,001$; ** : $p \leq 0,01$; n.s.: no significativa

4.2. Control analítico de carga orgánica y nutrientes

Durante las cuatro últimas semanas de experimento se realizó un control exhaustivo de la transformación de carga orgánica y nutrientes en los humedales. La tabla 3 muestra estadísticos descriptivos de rango, media \pm desviación estándar y el test de Kruskal-Wallis para las variables analizadas mediante control analítico. El test de Kruskal-Wallis se aplicó considerando los factores fecha de muestreo y el tipo de sistema humedal.

Tabla 3. Estadísticos descriptivos y test de Kruskal-Wallis para las variables mediante controles analíticos.

Variables	Sistemas	Rango	$\bar{X} \pm \sigma$	Kruskal-Wallis	
				Muestreo	Sistema
CE ($\mu\text{S/cm}$)	Depósitos	646-827	714 \pm 82	0,788 n.s.	0,007**
	Subsuperficial	1071-1255	1143 \pm 86		
	Superficial	1318-1610	1447 \pm 147		
OD (mg/L)	Depósitos	3,56-4,93	3,94 \pm 0,66	0,966 n.s.	0,01**
	Subsuperficial	0,23-0,69	0,36 \pm 0,22		
	Superficial	0,66-1,93	1,59 \pm 0,62		
pH	Depósitos	7,48-7,69	7,58 \pm 0,1	0,228 n.s.	0,39 n.s.
	Subsuperficial	6,95-7,7	7,33 \pm 0,32		
	Superficial	6,91-8	7,33 \pm 0,49		
T ($^{\circ}\text{C}$)	Depósitos	20,8-27,5	23,8 \pm 3	0,022*	0,551 n.s.
	Subsuperficial	20,6-26,7	23,3 \pm 2,7		
	Superficial	19,6-26,1	22,4 \pm 2,9		
SST (mg/L)	Depósitos	2-10	5,625 \pm 3,45	0,889 n.s.	0,025*
	Subsuperficial	1-8	5,25 \pm 3,10		
	Superficial	20-25	21,75 \pm 2,22		
DQO (mg/L)	Depósitos	57,3-112	79,5 \pm 23,4	0,433 n.s.	0,021*
	Subsuperficial	2,5-29,1	15 \pm 11		
	Superficial	12,8-42,9	24 \pm 13,1		
Amonio (mg/L)	Depósitos	1,52-3,57	2,54 \pm 0,84	0,751 n.s.	0,022*
	Subsuperficial	0,02-0,1	0,06 \pm 0,04		
	Superficial	0,02-0,36	0,12 \pm 0,16		
Nitratos (mg/L)	Depósitos	13,13-24,81	18,98 \pm 4,77	0,981 n.s.	0,005**
	Subsuperficial	1-1	1 \pm 0		
	Superficial	1-1	1 \pm 0		
Fosfatos (mg/L)	Depósitos	2,85-4,5	3,75 \pm 0,68	0,954 n.s.	0,012*
	Subsuperficial	4,18-7,36	5,15 \pm 1,5		
	Superficial	0,2-0,81	0,48 \pm 0,25		

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$; n.s.: no significativa

Se volvió a evidenciar un aumento de la concentración de la conductividad eléctrica (Tabla 2 y Figura 8) en el humedal subsuperficial (1150 $\mu\text{S/cm}$) y en el humedal superficial (1450 $\mu\text{S/cm}$) respecto a la entrada (menor de 800 $\mu\text{S/cm}$). Se volvieron a obtener diferencias significativa entre la conductividad eléctrica y el tipo de sistema ($p \leq 0,01$), pero no

en función de la fecha del muestreo. Este aumento de la conductividad eléctrica puede ser debido al aporte de sales de los sustratos de los humedales.

