



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE SAN ANDRES TUXTLA

TITULACIÓN INTEGRAL

PRODUCCIÓN DE BIO-ELECTRICIDAD Y TRATAMIENTO DE
AGUAS RESIDUALES MEDIANTE MESOCOSMOS DE HUMEDALES
INGENIERILES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

ING. LUIS CARLOS SANDOVAL HERAZO

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORIAL

Nombre del director:

M.C. GUILLERMO REYES MORALES

Nombre del CO- director:

MTI. VERONICA GUERRERO HERNANDEZ

San Andrés Tuxtla, Veracruz, noviembre, 2020

**MAESTRÍA EN
INGENIERÍA**



FORMATO DE LIBERACIÓN DE PROYECTO



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de San Andrés Tuxtla, Ver. siendo las 12 horas del día 21 del mes de septiembre del 2020 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Consejo de Posgrado de la maestría en ingeniería para examinar la tesis titulada:

"Producción de Bio – Electricidad y Tratamiento de Agua Residuales Mediante Mesocosmos de Humedales Ingenieriles"

Presentada por el alumno:

Sandoval Herazo Luis Carlos
Apellido paterno Apellido materno Nombre(s)

Con registro:

M	1	8	1	U	0	0	2	2
---	---	---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría Ingeniería

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

MC. GUILLERMO REYES MORALES

MTI. VERONICA GUERRERO HERNANDEZ

MIL. BLANCA NICANDRIA RÍOS ATAXCA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. JONATHAN HERNÁNDEZ CAPISTRÁN
SUBDIRECTOR DE POSGRADO E INVESTIGACION



AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN



San Andrés Tuxtla, Veracruz, 22/Septiembre/2020

OFICIO No. DG-DA-SPI-2020/005
Asunto: Autorización de impresión de Tesis.

ING. LUIS CARLOS SANDOVAL HERAZO
CANDIDATO AL GRADO DE MAESTRO EN INGENIERÍA
PRESENTE

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "PRODUCCIÓN DE BIO-ELECTRICIDAD Y TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE MESOCOSMOS DE HUMEDALES INGENIERILES", la Subdirección de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin otro particular, quedo de Usted.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica
TRANSFORMARSE PARA TRASCENDER

DR. JONATHAN HERNÁNDEZ CAPISTRÁN
SUBDIRECTOR DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Ccp. DR JOEL PAVA CHIPOL – COORDINADOR DE LA MAESTRÍA EN INGENIERÍA.- para su conocimiento.
Archivo consecutivo.

Formato: M00.2 -PR-06-R02

INDICE GENERAL

CAPÍTULO 1. GENERALIDADES	8
1.1 Planteamiento del problema.....	8
1.2 Formulación del problema	9
1.3 Objetivos	10
1.3.1 Objetivo general	10
1.3.2 Objetivos específicos	10
1.4 Justificación	10
1.5 Hipótesis	11
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTO TEÓRICO	12
2.1. Estado del Arte.....	12
2.2. Marco Teórico.....	18
2.2.1. Contaminación en México por aguas residuales	18
2.2.2. Humedales Construidos como alternativa de tratamiento de aguas residuales	
22	
2.2.3. Tratamiento de aguas residuales con Humedales Construidos con Fines de	
Producción de Bio-Energía.....	40
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	42
3.1. Descripción de la Zona de estudio	42
3.2. Descripción del sistema de Humedales Construidos	43
3.3. Desarrollo Vegetal en Humedales Construidos	44
3.4. Producción de Biomasa vegetal en Humedales Construidos.....	44

3.5.	Materiales empleados como ánodo y cátodo de la Biopila.....	44
3.6.	Monitoreo del Sistema de Humedales Construidos.....	44
3.6.1.	Medición de Voltaje – Corriente – Potencia en la Biopila a base de Humedales Construidos.....	45
3.7.	Diseño experimental y análisis estadístico	46
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES		47
4.1.	Desarrollo Vegetal	47
4.2.	Análisis del agua en la entrada y salida de los Sistemas de Humedales Construidos 50	
4.2.1.	Eliminación de DQO en HC-VPS	51
4.2.2.	Eliminación de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en HC-VPS	51
4.2.3.	Eliminación de N-NO_3 en HC-VPS	54
4.2.4.	Eliminación de Norg en HC-VPS.....	54
4.2.5.	Eliminación de NT en HC-VPS.....	55
4.2.6.	Eliminación de PT en HC-VPS	55
4.3.	Generación de energía Verde en HC-VPS.....	56
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES		61
CAPÍTULO 6. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS		63

LISTA DE FIGURAS

Figura 0.1 Representación esquemática de humedales construidos como Biopila	16
Figura 0.2 Proceso de conversión de energía	17
Figura 2.3 Humedal de flujo superficial	23
Figura 2.4 Esquema de Humedales con flujo sub-superficial (FSS-H).....	24
Figura 2.5 Plantas de Canna hybrids	25
Figura 2.6 Zantedeschia aethiopica	26
Figura 2.7. Sustratos usados en humedales construidos de acuerdo a los estudios revisados	39

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Uso de humedales sub-superficiales a nivel mundial.....	28
Tabla 2.2. Uso de humedales superficiales a nivel mundial.....	28
Tabla 2.3. Uso de humedales a nivel nacional	29
Tabla 2.4. Tipos de sustratos utilizados en humedales Construidos de flujo subsuperficial.	31

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco al Instituto Tecnológico Superior de San Andrés Tuxtla por haberme aceptado para ser parte de su institución, al abrir las puertas de su seno científico para poder cursar la maestría, así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco también a mi Asesor de Tesis el M.C. Guillermo Reyes Morales por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, de la misma manera le agradezco por haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Mi agradecimiento también va dirigido para la MTI Verónica Guerrero Hernández quien se tomó el tiempo para revisar los avances entregados durante el tiempo invertido para llevar a cabo este trabajo.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito.

DEDICATORIAS

La presente tesis es la culminación de varios semestres de esfuerzo y dedicación, siendo el resultado logrado con el apoyo de mis maestros y de quienes siempre lo obtuve cuando lo necesité.

Dedico esta tesis a mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una afable titulación.

Dentro del desarrollo de esta tesis se presentaron muchos momentos en los cuales pareciera que los deberes y compromisos nunca fueran a acabar, pero en ese momento entendí que la ayuda idónea siempre llega justo a tiempo.

RESUMEN

La electricidad es un recurso importante para el desarrollo de las personas, que permite realizar la mayoría de las actividades diarias desde planchar, enfriar alimentos, lavar ropa, encender un foco, hasta comunicarnos a grandes distancias y hablando a grandes rasgos, muchos de los avances tecnológicos y científicos no se hubieran llevado a cabo sin ella. Para realizar la fase experimental de este trabajo se utilizaron nueve unidades experimentales a nivel mesocosmos, fueron construidos en unidades cilíndricas de polietileno de alta densidad y alto peso molecular, recicladas de pintura con un volumen de 19 L, que imitan el funcionamiento de un sistema de humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturado, el nivel del agua en todos los sistemas se mantuvo 16 cm. por debajo de la superficie del sustrato generando una zona de saturación constante (anóxica/anaerobia) y los 16 cm. restantes fueron de zona libre de drenaje. Las plantas de climas tropicales ornamentales empleadas *Canna hybrids*, y *Zantedeschia aethiopica*, que se aprovecharon en su estado natural en la zona donde se estableció el experimento en rangos de 15 a 20 cm de altura. Tres mesocosmos HC-VPS fueron plantados con *Canna hybrids* y tres con *Zantedeschia aethiopica*, y tres unidades rellenas del mismo sustrato se emplearon como controles sin vegetación. Los resultados obtenidos en el desarrollo vegetal fueron los siguientes; la *Canna hybrids*., alcanzo al final del experimento un valor de 90 ± 10 cm de altura, con un diámetro del tallo de $3 \text{ cm} \pm 0.5\text{cm}$, mientras que *Zantedeschia aethiopica*., la altura promedio fue de $80 \text{ cm} \pm 5 \text{ cm}$ con un diámetro de tallo de $4.4 \pm 0.5 \text{ cm}$. Es importante mencionar que, el uso de estos humedales con *C. hybrids*, con electrodos de carbón activado y el agua residual domestica como sustrato, presentaron un mejor desempeño que el humedal con *Z. aethiopica* en las mismas condiciones

ABSTRACT

Electricity is an important resource in the development of people, which allows most daily activities to be carried out, from ironing, chilling food, washing clothes, turning on a light bulb to communicating at great distances and speaking in broad strokes, many of the technological and scientific advances could not have been carried out without it. To carry out the experimental phase of this work, nine experimental units were used at the mesocosm level, they were built in cylindrical units of high-density polyethylene and high molecular weight, recycled from paint with a volume of 19 L, which mimic the operation of a system of wetlands constructed of partially saturated vertical flow, the water level in all systems was maintained at 16 cm. below the surface of the substrate generating a constant saturation zone (anoxic / anaerobic) and 16 cm. The rest were from the free drainage zone. Plants from tropical ornamental climates used *Canna* hybrids, and *Zantedeschia aethiopica*, which was acquired was in its natural state in the area where the experiment was established in ranges of 15 to 20 cm in height. Three HC VPS mesocosms were planted with *Canna* hybrids and three with *Zantedeschia aethiopica*, and three units filled with the same substrate were used as controls without vegetation. The results obtained in the

plant development the results obtained were as follows; *Canna* hybrids., reached the end of the experiment a value of 90 ± 10 cm in height with a stem diameter of $3 \text{ cm} \pm 0.5\text{cm}$, while *Zantedeschia aethiopica*., the average height was $80 \text{ cm} \pm 5 \text{ cm}$ with a diameter stem of $4.4 \pm 0.5 \text{ cm}$. It is important to mention that the use of these wetlands with *C.* hybrids, with activated carbon electrodes and domestic wastewater as substrate, presented a better performance than the wetland with *Z. aethiopica* under the same conditions

INTRODUCCIÓN

En el mundo, el bienestar poblacional con una buena calidad de vida implica alta producción de alimentos saludables, el desarrollo de avances tecnológicos y progresos científicos y recursos básicos como el agua y la energía en suficientes cantidades, ya que, por ejemplo, la electricidad, es un energético vital para resolver diferentes actividades tanto en el hogar como a nivel industrial, incluyendo servicios de salud, educación y comunicación. Sin embargo, el uso excesivo y desmedido de los recursos naturales, como el agua y la energía, para satisfacer las diversas necesidades, han llevado a la contaminación del ambiente. Tal situación conduce a un futuro conflictivo, en donde la obtención de la energía será un punto de competencia para el desarrollo, es por eso que se debe empezar a buscar alternativas de energía sustentable, eficientes, ecológicas y económicamente viables [1,2].

La electricidad es un recurso importante para el desarrollo de las personas, que permite realizar la mayoría de las actividades diarias desde planchar, enfriar alimentos, lavar ropa, encender un foco hasta comunicarnos a grandes distancias y hablando a grandes rasgos, muchos de los avances tecnológicos y científicos no se hubieran llevado a cabo sin ella. Para cumplir con esas necesidades, las principales fuentes de energía que se usan hasta el momento, provienen de combustibles fósiles como el petróleo, carbón y gas, que son recursos naturales finitos, además de que tienen gran impacto por su contribución al cambio climático, debido a la generación de gases de efecto invernadero durante la combustión de los mismos [3].

En la actualidad aún existen comunidades rurales consideradas como zonas con alto grado de marginación, que no cuentan con un sistema eléctrico, y mucho menos con sistemas de tratamiento de las aguas residuales que producen tanto en viviendas como en sus productos traspatio, estas comunidades son las más afectadas, debido a su baja población, bajos recursos económicos y falta de información sobre el tema de energía y tratamiento de aguas residuales de origen doméstico e industriales, pocas veces el gobierno les considera y no invierten en infraestructura que permita que llegue la electricidad a esas zonas, sumado a otros problemas colectivos como la falta de sistemas de tratamiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial (pequeñas granjas de cerdos, acuicultura a pequeña escala entre otras), teniendo como consecuencia que no puedan tener una buena calidad de vida y estén propensos a

problemas de salud y contaminación media ambiental [4,5], con la finalidad de conyugar a la solución de forma sustentable de estos restos en materia de desarrollo sustentable, el objetivo de este estudio fue producir bio-electricidad y remover demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno total Kjeldhal (NTK), nitrógeno amoniacal (N-NH₄) nitrato (N-NO₃), fosforo total (PT), presentes en aguas residuales domesticas mediante mesocosmos de humedales construidos de flujo verticales parcialmente saturados sembrados con *Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica.*, y empleando carbón activado como ánodo y cátodo.

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1. GENERALIDADES

1.1 Planteamiento del problema

En el mundo, lograr la sustentabilidad de las comunidades representa grandes retos en materia de aguas residuales, producción energética, de alimentos y desarrollo económico [6]. Sin embargo, el uso inadecuado, excesivo y desmedido de los recursos naturales, como el agua y los materiales fósiles para producción energética, han acarreado una serie de problemas que han pasado desapercibidos con la finalidad de satisfacer las diversas necesidades que la población demanda, y no contar con sistemas de tratamiento para las aguas residuales domésticas e industriales antes de ser vertidas a cielo abierto, subsuelo u otras fuentes de agua como ríos o lagos, tiene como consecuencia la contaminación del ambiente, principalmente en comunidades donde la población crece de forma incontrolada [7], las cuales se extienden ignorando la insuficiencia de nuevas fuentes sustentables de producción energética para el consumo de las comunidades, subsistiendo día a día con problemas de suministro eléctrico y tratamiento de aguas residuales, idealizando una alternativa de abastecimiento eléctrico que no implique destrucción de vegetación para los ecosistemas [8]. Tal situación conduce a un futuro conflictivo, en donde la obtención de energía será un punto de idoneidad para el desarrollo, es por eso que se debe empezar a buscar alternativas de energías sustentables, eficientes, ecológicas y económicamente viables, que en simultaneidad nos permitan contribuir a solucionar problemas adyacentes como el del tratamiento de aguas residuales no tratadas [9,10]. Lo anterior denota la importancia del uso de eco-tecnologías sustentables desde una perspectiva socio-económica y medioambiental, que permitan contribuir a mejorar la calidad de vida de zonas rurales con problemas de tratamiento de aguas y suministro de energía eléctrica [11]. En este sentido una propuesta para mitigar esta problemática, es la creación de un humedal construido de flujo vertical parcialmente saturado o ingenieril configurado como biopila para obtener bio-energía, alimentado con aguas residuales domésticas, lo cual traería múltiples beneficios, en primera, la construcción de un humedal favorecerá el tratamiento de aguas residuales generadas en zonas rurales o viviendas alejadas de las zonas urbanizadas; segundo, se generará bio-energía como resultado de las bacterias al convertir energía química en energía eléctrica durante el proceso de remoción de contaminantes, y además se mitigará la emisión de gases de efecto invernadero, ya que en lugar que estos se generen como resultado natural de los

procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren durante el proceso de remoción [12], estos se ocuparán por las bacterias que intervienen en el proceso de eliminación de contaminantes, para la generación de energía verde [13] y sumado a lo anterior, se producirá vegetación ornamental que podría generar ingresos económicos adicionales por su comercialización o venta de flores en sistemas de tratamiento domiciliarios. Lograr este proyecto involucra estudios a nivel piloto que permitan evaluar cuestiones de diseño, materiales y experimentales para poder escalar la biotecnología a comunidades rurales, en este sentido se requieren estudios a nivel mesocosmos que permitan tener estas consideraciones de diseños a gran escala.

1.2 Formulación del problema

Ubicándonos en una comunidad rural, uno de los problemas principales es la falta de instalaciones eléctricas que permitan abastecer a la comunidad de energía, esto lleva a que realicen sus actividades con energías básicas como la leña y el carbón (generalmente obtenido de formas no sostenibles) para cocinar alimentos y calentar sus hogares en tiempos de frío, afectando no solamente al medio, sino también a la salud de las personas que están expuestas a los vapores de esas combustiones. De igual manera, amenazando la diversidad de árboles y sus servicios ambientales por la tala excesiva, así como también aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero como dióxido de carbono o metano durante la combustión. Por lo tanto, una propuesta para mitigar el problema de la falta de electricidad en zonas marginadas, es la creación de una biopila a partir de un humedal construido para obtener energía verde o también conocida como bio-energía, lo cual traería beneficios múltiples, en primera, la construcción de un humedal, favorecerá la remoción de contaminantes de aguas residuales, segundo, se generará bio-energía como resultado de las bacterias al convertir energía química a energía eléctrica durante el proceso de remoción y además, se mitigará la emisión de gases de efecto invernadero, ya que en lugar que estos se generen, estos se ocuparán por las bacterias para la generación de la bio-energía, lo anterior empleando aguas residuales de origen doméstico, que mayormente no son tratadas por no considerarse en las planeaciones hídricas de los organismos operadores en México, estas son ricas en contaminantes como materia orgánica, nitrógeno y fósforo, que si no son manejados adecuadamente, pueden generar problemas medioambientales serios en suelos y agua, pero en sistemas de humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados configurados como biopilas, pueden incrementar la actividad de bacteria (Bacteria aerobias y anaerobias degradadoras de contaminantes específicos), que se pueden desarrollar con facilidad en Humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturado empleados para fines de tratamiento de este tipo de aguas residuales.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Producir bio-electricidad y remover Demanda química de oxígeno (DQO), Nitrógeno total Kendal (NTK), nitrógeno amoniacal (N-NH₄) Nitrato (N-NO₃), Fosforo Total (PT), presentes en aguas residuales domesticas mediante mesocosmos de humedales Ingenieriles de flujo Verticales parcialmente saturados sembrados con *Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica.*, empleando carbón activado como ánodo y cátodo.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Diseñar el acomodo de los electrodos (ánodo y Cátodo) a base de carbón activado artesanalmente dentro de la celda de humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados alimentados con aguas residuales domésticas para configurar los sistemas como biopilas.
2. Evaluar el proceso de eliminación de contaminantes usando *Zantedeschia aethiopica.*, y *Canna hybrids.*, como vegetación emergente y configuraciones de sustrato de (Tezontle y biopila de carbón), en mesocosmos de humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados con aguas residuales domésticas.
3. Determinar la generación de bioelectricidad en humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados diseñados como biopilas.

1.4 Justificación

La utilización de humedales Construidos para la recepción de aguas residuales se remota a comienzos del siglo XX. Se sabe que el empleo de estos, tuvo su origen en Alemania, a comienzos de 1950. Las ciénagas, humedales y turberas se conocen como los mejores receptores de aguas residuales y a la vez cumplen un papel de remoción de contaminantes importante [14]. En un estudio realizado en México sobre plantas municipales de potabilización y de tratamiento de aguas residuales en operación de la comisión nacional del agua [15] únicamente el 6.9% son humedales y algunos se encuentran asociados con plantas mecanizadas. Sin embargo, durante los últimos años se ha aumentado el interés sobre los humedales Construidos a nivel mundial, debido a que poseen la propiedad de ser sistemas amortiguadores, por aspectos como: fácil operación y mantenimiento, altas capacidades de remoción de contaminantes mediante procesos físicos, químicos y biológicos, además en los Humedales ingenieriles debido a los procesos de oxidación-reducción (en aguas con cargas altas de nitrógeno como las domesticas), éstos podrían favorecer la producción de energía verde [16,17], lo cual conllevaría hacer parte de la

solución al cambio climático y la contaminación latente por explotación de humedales construidos hidrocarburos y aguas contaminadas; la energía verde es una fuente renovable de obtención de energía y se puede generar en células de combustión microbianas mediante sistemas ecológicos como los humedales construidos[18,19]. Desafortunadamente, dicha producción es una situación que involucra aún estudios experimentales que establezcan los mejores diseños en humedales construidos para su obtención. De ahí la importancia de investigar la producción de energía verde mediante humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados, lo cual beneficiaría, removiendo contaminantes presentes en aguas residuales domésticas, produciendo vegetación de ornato que puede generar un ingreso económico a los usuarios, reutilizando el agua tratada y, además, produciendo de energía verde.

