

Evaluación de humedal artificial aerobio discontinuo en efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales para la industria atunera

Damián Eduardo Cedeño López^{1a}, Julio Abel Loureiro Salabarría^{1b}, Carlos Ricardo Delgado Villafuerte^{1c}, Piero Cristobal Fajardo Navarrete^{2d}
Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”
Carrera de Ingeniería Ambiental, Campus Politécnico Sitio El Limón vía a la Pastora. Calceta, Manabí, Ecuador.¹

Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”
Laboratorio de microbiología del Área Agropecuaria, Campus Politécnico Sitio El Limón vía a la Pastora. Calceta, Manabí, Ecuador.²

Email: damiancelo@hotmail.com^a, julioabelloureiro@gmail.com^b,
car_delgado@hotmail.com^c, picrifana@gmail.com^d

Resumen

La presente investigación se desarrolló a escala laboratorio y tuvo como objetivo, evaluar el comportamiento de humedal artificial aerobio discontinuo (HAAD), en efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales para la industria atunera utilizando *Chrysopogon zizanioides* (Pasto Vetiver), *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) y *Trichoderma harzianum* (*T. harzianum*). Estuvo sujeta a un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde se aplicó un control (P_0) y 4 tratamientos (P_1 , P_1M_1 , P_1M_2 , $P_1M_1M_2$) con tres réplicas cada uno, proporcionando un total de 15 unidades experimentales. Los tratamientos específicamente fueron; P_1 (Pasto vetiver), P_1M_1 (Pasto vetiver + 1,5 ml/l de *S. cerevisiae* con $4,3 \times 10^8$ ufc/ml), P_1M_2 (Pasto vetiver + 1,5 ml/l de *T. harzianum* con $1,95 \times 10^8$ esporas/ml) y $P_1M_1M_2$ (Pasto vetiver + 1,5 ml/l mezcla de *S. cerevisiae* con $4,3 \times 10^8$ ufc/ml y *T. harzianum* con $1,95 \times 10^8$ esporas/ml). Posterior a los tratamientos, se obtuvo una remoción de DBO promedio al 99,5%, respecto a los análisis iniciales al agua residual. La remoción más baja de Nitrogeno total Kjendahl (NTK) fue para el tratamiento P_1 con un resultado de 64,56 % y la más alta de 73,81% para $P_1M_1M_2$. El (HAAD) con la combinación $P_1M_1M_2$ fue la más efectiva, aunque los resultados de NTK

continúan siendo bastante elevados respecto a la normativa ambiental ecuatoriana.

Palabras claves: humedal artificial aerobio discontinuo, pasto vetiver, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma harzianum*.

Introducción

En la zona costera de Ecuador, según CPPS, (2014), se vierten 55,2 millones m³/año de agua residual industrial, con una carga asociada en DBO₅ de 9,7 millones tm/año. La ciudad de Manta en la provincia de Manabí es la responsable del vertimiento del 8% de este total, siendo la industria atunera la principal fuente de emisión a este tipo de descargas.

Las aguas residuales de la industria atunera se caracterizan por presentar elevadas DBO, las que pueden llegar a alcanzar valores de 100 000 mg/l debido a su compleja composición (Nemerow, 1977). Estos residuales líquidos generalmente están compuestas por sangre, partículas de pescado, escamas así como, espumas aceitosas las que provienen de diferentes actividades industriales (Garcia *et al.*, 2009).

Durante varios años se han venido realizando tratamientos convencionales para mejorar la calidad de efluentes líquidos en esta industria, figurando los físico-químicos (Pradhan *et al.*, 2015), biológicos (Ching y Redzwan, 2017) y las combinaciones de ambos (Cristovao *et al.*, 2015). La utilización de nuevas tecnologías como, lodos granulares aerobios (Corsino *et al.*, 2017), biofiltros de membrana (Jemli *et al.*, 2015) y humedales artificiales (Liang *et al.*, 2017) han proporcionado un amplio campo de estudio para la minimización de contaminantes en este tipo de residual.