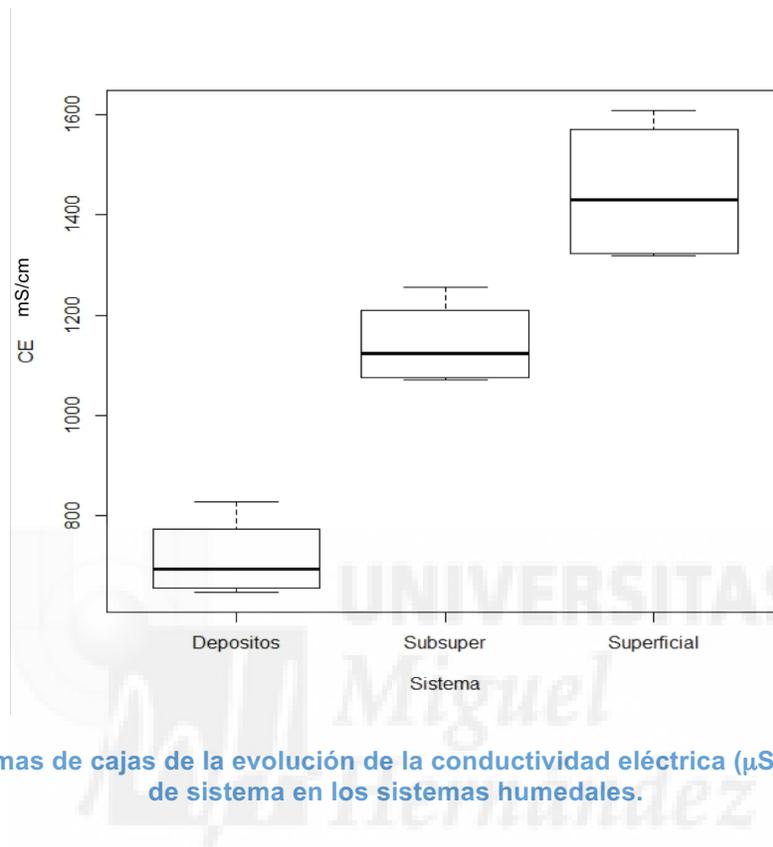


Figura 8. Diagramas de cajas de la evolución de la conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

En la figura 9 podemos volver a observar una disminución en la concentración de oxígeno disuelto de entrada (5,8 mg/L) respecto de los humedales. El humedal de flujo subsuperficial con una concentración media de 0,5 mg/L posee una menor concentración de oxígeno disuelto que el humedal superficial con una concentración media de 1,8 mg/L. AL igual que se especificó anteriormente, los valores de concentración de oxígeno presentes en los humedales son razonables para el buen funcionamiento de los mismos (Zurita et al., 2006; Galanopoulos et al., 2013). Al igual que para la CE, se obtuvieron diferencias significativas según el tipo de sistema ($p \leq 0,01$), pero no en función de la fecha del muestreo.

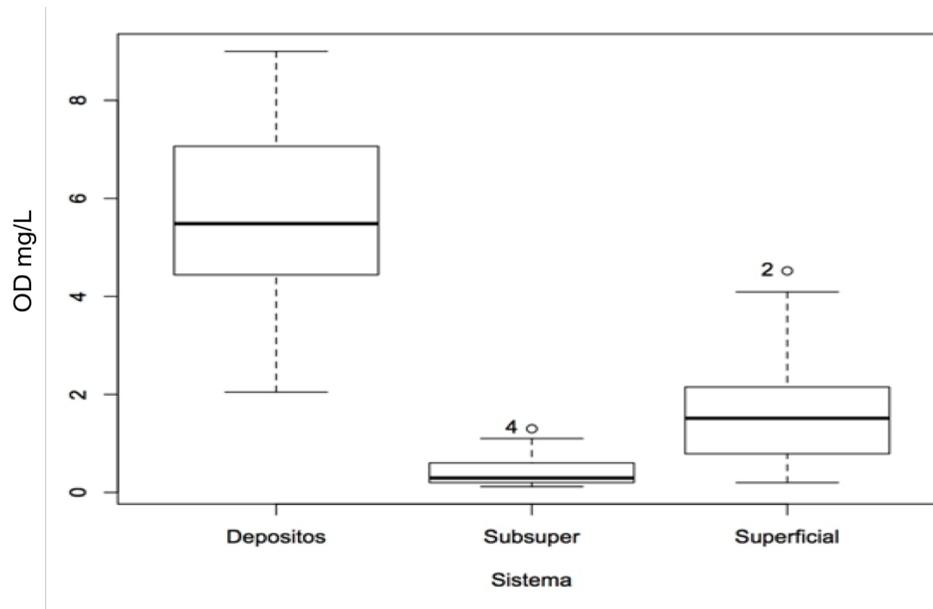


Figura 9. Diagramas de cajas de la evolución del oxígeno disuelto según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