1.5 Hipótesis

La remoción de contaminantes presentes en aguas residuales domésticas mediante mesocosmos de humedales ingenieriles de flujo vertical parcialmente saturados sembrados con plantas ornamentales (*Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica*), configurados como biopilas (ánodo y cátodo de carbón activado) favorecerá la producción de energía verde y permitirá el uso de sistemas como medio de cultivo de vegetación ornamental.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. Estado del Arte

En México existen muy pocos sitios con tratamiento de aguas residuales, principalmente por la falta de fondos económicos para la implementación, y mantenimiento de plantas tratadoras [17]. Lo anterior es más común en comunidades rurales, donde las posibilidades de tratar aguas residuales son generalmente nulas, y, por ende, los niveles de contaminación y enfermedades epidemiológicas se incrementan sustancialmente. En la actualidad, la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) a través de la Subsecretaria de Gestión para la Protección Ambiental y la Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas (DGGIMAR), son las encargadas de regular los temas relacionados con la restauración de estos sitios [20]. En este sentido se han desarrollado investigaciones relacionadas con el tratamiento de aguas en diferentes lugares del mundo, como son las realizadas por los siguientes autores:

De acuerdo a [21] encontraron en un estudio con biopila en Humedales construidos, usando tres tipos de vegetaciones macrófitas (*J. effuses*, *T. orientalis* y *S. validus*) para el tratamiento de las aguas residuales domésticas, también sin plantar en humedales construidos o artificiales, como células de combustión microbianas con controles empleando micrófitos (*T. orientalis* y *S. Validus*), encontrando que se produjo bioenergía donde los datos de corriente eléctrica más alta y densidades de potencia registrados durante el estudio fueron; 94.27 mA m⁻² y 21.53 MWM- 2 respectivamente, en materia de remoción de contaminantes el estudio se encontró en humedales construidos funcionando como celdas microbianas sembradas con plantas de *T. orientalis* y *S. Validus*, eliminaron de forma eficiente contaminantes presentes en el agua y se encontraron mejores resultados en sistemas con vegetación en: DQO (5.8%), N-NO₃ (7.2%) y N-NH₄ (23.9), superior a la de sistemas sin vegetación. El sustrato empleado fue granito que resultó adecuado para propiciar la generación de bio-electricidad. Estos mismos autores [12] pero en (2011) encontraron que empleando *Phragmites communis*, *Typha orientalis*, *malaccensis* *Cyperus* subsp. *monophyllus*, y *progonocalyx* *hygrohumedales* construidos lous, como vegetación y sustrato de arena en un humedal construido de 3.27 hectáreas que trato 4,000L de agua por día, se pudieron obtener 11.846 kWh de electricidad en un mes de estudio. En un estudio [18] dónde evaluaron la influencia de la remoción de nitrógeno y fósforo con

finés de producción de bio-electricidad, empleando como material fieltro de grafito y grava de grafito como ánodo y cátodo respetivamente, entrando incrementos de producción de energía entre 12.56 a 26.16 nW/m²), en sistemas plantados con plantas típicas de humedales naturales en humedales construidos a escala laboratorio. Por otra parte [18] investigaron la evolución de células de combustión microbianas en humedales construidos (HC), con la finalidad de conocer la influencias del desarrollo microbiano en la producción de bioenergía, los HC, fueron plantados con *Phragmites australis* las celdas de 20 cm diámetro y 55 cm de altura fueron rellenas con sustrato de arena uniforme cuarzo, haycite, lodo activado, y carbón activado usados como ánodo y cátodo, encontrando que la remoción de nitrógeno total se encontró en promedio de 82.46 %, fosforo total entre 15 al 35% la producción de bioenergía cuando el sistemas se encontró en su plenitud (4 meses) fue de 3714.08 mW/m². Es importante mencionar que los materiales que se emplean en estos estudios son costosos, en este sentido nuevas investigaciones encaminadas a encontrar materiales más económicos, pero igualmente funcionales son necesarios para escalar esta biotecnología a nivel piloto y no encarecer la construcción e implementación [22].

De acuerdo a [23], obtienen que la densidad de potencia máxima en biopilas de HC, asociado con vegetación acuática fue 142% más alta que de reactor sin vegetación, lo anterior tuvo sustento en la fotosíntesis de la planta y la degradación de sustrato pudieron ser las principales razones para la obtención de esta potencia de salida. Sin embargo, los diferentes micrófitos plantados en humedales pueden conducir a una distribución graduada de biomasa debido a la concentración de oxígeno y carbono orgánico disuelto producido en humedales con plantas. Las macrófitas acuáticos tienen significativamente diferentes velocidades de liberación de oxígeno y de transferencia de HC, según *Scirpus sp.* (0.005 - 0,011 g - 2 re - 1) y *Typha sp.* (0,45 gm - 2 re - 1) en el proceso de respiración de las raíces y de acuerdo con la medición de la respiración de las raíces y simulación del modelo, respetivamente se encontró que son importantes en el incremento de actividad microbianas [24]. Lo anterior favorece la producción de bio-electricidad.

De acuerdo a [25], evaluaron cuatro especies de plantas típicas de humedales naturales en HC en su función como célula de combustible microbianas y encontraron que en la liberación de exudados de la raíz incrementa la producción de bioenergía empleando como sustratos grafito. El proceso de absorción de la planta también se ha considerado como uno de los principales mecanismos de eliminación en el sistema de HC [26]. Por lo tanto, las características fundamentales de los diferentes tipos de macrófitas pueden mostrar diferencias en la vegetación que influencia en la transferencia de oxígeno y la generación de energía verde en biopilas de HC. Estudios anteriores sobre la distribución de la comunidad de microorganismos en celda de

combustible microbiana, plantadas con vegetación se asocian con niveles máximos de oxigenación en los sustratos, indican que la abundancia de comunidades microbianas situadas en el electrodo de grafito granular de cátodo era mayor que en la superficie de la raíz [27]. Los estudios anteriores denotan que las investigaciones relacionados con biopilas en humedales se han empleado plantas macrófitas típicas de humedales, en zonas de temperaturas más cálidas y templadas, pero no se encuentran registros en zonas tropicales, donde las temperaturas son más altas al igual que la intensidad de luz es mayor y permite el desarrollo de vegetación con mayor altura favoreciendo la absorción de contaminantes en los tejidos vegetales que son empleados para el proceso de la fotosíntesis mayormente [28], también se reporta que a mayor temperatura en procesos de remoción, incrementan la actividad bacterianas favoreciendo lo anterior la remoción de contaminantes [29] y posible producción de biopilas en humedales con mejores resultados en la producción de bio-electricidad. Por otra parte, los sustratos con mayor rugosidad y/o porosidad pueden favorecer las colonizaciones de comunidades de bacterias en HC [30], que permitirán una mayor interacción de proceso bioquímicos en la degradación de contaminantes por medio microbiológico de aguas residuales empleando esto sistemas. Lo anterior denota la importancia de evaluar la producción de bio-electricidad con plantas que se desarrollen en zonas tropicales, que podría favorecer su producción en humedales construidos.

En este estudio se propone la utilización de una biopila adaptada a unos humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados, para la remoción de contaminantes. Aunque el uso de HC se ha hecho, desde comienzos del siglo XX en países europeos y de Estados Unidos, su funcionalidad ha incrementado el interés de su implementación a nivel mundial, lo anterior debido a aspectos como: la alta productividad de materia vegetal y microorganismos que inducen a la metabolización y conservación de compuestos orgánicos, así como también a su alta capacidad de retención y absorción por medio de procesos físicos [31]. Debido al cambio climático inducido por los humanos, es importante la utilización de energías y tecnologías sustentables para darle solución al cambio climático [32]. Por lo que en este estudio también se propone la producción de energía verde mediante los sistemas de humedales construidos. La energía verde provee aproximadamente 10% total de energía primaria global, sin embargo, los usos modernos de la biomasa están aumentando, especialmente en los países en desarrollo, debido a la preocupación sobre el cambio climático, el vaivén de los precios del petróleo y la seguridad energética donde no se implique el uso de técnicas destructivas como la generación de energía por técnicas destructivas de biomasa, hacen ver una clara tendencia de fuentes alternativas de suministro sustentables.

Las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales se basan sobre gestión integrada de los procesos físicos, químicos y biológicos que requieren equipos mecánicos y una gran

cantidad de entrada de energía para lograr sus objetivos [33]. En la actualidad se realizan humedales construidos, los cuales procuran imitar la capacidad de tratamiento que los naturales, se desarrollan procesos químicos, físicos y biológicos que mejoran la calidad de las aguas residuales tratadas, en los que son económicamente viables, muy eficientes para la remoción de contaminantes, en las cuales se obtienen eficiencias superiores al 80%, siendo también muy útiles en la remoción de metales, trazas de compuestos químicos y patógenos [34]. Sin embargo, proporcionan el tratamiento sin la necesidad de un aporte de energía [35,36]. Por medio de nutrientes orgánicos y sólidos puede lograrse con HC utilizando lodos de alumbre, una inevitable purificación del agua residual, como el principal sustrato y operan en una estrategia multi marea, con una base impermeable sobre la que se deposita un lecho de gravas, suelo u otro medio para el desarrollo de las plantas, que constituyen el principal agente depurado [37,38]. Los humedales construidos se han aplicado durante largo tiempo en la remoción de contaminantes durante el tratamiento de aguas residuales. Recientemente ha aparecido como una tecnología prometedora que puede utilizarse para resolver un problema ambiental mientras sirven para producir bioenergía, a partir de los materiales orgánicos de desecho, se basa en los fundamentos de las celdas de combustible microbianas (CCMs).

Uno de los principales tipos de HC es el de flujo sub-superficial horizontal en el cual el agua circula a través de un lecho poroso de grava sobre la cual crecen las plantas de macrófitas en estos el sistema se encuentra en constante saturación y los procesos bioquímicos que se generan son mayormente anaerobios [39]. Otro tipo de humedal construido sub-superficial, son los de flujo vertical se utiliza para el tratamiento de aguas residuales en pequeñas comunidades en todo el mundo, se pueden emplear plantas emergentes mayor mente típicas de humedales naturales y los procesos bioquímicos que se producen en estos son mayormente aerobios [40,39].

Por otra parte, la vegetación juega un papel importante en los CH, [41], señala el efecto positivo sobre el cátodo del oxígeno liberado por raíces durante las horas de sol, sin embargo, las pérdidas de agua causadas por evapotranspiración en sistemas plantados se han descrito también para influir en el rendimiento de pilas de combustión microbianas (CCM) acopladas HC. El uso de CCM 2acopladas a humedales construidos para la generación de energía sustentable es una actividad reciente. Los HC se han utilizado desde hace algunas décadas en países desarrollados principalmente para el tratamiento de aguas residuales [42]. Aunque en México su uso es de apenas hace casi una década, aún existen varias características de diseño que se evalúan de acuerdo a las condiciones tropicales del país, la mayoría de estudios existentes sobre humedales en México han sido a nivel laboratorio, evaluando eficiencias de remoción de contaminantes de acuerdo al tipo de vegetación, sustrato, tipo de flujos, condiciones hidráulicas, temperaturas, entre otros [43]. Dado lo anterior el uso de estos sistemas es aún menos convencional donde los

humedales construidos se utilicen para la generación de energía verde. De los estudios al respecto a nivel internacional, el departamento de Humedales construidos, ingeniería ambiental y marítima de la Universidad Politécnica de Cataluña reportó el acoplamiento de CCM a humedales construidos, tratando aguas residuales urbanas que bombeaban desde el sistema de alcantarillado municipal, en Barcelona, donde construyeron dos humedales artificiales de flujo sub-superficial, estos fueron rellenos con gravas, para el ánodo y el cátodo se utilizó grafito cilíndrico [41]. El tratamiento principal consistió en la solución convencional para uno de los humedales y un tratamiento anaerobio basado en un flujo de lodo humedales construidos (reactor HUSB) para los demás, como resultado se obtuvieron registros de corriente máxima de 219 mA/m² y densidades de energía de 36 mW/m² [41]. Una representación esquemática de estos HC se presenta en la Figura 2.1.

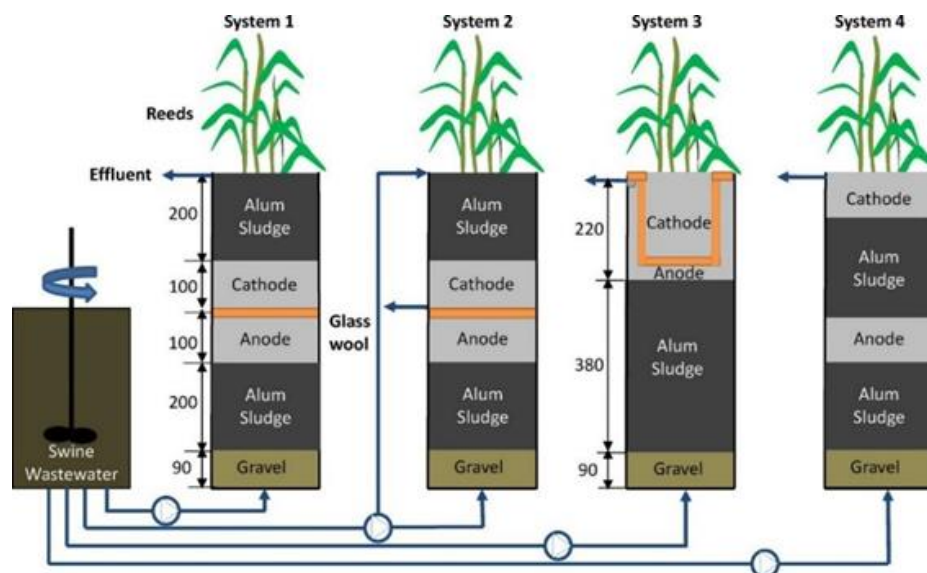


Figura 0.1 Representación esquemática de humedales construidos como Biopila
Fuente: Villaseñor et al. (2013)

[44], muestra en una revisión de investigaciones sobre la producción de bio-energía en CH, que en la mayoría de los estudios descritos se utilizan diferentes materiales para la construcción de cátodo y ánodo de las CCM acopladas a CH, resultarían costosos si se considera que la implementación de humedales se aplica a comunidades rurales donde no se cuenta con sistemas de tratamiento y donde están propensos a salud por la descarga continua de agua sin tratar y donde además no existen apoyos económicos para la implementación de tecnologías. En ese sentido resulta evidente buscar opciones de materiales de fácil acceso, manejo y bajo costo, para probar su eficiencia para el diseño de humedales con CCM para la generación de bioenergía. Además, considerando dar un servicio extra a las comunidades donde se implementen los sistemas, resulta de igual manera pertinente el investigar el efecto de diferente vegetación de ornato en la remoción de contaminantes y en la producción de bio-energía. Lo citado conlleva a beneficios múltiples que incluyen eliminación de contaminantes por medio de humedales

construidos, reutilización de agua, producción de bioenergía y producción de flores de ornato como recurso económico para los manejadores de humedales locales. Por lo anterior la pertinencia de este estudio. La biomasa es la materia orgánica contenida en productos de origen vegetal y animal (incluyendo los desechos inorgánicos) que puede ser capturada y usada como una fuente de energía química almacenada. La bioenergía resulta cuando los combustibles de la biomasa de reciente origen biológico son usados para fines energéticos. Durante el año 2010 se tuvieron registros de suministros del 16.7% del consumo mundial de energía final. Del cual el 8.2% proviene de la energía renovable [45]. Una de las maneras de crear bioenergía es mediante el tratamiento de aguas residuales mediante humedales construidos, con esto se pueden resolver un problema ambiental mientras sirven para producir electricidad orgánica de los materiales de desecho [46,47].

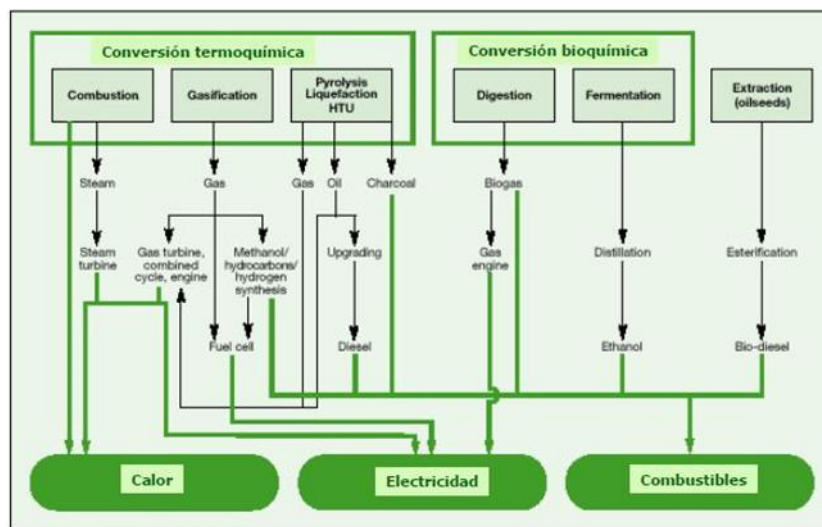


Figura 0.2 Proceso de conversión de energía
Fuente: Goldemberg (2000)

En México la bioenergía representa 8% de la demanda de energía primaria y está centrada en el uso de la leña como combustible residencial y en las pequeñas industrias, tan solo en 2001, la oferta interna bruta de energía primaria fue de 5,700 petajoules (PJ), de los cuales 408 PJ corresponden a la energía de biomasa [48]. En La bioenergética en México [49] se indica el gran potencial de desarrollo de los bio-energéticos en el país, sobre todo hacia la zona sur-centro, debido a las características ambientales que propician el desarrollo de áreas forestales, vegetación y cultivos. En el caso de la región norte de México, el potencial para desarrollar y explotar los mencionados bio-energéticos es limitado, principalmente, por la disponibilidad de agua, características geográficas y climáticas.

En el caso de residuos municipales, [50] hace mención del gran potencial de Baja California (Tijuana), en donde a partir de 342.81 toneladas/ año de residuos se podría generar 31.3 MW, en tanto que los humedales construidos en Chihuahua (Ciudad Juárez) podría producir 27.4 MW

con 300 477 toneladas/año de residuos municipales, y en la capital del estado, a partir de 194 049 toneladas/año de residuos se lograrían producir 17.7 MW.

Un ejemplo tangible del aprovechamiento de los residuos municipales y la generación de bioenergía es el proyecto desarrollado por Simeprode (empresa pública–privada), con sede en Monterrey, Nuevo León, donde a partir del biogás producido por los residuos municipales se genera electricidad para determinadas zonas de la entidad. La fase Monterrey I tiene capacidad para generar 7.42 MWh, lo que ha evitado la emisión de 48 691 toneladas de gas metano, que equivalen a 835 796 toneladas de bióxido de carbono al generar 221,363 MWh de electricidad para servicio público (alumbrado y oficinas). Por otra parte, se proyecta que con la fase Monterrey II aumentará su capacidad de generación a 5.30 MWh, haciendo un total de 12.72 MWh, lo que significa evitar la emisión de un millón de toneladas de bióxido de carbono [51].

2.2. Marco Teórico

2.2.1. Contaminación en México por aguas residuales

La contaminación de México en los últimos 10 años ha crecido descontroladamente, de acuerdo con los reportes de [52], muestran el desabasto por el tratamiento de agua en las diversas zonas de México es desmedido, debido al alto costo de mantenimiento e instalaciones de las plantas de tratamiento de agua, así como su operación, es por ello que la contaminación del agua principalmente ha ido en aumento. Es por ello que las diversas instituciones han promovido la sustitución de diversas tecnologías económica y ecológicamente viables, como son los humedales construidos [53].

2.2.1.1. Tipos de Aguas Residuales

Clasificación de los tipos de aguas residual con respecto a [54], dependiendo de su origen:

- a) **Aguas domésticas:** Este tipo de agua son generadas en poblaciones urbanas con consecuencia de la actividad diaria de los habitantes, este tipo de aguas, también es conocida como aguas negras o aguas grises. Las aguas de este tipo, sus características peculiares son el aroma y el color, normalmente influye con el número de habitantes de la zona rural.
- b) **Aguas residuales industriales:** Son aquellas que provienen de cualquier actividad o negocio en donde se llevan a cabo procesos de producción. Normalmente su caudal y composición son característicos de los vertederos.

- c) **Aguas residuales agrícolas:** Este tipo de agua proviene de la cría del ganado y de procesamientos de productos animales, así como vegetales, es decir siembras.
- d) **Aguas pluviales:** Este tipo de agua proviene de las precipitaciones: lluvia, granizo, niebla y nieve.
- e) **Aguas residuales de infiltración:** proceden de sistemas de drenajes, alcantarillado, tubos de desagües y del descenso artificial del nivel de las aguas subterráneas.
- f) **Aguas residuales municipales:** Son aquellas que provienen de los efluentes domésticos como de las pequeñas o medianas empresas y algunas otras actividades a realizar en las áreas urbanas, como lo son los comercios, oficinas, restaurantes, mercados de abasto, cada una de las de estas aguas incrementan su contaminación con algunos componentes que pueden resultar inadecuado para los tratamientos convencionales.
- g) **Aguas residuales de origen minero-metalúrgico:** Los efluentes procedentes de los diferentes tipos de minerías, son considerado que sus componentes de residuo son altamente tóxicos como es el Pb, Hg, Cd, Zn, metaloides como lo es el Sb y el As.