Para (Huma y Ilyas, 2017 y Liang *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2014), los humedales artificiales se han utilizado ampliamente para tratar residuales líquidos domésticos e industriales. Estos se basan en el aporte de oxígeno y consumo de diversos nutrientes por macrófitas (Vymazal, 2013), las cuales pueden estar enraizadas a un lecho (Wu *et al.*, 2015), flotando en el agua residual (Delgadillo *et al.*, 2010) o adaptadas como sistemas hidropónicos (Darajeh *et al.*, 2016).

El *Chrysopogon zizanioides* (pasto vetiver) es una especie de gramínea terrestre adaptable en medio acuático utilizada en humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales industriales por su capacidad de remover altas concentraciones de metales pesados (Mudhiriza *et al.*, 2015). En estudios realizados por (Wang *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2017; Badejo *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2017) en humedales artificiales con este tipo de planta, también se han obtenido excelentes resultados en la disminución de materia orgánica.

Por otro lado, (Ly *et al.*, 2017; Zhouying *et al.*, 2016; Zapater *et al.*, 2014) afirman que la interacción entre pasto vetiver y los microorganismos presentes en este tipo de humedales, eliminan la materia orgánica, utilizándola como sustrato para funciones en su metabolismo.

Una dificultad presente en los tratamientos biológicos para este tipo de residual, es la elevada concentración de sal, la que tiende a disminuir la capacidad de los microorganismos para degradar materia orgánica (He *et al.*, 2017; del Rio *et al.*, 2018). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) y el hongo filamentoso *Trichoderma harzianum* (*T. harzianum*) son microorganismos capaces de multiplicarse bajo este tipo de condiciones y han sido utilizados en diversas investigaciones (Kam *et al.*, 2012), (Aissaoui *et al.*, 2016), (Awasthi *et al.*, 2017; Sadhasivam *et al.*, 2010 y Hultberg y Bodin, 2017) por su elevada capacidad en la remoción de materia orgánica.

Ante todo lo expuesto, la investigación se trazó como objetivo, evaluar el comportamiento de humedal artificial aeróbico discontinuo (HAAD), en efluente de una planta de tratamientos de aguas residuales de la industria atunera utilizando pasto vetiver, *S. cerevisiae* y *T. harzianum*.

Materiales y Métodos

Ubicación

La presente investigación fue de tipo experimental y se realizó en la planta de tratamiento de residuales líquidos para las industrias atuneras, la cual se encuentra ubicada en las coordenadas 0°56'56,97"S-80°41'55,71"O ciudad de Manta, provincia Manabí, Ecuador.

Desarrollo metodológico

Se caracterizó el efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales mediante la recolección en un tanque de 500 litros, siguiendo la metodología de muestreo compuesto de INEN 2176, (2013), captando 20 litros cada 30 minutos por un periodo de 7 horas.

Se recolectó una alícuota de la muestra y se envió al laboratorio, donde se realizaron los análisis iniciales (pretratamientos) de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK).

La investigación estuvo sujeta a un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde se aplicó un control (P_0) y 4 tratamientos (P_1 , P_1M_1 , P_1M_2 , $P_1M_1M_2$) donde se utilizó HAAD con tres réplicas cada uno, proporcionando un total de 15 unidades experimentales.

El control (P_0) y los 4 tratamientos (P_1 , P_1M_1 , P_1M_2 , $P_1M_1M_2$) estuvieron sometidos a idénticas condiciones ambientales con volumen de 16 litros de agua residual representando el 80 % (v/v) del humedal artificial (20 l), además constaron con un sistema de aireación desde el fondo, a través del conjunto (compresor - difusor poroso) marca AIR PUMP SC-7500 MARCA JAD, proporcionando un caudal volumétrico continuo de 3 l/min.