La temperatura por su parte no experimentó diferencias significativas en función del sistema, pero sí en función de la fecha de muestreo. En el diagrama de la figura 10 podemos observar que la temperatura en los tres tipos de sistemas es muy similar, entre 22°C y 24°C.

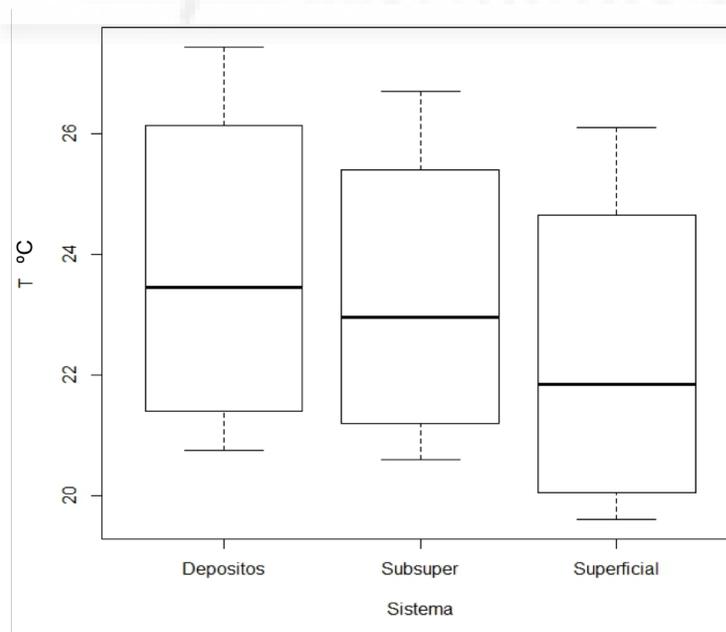


Figura 10. Diagramas de cajas de la temperatura según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

Para las cinco variables de control físico químico incorporadas en esta fase del experimento (sólidos en suspensión totales, demanda química de oxígeno, nitratos, amonio, y fosfatos), no se obtuvieron diferencias significativas en función de la fecha de muestreo, pero sí en función del sistema. La no existencia de diferencias significativas para los parámetros contaminantes considerados, puede evidenciar que el grado de estabilización o madurez del experimento es suficiente como para poder analizar correctamente el rendimiento de eliminación de contaminantes por parte de los humedales artificiales y las poblaciones microbianas establecidas en los mismos (Amendola et al., 2003; Samsó y García, 2013)

En la figura 11 podemos observar que en ambos humedales han aumentado los sólidos en suspensión totales. En el humedal subsuperficial han aumentado los sólidos en suspensión totales en un 7% respecto a la entrada. La diferencia entre ambos humedales es debida a que en el humedal superficial tuvo lugar una proliferación de fitoplancton.