2.2.1.2. Aguas residuales domésticas

Las aguas residuales municipales son aquellas combinaciones variadas de agua, provenientes de descargas domésticas, pluviales, agua residual agrícola, de fuentes comerciales y de pequeñas industrias, la cual contiene en concentraciones diluidas, una mezcla de material fecal, residuos jabonosos, sustancias tóxicas, papeles, grasas y otros [55,56]

Algunos de los residuos que se encuentran en los canales de aguas negras y aguas residuales municipales son los siguientes:

a) Residuos domésticos

Son los que provienen de la evacuación de los residuos y manipulaciones de cocinas (desperdicios, arenas de lavado, residuos animales y vegetales, detergentes y partículas), de los lavados domésticos (jabones, detergentes sintéticos con espumantes, sales, etc.), y que se recogen en la limpieza de la casa.

b) Arrastres de lluvia

Es la acumulación de partículas y fluidos (restos de vegetales y animales, tierra, polvos orgánicos e inorgánicos, etc.) presentes en la superficie expuesta y que son arrastradas al caer la lluvia.

Si la precipitación es suficiente, los arrastres se efectuarán hasta la red de evacuación y se producirán diluciones de acuerdo a la cantidad del volumen de agua.

c) Residuos industriales

Dentro de los residuos industriales, los vertidos líquidos representan un riesgo potencial para el medio ambiente, debido a la carga contaminante que llevan y que son difícilmente biodegradables y éstos pueden ser residuos líquidos con constituyentes minerales, orgánicos, de naturaleza radioactiva, etc.

2.2.1.3. Composición de las aguas residuales domesticas

Color: La coloración de las aguas residuales urbanas determina como cualitativas de un tiempo determinado, este tipo de agua se caracteriza por un color beige claro o negro, depende el tiempo del agua, si es reciente, su coloración suele presentarse color beige claro, si el tiempo del agua es un más prolongado, la coloración del agua será equivalente a color gris o negra [57].

Olor: la presencia de materia orgánica en este tipo de agua, normalmente llegan a desprender aromas fuertes, como lo es la descomposición de materia orgánica: Ácido sulfhídrico, indol, escatol (3- metilindol que procede después de la descomposición aerobia del triptófano). A medida del tiempo de descomposición aumenta el aroma de las aguas [58].

Temperatura: normalmente este tipo de agua oscila entre 15 y 30 °C, estas temperaturas facilitan la propagación de microorganismos [59].

2.2.1.4. Sistemas de Tratamiento de Aguas Residuales

Existen varios tratamientos de aguas residuales, normalmente estos tipos de tratamiento varían con respecto al tipo de agua residual a tratar, así como el tiempo y la cantidad de agua a tratar. Los tipos de tratamientos existentes son, neutralización, oxidación química y biológica, lagunas de estabilización, reducción, filtración, lodos activados, osmosis inversas [17].

Estos tipos de tratamiento de aguas residuales, normalmente necesitan personal capacitado para su operación, además de mencionar los altos costos de mantenimiento de este tipo de equipos.

Los métodos de tratamiento en los que predomina la aplicación de las fuerzas físicas son conocidos como operaciones unitarias. Aquellos en que la eliminación de los contaminantes se consigue mediante reacciones químicas o biológicas se conocen como procesos unitarios. En la actualidad, las operaciones y los procesos unitarios se agrupan para construir lo que se conoce como tratamientos primarios, secundarios y terciarios [60].

a) Tratamiento primario: consiste en la remoción de sólidos suspendidos y esto puede ser por medio de sedimentación, filtración, flotación, floculación y precipitación. Las principales unidades para esta fase son la fosa séptica, el tanque de Imhoff, sedimentadores primarios y coagulación.

b) Tratamientos secundarios: su finalidad es la remoción de material coloidal y en suspensión utilizando procesos biológicos aprovechando la acción de los microorganismos presentes en las aguas residuales, lo mismo que en su proceso de alimentación, degradan la materia orgánica, convirtiéndola en materia celular, productos inorgánicos o material inerte. Los microorganismos pueden ser aerobios (lodos activados, lagunas aireadas, lagunas de maduración, biodiscos, filtros percoladores, humedales artificiales, entre otros) y anaerobios (digestor anaerobio, digestor de contacto anaerobio, filtro anaerobio, lagunas anaerobias, entre otros).

c) Tratamiento terciario: es el grado de tratamiento necesario para alcanzar una calidad físico-química-biológica adecuada, de acuerdo al reúso que se le pretenda dar al agua residual tratada. Los principales sistemas de tratamientos de este tipo son por adsorción, intercambio iónico, ósmosis inversa, precipitación química, tratamiento de lodos, entre otros.

Los principales procesos de tratamiento para las aguas residuales son los físicos, químicos y biológicos [61].

Procesos físicos: se basan en las propiedades físicas que incluyen la separación de sólidos sedimentables presentes en las aguas residuales y su estabilización, la remoción de partículas flotantes, desechos sólidos (basura), entre otros.

Procesos químicos: consisten en la separación de las sustancias sedimentables, flotantes y disueltas mediante el uso de sustancias químicas. Un sistema utilizado en este proceso, es el uso de desinfectante para eliminar elementos patógenos existentes en el agua.

Procesos biológicos: para éstos proceso se utiliza la capacidad residual de ciertos microorganismos, para la degradación y mineralización de sustancias orgánicas presentes en las aguas residuales.

Los humedales se han utilizado exitosamente como tratamiento secundario y terciario. El potencial de los humedales en México es muy alto, ya que cuentan con el espacio, el clima, la luminosidad y la alta biodiversidad de especies y microorganismos, sin embargo, aún no se han utilizado a gran escala [62].

2.2.2. Humedales Construidos como alternativa de tratamiento de aguas residuales

Los humedales Construidos son sistemas inspirados en las funciones de los humedales naturales. Estos sistemas son monitoreados por determinado tiempo para verificar la concentración y remoción de los contaminantes. Consisten de canales con sustrato y plantas por donde el agua fluye, través de procesos biológicos, físicos, fisicoquímico, los contaminantes son removidos del agua [30].

Comparados con los sistemas convencionales de tratamiento, los humedales artificiales tienen varias ventajas, ya que son de menor costo de construcción y mantenimiento. Sin embargo, la desventaja, es que necesitan de un área de terreno mayor. Este tipo de sistemas han sido ampliamente utilizados en países desarrollo para el tratamiento de diversas fuentes puntuales de contaminación [30]. Sin embargo, en los países intertropicales en vías de desarrollo, los humedales construidos han sido menos utilizados, a pesar del potencial que tienen para resolver problemas de contaminación [63,64]. Por ejemplo, en México sólo existen 137 humedales construidos que tratan aguas residuales domésticas, es un verdadero reto por cumplir, puesto que un porcentaje de las industrias no trata sus aguas residuales, se vierten de manera ilegal a los cuerpos de aguas limpias [65]. Existen varios tipos de humedales como lo son, los humedales de flujo superficial, Humedales de flujo horizontal sub-superficial, Humedales de flujo vertical, y los humedales de flujo híbrido, de estos tipos de humedales que se han mencionado únicamente se están definidos dos, por lo que hablaremos de ellos.

2.2.2.1. Humedales Construidos de flujo superficial

Los humedales de flujo superficial consisten en balsas o canales paralelos con la superficie del agua expuesta a la atmósfera y el suelo constituido por una barrera relativamente impermeable y niveles de agua poco profundos (0.4 - 0.5 m), donde el tratamiento se produce durante la circulación del agua a través de tallos y raíces de la vegetación emergente [66]. Esta clase de humedales suelen incluir combinaciones de espacios abiertos y zonas vegetadas e islotes con la vegetación adecuada para proporcionar hábitat para algunas especies [67].

Se caracterizan por la presencia de invertebrados y en algunos casos peces, que ayuden a controlar la presencia de mosquitos [68].

En los humedales de flujo superficial, la profundidad de la capa externa de agua es un factor condicionante que afecta muchos parámetros dentro del ecosistema [69], por ejemplo:

- El pH tiende a subir a medida que nos acercamos a la superficie
- La intensidad luminosa es más elevada en la superficie
- La temperatura es más elevada en la superficie
- La presión de O₂ es más elevada en la parte superior
- La tensión de CO₂ tiende a subir a medida que nos acercamos al fondo
- Los sedimentos orgánicos e inorgánicos tienden a incrementarse al acercarnos al fondo.

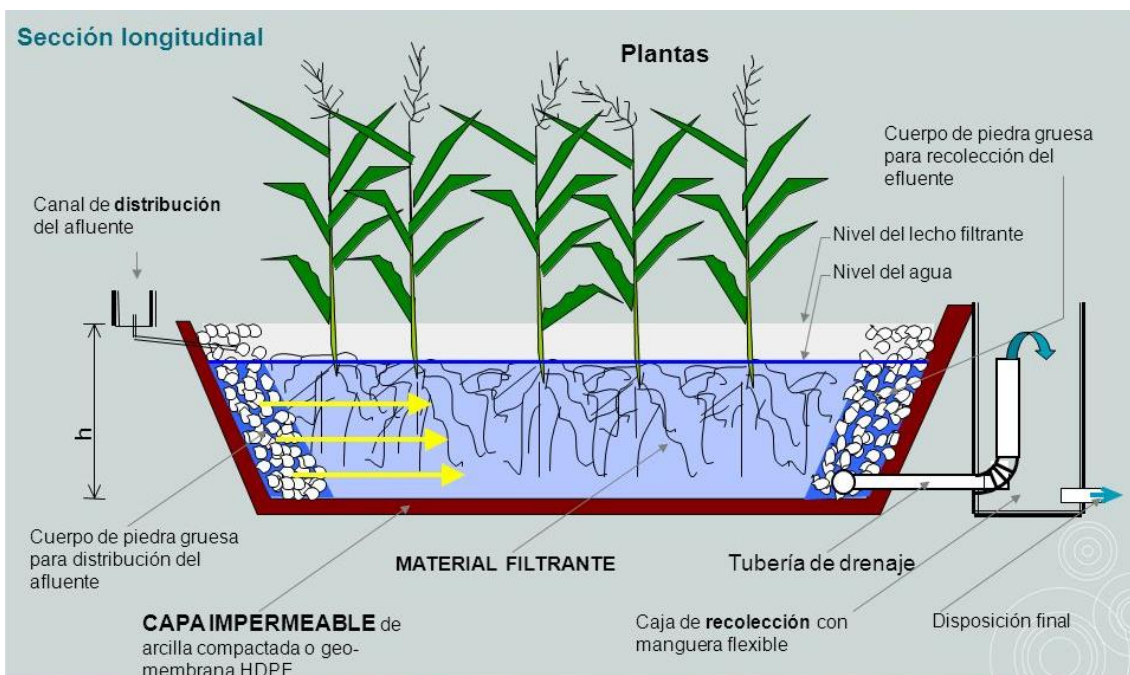


Figura 2.3 Humedal de flujo superficial
Fuente: Brix et al. 2009

2.2.2.2. Humedales Construidos de flujo Sub-superficial horizontal y vertical.

- **Humedales con flujo sub-superficial (FSS):**

En este tipo de humedal el flujo es libre, son estanques, celdas o canales en los que el caudal del agua tiene contacto con la intemperie y las plantas a emplear se encuentran en raizadas con el sustrato, el cual puede ser, piedra, arena, grava o en su defecto suelo como tal, normalmente este tipo de humedales se le aplica una capa de impermeabilizante, para evitar que los lixiviados del humedal afecten a los mantos freáticos. Las aguas residuales que se adhieren a este sistema de tratamiento son pre-tratadas, normalmente en su pretratamiento ya fueron filtradas. Este tipo de humedal puede ser construido de flujo horizontal sub-superficial, donde el medio poroso se mantiene [70].

- **Humedales con flujo sub-superficial (FSS-H):**

En los humedales de flujo sub-superficial horizontal (Fig. 2.4) el agua circula horizontalmente a través del sustrato de manera continua al ser aplicada en la parte superior de un extremo de las celdas y recogida por un tubo de drenaje en la parte inferior, favoreciendo las condiciones anaerobias al mantenerse el nivel del agua por debajo del sustrato [71, 72]. En los de flujo sub-superficial vertical (Figura 2.4) el agua circula verticalmente a través del sustrato de manera intermitente y en ellos se reciben las aguas residuales de arriba hacia abajo, a través de un sistema de tuberías de conducción de agua, favoreciendo la aireación y condiciones aerobias [72].

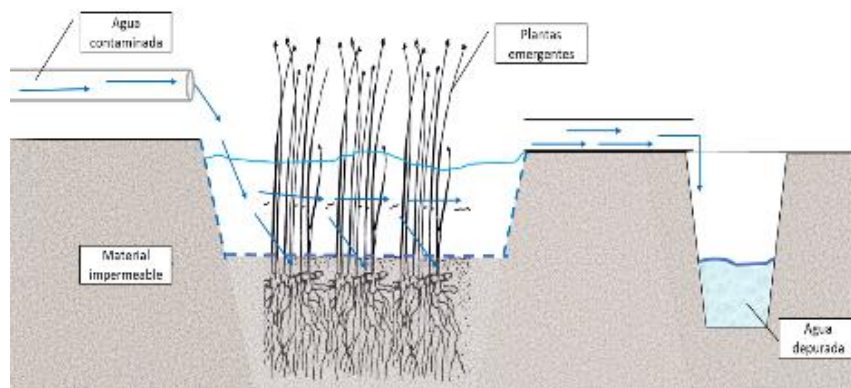


Figura 2.4 Esquema de Humedales con flujo sub-superficial (FSS-H)
Fuente: Morales Rodríguez, (xxxx)

- **Humedales Construidos de Híbridos**

Esto son sistemas que pueden estar formado por un tren de tratamiento que mezcla diferentes tipos de humedales construidos, en diferentes configuraciones de acuerdo al necesario para su operación y se usan para tratar aguas agresivas que te requieren más de un ciclo de tratamiento [73].

2.2.2.3. Vegetación usada en Humedales Construidos

La acción de purificar las aguas residuales mediante plantas ornamentales se denomina como biorremediación o Fito depuración por medio de plantas acuáticas o macrófitas llamadas, hidrolíticas o hidrofitas, que están adaptadas a medios acuosos o acuáticos, como lo son los lagos, mares, océanos, estanques, pantanos, estuarios, entre otros.

En los humedales artificiales se utilizan plantas superiores o macrófitas, este término está relacionado con un lenguaje científico, donde habla de las plantas que están adaptadas a medios acuáticos a simple vista, y también se incluye las plantas acuáticas vasculares, musgos, algas y helechos [74].

Las plantas utilizadas para los humedales construidos están debidamente adaptadas a estos medios, para poder desarrollarse y crecer en medios inundados, donde deben de realizar la función de transporte de oxígeno y nutrientes desde las raíces hasta las hojas, pasando por medio del tallo y el rizoma [75].

La utilización de plantas acuáticas del tipo macrófitas, este tipo de plantas ha desarrollado un tratamiento secundario o terciario alternativo de las aguas residuales, y ha resultado ser eficientes en la eliminación de grandes cantidades de sustancias orgánicas, así como nutrientes, metales pesados, solidos suspendido, y componentes que podrían encontrarse [76].

En este estudio se utilizarán las siguientes plantas emergentes:

4.7.1 *Canna hybrids*



Figura 2.5 Plantas de *Canna hybrids*

La figura 2.5, muestra a la *Canna hybrids* esa es una planta tropical que es fácil de cultivar y no muere fácilmente porque es resistente a condiciones adversas; incluso cuando se riegan con

agua altamente contaminada, se reproducen rápidamente y florecen durante todo el año. Se considera una planta invasora cuando crece en forma silvestre en cultivos controlados [31].

4.7.2 *Zantedeschia, aethiopica*



Figura 2.6 *Zantedeschia aethiopica* .
Fuente: Sang Ho. (2020)

La *Zantedeschia aethiopica* o cala de Etiopía, aro de Etiopía, lirio de agua, "cartucho" o "alcatraz" (Figura 2.6), es una planta herbácea vivaz, de origen sudafricano, que se cultiva como ornamental por sus vistosas flores de color blanco. Es una planta perenne, de la familia de las aráceas, la más robusta y ampliamente naturalizada del género *Zantedeschia*. De origen tropical, soporta sin embargo las heladas.

Alcanza los 150 cm de altura. Está dotada de un rizoma oblongo, de grandes dimensiones, con hojas basales, sagitadas y largamente pecioladas. Produce 2 o 3 flores por cada bulbo; las inflorescencias son simples, de 4 a 7 centímetros de alto, con un cáliz en forma de embudo y una espádice erecta. Son monoicas.

Rebrota cada año ofreciendo sus flores hacia la mitad de la primavera. Necesita mucha agua cuando está floreciendo, y más bien poco tras acabar la floración. Para acelerar el ciclo, la flor debe cortarse antes de producir semilla, posibilitando así que florezca nuevamente en el año. Es una planta de ornato abundante en las zonas anegadas de Piletas y que se explota en la región, por cooperativas de mujeres. El alcatraz tiene un precio aproximado de \$15 a \$20 por docena.

El utilizar este tipo de plantas, hará al sistema de tratamiento aún más atractivo ya que se obtendría un producto con un discreto valor agregado.

2.2.2.4. Microorganismo y su función en los Humedales Construidos

Las aguas residuales ya sean crudas o tratadas, presentan una gran variedad de microorganismos que habitan en ellas, entre los que encontramos aquellos que son patógenos al hombre y los que han sido utilizados anteriormente, como ejemplo están, los virus, bacterias, formas parasitarias, entre otros

También se encuentra a los organismos indicadores de contaminación fecal, como lo son las bacterias Coliformes y la E. coli. Este tipo de microorganismos se usan para los procesos de las lagunas de estabilización, estas bacterias permiten la biodegradación de la materia orgánica. [77]. También se encuentran las bacterias nitrificantes como lo son Nitrosomonas y Nitrobacter, estas bacterias son las encargadas de la nitrificación en las diferentes lagunas de estabilización.

En el tratamiento de los lodos activados, podemos encontrar algunas bacterias de diferentes géneros, como lo son Zoogloea, Nocardia u Shaerotillus, entre otras más, además de ciliados pedunculados y variedad de los mismos [77].

2.2.2.5. Uso y eficiencia de humedales construidos en el tratamiento de aguas residuales

Los humedales tienen tres funciones básicas que proporcionan un atractivo potencial para el tratamiento de aguas residuales, tales como:

1. Fijan los contaminantes en la superficie del suelo y la materia orgánica.
2. Utilizan y transforman los elementos por medio de los microorganismos.
3. Logran niveles de tratamiento consistentes con un bajo consumo de energía y mantenimiento, ya que el costo es menor que algunos procesos físicos y químicos.

Además de aguas residuales domésticas, los humedales artificiales son de utilidad para tratar drenajes mineros, lixiviados, escorrentía de aguas agrícolas y lluvias entre otros [12]. Los humedales pueden tratar con eficiencia niveles altos de Demanda Química de Oxígeno (DQO), fósforo (P) y nitrógeno (N).

2.2.2.6. Experiencias en el uso de humedales construidos a nivel mundial

A nivel mundial ya se han utilizado los humedales construidos como un método de remoción de contaminantes y se han obtenido resultados eficientes en diversos países desarrollados como Europa, Australia y USA [78,79].

En la tabla N.1 se muestra la utilización de los humedales construidos de flujo sub-superficial en diferentes países, en los que a nivel laboratorio y piloto se han obtenido eficiencias de remoción considerables como excelentes sistemas de tratamiento tanto primario como secundario.

Tabla 2.1. Uso de humedales sub-superficiales a nivel mundial.