Para los HAAD, se insertaron 15 individuos de pasto vetiver, los que se colocaron y sujetaron en el centro de una lámina de poliestireno de 3 cm de espesor de acuerdo a la metodología seguida por Darajeh *et al.*, (2016). Para el tratamiento P_1 no se aplicó microorganismos, pero para los tratamientos P_1M_1 , P_1M_2 y $P_1M_1M_2$, se adicionaron 24 ml de microorganismos, con la particularidad de que a este último se le suministró al 50% (v/v) del volumen total 24 ml, para cada uno de los microorganismos, siendo específicamente 12 ml de *S. cerevisiae* y 12 ml de *T. harzianum*.

Los tratamientos específicamente fueron; P_1 (Pasto vetiver), P_1M_1 (Pasto vetiver + 1,5 ml/l de *S. cerevisiae* con $4,3 \times 10^8$ ufc/ml), P_1M_2 (Pasto vetiver + 1,5 ml/l de *T. harzianum* con $1,95 \times 10^8$ esporas/ml) y $P_1M_1M_2$ (Pasto vetiver + 1,5 ml/l mezcla de *S. cerevisiae* con $4,3 \times 10^8$ ufc/ml y *T. harzianum* con $1,95 \times 10^8$ esporas/ml). La **Tabla 1**. Resume la descripción del control y cada uno de los tratamientos mencionados anteriormente.

Tabla 1. Descripción del control y de los tratamientos del humedal artificial aireado.

Código	Combinación de los Tratamientos	Pasto vetiver (# individuos)	Dosis de Microorganismo (s) (mg/l)	Caudal Aire (l/min)
P ₀	-----	-----	-----	3
P ₁	Pasto vetiver	15	-----	3
P ₁ M ₁	Pasto vetiver + <i>S. cerevisiae</i>	15	1,5	3
P ₁ M ₂	Pasto vetiver + <i>T. harzianum</i>	15	1,5	3
P ₁ M ₁ M ₂	Pasto vetiver + <i>S. cerevisiae</i> + <i>T. harzianum</i>	15	1,5	3

Fuente: Propia de los autores

Transcurrido 21 días de tratamiento, se realizaron los análisis finales a cada unidad experimental (postratamiento) de DBO y NTK donde se determinó el porcentaje de remoción. Paralelamente, se compararon los resultados con los límites permisibles de descarga al sistema de alcantarillado público, según la normativa ambiental ecuatoriana como lo establece el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA). El análisis estadístico se desarrolló por medio del software MiniTab 15, analizando los tratamientos y las variables respuestas donde se aplicó pruebas de diferencias honestamente significativas de Tukey (HSD) al 5% de probabilidad del error y representó gráficamente los efectos principales.

Resultados y Discusiones

Resultados

Los resultados de los análisis iniciales (pretratamiento) de DBO y NTK son los mostrados en la Tabla 2, donde se evidencian elevados valores en las concentraciones de DBO y NTK.

Tabla 2. Características del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria atunera.

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CONCENTRACIÓN
DBO	mg/l	2058,3
NTK	mg/l	463,8

Fuente: Propia de los autores

En la Tabla 3 se muestran resultados de análisis finales a cada unidad experimental (postratamiento) de DBO y NTK transcurrido 21 días de tratamiento.

Tabla 3. Concentración de los contaminantes orgánicos después del tratamiento en humedal artificial aireado.

TRATAMIENTO	NTK (mg/l)	DBO (mg/l)
P0	199,51±0,82 D ¹	14,18±1,62 C
P1	164,36±3,94 C	8,59±0,84 B
P1M1	133,25±2,65 B	5,35±0,79 A
P1M2	121,58±3,83 A	6,66±0,87 AB
P1M1M2	121,49±3,86 A	5,82±0,18 A

± Es la desviación estándar de la media para cada tratamiento.

¹ Prueba de Tukey al 5% de confianza.