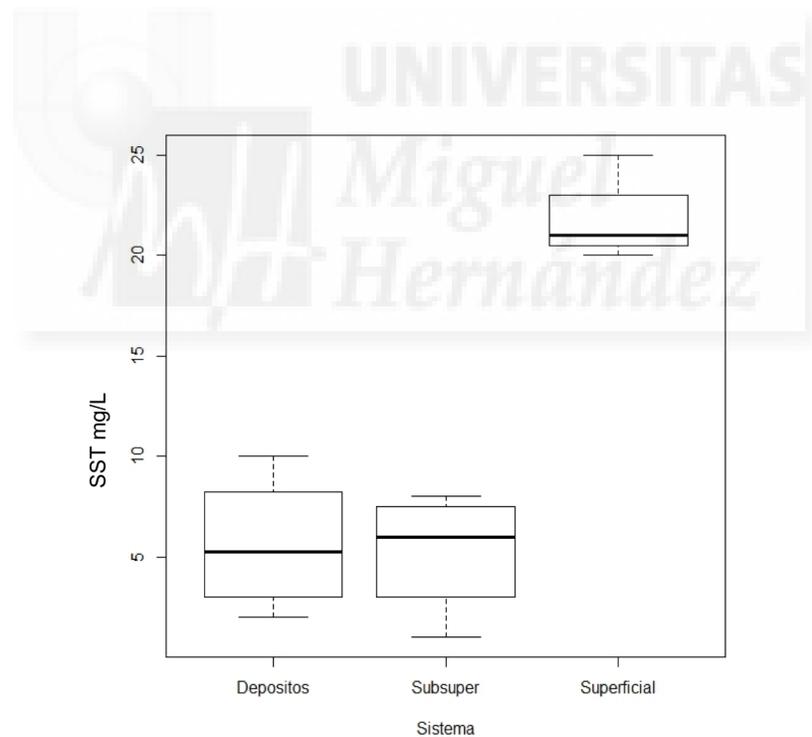


Figura 11. Diagramas de cajas de los sólidos en suspensión totales según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

En el diagrama de la figura 12 podemos observar que ambos humedales han disminuido la concentración inicial de DQO suministrada. Se observó una disminución del 81% de la

DQO para el humedal subsuperficial, mientras que la disminución fue del 70% en el humedal superficial. Estos valores de reducción de DQO resultan bastante elevados, siendo comparables con las reducciones de en torno al 75% obtenidas por otros humedales a escala de laboratorio (Zurita et al., 2006).

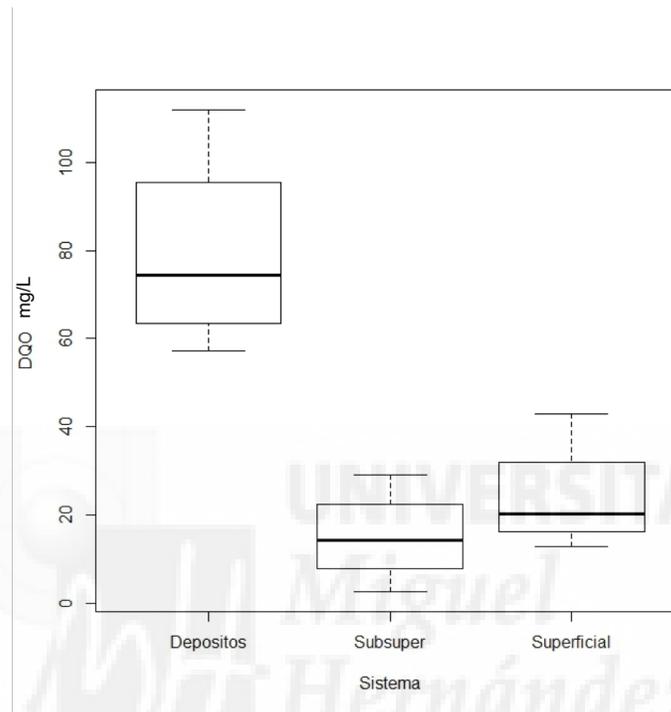


Figura 12. Diagramas de cajas de la evolución de la DQO según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

La concentración de amonio suministrada ha disminuido notablemente en ambos humedales respecto a la entrada de los mismos (figura 13). En el humedal subsuperficial ha disminuido un 98%, mientras que en el humedal superficial ha disminuido un 95% respecto a la entrada de amonio. Estos valores de reducción de fosfatos son muy elevados en comparación a otros sistemas de humedales artificiales a escala de laboratorio, como los desarrollados por Zurita et al. (2006), que obtuvieron una reducción de amonio de aproximadamente un 70%.