Tipo de humedal	Planta	Lugar	Referencia
Subsuperficial	<i>Acorus calamus</i> , <i>Lobelia cardinalis</i> , <i>Pontederia cordata</i> .	Estados Unidos	Steer et al. [80]
Subsuperficial	<i>Typha</i> , <i>Scirpus</i> , y <i>Juncus</i> .	Estados Unidos	Hench et al. [78]
Subsuperficial	<i>Typha latifolia</i> , y <i>Scirpus lucostris</i> .	China	Ruan et al. [81]
Subsuperficial	<i>Scirpus validus</i> y <i>Iris pseudacorus</i> .	Estado Unidos	Hunter et al. [82]
Subsuperficial	<i>Cattail</i> , <i>Bulrush</i> y <i>Scirpus O.</i>	Estados Unidos	Gerba et al. [83]
Rangos de remoción			
DBO (30-45%) DQO (60-65%) NH ₃ -N (55-85%) N y P (53-70%) S.S. (67-83%) Coliformes (83-99%)			

La tabla 2.2 nos muestra los rangos de remoción obtenidos en diferentes países, utilizando como sistema de tratamiento a los humedales construidos de flujo superficial y con diferentes especies de plantas.

Tabla 2.2. Uso de humedales superficiales a nivel mundial

Tipo de humedal	Planta	Lugar	Referencia
------------------------	---------------	--------------	-------------------

superficial	<i>P. ncorhynchus.</i>	<i>Arundinacea</i> , Alemania	Schulz et al. [84]
Superficial	60 especies diferentes.	Australia	Greenway and Woolleyal, [68]
Superficial	<i>Schonoplectus californicus</i>	<i>acutus</i> California	Tullen et al. [85]
Superficial	<i>Typha latifolia</i> y <i>Salix atrocinerea</i>	España	Ansola et al. [86]
superficial	<i>Typha angustifolia</i>	Tailandia	Khatiwada y Polprasert [87]
Superficial	<i>Typha domingensis</i>	Honduras	Stewart [88]

Rangos de remoción

DBO (53-87%) (90-99.9%)	DQO(87-89%)	NH3-N (70-86%)	S.S. (66-77%)	Coliformes
----------------------------	-------------	----------------	----------------	------------

2.2.2.7. Experiencias en el uso de humedales construidos en México

A nivel nacional, en el centro de México también se han hecho experimentos a nivel laboratorio y piloto, utilizando los humedales construidos como alternativa de tratamiento secundario de aguas residuales domésticas [89].

La tabla 2.3 nos muestra los lugares en los que se han utilizado los humedales construidos como sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas y con el uso de diferentes tipos de plantas. En México la utilización de los humedales en su mayoría solo se ha llevado a cabo utilizando flujo sub-superficial.

Tabla 2.3. Uso de humedales a nivel nacional

Tipo de humedal	Planta	Lugar	Referencia
-----------------	--------	-------	------------

Subsuperficial	<i>Pragmite sp.</i>	Hidalgo	Ramírez <i>et al</i> , [89]
Subsuperficial	<i>Typha latifolia</i>	Yucatán.	Witney <i>et al</i> , [90]
Subsuperficial	<i>Typha spp, Bulrush, Alcatrúz.</i>	México.	Belmont <i>et al</i> , [91]
Subsuperficial	<i>Typha angustifolia</i>	Texcoco.	Thompson <i>et al</i> . [92]
Subsuperficial	Plantas emergentes, hidrofitas	Pachuca	Rivera <i>et al</i> , [93]

Rangos de remoción

DBO (51-80%) DQO(35-87%) NH3-N (15-50%) S.S. (70-90%) Coliformes (90-99%)

2.2.2.8. Conocimiento actual y sustratos usados en Humedales Construidos

Los mecanismos de eliminación de contaminantes presentes en aguas residuales, que se dan en los humedales naturales mediante procesos físicos, biológicos y químicos. [94] tiene sus fundamentos en los microorganismos bacterianos que se desarrolló en la parte radical y en los sustratos [95], el crecimiento bacteriano se lleva a cabo en zonas con presencia de oxígeno (Cerca de la raíz) conocida como aerobias donde se generan las actividades de los sistemas que liberan gases a la atmosfera que contribuye a las emisiones globales de gases de efecto invernadero por medio de procesos microbianos, los cuales necesitan la presencia de oxígeno, [96, 97, 98,68, 99, 100] y las que están en zonas lejanas de la región radical de las plantas empleadas en Humedales Construidos, donde se desarrollan baterías anaerobias [101, 102, 103] estos procesos permiten el crecimiento de comunidades microbianas en los sustratos de los Humedales Construidos, que son los mecanismos que mayor aportan la depuración de contaminantes en los Humedales Construidos (de 40 hasta 70% de la eliminación de contaminantes en los sistemas).

Se conoce muy poca información sobre los procesos bioquímicos (Sustrato-Microorganismo) que se dan en los Humedales Construidos [30], lo que convierte a la implementación de sustratos en Humedales Construidos en un avance en materia de conocimiento del desarrollo de funcionamiento microbiano de esto sistemas [104]. Inicialmente se pensaba que los sustratos solo cumplían la función de soporte de plantas, que si bien, es una de su función, no es la única que cumplen [105], la forma en que estos Humedales Construidos trabajan tiene similitud con

los procesos biológicos que se dan en la naturaleza y en los filtros utilizados en las plantas de tratamiento convencionales [106]. Los sustratos funcionan integrados al sistema Agua-Planta, creando condiciones que propicien la eliminación de contaminantes mediante, mecanismos de bioacumulación y/o biotransformación de los diferentes contaminantes presentes en diferentes tipos de aguas residuales tanto domesticas como industriales [107, 108, 12].

En la Tabla 2.3, se muestran los diferentes sustratos usados en diferentes estudios, en el cual podemos encontrar que los sustratos se han empleado desde origen pétreo, hasta plásticos reciclados.

Tabla 2.4. Tipos de sustratos utilizados en humedales Construidos de flujo subsuperficial.

Continente	Tipo de humedal artificial	de Sustrato	Remociones	Tipo de agua	de País	Referencia Bibliográfica
Latinoamerica	Subsuperficial	Granito	91% en los sistemas plantadas, en comparación con el 80% de los humedales sin plantar	Aguas domesticas	Colombia	Caselles-Osorio et al. [118]
	Subsuperficial	Tepezi, piedra porosa de rio	90% De materia organica	Agua domestica	México	Marín-Muniz, [119]
	Subsuperficial	Tezontle	80% materia orgánica	Aguas domesticas	México	Merino-Solís et al. [120]
	subsuperficial	Piedra de río y tepetzitntle	DBO5: 82.9%, 71.60% y 81.02%	Aguas domesticas	México	García-Gonzalez, [121]
	Subsuperficial	Arena limosa	73%	Aguas domesticas	México	Valles-Aragon, [122]
	subsuperficial	Piedra pómez y grava	DQO fue de 81%	Aguas domesticas	México	Reyes, [123]
	subsuperficial	Grava volcánica	P-PO4 removal (63-93%)	Agua domestica	México	Hernández et al. [124]

Hibrido	Grava		92,3% con flujo subsuperficial y 95,6% con flujo superficial	Aguas sinteticas	México	Agudelo et al. [125]
Subsuperficial	PET and Piedra porosa rio	de	DBQ 52-65%; N-NO3 44%; P-PO4 25-45%, FC 52-65%	Aguas domesticas	México	Sandoval et al. [31]
subsuperficial	Grava		78% eficiente	Aguas porcinas	Costa rica	de la esse, [126]
Subsuperficial	Suelo comercial		DBO5 del 93.89% y de la DQO del 84.98%	Aguas domesticas	Colombia	Cabrera et al, [127]
Subsuperficial	Arena		75-81%	Aguas domesticas	Colombia	Paredes-gilón. [128]
subsuperficial	Grava, arena		75.49% for BOD5, 83.51% for PO4, 88.48 % for NO3	Agua domestica	Estados Unidos	Arivoli et al. [129]
subsuperficial	Lechos de grava		66,7 y 69,7%	aguas domésticas	Colombia	Mosquera et al. [130]
superficial	Grava suelo	y	69% for sulfides and 71% for phenols	Aguas industriales	Venezuel a	Paz et al. [131]

Subsuperficial	Grava triturada	DBO5=86 %, NT=64 %, PT=68 %, G y A=60 %,	Domésticas	Colombia	Agudelo et al. [125]
Subsuperficial	Grava triturada	DBO5, DQO, SST, NT, PT(81.10 % y 95.44 %)	Domésticas	México	Acosta et al. [132]
Subsuperficial	Grava triturada	DBO5, DQO, SST, NT, PT(34-72 %)			
Subsuperficial	Grava triturada	84% de DQO	Sintéticas	Colombia	González et al. [133]
Subsuperficial	Grava triturada	9,1% (COD), 56,5% (NTK), 61,7% (NH x), 64,3% (TP) y 55,0% (K).	Porcinas	Brasil	Sarmiento et al. [134]
Subsuperficial	Piedra pómez y grava triturada	y DQO fue de 81%	Domésticas	México	Reyes, [123]
Subsuperficial	Tezontle	DQO 84,2%; HRT1, 85,6%; HRT2 81,7%	Domésticas	México	Merino-solís et al. [120]
Subsuperficial	Grava triturada	Ph 6.5-7.2,CTL 99,7%	Sintéticas	Colombia	Rios-montes, [135]

	Subsuperficial	Arena limosa	Arsénico 92-81%	Domésticas	México	Valles-aragon, [122]
	Subsuperficial	Grava triturada	P-PO4 63-93%	Doméstica	México	Hernández et al. [136]
Norteameric a	subsuperficial	Estiércol de cabra en polvo, virutas de madera y suelo	Fe de 84,22 a 84,84%; para Cu 78,19-94,18%; Zn 78,45 a 79,12%; Pb 89,24-93,12%; Co 62.65 a la 76.67% de los; Ni 45,27 a 76,46%; Mn 44,28 a 53,77%.	Aguas domésticas	Estados Unidos	Sheoran, [137]
	Subsuperficial	Grava triturada, arena	75.49% for BOD5, 83.51% for PO4, 88.48 % for NO3	Doméstica	Estados Unidos	Arivoli et al. [129]
	Superficial	Grava	0%, 65% y 72% para SS; 65%, 64% y 62% para DBO5; 50%, 45% y 1947% para COD; 29%, 34% y 37% para TOC	Domésticas	Turquía	Ayaz, [138]

Europa	Subsuperficial	Grava triturada, perlita	Cu2 99%, Cu 90%	Domesticas	Inglaterra	Marchand et al. [139]
	Subsuperficial	Lecho fue un sustrato de arcilla expandida	92%	Agua domestica	Portugal	Calheiros, et al. [140]
	subsuperficial	Grava	Rendimientos satisfactorios	Aguas domesticas	España	Sanz et al. [141]
AFRICA	Subsuperficial	Grava triturada	33,33, 85,71, y 92,48% de nitrato / nitrito; 53,51, 46,45, y 88,78% de sulfato; y 98,34, 99,72, y 99,6% de TSS	Domésticas	Nigeria	Badejo et al. [103]
	subsuperficial	Granito	96.6, 96.93, y 97.21% D materia <u>orgánica</u>	Aguas domesticas	Nigeria	Badejo et al. [103]
	Subsuperficial	poliedro de polipropileno huecos	0,38 g DQO / m ² días, 1,34 g de NH ₄ -N / m ² días, 1,04 g TN / m ² días, 0,07 g de SRP /	Agua domestica	china	Tang et al. [142]

			m ² día y 0,07 g / TP m ²			
ASIA	Subsuperficial	oyster shell, zeolite, medical stone and ceramic	Antibióticos 17.9 a 98.5 %; ARGS 50.0 a 85.8 %	Domésticas	China	Chen et al. [143]
	Subsuperficial	Grava triturada	COD: 85; TN: 45.3–57.9; NH4: 86.5– 92.7	Sintéticas	China	Chen et al. [144]
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 66.4–76.5; NH4: 58.7– 68.9; TP: 45.7–61.7	Lago	China	Li et al. [145]
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 66.4–76.5; NH4: 58.7– 68.9; TP: 45.7–61.7	Río	China	Zhao et al. [146]
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 90.1; NH4: 86.3; TP: 72.1	Lago	China	White et al.[147]
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 50.4; NH4: 100	Río	China	Sun et al. [148]
	Subsuperficial	Plástico	TN: 76.94; NH4: 93.50 (removal)	Sintética	China	Cao [149]

			rates for batch experiment and rice straw substratum)			
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 90.8; NH4: 96.7; TP: 76.5	Río	China	Zhou et al. [150]
	Subsuperficial	Piedra de río	TN: 91.3; NH4: 94.6; TP: 58	Río	China	Xie et al. [150]

De acuerdo a los reporte literarios se ha encontrado que los sustratos mayormente usados en Humedales Construidos, son : arena, grava, sedimentos [109, 110, 111, 112] los cuales generan la eliminación de precipitación y adsorción, incluyendo piedra caliza, pizarra, wollastonita, zeolita, calcita [113, 114, 110], cuya característica indispensable es la permeabilidad, que permita el paso del agua residual a través de ellos. [72]. Aunque exista mayor implementación de grava y arena en humedales construidos el tezontle muestra mejores resultados con respecto de la grava debido a su alta porosidad (Tabla 2), la cual no se ha estudiado adecuadamente [115]. Aunque también sean implementados materiales alternativos como el ladrillo y la concha de ostra como innovación en materia de sustratos en Humedales Construidos [116], Los sustratos independientemente de su origen deben de contar con las siguientes características:

Permite el crecimiento de organismos vivientes en el Humedales Construidos.

Permeabilidad

Diámetros de 5 mm aproximadamente y con poros finos

Consiguiendo de manera indirecta, la eliminación de contaminantes por medio del soporte de la vegetación y microorganismos que colonizan los sustratos, que llevan a cabo la degradación de contaminantes de aguas residuales [72].

La información encontrada, demuestra que los humedales construidos funcionan mediante cuatro elementos fundamentales: agua contaminada (de diferentes procedencias), vegetación, microorganismos y sustrato siendo este el último el que juega el papel principal dentro del

proceso de biorremediación, debido a que permite la formación de bacterias en ellos [117], que es el principal mecanismo de eliminación de contaminantes en aguas contaminadas en Humedales Construidos. En este orden de ideas, los microorganismos realizan la depuración del agua residual por medio de procesos bioquímicos; los principales microorganismos que se encuentran presentes en la formación de biopelículas bacterias en sustratos de los Humedales Construidos, algunos microorganismos reportados son: bacterias, levaduras, hongos y protozoarios, dando lugar a que la biomasa microbiana, que a su vez permite el consumo de carbono y otros nutrientes, presentes en las aguas y su principal función es la transformación de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas e insolubles y alterar las condiciones de potencial de reducción y oxidación [151]. Por consiguiente, gracias a los procesos bioquímicos muchos de los contaminantes encontrados en las aguas residuales se convierten en gases que son liberados a la atmósfera [72], lo que convierte a la elección de sustratos a usar en Humedales Construidos, en dependientes de características como el tamaño granular ya que afecta directamente al flujo hidráulico y al caudal generado por el agua residual contaminada [72]. Es por ello que los sustratos más utilizados en Humedales Construidos, se muestran en la Figura 2.7, poseen características que atienden estos requerimientos.

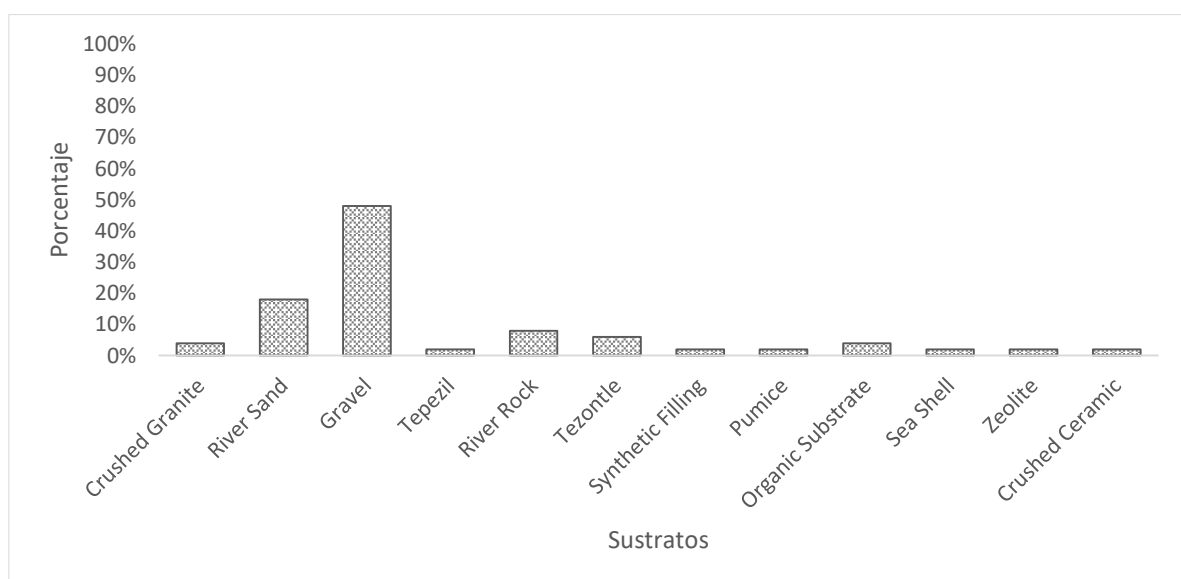


Figura 2.7. Sustratos usados en humedales construidos de acuerdo a los estudios revisados

Estos sustratos (Figura 2.7), encontrando los más usados son: grava, arena, tezontle y piedra de ríos, estos a su vez, han demostrado su eficiencia en la eliminación de contaminantes, de acuerdo los resultados de diversos estudios (Tabla 1), los sustratos en sus mecanismos de eliminación de contaminantes (Intercambio iónico, adsorción, precipitación y complejación), pueden variar por agentes como la carga de contaminantes y carga hidráulica y disminuir su eficiencia a largo plazo [32, 152]. Sin embargo, los sustratos han demostrado favorecer la eliminación de fósforo, en condiciones de combinación de diferentes medios, mezclas suelos, gravas y algunos

materiales de origen metálico como excorias, que han demostrado en conjunto ser mayormente eficiente que los sustratos convencionales (Tabla 1) en la eliminación de fosforo en rangos superiores a los reportados de 17 a 78% superiores a los sustratos convencionales [32, 153]. Otros sustratos (Figura 3), como cerámicas, piedra pómez son eficiente a la eliminación de contaminantes como el fosforo (Tabla 1), pero son costosos para ser implementados a gran escala.

2.2.3. Tratamiento de aguas residuales con Humedales Construidos con Fines de Producción de Bio-Energía

En el mundo, lograr la sustentabilidad de las comunidades representa grandes retos en materia de aguas residuales, pero debido a la mayor concienciación actual del elevado ritmo de consumo de energía y grado de contaminación asociado, se ha incrementado la investigación de energías con diferentes tecnologías, una alternativa potencialmente interesante son la generación de electricidad que puede ser almacenada o utilizada, gracias al aprovechamiento de la actividad de una fuente biológica [154]. Una de las energías alternativas es la que se produce por el aprovechamiento del metabolismo realizado por microorganismos, al utilizar los desechos de biomasa como materia prima, transformándola en energía eléctrica, para ser utilizada por el hombre [155].

El tratamiento de aguas residuales bioelectroquímicas apareció recientemente como una tecnología prometedora [156] que utiliza Residuos orgánicos para producir electricidad, de acuerdo con los fundamentos del combustible microbiano o para obtener productos valiosos, como H₂. Uso de microorganismos electroquímicamente activos que son capaz de oxidar la materia orgánica para generar electrones, protones y otros productos metabólico [157]. La materia orgánica es oxidada por microorganismos bajo condiciones anaeróbicas, y producen extracelular transferencia de electrones a un electrodo (ánodo) mientras están eliminando los contaminantes orgánicos en las aguas residuales [158].

La celda combustible es una generación de nuevas tecnologías emergente que tiene la capacidad de transformar la materia orgánica presente en las aguas servidas en energía por la acción de microorganismos electrogénicos. Estos sistemas se han integrado a humedales construidos para dar tratamiento a las aguas servidas y generar simultáneamente energía eléctrica [159].

2.2.3.1. Barreras Económicas para la Bioenergía en México

De acuerdo a De San Miguel & Jorge [160] y Jorge [161]) las principales barreras económicas en la bioenergía en México son:

Precios de los energéticos que no reflejan todos sus costos.

La rentabilidad es reducida en proyectos realizados en esos sectores.

Limitada capacidad económica de los usuarios en sector rural. Altos costos de transacción para los proyectos de energía renovable.

Ausencia de incentivos fiscales o subsidios para el fomento de la bioenergía y de energías renovables en general.