Fuente: Propia de los autores

En la Tabla 4, se muestran resultados de porcentaje de remoción al control y los tratamientos aplicados en función de NTK y DBO transcurrido 21 días de tratamiento.

Tabla 4. Remoción de DBO y NTK en los tratamientos del humedal artificial aireado.

TRATAMIENTOS	(%)REMOCIÓN	(%) REMOCIÓN
	DBO	NTK
P0	99,31	56,98
P1	99,58	64,56
P1M1	99,74	71,27
P1M2	99,68	73,78
P1M1M2	99,72	73,81

Fuente: Propia de los autores

En el Gráfico1 se observa la representación de los efectos principales para DBO y NTK para el control y todos los tratamientos.

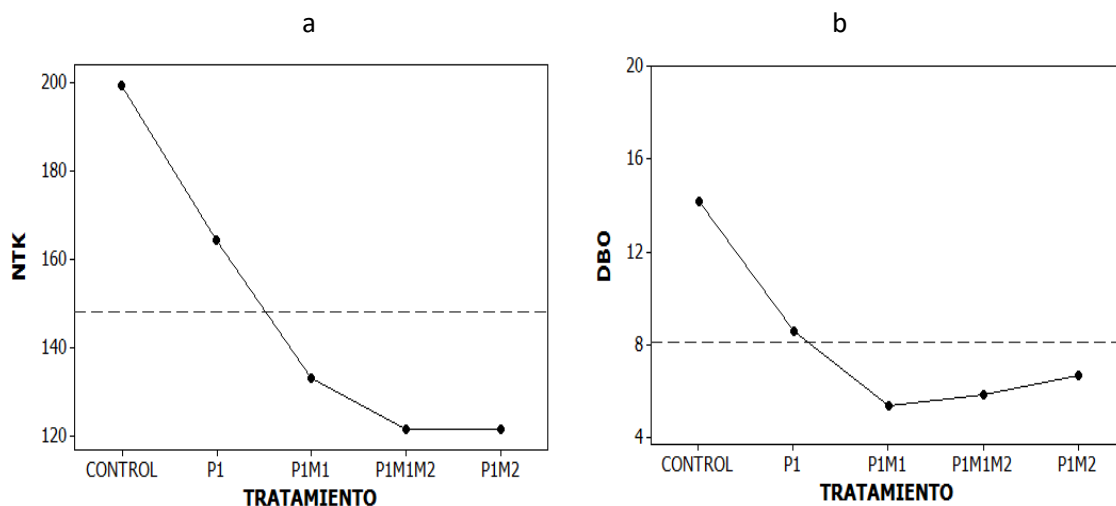


Gráfico 1. Efectos principales (a) Concentración de NTK (mg/l) vs Tratamiento (b) DBO (mg/l) vs Tratamiento

Fuente: Propia de los autores.

Discusión de resultados

La concentración de NTK descendió en todos los tratamientos, con rangos entre (199,51 – 121,49) mg/l como se muestra en la **Tabla 3** y **Gráfico 1a**, desde una concentración inicial de 463,8 mg/l, con porcentajes de remoción entre (56,98 - 73,81), lo que demuestra que utilizando humedales artificiales con aireación continua desde el fondo el contenido NTK desciende favorablemente.

El tratamiento P₁M₁M₂ tuvo la concentración más baja de NTK y no tuvo diferencias significativas con el tratamiento P₁M₂ en ambos coincide el uso del pasto vetiver y *T.harzianum*, correspondiente a una eficiencia de remoción de 73,8% y 73,79% respectivamente. Una eficiencia más alta a la obtenida por Hultberg y Bodin (2017) quienes tuvieron una reducción de NTK del 52,16% tratando un agua residual con *T. harzianum*.