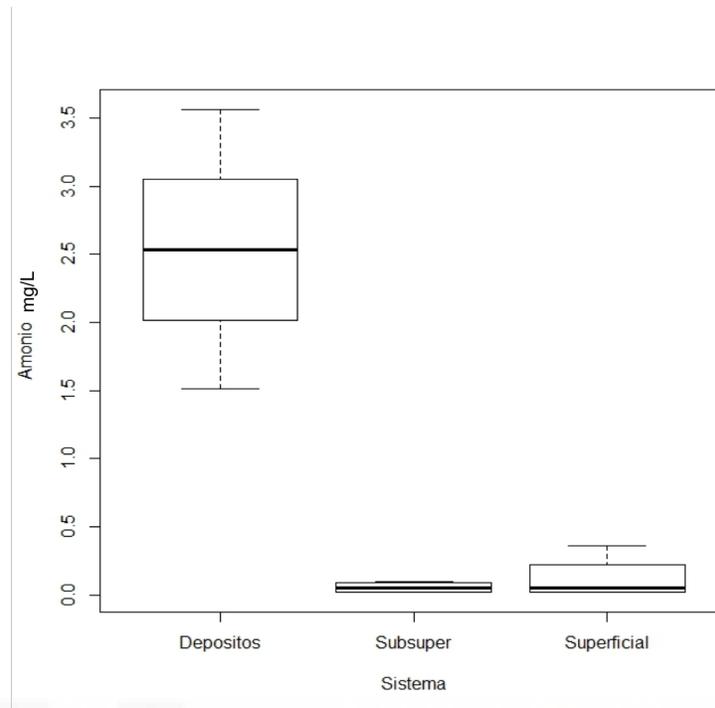


Figura 13. Diagramas de cajas de la evolución del amonio según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

El diagrama de la figura 14 muestra la disminución de la carga suministrada de nitratos en ambos humedales en más de un 95% (por debajo del límite de detección $<1\text{mg/L N-NO}_3^-$ del fotómetro). Estos valores de reducción de fosfatos son muy elevados en comparación a otros sistemas de humedales artificiales a escala de laboratorio, como los desarrollados por Zurita et al. (2006), que obtuvieron una reducción de nitratos de hasta un 79%.

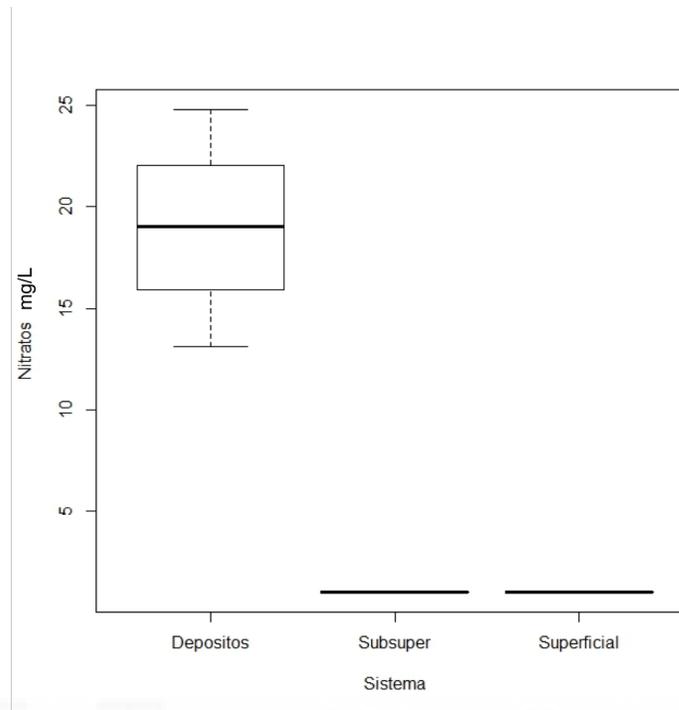


Figura 14. Diagramas de cajas de la evolución de los nitratos según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

El diagrama de la figura 15 muestra una disminución en la concentración de fosfatos en un 87% para el humedal superficial respecto a la entrada. El aumento de fosfatos que podemos observar en el diagrama para el humedal subsuperficial es debido a un aporte de fosfatos del sustrato. Estos valores de reducción de fosfatos son comparables a otros sistemas de humedales artificiales a escala de laboratorio, como los desarrollados por Zurita et al. (2006), que obtuvieron una reducción de contaminación por fósforo (fósforo total) de aproximadamente un 80%.