En México no existen incentivos o subsidios específicos para promover el aprovechamiento de la bioenergía

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

3.1. Descripción de la Zona de estudio

El lugar donde se realizó el estudio es en el Instituto Tecnológico Superior de Misantla, ubicado en el municipio de Misantla, ubicada en la zona centro-norte montañosa del estado de Veracruz, México ($19^{\circ} 56'N$ y $96^{\circ} 51'O$) (Fig. 3.1).

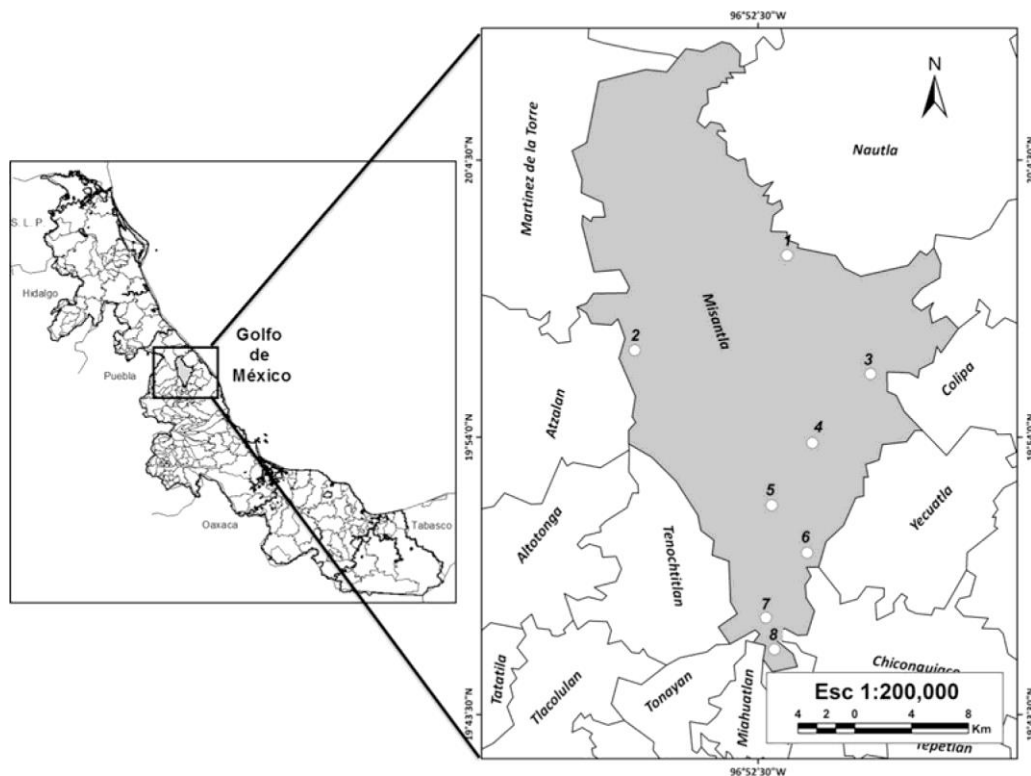


Figura 3.1 Ubicación geográfica del Municipio de Misantla
Fuente: Rodríguez-Macedo et al (2014)

El clima en la zona se clasifica como: semicálido húmedo con lluvias todo el año (45%), cálido húmedo con lluvias todo el año (38%) y cálido húmedo con abundantes lluvias en verano (17%); presentándose temperaturas más altas en el mes de junio y más bajas en el mes de enero, con una temperatura ambiente varía generalmente entre los 15 y 30 °C. La altitud del área es entre

309 y 400 msnm, la precipitación promedio anual se registra entre 1,900–2,100 mm (INEGI, 2017).

3.2. Descripción del sistema de Humedales Construidos

Nueve unidades experimentales a nivel mesocosmos, fueron construidos en unidades cilíndricas de polietileno de alta densidad y alto peso molecular, recicladas de pintura con un volumen de 19 L, que imitan el funcionamiento de un sistema de humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturado, el nivel del agua en todos los sistemas se mantuvo 16 cm. por debajo de la superficie del sustrato generando una zona de saturación constante (anóxica/anaerobia) y los 16 cm. restantes fueron de zona libre de drenaje (Figura. 3.2).

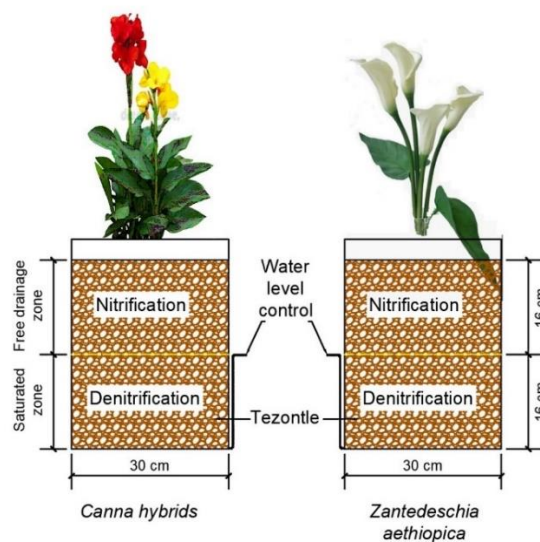


Figura 3.2 Configuración del sistema de humedales construidos verticales parcialmente saturados .
Fuente: Elaboración Propia (2019)

El sustrato empleado fue tezontle de diámetro de 1 a 3.5 mm. con una porosidad de 0.53 y con mayor superficie de contacto que una roca basáltica, aunque tiene los mismos componentes químicos [162], este es un material inerte que no tiene sustancias tóxicas y estable físicamente, su pH es cercano al neutro [163], y se encuentra con facilidad en la zona de estudio.

Los mesocosmos fueron alimentados de forma intermitente con 160 ml. cada 2 horas. Las plantas de climas tropicales ornamentales empleadas *Canna hybrids*, y *Zantedeschia aethiopica*, que se adquisición fue en su estado natural en la zona donde se estableció el experimento en rangos de 15 a 20 cm de altura. Tres mesocosmos HC-VPS fueron plantados con *Canna hybrids* y tres con *Zantedeschia aethiopica*, y tres unidades rellenas del mismo sustrato se emplearon como controles sin vegetación. El sistema se alimentó por dos semanas con agua limpia y durante las tres semanas posteriores se dosificó la concentración de aguas residuales hasta el 15 de enero 2019, donde se inició su alimentación con el 100% de aguas residuales directamente.

3.3. Desarrollo Vegetal en Humedales Construidos

Con el objetivo de conocer la influencia de diferentes parámetros en el desarrollo vegetal y la producción de energía verde, cuando las plantas estuvieron bien establecidas en cada mesocosmos, se midieron el número de hijuelos, largo de la flor, largo de las hojas, ancho de las hojas, grosor del tallo y altura de la planta, a los 60, 120 y 180 días, con una cinta métrica también se midió la producción de flores cada mes durante el periodo de estudio.

3.4. Producción de Biomasa vegetal en Humedales Construidos

Una vez culminado el experimento las plantas ($N_{\text{total}}= 12$ de *Canna hybrids.*, y 6 *Zantedeschumedaes construidos a aethumedaes construidos opica*) fueron sacrificadas para determinar la biomasa aérea y subterránea por lo cual se separó la planta de su raíz, estas se lavaron y se secaron a la intemperie por 48 horas, más tarde colocaron en freezer durante 48h, su peso seco se mantuvo colocándolos en estufa a 10 °C durante 72 horas para obtener su peso constante. Cada individuo fue pesado en la balanza digital (Shumedaes construidos madzu AUW-220D) para obtener los valores de biomasa producidos.

3.5. Materiales empleados como ánodo y cátodo de la Biopila

Los materiales empleados como ánodo y el cátodo, se emplearán carbón activado artesanalmente en placas circulares de 3 cm de espesor y un diámetro de 40 cm, estos estarán conectados a cables de cobre de 2 milímetros que a su vez estarán regulados por una resistencia que permitirá estabilizar los voltajes, la energía producida será almacenados en una pila para su aprovechamiento, estos estarán configurados como en capas.

3.6. Monitoreo del Sistema de Humedales Construidos

Después de estabilizar el sistema de humedales durante un periodo de 4 semanas, se monitorearon los parámetros de calidad del agua fisicoquímicos (Tabla 3.1) tanto en la entrada como en las salidas de los mesocosmos del 15 de enero al 15 de julio de 2019, cada 15 días mediante métodos estándar para análisis de aguas residuales. [32]

Tabla 3.1 Métodos físicos y químicos utilizados en la medición de parámetros de calidad de agua en los mesocosmos HC-VPS.

Parámetro	Método de medición	Referencia
-----------	--------------------	------------

Oxígeno Disuelto (OD)	Electrodo	APHA [164]
Temperatura del agua (°C)	Termómetro	APHA [164]
pH	Electrodo	APHA [164]
Fosforo total (TP)	Colorimetría	APHA [164]
Demanda química de oxígeno (DQO)	Digestión por ácidos clorhídrico	APHA [164]
Nitrógeno amoniacal (NH ₄ ⁺ -N)	Kjeldhal	APHA [164]
Nitratos (NO ₃ -N)	Colorimetría	APHA [164]
Nitrógeno total Kjeldhal (TNK)	Kjeldhal	APHA [164]

3.6.1. Medición de Voltaje – Corriente – Potencia en la Biopila a base de Humedales Construidos

Tabla 3.2. Medición de producción de bioelectricidad en Biopila

Parámetro	Medición	Equipo
Voltaje (mV)	Cada 15 días	Voltímetro
Corriente (mA/m ²)	Cada 15 días	Amperímetro
Potencial (mW/m ²)	Cada 15 días	Watorímetro

3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Los datos de crecimiento de vegetación fueron comparados estadísticamente con respecto al sustrato y al tipo de vegetación mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Se empleó un diseño de dos factores completamente al azar, el factor el ánodo de carbono activado, cátodo de carbón activado y el factor dos se definió con la especie de planta con sus respectivos controles. Las variables de respuesta fueron los valores medidos de DQO, NTK (NT y Norg), N-NH₄, y PT, OD, pH, Temperatura del agua, y en cuanto a la adaptación de las diferentes variedades, se midió el desarrollo vegetal. Los resultados obtenidos de la eliminación de contaminantes, se analizaron con prueba de varianza mediante la prueba de Dunnett. Se establecieron como hipótesis nula la igualdad de las medias entre controles y sistemas de vegetación, con un intervalo de confianza del 95% como requisito estadístico de dicha prueba. Se desarrolló la prueba de independencia de los datos, haciendo referencia a X^2 , prueba de varianza de Bartlett ^[34] en Software Estadístico R versión 3.6 y RStudio 1.1.4.

CAPÍTULO 4.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Desarrollo Vegetal

La *Canna hybrids.*, alcanzo al final del experimento un valor de 90 ± 10 cm de altura (Figura. 4.1-d), con un diámetro del tallo de $3 \text{ cm} \pm 0.5\text{cm}$, estos valores son similares a los reportados para diversas variedades de *Canna spp.*, en campos agrícolas experimentales en condiciones óptimas de cultivo [165].

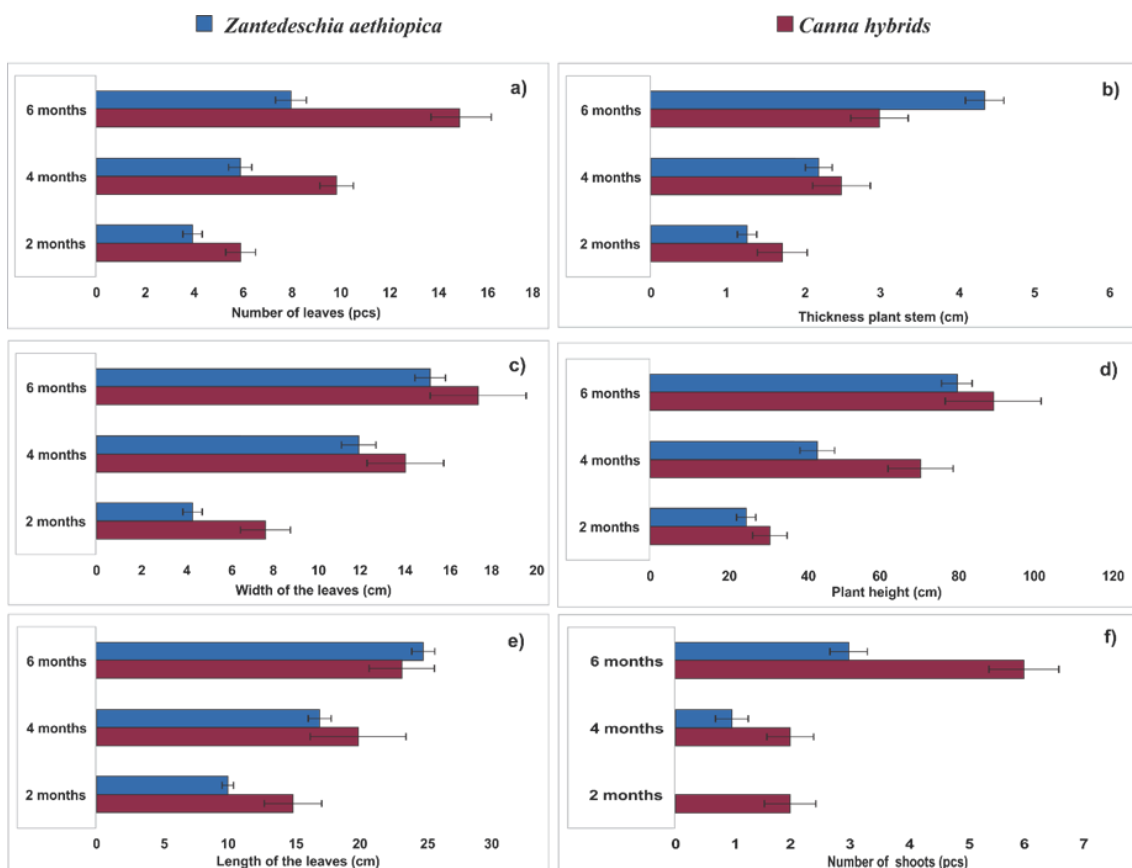


Figura 4.1. Desarrollo vegetal

Para *Zantedeschia aethiopica.*, la altura promedio fue de $80 \text{ cm} \pm 5$ (Figura. 4.1-d) cm con un diámetro de tallo de $4.4 \pm 0.5 \text{ cm}$., estos valores son similares y congruentes con los reportados por Cruz-Castillo & Torres-Lima [166] en cultivos de esta especie en zonas productoras dentro

del mismo estado de Veracruz, donde se desarrolló este estudio. Por otra parte, la relación entre la altura de la tasa de crecimiento de *Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica.*, (Figura. 4.1) muestra una tendencia lineal con valores para de 0.4166 cm/día ($R^2=0.9631$) y de 0.388 cm/día ($R^2= 0.9146$) para cada especie respectivamente, la información es congruente para el cultivo de esta misma especie en otros sistemas de HC reportados por otros autores [165, 166]. En cuanto al valor de área foliar se estimó aplicando la ecuación propuesta por Kato et al. [167], $Y=0.704X$, donde Y es el área foliar y X es el producto de la longitud por el ancho de la hoja (Figura. 4.1-a-c-e), encontrando que el área foliar para *Canna hybrids.*, fue de 475, 1971 y 4128 cm² mientras que para y *Zantedeschia aethiopica.*, fue de 112, 861 y 2112 cm² para 2, 4 y 6 meses respectivamente. El comportamiento del área foliar con respecto al tiempo presento un ajuste lineal con un valor de R^2 de 0.9892 para *Canna hybrids.*, y de 0.9795 para *Zantedeschia aethiopica.*, los valores encontrados son inferiores a los reportados en cultivos agrícolas de esta especie [168].

Tabla 4.1 Producción de flores

Planta	Largo de la flor (cm)	Número de Flores
<i>Canna hybrids</i>	9.3±0.8	60.6±12.3
<i>Zantedeschia aethiopica</i>	13.67±0.7	2.3±0.8

Los valores se dan como el \pm error medias de la normal (n= 18)

Los datos de *Canna hybrids.*, encuentran a la producción de flores se muestran la tabla 3, muestra un comportamiento similar a los reportado por Zamora-Castro et al. [169] y Cui et al. [170], que reporta la producción de flores *Canna indica* planta de la misma familia de la *Canna hybrids*, sin encuentra diferencias significativas ($P>0.05$) entre los datos reportados en estos estudios. El largo de la flor de *Z. aethiopica* alcanzo valores de 13.67 cm similares a los reportados en literatura para plantas cultivadas en campo agrícola experimental cm (14cm), durante el mismo periodo de tiempo (Figura. 4.1), mientras que el número de flores por planta fue de 2.3 (Tabla 4.1), lo cual está dentro del intervalo de flores producidas por esta planta que se reportan de 3 a 5 por año, aplicando composta al cultivo [166]. Este comportamiento de producción mayor de flores y menos tiempo, pudo deberse a la presencia de nutrientes constante en las aguas residuales, y la alta eliminación de fosforo que se reportó en este estudio (Tabla 4.3). La producción de hijuelos (Figura. 4.1-f) dan como resultado que *Canna hybrids* logró

producir más hijuelos que *Zantedeschia aethiopica*, lo anterior se pudo deber a que *Canna hybrids* es una planta de reproducción promiscua.

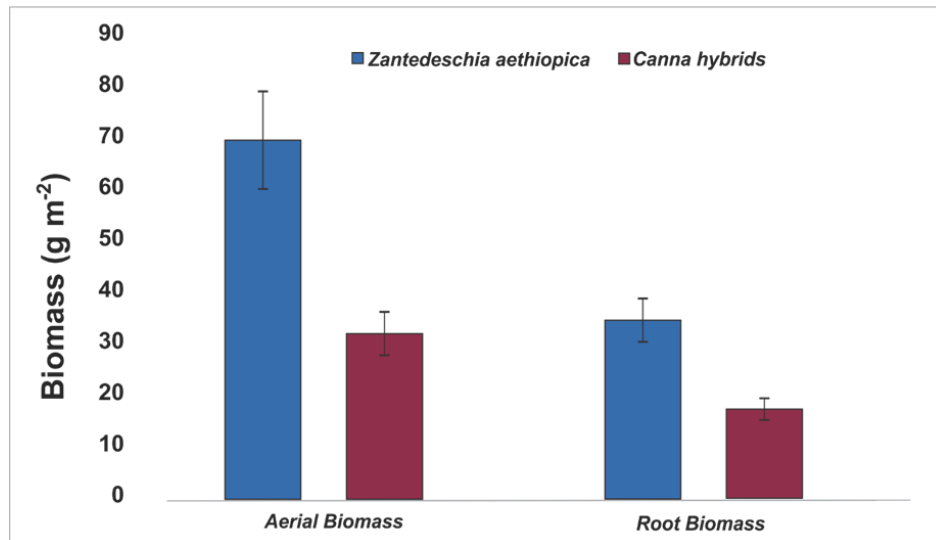


Figura 4.2. Medias de biomasa aérea y subterránea de *Canna hybrids*, y *Z. aethiopica*, en HC verticales parcialmente saturados. Las barras del error muestran \pm el error estándar de la media.

En cuanto a la producción de biomasa de la *Canna hybrids*., fue rápida en HC verticales parcialmente saturados, esta especie es adecuada para usarse en HC, a que su rápido crecimiento (Figura. 4.1), y su efecto positivo en la eliminación de contaminantes específicos (Tabla 4.3), aunque no es una planta típica de humedales naturales, favorezca la eliminación contaminante de los sistemas. La Figura 4.2, muestra la biomasa producida al final del periodo de estudio, la materia seca obtenida para ambas especies mostro una relación de la biomasa de raíz a biomasa aérea de aproximadamente 60:40, similar a la reportada para cultivo en tierra de *Z. aethiopica* (60/40) [168]. Lo anterior indica que los HC verticales parcialmente saturados puede ser un medio de cultivo adecuado para este tipo de plantas permitiendo su aprovechamiento con fines comerciales y/o estéticos en los sistemas HC, al parecer las condiciones parcialmente saturadas de los HC, favorecieron el desarrollo de estas dos especies teniendo en cuenta que su funcionamiento es más similar al que puedan presentar éstas en su forma de cultivo natural.