El tratamiento P₁M₁ tuvo una media de remoción de 71,27%, dato parecido al obtenido por Pires *et al.*, (2016) quienes obtuvieron una remoción de 66,70% en el contenido de NTK tratando aguas residuales de la fermentación del jugo de caña con dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

Las medias de la concentración de DBO, disminuyó en todos los tratamientos con rangos entre (5,35 – 8,59) mg/l como se observa en la **Tabla 3** y **Gráfico 1b**. La remoción de DBO para todos los tratamientos presentó una alta

eficiencia con valores que oscilan entre 99,31% y 99,72%, porcentaje parecido pero algo más elevados a los obtenidos por Fan *et al.*, (2013) quienes obtuvieron una eficiencia de remoción del 97% para los tratamientos con aireación continua desde el fondo del humedal.

La concentración más alta de la DBO se observó en el tratamiento P₁ y la concentración más baja para el tratamiento P₁M₁. Entre los tratamientos P₁M₁ y P₁M₁M₂ no se encuentran diferencias significativas y esto se asocia a la capacidad de *S. cerevisiae* de utilizar como fuente de carbono la materia orgánica del agua residual, en la producción de nuevas células. El tratamiento P₁M₂ también bajó considerablemente la concentración de DBO coincidiendo con los datos obtenidos por Hultberg y Bodin (2017) quienes obtuvieron un descenso en la concentración de DBO partiendo de 5567 mg/l hasta 1221 mg/l utilizando *T. harzianum*.

La remoción de DBO del tratamiento P₁M₁ donde se utilizó a *S. cerevisiae* fue de 99,74%, en contra posición con lo obtenido por Kam *et al.*, (2012) quienes obtuvieron una remoción de 81,2% en el tratamiento de agua residual industrial con *S. cerevisiae*. Seguido por el tratamiento P₁M₁M₂ y P₁M₂ en donde se utilizó a *T. harzianum* alcanzando una remoción de 99,68%, dato parecido al obtenido por Sadhasivam *et al.*, (2010) quienes obtuvieron una remoción de DBO del 91,16% en el tratamiento de agua residual con *T. harzianum*.

Conclusiones

Los tratamientos obtuvieron una remoción para la DBO de 99,72% respecto a los análisis iniciales (pre tratamiento) al agua residual. La remoción más baja de NTK fue para el tratamiento P₁ con un resultado de 64,56 % y la más alta de 73,81% para P₁M₁M₂. El (HAAB) con la combinación P₁M₁M₂ se eligió como la más efectiva, aunque los resultados de NTK continúan siendo bastante elevados respecto a la legislación ambiental ecuatoriana, debido que el límite máximo permisible para descarga en alcantarillado público es de 60 mg/l.

Bibliografía

Aissaoui, N., Chobert, J. M., Haertlé, T., Marzouki, M. N., & Abidi, F. (2017). Purification and biochemical characterization of a neutral serine protease from *Trichoderma harzianum*.

Use in antibacterial peptide production from a fish by-product hydrolysate. *Applied biochemistry and biotechnology*, 182(2), 831-845. DOI: 10.1007/s12010-016-2365-4

Almeida, A., Carvalho, F., Imaginário, M. J., Castanheira, I., Prazeres, A. R., & Ribeiro, C. (2017). Nitrate removal in vertical flow constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*: Effect of hydraulic load. *Ecological engineering*, 99, 535-542. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.069>

Awasthi, A. K., Pandey, A. K., & Khan, J. (2017). Potential of fungus *Trichoderma harzianum* for toxicity reduction in municipal solid waste leachate. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(9), 2015-2022. DOI 10.1007/s13762-017-1271-9

Badejo, A. A., Omole, D. O., Ndambuki, J. M., & Kupolati, W. K. (2017). Municipal wastewater treatment using sequential activated sludge reactor and vegetated submerged bed constructed wetland planted with *Vetiveria zizanioides*. *Ecological Engineering*, 99, 525-529. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.012>

Cárdenas, C., Yabroudi, S., Benítez, A., Páez, K., Perruolo, T., Angulo, N., Araujo, I., & Herrera, L. (2012). Desempeño de un reactor biológico secuencial (RBS) en el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 111-120. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752012000200012&lng=en&tlng=es.