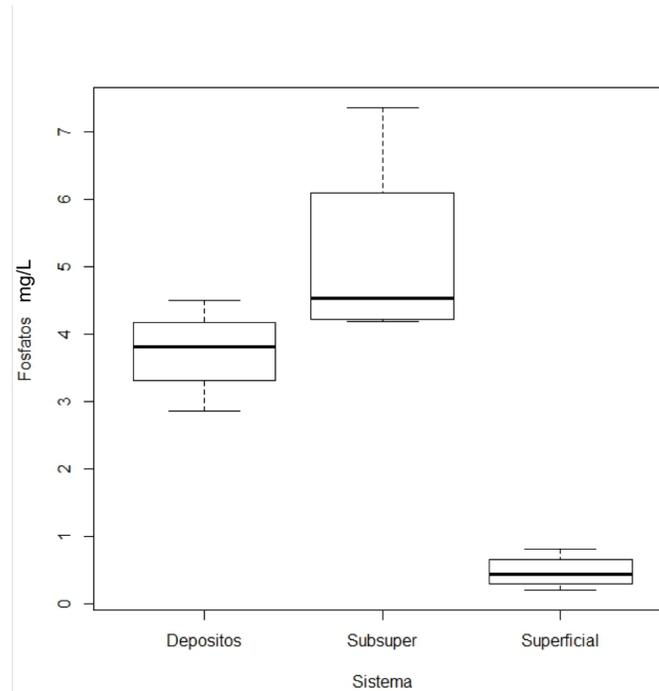


Figura 15. Diagramas de cajas de la evolución de los fosfatos según el tipo de sistema en los sistemas humedales.

Una vez analizadas las variables individualmente, se procedió a explorar las relaciones entre las mismas. Mediante el test de correlación de Spearman se evaluó la relación entre las diferentes variables empleadas en el control de los procesos de depuración. (tabla 4). Se obtuvieron correlaciones significativas positivas entre los nitratos y el oxígeno disuelto ($p \leq 0,001$), entre los nitratos y el amonio ($p \leq 0,001$) y también entre los nitratos y la demanda química de oxígeno ($p \leq 0,01$). Podemos observar una correlación significativa positiva entre oxígeno disuelto y el amonio ($p \leq 0,01$). Además una correlación significativa negativa entre los fosfatos y los sólidos en suspensión totales ($p \leq 0,01$) y una correlación significativa positiva entre el amonio y la demanda química de oxígeno ($p \leq 0,01$). El oxígeno resulta fundamental en los procesos de transformación de contaminación orgánica y nutrientes. Desempeña el papel de aceptor de electrones en el metabolismo de los organismos aeróbicos, siendo fundamental en la oxidación de la materia orgánica y en la transformación de compuestos nitrogenados como el amonio, en otras especies química más oxidadas (Boyd, 2015).

Tabla 4. Test de correlación de Spearman para las variables del control analítico.

	CE	OD	pH	T	SST	DQO	Amonio	Nitratos	Fosfatos
CE	1	-0,49n.s.	-0,48n.s.	-0,59*	0,603*	-0,57n.s.	-0,67*	-0,78**	-0,47n.s.
OD	-0,49n.s.	1	0,44n.s.	0,19n.s.	-0,065n.s.	0,69*	0,80**	0,82***	-0,28n.s.
pH	-0,48n.s.	0,44n.s.	1	0,33n.s.	-0,217n.s.	0,04n.s.	0,14n.s.	0,40n.s.	0,11n.s.
T	-0,59*	0,19n.s.	0,33n.s.	1	-0,074n.s.	0,25n.s.	0,33n.s.	0,21n.s.	0,08n.s.
SST	0,603*	-0,07n.s.	-0,22n.s.	-0,07n.s.	1	-0,25n.s.	-0,37n.s.	-0,47n.s.	-0,82**
DQO	-0,57n.s.	0,69*	0,04n.s.	0,25n.s.	-0,245n.s.	1	0,74**	0,82**	-0,01**
Amonio	-0,67*	0,80**	0,14n.s.	0,33n.s.	-0,371n.s.	0,74**	1	0,83***	0,01n.s.
Nitratos	-0,78**	0,82***	0,40n.s.	0,21n.s.	-0,467n.s.	0,82**	0,83***	1	0,16n.s.
Fosfatos	-0,47n.s.	-0,28n.s.	0,11n.s.	0,08n.s.	-0,82**	-0,01**	0,01n.s.	0,16n.s.	1