La información encontrada en este estudio sobre el desarrollo de las plantas y producción de biomasa HC verticales parcialmente saturados, muestran un crecimiento robusto y vigoroso, así como una floración similar al presentado en ejemplares cultivados en humedales verticales [171] o con fines comerciales [160], lo cual sugiere que el sistema genera condiciones de salud nutricional para sostener el crecimiento y floración de ambas especies [31], por otra parte los resultados de desarrollo vegetal y producción de biomasa nos indica que las condiciones de operación de los HC-VPS favorecen el mayor desarrollo de las plantas y promueve un ambiente

de crecimiento más similar al que ellas se pueden ver enfrentadas en condiciones naturales de desarrollo, esto puede múltiples funciones de la vegetación en los sistemas como fitoremediadoras y como plantas de ornato que armonicen el paisaje donde se deseen implementar para el tratamiento de aguas residuales y su uso a gran escala pueden ser con fines de comercializan de este tipo de plantas exóticas que se desarrollan en climas tropicales e inter tropicales.

4.2. Análisis del agua en la entrada y salida de los Sistemas de Humedales Construidos

La temperatura óptima para eliminar contaminantes de diferentes tipos en humedales construidos es superior a 15°C; [45] en este estudio la temperatura promedio en la entrada y salida de los sistemas se muestra en la tabla 4. Se encontró una disminución significativa después de pasar por los mesocosmos ($p < 0.05$) en promedio en 4 °C, lo que pudo deberse al tiempo de retención hidráulica que se empleó en este estudio de acuerdo a Akrotos y Tsihrintzis [172].

Tabla 4.2. Parámetros de control en sistema en la entrada sólido de los HC-VPS.

Parámetro	Influyente	<i>Zantedeschia</i>		
		<i>Canna indica</i> + TZN	<i>aethiopica</i> TZN	+ Control TZN
Temperatura del agua (°C)	24.6±2.3	18.3±2.4	17.9±1.4	19.1±1.2
O ₂ (mgL ⁻¹)	1.2±0.78	8.9±0.3	7.2±0.2	4.8±0.4
pH	8.0±0.32	7.4±0.4	7.7±0.2	7.05±0.6

Values are given as the average ± standard error (n= 24)

O₂ oxígeno disuelto; TZN, Tezontle.

De acuerdo a Alemu et al. [172], el pH óptimo para favorecer la remoción de contaminantes se encuentra en rangos 6.5 – 8.5; los datos reportados en este estudio se encuentran en estos rangos (Tabla 4.2). Por otra parte, en su comportamiento se mostró un incremento significativo después del tratamiento con los mesocosmos (Tabla 4.2), ($p < 0.05$). Este comportamiento puede explicarse por la capacidad que tiene los HC, para mantener valores aproximadamente

constantes (buffer) [173, 174]. En relación al OD, los HC verticales parcialmente saturados, facilitan la difusión de oxígeno en las zonas de drenaje libre (Figura. 3.1). En los HC de este estudio la presencia de oxígeno disuelto (OD) fue alta (Tabla 4.2), lo que indica condiciones aerobias en la zona de drenaje libre en los sistemas. ^[13] Los sistemas con presencia de vegetación presentaron incrementos significativos ($p < 0.05$) con relación a los sistemas sin vegetación (Tabla 4.2), esto pudo deberse a la liberación de oxígeno en la zona radical; sin embargo, este suministro es muy bajo y se pudo consumir rápidamente en la rizosfera por los microorganismos aerobios ^[50], pero las condiciones parciales de saturación del sistema mejoran esta disponibilidad en el sistema.

4.2.1. Eliminación de DQO en HC-VPS

La DQO es uno de los principales parámetros que se emplean para medir el contenido de materia orgánica en aguas residuales y hacen referencia a la capacidad de las aguas para agotar el oxígeno disuelto presenten en ellas. ^[51] La Tabla 4.3, muestra la remoción de DQO, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre sistemas plantados con *Canna hybrid.*, *Zantedeschia aethiopica.*, y sin vegetación durante el periodo de estudio, aunque estos resultados son congruentes con otros estudios que no han encontrado diferencias significativas entre sistemas con y sin vegetación; ^[52] sin embargo, las concentraciones de DQO han sido más bajas y los promedios de eliminación de DQO en HC convencionales que usan plantas ornamentales como la *Canna hybrid.*, y *Zantedeschia aethiopica.*, se encuentran en rangos de 40 a 70% de remoción, en concentraciones de influente de 120 a 350 mg/L [175], mientras que en este estudio empleando estas mismas plantas en un novedoso sistema de HC parcialmente saturado (Tabla 4.3), la DQO se encontró en rangos superiores de concentración (517 a 584 mg/L), lo anterior nos permite considerar que la eficiencia de los sistemas parcialmente saturados en la eliminación de este tipo de contaminantes se incrementó hasta 10 a 27%, en relación a sistemas de HC de flujo vertical tradicionales tanto en sistemas con o sin vegetación en concentraciones altas de DQO.

4.2.2. Eliminación de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en HC-VPS

Es conocida la capacidad de los HC para realizar procesos de nitrificación, pero en condiciones de saturación total se ve afectada por la poca presencia de oxígeno y por ende, de microorganismos aerobios (nitrificantes) que puedan oxidar el nitrógeno amoniacal. En este estudio las condiciones parcialmente saturadas con presencia en los sistemas de vegetación favorecieron la eliminación de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, en relación a los controles sin vegetación (Tabla 4.3), a pesar que en los mesocosmos con presencia de vegetación se eliminó mayor mente $\text{NH}_4^+\text{-N}$,

existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los sistemas plantados con *Canna hybrids* y *Zantedeschia aethiopica*, pero también entre estas y los controles sin vegetación, aunque las remociones encontradas en este estudio son superiores a las reportadas por Zurita & White [63] en HC de flujo vertical tradicionales plantados con *Zantedeschia aethiopica*, y superiores a los reportados por Zamora et al. [42] en HC de flujo vertical que usaron *Canna hybrids* y sustrato de tezontle (62.7 en sistemas con vegetación y 18.5 en sistemas sin degradación), al parecer los mecanismos de eliminación que se dieron en este estudio se deben a dos condiciones; una la absorción en el sustrato y la segunda la asimilación por parte de las plantas, por lo cual, sin importar la presencia o ausencia de vegetación en los mesocosmos los HC verticales parcialmente saturados demuestran eliminaciones mayores de amonio que en otros sistemas convencionales de HC-VPS, hasta en un 15% en sistemas con vegetación y 12% en sistemas sin vegetación, la alta remoción también pudo tener lugar debido a la mayor presencia de oxígeno en los sistemas (Tabla 4.1), que favoreció el proceso de nitrificación al usar el oxígeno las bacterias para desarrollar este proceso.

Tabla 4.3. Parámetros de calidad de agua en influente y efluentes y su remoción de contaminantes en los mesocosmos.

Parámetros	<i>Canna</i>	<i>Zantedeschia</i>	Control
	<i>hybrids</i>	+ <i>aethiopica</i>	
	TZN	TZN	TZN
DQO (mgL^{-1})			
Concentración en influente (mgL^{-1})	550.7±33.6	550.7±33.6	550.7±33.6
Concentración en efluente (mgL^{-1})	16.4±14.6	14.62±11.4	17.6±11.6
Eficiencia de eliminación (%)	97.07±2.72	97.47±1.92	96.92±1.92
N-NH₄⁺ (mgL^{-1})			
Concentración en Influyente (mgL^{-1})	75.8±21.7	75.8±21.7	75.8±21.7

Concentración en efluente (mgL ⁻¹)	26.7±12.6	33.5±16.3	52.4±14.7
Eficiencia de eliminación (%)	72.52±0.11	58.57±9.64	30.75±0.43
<hr/>			
N-NO ₃ (mgL ⁻¹)			
Concentración en influente (mgL ⁻¹)	5.7±2.4	5.7±2.4	5.7±2.4
Concentración en efluente (mgL ⁻¹)	1.1±0.9	1.3±1.1	0.3±0.2
Eficiencia de eliminación (%)	84.62±9.32	82.44±9.5	94.40±1.57
<hr/>			
Norg (mgL ⁻¹)			
Concentración en influente (mgL ⁻¹)	8.3±1.7	8.3±1.7	8.3±1.7
Concentración en influente (mgL ⁻¹)	2.1±1.5	2.7±2.1	3.6±1.4
Eficiencia de eliminación (%)	77.46±13.46	71.38±19.45	58.34±8.34
<hr/>			
NT (mgL ⁻¹)			
Concentración en influente (mgL ⁻¹)	99.8±25.78	99.8±25.78	99.8±25.78
Concentración en efluente (mgL ⁻¹)	29.9±14.87	37.5±19.49	56.3±16.26
Eficiencia de eliminación (%)	72.02±7.67	65.15±10.52	44.07±1.84
<hr/>			
PT (mgL ⁻¹)			

Concentración en influente (mgL ⁻¹)	9.7±3.4	9.7±3.4	9.7±3.4
Concentración en efluente (mgL ⁻¹)	0.3±0.2	2.1±1.6	5.6±1.8
Eficiencia de eliminación (%)	95.30±0.89	81.89±10.17	41.6±1.91

Los valores se dan como \pm error medio de la normal (n= 24)

4.2.3. Eliminación de N-NO₃ en HC-VPS

La desnitrificación es el principal mecanismo de eliminación de NO₃-N, requiere condiciones anaerobias, así como una fuente de carbono donde las bacterias heterótrofas facultativas obtiene energía oxidando la materia orgánica [55] y se encuentra limitada por la presencia de oxígeno, el pH, temperatura y suministro de carbono orgánico, [56] en este estudio los rangos de pH de 6-8, temperaturas superiores 5°C, [57,22] situaciones que prevalecieron en este estudio (Tabla 4.1). En cuanto a los resultados de eliminación no se encontraron diferencias significativas (P>0.05) entre los sistemas plantados *Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica* (Tabla 4.3), pero si entre los sistemas (P<0.05) con vegetación y el control su vegetación, aunque los sistemas de HC verticales parcialmente saturados tienen una buena oxigenación, como era de esperarse por la menor presencia de oxígeno en estos sistemas (controles) (Tabla 4.2), pudo favorecer la mayor eliminación de nitrato en los mesocosmos. Por otra parte, la asimilación de nutrientes por parte de las plantas que permiten generar mayores densidades de tejidos, como se pudo observar en la producción de biomasa (Figura. 4.2), este pudo ser un mecanismo de eliminación, aunque la forma más convencional de asimilación de nitrógeno en las plantas es el nitrógeno amoniacal [176] y dado que en los mesocosmos donde se reportaron mayores remociones se presentó un crecimiento rápido de las plantas y este es un indicador de presencia de alto contenido de nutrientes en los tejidos vegetales [177], pudo ser posible que se presentara este tipo de eliminación poco convencional.

4.2.4. Eliminación de Norg en HC-VPS

Las bacterias aerobias facultativas y/o anaerobias son las gestoras del proceso de amonificación que es el principal mecanismo de eliminación de nitrógeno orgánico en aguas residuales. [58] En este estudio las eficiencias de remoción variaron como se muestra en la tabla 5, encontrando diferencias significativas (P<0.05) entre los mesocosmos que tenían presencia de *Canna hybrid*

y *Zantedeschia aethiopica*, y los controles sin vegetación, siendo esta última más baja que los plantados con especies ornamentales (Tabla 4.3). Sin embargo, los resultados obtenidos son relativamente más altos que los reportados en la literatura en sistemas tradicionales de tratamiento mediante HC [177, 35]. Estos resultados se dieron como resultado de una mayor presencia de oxígeno en los sistemas que se presentan en las condiciones parcialmente saturadas de estos novedosos HC, así como las condiciones ideales de pH (Tabla 4.2) que presentaron los mesocosmos, dado que la amonificación se desarrolla en rangos de 6.5 a 8.5 de pH [178].

4.2.5. Eliminación de NT en HC-VPS

Los resultados de eliminación de nitrógeno total en HC verticales parcialmente saturados (Tabla 4.3), mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre sistemas con vegetación, pero no ($P > 0.05$) entre plantas (*Canna hybrids* y *Zantedeschia aethiopica*) y controles sin vegetación, aun así estos son superiores a 87 estudios reportados por Sandoval et al. [31] en HC de todo el mundo que usan plantas ornamentales en cuanto a la eliminación de nitrógeno total, estos resultados se pueden soportar en los mecanismos de eliminación de nitrógeno de aguas residuales como lo son: desnitrificación (en ausencia mayormente de Oxígeno en la zona saturada de los HC -VPS), asimilación de las plantas como se muestra en el desarrollo de las mismas (Figura. 4.1) y generación de biomasa (Figura. 4.2) notable en este estudio por la eliminación de nitrógeno amoniacal y otros procesos que convierten como la amonificación y nitrificación (en presencia de oxígeno en la zona libre de los HC-VPS e influencia de la liberación de oxígeno en zonas radicales de las plantas), por otra parte las condiciones ambientales como la temperatura (tabla 4.1) y rangos de pH que favorecen el crecimiento de bacterias (rangos óptimos 6.6 a 8.0), pudieron en conjunto generar condiciones que permitieran una mejor eliminación del NT en los HC parcialmente saturados, que indiquen condiciones de flujo libre (mejor oxigenación) y saturación integradas en un mismo sistema, con una selección de un sustrato adecuado como lo fue tezontle por sus condiciones de porosidad y el uso la acertada selección de la *Canna hybrids.*, y *Zantedeschia aethiopica.*, como vegetación emergente en estos, por su fácil adaptación y su rápido desarrollo en HC.

4.2.6. Eliminación de PT en HC-VPS

Los resultados de eliminación de Fósforo total se muestran en tabla 5, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sistemas con vegetación, siendo la eliminación de *Canna hybrid.*, superior en promedio 17% en relación a *Zantedeschia aethiopica.*, pero también diferencias significativas ($p < 0.05$), entre sistemas con vegetación y los controles sin vegetación siendo los sistemas con presencia de vegetación más eficientes en rangos de 35 a 55% en relación a los

controles (Tabla 4.3), estos resultados son altos en relación a otros estudios como los reportados por Shen et al. [179]. quienes reportan rangos de remoción en 21 a 39% y Brix y Arias [180] que reportan remociones 25%, ambos usando sustratos de origen pétreo. Por otra parte, la presencia de vegetación jugó un papel importante en la remoción, esto pudo deberse a la alta producción de flores que generaron las especies vegetales (Tabla 4.1) y producción de biomasa, teniendo en cuenta que el fósforo induce la floración en plantas y el incremento de biomasa en estas [181]. Otra vía de eliminación pudo ser el intercambio iónico, la precipitación en los sistemas [182] y los minerales contenidos en el tezontle [178].

4.3. Generación de energía Verde en HC-VPS

El sistema de tratamiento de agua por CWs-VPS fue monitoreado por aproximadamente 8 meses, determinando el voltaje del sistema en un periodo constante. Cabe señalar que, los primeros 60 días fueron de adaptación de la microbiota (aerobia y anaerobia) y crear una biopelícula alrededor de los electros dentro del mismo sistema. Este sistema fue utilizado con el objetivo de para el tratamiento de aguas residuales domésticas con BDO de 286 mg/L, observando una eficiencia de remoción de la materia orgánica del 96.1% en el sistema con *Z. aethiopica* y 98.1 % para el sistema con *C. hybrids*. Es probable que a medida que, se degradaba el agua residual (remoción de BDO) fue aumentando la disponibilidad de electrones en el medio y aumentando la potencia de manera exponencial con 9.7 mW/m² y 6.4 mW/m² en el sistema con *Canna hybrids* y *Zantheschia aethiopica*, respectivamente, durante el tiempo de experimentación para ambos sistemas. Sin embargo, se observó una mayor potencia cuando fue usada la planta *C. hybrids*, siendo este el que generó una mayor remoción de BDO (98.1%). De acuerdo con el estudio realizado por Gadkari, Shemfe, & Sadhukhan [183], mencionan que en los sistemas de tratamiento por CCM las altas densidades de corriente están en función de la concentración inicial de materia orgánica (DQO). Así mismo, en algunos estudios [184, 185] de celdas de combustible microbiana convencional, han señalado que el aumento de la utilización del ánodo para la respiración del electrodo por la población microbiana mixta a baja resistencia y el aumento de las fuerzas iónicas mejora la conductividad dentro del sistema a mayores concentraciones de materia orgánica, que podría ser una de las razones posibles para el aumento de las densidades de potencia. La potencia máxima medida entre los dos sistemas de humedales mostró diferencias altamente significativas con nivel de significancia del 5%, donde la potencia tiende a aumentar conforme transcurre el tiempo (Figura 4.3), siendo el sistema con *Canna hybrids* la que produjo el mayor voltaje de 9.7 mW/m² y un valor promedio bajo fue de 6.4 mW/m² con *Zantheschia aethiopica*. Cabe señalar que, los valores de potencia son elevados en comparación con una celda de combustible microbiana convencional, de acuerdo con el estudio realizado por Capodaglio et al. [186], los resultados de potencia máxima fueron de 2.1

mW/m² utilizando como sustrato agua residual de excretas porcinas en condiciones de laboratorio. No obstante, nuestro estudio con el sistema CWs-VPS mostró una potencia máxima de 9.7 mW/m² utilizando agua residual doméstica en condiciones ambientales.

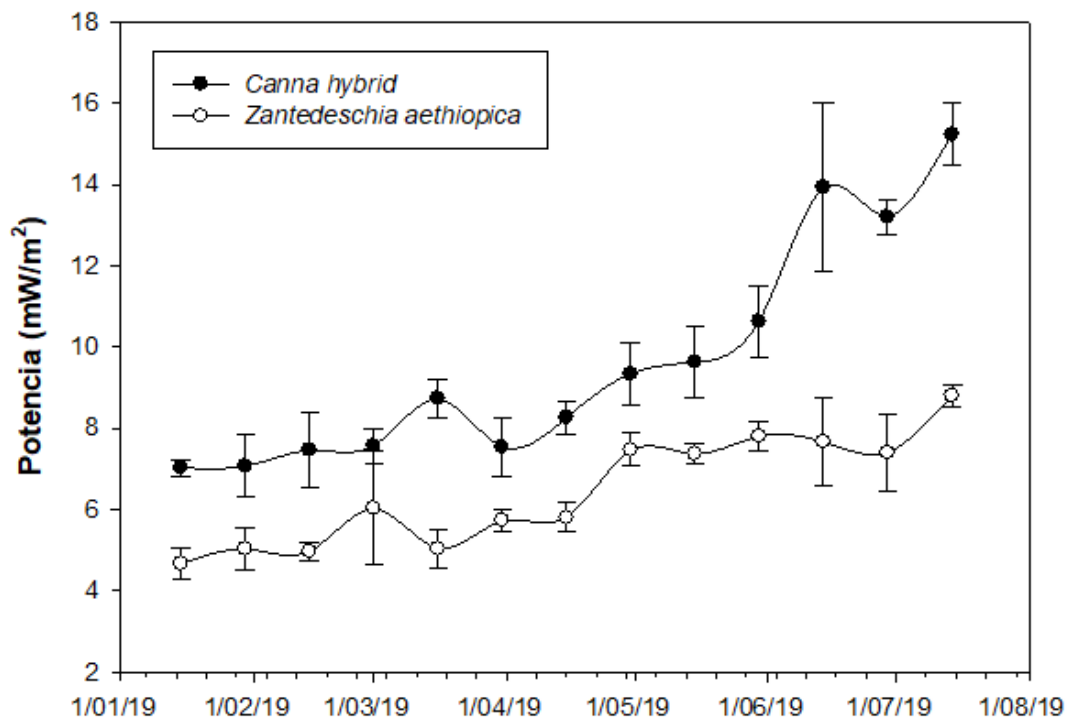


Figura 4.3. Comparación de la potencia máxima (mW/m²) generada en los sistemas CWs-VPS utilizando *C. hybrid* (●) y *Z. aethiopica* (○) durante 8 meses de retención.