Ching, Y. C., & Redzwan, G. (2017). Biological Treatment of Fish Processing Saline Wastewater for Reuse as Liquid Fertilizer. *Sustainability*, 9(7), 1062. <https://doi.org/10.3390/su9071062>

Chyan, J., Lin, C. J., Lin, Y., & Chou, Y. (2016). Improving removal performance of pollutants by artificial aeration and flow rectification in free water surface constructed wetland. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113, 146-154. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.034>

Corsino, S. F., Capodici, M., Torregrossa, M., & Viviani, G. (2017). Physical properties and Extracellular Polymeric Substances pattern of aerobic granular sludge treating hypersaline wastewater. *Bioresource technology*, 229, 152-159. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.024>

Cristóvão, R. O., Botelho, C. M., Martins, R. J., Loureiro, J. M., & Boaventura, R. A. (2015). Fish canning industry wastewater treatment for water reuse—a case study. *Journal of Cleaner Production*, 87, 603-612. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.10.076>

Cui, Y., Wang, S. & Li, J. (2009). On-line Monitoring for Phosphorus Removal Process and Bacterial Community in Sequencing Batch Reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 17 (3), pp. 484- 92.

- Darajeh, N., Idris, A., Masoumi, H. R. F., Nourani, A., Truong, P., & Sairi, N. A. (2016). Modeling BOD and COD removal from Palm Oil Mill Secondary Effluent in floating wetland by *Chrysopogon zizanioides* (L.) using response surface methodology. *Journal of environmental management*, 181, 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.060>
- del Rio, A. V., Pichel, A., Fernandez-Gonzalez, N., Pedrouso, A., Fra-Vázquez, A., Morales, N., ... & Mosquera-Corral, A. (2018). Performance and microbial features of the partial nitrification-anammox process treating fish canning wastewater with variable salt concentrations. *Journal of environmental management*, 208, 112-121. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.007>
- Fan, J., Liang, S., Zhang, B., and Zhang, J. 2013. 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, 2448e2455. DOI: 10.1007/s11356-012-1130-7
- García, R. Pacheco, S. Valdez, E. Márquez, M. Lugo, R y Ezquerro, J. (2009) Impacto del agua de cola de la industria pesquera: tratamientos y usos, *CyTA - Journal of Food*, 7:1, 67-77 DOI: 10.1080/11358120902850412
- He, H., Chen, Y., Li, X., Cheng, Y., Yang, C., & Zeng, G. (2017). Influence of salinity on microorganisms in activated sludge processes: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 520-527. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.007>
- Hultberg, M., & Bodin, H. (2017). Fungi-based treatment of brewery wastewater—biomass production and nutrient reduction. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(11), 4791-4798. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8185-9>
- Huma, I., and Ilyas, M. 2017. The performance of the intensified constructed wetlands for organic matter and nitrogen removal: A review, *Journal of Environmental Management*, Volume 198, Part 1, 1. Pages 372-383. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.098>.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. Norma 2176: Agua. calidad del agua. muestreo. Técnicas de muestreo.
- Jemli, M., Karray, F., Feki, F., Loukil, S., Mhiri, N., Aloui, F., & Sayadi, S. (2015). Biological treatment of fish processing wastewater: A case study from Sfax City (Southeastern Tunisia). *Journal of Environmental Sciences*, 30, 102-112. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.11.002>
- Kam S.B., Abedian A.M., Younesi H.A. 2012. Production Of Single Cell Protein From Stickwater Of Fish Meal Production Factories By *Chlorella* Sp., *Pseudomonas Aeruginosa* And *Saccharomyces Cerevisiae*. *Iranian Journal Of Biology*. Volume 25, Number 2, 158-71.