*** : $p \leq 0,001$; ** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$; n.s.: no significativa

5. Conclusiones y proyección futura

El empleo de humedales artificial para el tratamiento de las aguas residuales o la mejora de la calidad de otros recursos hídricos, es de gran interés por el bajo coste de las infraestructuras necesarias y buenos rendimientos de eliminación de contaminantes. En este trabajo se construyeron y pusieron en funcionamiento dos sistemas de humedales artificiales que, con un muy reducido coste material, fueron capaces de obtener altas tasas de eliminación de contaminación orgánica y nutrientes.

El diseño, construcción y puesta en funcionamiento de humedales a escala de laboratorio, resultó una herramienta didáctica y de investigación de gran interés para los graduados en Ciencias Ambientales, facilitando la comprensión de los mecanismos de depuración que se desarrollan en los humedales. Los principios de diseño y puesta en funcionamiento de estos humedales a escala de laboratorio, son de gran utilidad para futuros proyectos de construcción de humedales para el tratamiento de aguas residuales en viviendas o pequeños núcleos de población.

6. Bibliografía

Amendola, M., Souza, A.L., Roston, D.M., 2003. Numerical simulation of fecal coliform reduction at a constructed wetland. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 7: 533–538.

APHA-AWWA-WEF (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22nd edition. American Public Health Association (APHA) - American Water Works Association (AWWA) - Water Environment Federation (WEF), Washington D.C., USA. 1496 p.

Boyd, C. (2015). *Water Quality. An introduction*. Second edition. Springer. Heidelberg New York Dordrecht London. 357 p.

Convención de Ramsar (1971) Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional Especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas. Ramsar, Irán. 6p.

DWGWA (2009) *Surface water sampling methods and analysis — technical appendices. Standard operating procedures for water sampling-methods and analysis*. Department of Water, Government of Western Australia (DWGWA). Perth, Australia. 66 p.

Galanopoulos, C., Sazakli, E., Leotsinidis, M., Lyberatos, G. (2013). A pilot-scale study for modeling a free water surface constructed wetlands wastewater treatment system. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 1: 642–651.

García, J., Corzo, A., 2008. *Depuración con Humedales Construidos. Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial*. Barcelona, Spain.

GIZ (2011) *Revisión Técnica de Humedales Artificiales de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas grises y domésticas*. Agencia de Cooperación Internacional de Alemania (GIZ). Eschborn, Alemania. 39 p

Guido-Zárate, A., Durán-de-Bazúa, C. (2008) Remoción de contaminantes en un sistema modelo de humedales artificiales a escala de laboratorio. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 23:15-22.

Ibáñez, S., Moreno, H., Gisbert, J.M. (2012) Técnicas de medida del espacio poroso del suelo. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 8 p.

Idris, A., Ghani, A., Abdullah, L., Hung, Y.-T., Wang, L.K. (2010) Chapter 10. Wetlands for Wastewater Treatment. En: Wang, L.K., Tay, J.-H., Tay, S.T.L., Hung, Y.-T. (Eds.), *Handbook*

of Environmental Engineering, Volume 11: Environmental Bioengineering. Springer Science+Business Media B.V., New York Dordrecht Heidelberg London, pp. 317–350.

ITRC (2003) Technical and Regulatory Guidance Document for Constructed Treatment Wetlands. Interstate Technology & Regulatory Council (ITRC). Washington DC, EEUU. 199 p.

IUSS Grupo de Trabajo WRB (2007) Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos N0. 103. Roma, Italia.