En la figura 4.4, se observa el cambio del voltaje máximo entre los sistemas CWs-VPS con *C. hybrids* y con *Z. aethiopica*, como se observa, en las primeras semanas de tratamiento, el máximo voltaje fue de aproximadamente de 225 mV para el sistema con *C. hybrids*, mientras que el sistema con *Z. aethiopica* generó aproximadamente 350 mV, mayor en comparación con el otro sistema CWs-VPS. Así mismo, se observa que en el primer mes de monitoreo el cambio del voltaje permaneció constante, probablemente la microbiota del medio, tanto aerobia como anaerobia, se haya adaptado al sustrato y a las condiciones del medio. Posterior al primer mes, se observó un aumento exponencial del voltaje (mV) hasta observa un pico máximo de aproximadamente 750 mV en el sistema con la especie *C. hybrids*, mientras que el sistema con la especie *Z. aethiopica* se observó un cambio de voltaje de forma exponencial hasta la segunda semana de mayo con un voltaje máximo de 450 mV, cabe señalar que este voltaje permaneció hasta la primera semana de agosto. La diferencia entre ambos sistemas CWs-VPS fue significativa (nivel de significancia del 0.05) observando el mayor voltaje con *C. hybrids*. Este aumento en el voltaje podría ser atribuido por la disponibilidad de la materia orgánica a medida que se iba consumiendo. De esta forma, en la ruta metabólica de descomposición del agua

residual generó más electrones en el medio que se pueden transferir al ánodo, lo que lleva a una mayor generación de voltaje [187]. En el trabajo realizado por Capodaglio et al [186], estudiaron el rendimiento eléctrico de una celda de combustible microbiana (MFC). En los resultados obtenidos se observó un rendimiento de remoción de 52% de la materia orgánica y un voltaje máximo 31.29. Cuando comparado con nuestro estudio, los mejores resultados se observaron en el sistema CWs-VPS con la especie *C. hybrids* con un voltaje máximo de 750 mV y una remoción de residuos del 98%. Es probable que este resultado haya sido superior al de Capodaglio et al., por la sinergia entre la microbiota y las planta (*C. hybrids*), con una relación C:N:P (Carbono: nitrógeno: fosforo) adecuada para los microorganismos, esto propicio la disponibilidad de los electrones en el medio de manera progresiva.

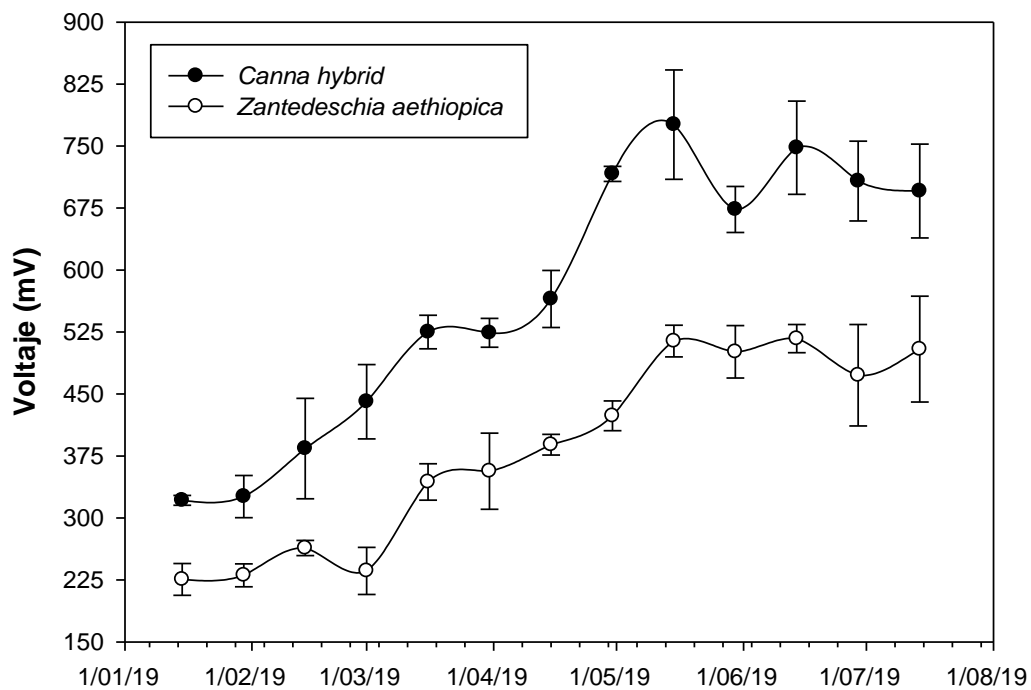


Figura 4.4. Comparación del voltaje (mV) generada en los sistemas CWs-VPS utilizando *C. hybrids* (●) y *Z. arthipica* (○) durante 8 meses de retención.

Se calculó la densidad de corriente en el sistema con *C. hybrids* y con el sistema *Z. aethiopica* durante el tiempo que la celda estuvo en funcionamiento. Como se ilustra en la figura 4.5, el CWs-VPS con *C. hybrids* obtuvo una densidad de corriente inicial de aproximadamente 65 mA/m², mientras que el CWs-VPS con *Z. aethiopica* obtuvo una densidad promedio de 40 mA/m² aproximadamente. Ambos sistemas permanecieron con un leve aumento de densidad de corriente hasta el 01 de abril (1/04/19). Después del 01 de abril, se observó en el CWs-VPS con *C. hybrids* un aumento exponencial en la densidad de corriente hasta llegar a un punto máximo de 140 mA/m² aproximadamente. No obstante, el CWs-VPS con *Z. aethiopica* mostró un comportamiento con poco aumento en la densidad de corriente con 61.5% más en

comparación con el inicio, hasta obtener un valor de casi 65 mA/m², mucho menor en comparación con los 140 mA/m² producidos con la CWs-VPS con *C. hybrids*. Es probable que el sistema con *C. hybrids*, con mayor densidad de corriente, es probable que las variaciones en la resistencia externa no fueron tan grandes ni tan frecuentes que permitiera a la microbiota electrónicamente activa que se aclimatará adecuadamente a cada cambio de resistencia externa, promoviendo una mayor densidad de corriente con el transcurso del tiempo.

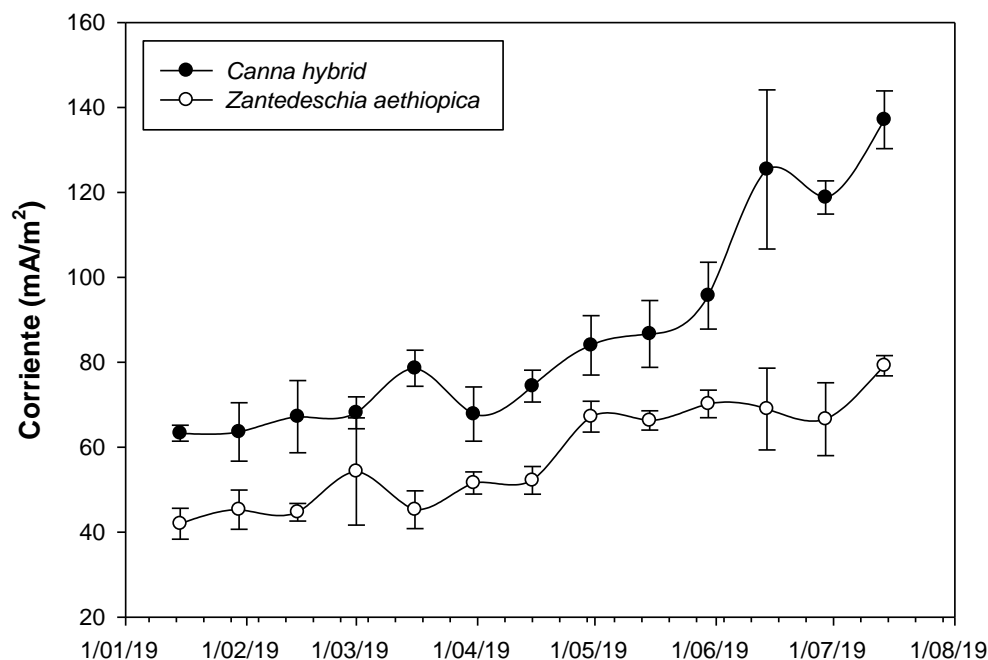


Figura 4.5. Comparación de la corriente (mA/m²) generada en los sistemas CWs-VPS utilizando *C. hybrids* (●) y *Z. arthipica* (○) durante 8 meses de retención.

Los humedales construidos verticales parcialmente saturados (CWs-VPS), son una tecnología de reciente uso para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales. Es importante mencionar que, el uso de estos humedales con *C. hybrids*, con electrodos de carbón activado y el agua residual doméstica como sustrato, presentaron un mejor desempeño que el humedal con *Z. aethiopica* en las mismas condiciones. Cabe señalar que, este método de tratamiento de aguas y producción de bioenergía es un sistema eficiente que genera una buena densidad de corriente, voltaje y potencia, en comparación a una celda de combustible microbiana convencional, ya que en los estudios con CCM generalmente se realizan en condiciones controladas en el laboratorio [184, 188]. En comparación con nuestro estudio que fue realizado en condiciones ambientales de la zona de estudio. Esto podría ser una tecnología eficiente para zonas marginadas, ya que es un sistema a bajo costo, con tratamiento de aguas residuales eficiente (remoción de BDO >

90%), con potencial para generar bioenergía y plantas ornamentales que pueden ser comercializadas.

CAPÍTULO 5.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

Nuestro estudio demostró que los humedales construidos verticales parcialmente saturados (CWs-VPS), son una tecnología eficiente para el tratamiento de aguas residuales domésticas, ya que se observó remoción de la materia orgánica. Es importante mencionar que, el uso de estos humedales con *C. hybrids*, con electrodos de carbón activado y el agua residual domestica como sustrato, presentaron un mejor desempeño que el humedal con *Z. aethiopica* en las mismas condiciones. Este método de tratamiento de aguas y producción de bioelectricidad es un sistema eficiente que genera densidad de corriente de 9.7 mW/m^2 , un voltaje de 750 mV y una potencia máxima de 140 mA/m^2 , en comparación a una celda de combustible microbiana convencional, ya que en los estudios con CCM generalmente se realizan en condiciones controladas en el laboratorio, mientras que nuestro estudio fue realizado en condiciones ambientales de la zona de estudio. Esto podría ser una tecnología eficiente para zonas marginadas, ya que es un sistema a bajo costo, con tratamiento de aguas residuales eficiente (remoción de BDO > 90%), con potencial para generar bioelectricidad y plantas ornamentales que pueden ser comercializadas.

Los humedales construidos de flujo vertical parcialmente saturados demuestran ser más eficientes que los sistemas de Humedales Construidos de flujo vertical de flujo libre en la eliminación de nitrógeno e incrementan la eliminación de este en rangos de 20 a 30% en relación a los sistemas de flujo libre, reportado en la literatura.

El uso de Humedales Construidos-VPS, reduce los espacios alcanzando los mismos porcentajes de eliminación de contaminantes por medio de Humedales Construidos ya que para tener resultados similares se requieren sistemas integrados que mezclen Humedales Construidos de flujo vertical y horizontal que generan mayores gastos de implementación y construcción.

El uso de *Canna hybrids* y *Zantedeschia aethiopica.*, como vegetación emergente en sistemas Humedales Construidos-VPS, resulta una alternativa que incrementa la presencia de oxígeno disuelto en estos, además favorece la eliminación de compuestos específicos como el amonio, fósforo y adicionalmente dan un valor estético a los sistemas facilitando su inserción en los

entornos inter urbanos y rurales de zonas donde sean requeridos para el tratamiento de aguas residuales.

Al parecer las condiciones climatológicas tropicales son favorables para la operación de estos sistemas dadas las temperaturas más altas mayor intensidad de luz y mayor vegetación en pie que pueden ser usadas en Humedales Construidos-VPS.

El uso de Tezontle como sustrato en HC-VPS, muestra un efecto positivo en la generación de bioenergía, así como la presencia de plantas ornamentales empleadas favorece que se incremente esta producción.

CAPÍTULO 6.

CAPÍTULO 6. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

Estudios adicionales de los sistemas de HC-VPS con especies ornamentales con variaciones en los parámetros de diseño y profundidad de las zonas saturadas y de drenaje libre en periodos de mayor tiempo son necesarios para establecer las mejores condiciones de operación de estos novedosos sistemas.

Estudios a tamaño real de estos sistemas se requieren para comprender mayormente sus funciones y posibles problemáticas pueden derivarse de su operación a largo plazo.

Análisis de las comunidades microbianas que intervienen en los procesos de nitrificación y desnitrificación dentro de estos HC-VPS, con la finalidad de crear estrategias de incremento de estas si es necesario, para tratar aguas con mayor contenido de nitrógeno.

Evaluar el uso de estos sistemas en la eliminación de otro contaminante específico y emergente presentes en aguas domésticas e industriales serían deseables para explorar si los mecanismos de funcionamiento de los HC-VPS mejoran los rendimientos de futuros diseños de HC en menos espacio y tiempo de retención humedales construidos dráulica.

Análisis en diferentes temporadas climáticas serían ideales para comprender si los cambios de estacionalidad pueden generar modificaciones considerables en la bio-operación de HC-VPS

Estudios de sustratos como fuentes artificiales de carbono en las HC-VPS son adecuados para el tratamiento de aguas con bajo contenido carbono, que dificulta la eliminación de nitrógeno en estas armas biológicas.

Se recomienda evaluar nuevos sustratos que permitan generar bioenergía en humedales construidos, así como nuevas configuraciones de ánodo y cátodo, que permitan maximizar a la eficiencia energética.

FINANCIAMIENTO

Este proyecto se realiza un conjunto con fondos de Tecnológico nacional de México, apoyos de la convocatoria 2018-1, quienes financiaran el \$ 100,000.00, en colaboración con el Tecnológico Superior de Huatusco.

PRODUCTIVIDAD

- Presentación de cartel en IV reunión científica internacional noviembre de 2018.

Instituto Tecnológico Superior de Xalapa
Otorga la presente

CONSTANCIA

ANIVERSARIO
Instituto Tecnológico Superior de Xalapa

Autores: Luis Carlos Sandoval Herazo, Mariela Reyes Camo, Francisco Javier Landa Huerta, Guillermo Reyes Morales.

Nombre del Proyecto: Producción de bioelectricidad en humedales ingenieriles.

Clave: AMB033

Eje temático: Ambiente, Cambio Climático y Biotecnología

El Comité Técnico de la IV Reunión Internacional Científica y tecnológica RICYT, que se llevó a cabo en la ciudad de Xalapa, Veracruz, México el 7, 8 y 9 de Noviembre del 2018, hace constar que el trabajo citado fue presentado de acuerdo con el programa técnico del Congreso e incluido en las memorias del mismo.

La presente constancia se expide para fines legales que a los autores convengan.

Xalapa, Veracruz, México a 9 de noviembre de 2018.

Dra. Fabiola Lango Reynoso
presidente del Comité Técnico

Registrado con el No. de folio: 1036

Ubicación: 2 de Departamento de Comunicaciones

y Citados.

Este documento es válido en el momento de su emisión y no tiene validez posterior.

- Artículo de resultados publicado en una Revista JCR Factor de impacto: 2.468 en Suiza, noviembre 2019.



Journal of Environmental Science and Health, Part A Bioelectricity Generation and Production of Ornamental Plants in Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands --Manuscript Draft--

Document Number:	
Document Type:	Article
Category:	Original Article
Keywords:	Bioelectricity; constructed wetlands; microbial combustion cells; ornamental plants
Corresponding Author:	Veronica Guerrero-Hernandez Instituto Tecnológico Superior de San Andrés Tuxtla San Andrés Tuxtla, MEXICO
Author:	Luis Sandoval
Authors:	Luis Sandoval Guillermo Reyes-Morales Fidel Aguilar-Aguilar Oscar del Ángel-Coronel José Luis Marín-Muñiz Veronica Guerrero-Hernandez
Document Region of Origin:	MEXICO

BIBLIOGRAFÍA

1. Moyo, S., Jha, P., y Yeros, P. (2019). La lucha por la tierra y los recursos naturales en África. En *Reclaiming Africa* (pp. 3-30). Springer, Singapur.

Goldemberg, J. (Ed.). (2000). *World Energy Assessment: Energy and the challenge of sustainability* (pp. 1-29). New York^ eNY NY: United Nations Development Programme.

2. Khan, H. U. R., Nassani, A. A., Aldakhumedales construidos I, A. M., Abro, M. M. Q., Islam, T., & Zaman, K. (2019). Pro-poor growth and sustainable development framework: Evidence from two step GMM estimator. *Journal of Cleaner Production*, 206, 767-784.

3. Li, C. Techno-economic study of off-grid hybrid photovoltaic/battery and photovoltaic/battery/fuel cell power systems in Kunming, Chumedales construidos na. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 2019, 41(13), 1588-1604.

4. Mihelcic, J. R., Naughton, C. C., Verbyla, M. E., Zhang, Q., Schweitzer, R. W., Oakley, S. M., ... & Whumedales construidos teford, L. M. The grandest challenge of all: The role of environmental engineering to achumedales construidos eve sustainability in the world's developing regions. *Environmental Engineering Science*, 2017, 34(1), 16-41.

5. McCollum, P., Ramirez, M. F., Simenstad, C. A. Projections of Future Transitions in Tidal Wetlands under Sea Level Rise within the Port Gamble S'Klallam Traditional Use Areas. School of Aquatic and Fishery Sciences, University of Washington, 2018, p. 35.

6. Morris, A., Zuo, J., Wang, Y., & Wang, J. Readiness for sustainable community: A case study of Green Star Communities. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 173, 308-317.

7. Ruelas M.L.C. y H. Martínez M. Medio Físico. En: L.C. Ruelas M. et al. *Diagnóstico para la planeación y el manejo integral de los recursos el caso de la cuenca del Río Nautla*. Ju. 2013.

8. Bilgen, S., & Sarıkaya, İ. Energy conservation policy and environment for a clean and sustainable energy future. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning, and Policy*, 2018, 1-7.

9. Ramírez, E. B. R., Siabato, A. I. B., & Orduz, M. G. Analisis tecnico, socioeconomico y ambiental de la electrificación con energía solar fotovoltaica aislada para vivienda rural en Hato

Corozal, Casanare, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 2017, 8(1), 239-248.

10. Espinoza-Rodríguez, F. R. *El agua para la producción de energía en Centroamérica. Régimen jurídico* (Vol. 124). Prensas de la Universidad de Zaragoza. 2017.

11. Marín-Muñiz, J. L. Humedales construidos en México para el tratamiento de aguas residuales, producción de plantas ornamentales y reúso del agua. *Agroproductividad*, 2017, 10(5).

12. Mitsch, W.J. y Gosselink, J.G. (2015). *Wetlands*, fourth ed. John Wiley & Sons, Nueva York.

13. Wang, Y. C., Ko, C. H., Chang, F. C., Chen, P. Y., Liu, T. F., Sheu, Y. S., & Teng, C. J. Bioenergy production potential for aboveground biomass from a subtropical constructed wetland. *Biomass and bioenergy*, 2011, 35(1), 50-58.

14. Chandra, P., & Kumar, M. Contribution of Microbes in the Renovation of Wetlands. In *Restoration of Wetland Ecosystem: A Trajectory Towards a Sustainable Environment*. 2020, (pp. 101-124). Springer, Singapore.

15. Conagua. *Inventario Nacional de plantas municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación*. Diciembre 2015. 273 pp.

16. Rizzo, A., Bresciani, R., Masi, F., Boano, F., Revelli, R., & Ridolfi, L. Flood reduction as an ecosystem service of constructed wetlands for combined sewer overflow. *Journal of Hydrology*, 2018, 560, 150-159.

17. Hernández-Salazar, A. B., Moreno-Seceña, J. C., & Sandoval-Herazo, L. C. Tratamiento de aguas residuales industriales en México: Una aproximación a su situación actual y retos por atender. *RINDERESU*, 2018, 2(1-2), 75-87.

18. Xu, F., Cao, F. Q., Kong, Q., Zhou, L. L., Yuan, Q., Zhu, Y. J., & Wang, Q. Electricity production and evolution of microbial community in the constructed wetland-microbial fuel cell. *Chemical Engineering Journal*, 2018^a, 339, 479-486.

19. Watanabe, K. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable bioenergy. *Journal of bioscience and bioengineering*, 2008, 106(6), 528-536.