- Kredics, L., Antal, Z., Szekeres, A., Hatvani, L., Manczinger, L., Vágvölgyi, C. S., & Nagy, E. (2005). Extracellular proteases of *Trichoderma* species. *Acta microbiologica et immunologica hungarica*, 52(2), 169-184. <https://doi.org/10.1556/AMicr.52.2005.2.3>
- Liang, Y., Zhu, H., Bañuelos, G., Yan, B., Zhou, Q., Yu, X., & Cheng, X. (2017). Constructed wetlands for saline wastewater treatment: A review. *Ecological Engineering*, 98, 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.005>
- Lv, T; Zhang, Y; Carvalho, P; Zhang, L y Button, M. 2017. Microbial community metabolic function in constructed wetland mesocosms treating the pesticides imazalil and tebuconazole, *Ecological Engineering*, Volume 98, January 2017, Pages 378-387. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.07.004>.
- Mudhiriza, T, Mapanda, F, Mvumi, BM, & Wuta, M. (2015). Removal of nutrient and heavy metal loads from sewage effluent using vetiver grass, 51 *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. *Water SA*, 41(4), 457-463. <https://dx.doi.org/10.4314/WSA.V41I4.04>
- Nemerow, N. (1977). *Aguas residuales industriales: teorías, aplicaciones y tratamiento*. H. Blume Ediciones.
- Pires, J. F., Ferreira, G. M., Reis, K. C., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2016). Mixed yeasts inocula for simultaneous production of SCP and treatment of vinasse to reduce soil and fresh water pollution. *Journal of environmental management*, 182, 455-463.
- Pradhan, S., Fan, L., & Roddick, F. A. (2015). Removing organic and nitrogen content from a highly saline municipal wastewater reverse osmosis concentrate by UV/H₂O₂-BAC treatment. *Chemosphere*, 136, 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.028>
- Ramos, N., Borges, A., Gonçalves., & Matos, A. (2017). Tratamento de águas residuárias de suinocultura em sistemas alagados construídos, com *Chrysopogon zizanioides* e *Polygonum punctatum* cultivadas em leito 52 de argila expandida. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 22(1), 123-132. <https://dx.doi.org/10.1590/s1413-4152201687067>
- Sadhasivam, S., Savitha, S., & Swaminathan, K. (2010). Deployment of *Trichoderma harzianum* WL1 laccase in pulp bleaching and paper industry effluent treatment. *Journal of Cleaner Production*, 18(8), 799-806. doi:10.1016/j.jclepro.2009.11.014
- Vymazal, J. (2013). Emergent plants used in free water surface constructed wetlands: a review. *Ecological engineering*, 61, 582-592. (En línea). <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.023>
- Wang, X., Tian, Y., Zhao, X., Peng, S., Wu, Q., Yan, L., 2015. Effects of aeration position on organics, nitrogen and phosphorus removal in combined oxidation pondconstructed wetland systems. *Bioresour. Technol.* 198, 7e15. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.150>

- Wang, X; Han,B; Shi, Y y Pang, Z. 2009. Advanced wastewater treatment by integrated vertical flow constructed wetland with vetiveria zizanioides in north China. *Procedia Earth and Planetary Science*. Vol 1 (1). p 1258-1262 <https://doi.org/10.1016/j.proeps.2009.09.194>
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S.,& Liu, H. 2015. A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: design and operation. *Bioresource technology*, 175, 594-601. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.068>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.020>
- Zapater, M., Gashugi, E., Rousseau, D.P.L., Alam, M.R., Bayansan, T., Lens, P.N.L., 2014. Effect of aeration on pollutants removal: biofilm activity and protozoan abundance in conventional and hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Environ. Technol.* 35 (16), 2086e2094. DOI: 10.1080/09593330.2014.893024
- Zhouying, X. U., Yihui, B. A. N., JIANG, Y., ZHANG, X., & Xiaoying, L. I. U. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi in wetland habitats and their application in constructed wetland: a review. *Pedosphere*, 26(5), 592-617. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60067-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60067-4)