MAGRAMA (2000) Plan Estratégico Español para la conservación y el Uso Racional de los Humedales, en el marco de los ecosistemas acuáticos. Madrid, España. 95 p.

Martínez Ortega, R.M., Tuya Pendás, L.C., Martínez Ortega M., Pérez Abreu, A., Cánovas, AM. (2009) El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman caracterización. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 8: 19 p.

McDonald, J.H., 2008. Handbook of Biological Statistics. Sparky House Publishing, Baltimore (MD), EEUU.

Melendez-Pastor, I., Almenro-Candel, M.B., Amorós, I., Navarro-Pedreño, J., Gómez, I., García-Orenes, F. (2016). Water quality changes in a naturalized historical reservoir: the Pantano de Elche, Spain, in: Geophysical Research Abstracts, Vol. 18. EGU2016–6309. European Geosciences Union (EGU), Vienna, Austria..

Pérez Reyes, G., Enciso Sáenz, S., Cid Del Prado Martínez, M., Castañón González, J.H. (2006) Diseño hidráulico de un humedal artificial a nivel de laboratorio. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Chiapas, México. 7p

Polo, S.J., Navarro, J., Meléndez, I., Gómez, I., Mataix, J. (2015) El Canal del Desvío del Pantano de Elche. Primer Centenario. Comunidad de Propietarios de la Acequia Mayor del Pantano-Marchena. Elche, España. 177 p.

R Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing [www.r-project.org]. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

RAMSAR (2002) Wetland values and functions. RAMSAR Convention on Wetlands. Gland, Suiza. 22 p.

Samsó, R., Garcia, J., 2013. BIO_PORE, a mathematical model to simulate biofilm growth and water quality improvement in porous media: Application and calibration for constructed wetlands. Ecological Engineering, 54: 116–127.

Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D. (2003) Wastewater Engineering. Treatment and Reuse. Fourth Edition. Metcalf & Eddy. McGraw-Hill Education. New York, USA. 1848 p.

USEPA (2000) Manual Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewaters. US Environmental Protection Agency (USEPA). Cincinnati (OH), EEUU. 166 p.

Vymazal, J. (2011) Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Five Decades of Experience. Environmental Science & Technology, 45: 61-69

Zedler, J., Kercher, S. (2005) Wetland Resources: Status, Trends, Ecosystem Services, and Restorability. Annual Review of Environment and Resources, 30: 39-74.

Zurita, F., De Anda, J., Belmont, M.A. (2006) Performance of Laboratory-Scale Wetlands Planted with Tropical Ornamental Plants to Treat Domestic Wastewater. Water Quality Research Journal of Canada, 41: 410–417.

6.1. Recursos de internet consultados

MAGRAMA. Página web del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Gobierno de España. Último acceso: 23 de junio de 2016. URL: www.magrama.gob.es/

RAMSAR. Página web de la Convención RAMSAR de los humedales de importancia internacional. Último acceso: 23 de junio de 2016. URL: <http://www.ramsar.org/es>

SCOPUS. Base de datos de artículos científicos propiedad de la editorial Elsevier. Último acceso: 23 de junio de 2016. URL: www.scopus.com

UCEVA. Diseño experimental de un humedal artificial para la remoción de aguas residuales mediante el uso de dos macrófitos flotantes. Vanessa Caicedo Velez, Unidad Central del Valle de Cauca (UCEVA). Último acceso: 23 de junio de 2016. URL: <https://prezi.com/af0-qfkqy2ar/disen0-experimental-de-un-humedal-artificial-para-la-remo/>

7. Anexo I. Reportaje fotográfico de la evolución de los humedales



Figura 16. Puesta en funcionamiento de los humedales en el invernadero UMH (Marzo 2016).



Figura 17. Evolución del funcionamiento de los humedales en el invernadero UMH (Abril 2016).



Figura 18. Desarrollo de las raíces de la vegetación en el humedal subsuperficial ubicado en el invernadero UMH (Mayo 2016).



Figura 19. Proliferación de fitoplancton en el humedal superficial en el invernadero UMH (Junio 2016).



Figura 20. Fase final del estudio en el invernadero UMH (Junio 2016).