20. Garzón-Gutiérrez, J. M., & Rodríguez-Miranda, J. P. Environmental management of industrial waste water with mercury from gold mining worldwide: State of art. *Universidad y Salud*, 2015, 17(1), 132-144.
21. Wang, M., Zhang, D. Q., Dong, J. W., & Tan, S. K. Constructed wetlands for wastewater treatment in cold climate—A review. *Journal of Environmental Sciences*, 2017, 57, 293-311.
22. Nguyen, V., & Nitorisavut, R. Bioelectricity Generation in Plant Microbial Fuel Cell Using Forage Grass under Variations of Circadian Rhythm, Ambient Temperature, and Soil Water Contents. In *2019 IEEE Asia Power and Energy Engineering Conference (APEEC)* (pp. 240-244). IEEE.
23. Liu, S., Song, H., Li, X., & Yang, F. Power generation enhancement by utilizing plant photosynthate in microbial fuel cell coupled constructed wetland system. *International Journal of Photoenergy*, 2013.
24. Nivala, J., Headley, T., Wallace, S., Bernhard, K., Brix, H., van Afferden, M., & Müller, R. A. Comparative analysis of constructed wetlands: The design and construction of the ecotechnology research facility in Langenreichenbach, Germany. *Ecological Engineering*, 2013, 61, 527-543.
25. Zhou, X., Liang, C., Jia, L., Feng, L., Wang, R., & Wu, H. An innovative biochar-amended substrate vertical flow constructed wetland for low C/N wastewater treatment: impact of influent strengths. *Bioresource technology*, 2018, 247, 844-850.
26. Vymazal, J. Constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters: A review. *Ecological Engineering*, 2014, 73, 724-751.
27. Timmers, R. A., Rothballer, M., Strik, D. P., Engel, M., Schulz, S., Schloter, M., ... & Buisman, C. Microbial community structure elucidates performance of *Glyceria maxima* plant microbial fuel cell. *Applied microbiology and biotechnology*, 2012, 94(2), 537-548.
28. Casierra-Martínez, H. A., Charris-Olmos, J. C., Caselles-Osorio, A., & Parody-Muñoz, A. E. Organic matter and nutrients removal in tropical constructed wetlands using *Cyperus ligularis* (Cyperaceae) and *Echinochloa colona* (Poaceae). *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, 228(9), 338.
30. Hernández, M. E. H. Humedales ornamentales con participación comunitaria para el saneamiento de aguas municipales en México. *RINDERESU*, 2016, 1(2), 01-12.

31. Sandoval, L., Zamora-Castro, S. A., Vidal-Álvarez, M., & Marín-Muñiz, J. L. (2019). Role of Wetland Plants and Use of Ornamental Flowering Plants in Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: A Review. *Applied Sciences*, 9(4), 685.
32. Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S., ... & Liu, H. A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: design and operation. *Bioresource technology*, 2015, (175, 594-601).
33. ElMekawy, A., Diels, L., De Wever, H., Pant, D. Valorization of cereal based biorefinery byproducts: reality and expectations. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47 (16), 9014–9027.
34. 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.
35. Vymazal, J. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environmental science & technology*, 2011, vol. 45, no 1, p. 61-69.
36. Abe, K., Komada, M., Ookuma, A., Itahashi, S., & Banzai, K. Purification performance of a shallow free-water-surface constructed wetland receiving secondary effluent for about 5 years. *Ecological engineering*, 2014, 69, 126-133.
37. Toro-Vélez, A. F., Madera-Parra, C. A., Peña-Varón, M. R., Lee, W. Y., Bezares-Cruz, J. C., Walker, W. S., ... & Lens, P. N. L. BPA and NP removal from municipal wastewater by tropical horizontal subsurface constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 2016, 542, 93-101.
38. Wu, H., Lin, L., Zhang, J., Guo, W., Liang, S., & Liu, H. Purification ability and carbon dioxide flux from surface flow constructed wetlands treating sewage treatment plant effluent. *Bioresource technology*, 2016, 219, 768-772.
39. García, J., Rousseau, D. P., Morato, J., Lesage, E. L. S., Matamoros, V., & Bayona, J. M. Contaminant removal processes in subsurface-flow constructed wetlands: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2010 (40(7), 561-661).
40. Puigagut, J., Salvadó, H., García, D., Granes, F., & García, J. Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary treatment. *Water research*, 2007 (41(8), 1645-1652).

41. Villasenor, J., Capilla, P., Rodrigo, M. A., Canizares, P., & Fernandez, F. J. Operation of a horizontal subsurface flow constructed wetland–microbial fuel cell treating wastewater under different organic loading rates. *Water research*, 2013, (47(17), 6731-6738).
42. Zamora, S., Sandoval, L., Marín-Muñiz, J. L., Fernández-Lambert, G., & Hernández-Orduña, M. G. (2019). Impact of ornamental vegetation type and different substrate layers on pollutant removal in constructed wetland mesocosms treating rural community wastewater. *Processes*, 7(8), 531.
43. Sandoval-Herazo, L. C., Alvarado-Lassman, A., Marín-Muñiz, J. L., Méndez-Contreras, J. M., & Zamora-Castro, S. A. Effects of the use of ornamental plants and different substrates in the removal of wastewater pollutants through microcosms of constructed wetlands. *Sustainability*, 2018, 10(5), 1594.
44. Kumar, S., & Dutta, V. Constructed wetland microcosms as sustainable technology for domestic wastewater treatment: an overview. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, (26(12), 11662-11673).
45. Bahadir, A., Yegin, M., & Polat, F. Renewable energy policies in Turkey: a case of Bioenergy. *Journal of Engineering Research and Applied Science*, 2016, 5(2), 451-457.
46. Hnain, A. K., Cockburn, L. M., & Lefebvre, D. D. Microbiological processes for waste conversion to bioenergy products: Approaches and directions. *Environmental Reviews*, 2011, 19(NA), 214-237.
47. Logan, B. E. *Microbial fuel cells*. John Wiley & Sons. 2008.
48. Oliveira-Lopes, L. C., & da Silva, C. H. F. Nonconventional Renewable Sources in Brazil and Their Impact on the Success of Bioenergy. In *Biofuels in Brazil*, 2014, (pp. 413-435). Springer, Cham.
49. Cerutti, M. APRIL Ecosystem Restoration Project: A sustainable model for Indonesian peatlands?. 2016.
50. Islas, J., Manzini, F., & Masera, O. A prospective study of bioenergy use in Mexico. *Energy*, 2007, 32(12), 2306-2320.
51. Vargas-Hernández, J. G. Municipal Urban Waste-to-Energy Business Model in Mexico: A Study of Three Companies. In *Innovative Waste Management Technologies for Sustainable Development*, 2020, (pp. 244-258). IGI Global.

52. INEGI. Agua – Medio ambiente y Sustentabilidad. Encontrar en: <https://www.inegi.org.mx/temas/agua/> 2017.
53. СТОЧНЫХ, Н. О. И. Р., & БИОДЕГРАДАЦИИ, В. LOW TEMPERATURE WASTEWATER TREATMENT AND RECYCLING BY PSYCHROPHILIC BIODEGRADATION (A CASE STUDY MEXICO). *Вода и экология: проблемы и решения*, 2020, (1), 8
54. Molina Amores, Y. E. *Tratamiento biológico de aguas residuales del laboratorio de investigación, análisis y monitoreo IAM-Q de la secretaria del ambiente del DMQ* (Bachelor's thesis). 2016.
55. SEMARNAT. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario oficial de la Federación, 1996.
56. Núñez-Burga, R. M. F. Tratamiento de aguas residuales domésticas a nivel familiar, con Humedales Artificiales de flujo subsuperficial Horizontal, mediante la especie macrófita emergente *Cyperus Papyrus* (Papiro). 2016.
57. Munavalli, G. R., Sonavane, P. G., Deshpande, G. V., Wandare, S. M., & Aswale, N. M. (). Performance Evaluation of Two-Stage Vertical Flow Multispecies Constructed Wetland for Domestic Wastewater Treatment. In *Global Challenges in Energy and Environment*, 2020, (pp. 19-29). Springer, Singapore.
58. Sharma, M. K., Tyagi, V. K., & Kazmi, A. A. Performance Appraisal of Filter-Based Sanitation System for Onsite Treatment of Domestic Wastewater. In *Emerging Issues in the Water Environment during Anthropocene*, 2020, (pp. 195-209). Springer, Singapore.
59. Ma, Y., Zhai, Y., Zheng, X., He, S., & Zhao, M. Rural domestic wastewater treatment in constructed ditch wetlands: Effects of influent flow ratio distribution. *Journal of cleaner production*, 2019, 225, 350-358.
60. Ferrer-Polo, J., Seco Torrecillas, A., & Robles Martínez, Á. *Tratamientos biológicos de aguas residuales*. Editorial Universitat Politècnica de València. 2018.
61. Quinde Tapia, C. M. Evaluación del efecto depurador de *Guadua angustifolia* Kunth de aguas residuales de la ciudad de Jaén-Cajamarca, 2017.

62. Ghione, S., Martino, D., Aldabe, J., Bartesaghi, L., Blanco, D., Brazeiro, A., ... & Rivas, M. Biodiversidad. *Informe del estado del ambiente*, 2008, 178-239.
63. Zurita, F., Del Toro-Sánchez, C. L., Gutierrez-Lomelí, M., Rodriguez-Sahagún, A., Castellanos-Hernandez, O. A., Ramírez-Martínez, G., & White, J. R. Preliminary study on the potential of arsenic removal by subsurface flow constructed mesocosms. *Ecological Engineering*, 2012, 47, 101-104.
64. García, J. A., Paredes, D., & Cubillos, J. A. Effect of plants and the combination of wetland treatment type systems on pathogen removal in tropical climate conditions. *Ecological engineering*, 2013, 58, 57-62.
65. García-García, P. L., Ruelas-Monjardín, L., & Marín-Muñíz, J. L. (2016). Constructed wetlands: a solution to water quality issues in Mexico?. *Water Policy*, 18(3), 654-669.
66. Ma, Y., Dai, W., Zheng, P., Zheng, X., He, S., & Zhao, M. Iron scraps enhance simultaneous nitrogen and phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 122612.
67. Brix, H. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands?. *Water science and technology*, 1997, 35(5), 11-17.
68. Greenway, M., & Woolley, A. Constructed wetlands in Queensland: performance efficiency and nutrient bioaccumulation. *Ecological engineering*, 1999, 12(1-2), 39-55.
69. Zheng, X., Zhuang, L. L., Zhang, J., Li, X., Zhao, Q., Song, X., ... & Liao, J. Advanced oxygenation efficiency and purification of wastewater using a constant partially unsaturated scheme in column experiments simulating vertical subsurface flow constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 2020, 703, 135480.
70. Sandoval, L., Zurita, F., Ángel-Coronel, D., Andrés, O., Adame-García, J., & Marín-Muñíz, J. L. Influence of a new ornamental species (*Spathiphyllum blandum*) on the removal of cod, nitrogen, phosphorus and fecal coliforms: a mesocosm wetland study with pet and tezontle substrates. *Water Science and Technology*, 2020.
71. Brix, H. Plants used in constructed wetlands and their functions. In *1st International Seminar on the use of Aquatic Macrophytes for Wastewater Treatment in Constructed Wetlands*, edit. Dias V., Vymazal J. Lisboa, Portugal, 2003, (pp. 81-109).

72. Delgadillo, O. *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Nelson Antequera. 2010.
73. Seres, M., Hnátková, T., Maršík, P., Vaněk, T., Soudek, P., & Vymazal, J. Field Study VI: The Effect of Loading Strategies on Removal Efficiencies of a Hybrid Constructed Wetland Treating Mixed Domestic and Agro-Industrial Wastewaters. In *Advanced Nano-Bio Technologies for Water and Soil Treatment*, 2020, (pp. 395-409). Springer, Cham.
74. Fernández-Pascual, E., Seal, C. E., & Pritchard, H. W. Simulating the germination response to diurnally alternating temperatures under climate change scenarios: comparative studies on *Carex diandra* seeds. *Annals of botany*, 2015, *115*(2), 201-209.
75. Rana, V., & Maiti, S. K. Municipal and Industrial Wastewater Treatment Using Constructed Wetlands. In *Phytoremediation*, 2020, (pp. 329-367). Springer, Cham.
77. Vizcaíno-Mendoza, L., & Fuentes-Molina, N. Efectos de *Eisenia foetida* y *Eichhornia crassipes* en la remoción de materia orgánica, nutrientes y coliformes en efluentes domésticos. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 2016, *19*(1), 189-198.
78. Hench, K. R., Bissonnette, G. K., Sexstone, A. J., Coleman, J. G., Garbutt, K., & Skousen, J. G. Fate of physical, chemical, and microbial contaminants in domestic wastewater following treatment by small constructed wetlands. *Water research*, 2003, *37*(4), 921-927.
79. Steer, D. N., Fraser, L. H., & Seibert, B. A. Cell-to-cell pollution reduction effectiveness of subsurface domestic treatment wetlands. *Bioresource technology*, 2005, *96*(8), 969-976.
80. Steer, D., Aseltyne, T., & Fraser, L. Life-cycle economic model of small treatment wetlands for domestic wastewater disposal. *Ecological economics*, 2003, *44*(2-3), 359-369.
81. RUAN, X. y col. Tratamiento de aguas de ríos contaminados utilizando humedales construidos a escala piloto. *Boletín de contaminación ambiental y toxicología*, 2006, vol. 76, no 1, pág. 90-97.
82. Hunter, R. G.; COMBS, D. L.; GEORGE, D. B. Nitrogen, phosphorous, and organic carbon removal in simulated wetland treatment systems. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 2001, vol. 41, no 3, p. 274-281.
83. GERBA, Charles P., et al. Optimization of artificial wetland design for removal of indicator microorganisms and pathogenic protozoa. *Water Science and Technology*, 1999, vol. 40, no 4-5, p. 363-368.

84. Schulz, C.; GELBRECHT, J.; RENNERT, B. Constructed wetlands with free water surface for treatment of aquaculture effluents. *Journal of Applied Ichthyology*, 2004, vol. 20, no 1, p. 64-70.
85. Tullen, D. R. Analisis motivasi dan pendapatan pada usaha pemeliharaan ternak babi skala rumah tangga di Kota Padang. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta, 2005.
86. Ansola, Gemma, et al. Experimental and full-scale pilot plant constructed wetlands for municipal wastewaters treatment. *Ecological Engineering*, 2003, vol. 21, no 1, p. 43-52.
87. Khatiwada, Nawa R.; POLPRASERT, Chongrak. Kinetics of fecal coliform removal in constructed wetlands. *Water Science and Technology*, 1999, vol. 40, no 3, p. 109-116.
88. Stewart, Ed. Evaluation of septic tank and subsurface flow wetland for Jamaican public school wastewater treatment. Master's of Science in Environmental Engineering, Michigan Technological University, 2005.
89. Ramírez-Martínez, J. G., Garduño-Solórzano, G., Cañetas-Ortega, J., & Ortega, M. M. Caracterización diatomológica en tres cuerpos de agua de los humedales de Jilotepec-Ixtlahuaca, Estado de México. *Hidrobiológica*, 2005, vol. 15, no 1, p. 01-26.
90. Witney, Brian D. Precision agriculture-Managing soil and crop variability for cereals. *Biosystems engineering*, 2003, vol. 84, no 4.
91. Belmont, Marco A.; METCALFE, Chris D. Feasibility of using ornamental plants (*Zantedeschia aethiopica*) in subsurface flow treatment wetlands to remove nitrogen, chemical oxygen demand and nonylphenol ethoxylate surfactants—a laboratory-scale study. *Ecological Engineering*, 2003, vol. 21, no 4-5, p. 233-247.
92. THOMPSON, P. L., et al. Phytoremediation at the Iowa army ammunition plant. *Phytoremediation. Transformation and Control of Contaminant*, 2004, p. 481-496.
93. RIVERA, Fermin, et al. The application of the root zone method for the treatment and reuse of high-strength abattoir waste in Mexico. *Water Science and Technology*, 1997, vol. 35, no 5, p. 271-278.
94. Hien, T. T., Park, H. D., Jo, H. Y., Yun, S. T., & Minh, N. T. Influence of different substrates in wetland soils on denitrification. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2011, 215(1-4), 549-560.

95. LONG, Yan, et al. Influences of plant type on bacterial and archaeal communities in constructed wetland treating polluted river water. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, vol. 23, no 19, p. 19570-19579.
96. Maucieri, C., Barbera, A. C., Vymazal, J., & Borin, M. (2017). A review on the main affecting factors of greenhouse gases emission in constructed wetlands. *Agricultural and forest meteorology*, 236, 175-193.
97. 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.
98. Huang, X., Zheng, J., Liu, C., Liu, L., Liu, Y., & Fan, H. Removal of antibiotics and resistance genes from swine wastewater using vertical flow constructed wetlands: effect of hydraulic flow direction and substrate type. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 308, 692-699.
99. Steer, D., Fraser, L., Boddy, J., & Seibert, B. (2002). Efficiency of small constructed wetlands for subsurface treatment of single-family domestic effluent. *Ecological Engineering*, 18(4), 429-440.
100. Vymazal, J. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. *Ecological Engineering*, 2002, 18(5), 633-646.
101. Hatano, K., Trettin, C. C., House, C. H., & Wollum, A. G. (1991). Microbial populations and decomposition activity in three subsurface flow constructed wetlands (No. CONF-9110402-2). Oak Ridge National Lab., TN (United States).
102. Borreguero Fabelo, A., Herrera-Melián, J. A., Araña, J., & Ortega Méndez, J. A. (2015). Estudio del uso de triturado de palmera como sustrato de humedales de tratamiento de aguas residuales.
103. 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.
104. Tanner, C. C., & Headley, T. R. (2011). Components of floating emergent macrophyte treatment wetlands influencing removal of stormwater pollutants. *Ecological Engineering*, 37(3), 474-486.

105. Korboulewsky, N., Wang, R., & Baldy, V. (2012). Purification processes involved in sludge treatment by a vertical flow wetland system: focus on the role of the substrate and plants on N and P removal. *Bioresource technology*, 105, 9-14.
106. Chafloque, W. A. L., & Gómez, E. G. (2006). Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 9(17), 85-96.
107. Cao, W., Wang, Y., Sun, L., Jiang, J., & Zhang, Y. (2016). Removal of nitrogenous compounds from polluted river water by floating constructed wetlands using rice straw and ceramsite as substrates under low temperature conditions. *Ecological Engineering*, 88, 77-81.
108. Beavers, P. D., & Tully, I. K. Nutrient reduction evaluation of sewage effluent treatment options for small communities. *Water Science and Technology*, 2005, 51(10), 221-229.
109. Arias, CA, Del Bubba, M. y Brix, H. (2001). Eliminación de fósforo por arenas para su uso como medios en lechos de lámina construidos con flujo subsuperficial. *Water research* , 35 (5), 1159-1168.
110. Brix, H., Arias, C. A., & Del Bubba, M. Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. *Water science and technology*, 2001, 44(11-12), 47-54.
111. Pant, H. K., Reddy, K. R., & Lemon, E. (2001). Phosphorus retention capacity of root bed media of sub-surface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 17(4), 345-355.
112. Zhou, M., & Li, Y. Phosphorus-sorption characteristics of calcareous soils and limestone from the southern Everglades and adjacent farmlands. *Soil Science Society of America Journal*, 2001, 65(5), 1404-1412.
113. Zhu, T., Jenssen, P.D., Maehlum, T., Krogstad, T. Phosphorous sorption and chemical characteristics of lightweight aggregates (LWA): potential filter media in treatment wetlands. *Water Sci. Tech.* 1997, 35, 103–108.
114. Drizo, A., Frost, CA, Grace, J. y Smith, KA. Detección fisicoquímica de sustratos eliminadores de fosfato para su uso en sistemas de humedales construidos. *Water Research*. 1999. 33 (17), 3595-3602.

115. Kuschk, P., Wiessner, A., Kappelmeyer, U., Weissbrodt, E., Kästner, M., & Stottmeister, U. (2003). Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Research*, 37(17), 4236-4242.
117. CANO, Agustín Lahora. Depuración de aguas residuales mediante humedales artificiales: La EDAR de los Gallardos (Almería). En *Ecología, manejo y conservación de los humedales*. Instituto de Estudios Almerienses, 2003. p. 99-112.
118. Caselles-Osorio, A., Vega, H., Lancheros, J. C., Casierra-Martínez, H. A., & Mosquera, J. E. Horizontal subsurface-flow constructed wetland removal efficiency using *Cyperus articulatus* L. *Ecological Engineering*, 2017, 99, 479-485.
119. Marín-Muñiz, J. L. Remoción de contaminantes de aguas residuales por medio de humedales artificiales establecidos en el municipio de Actopan, Veracruz, México. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 2016, vol. 15, no 2, p. 553-563.
121. GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C.; VANOTTI, M. B.; SZOGI, A. A. Recovery of ammonia from swine manure using gas-permeable membranes: effect of aeration. *Journal of Environmental Management*, 2015, vol. 152, p. 19-26.
122. VALLES-ARAGÓN, María Cecilia; ALARCÓN-HERRERA, María Teresa. Retención de arsénico en humedales construidos con *Eleocharis macrostachya* y *Schoenoplectus americanus*. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2014, vol. 30, no 2, p. 143-148.
123. REYES, Catalina Plaza, et al. Behavior of *Typha angustifolia* L. in a free water surface constructed wetlands for the treatment of swine wastewater. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2013, vol. 48, no 10, p. 1216-1224.
124. HERNÁNDEZ, María Elizabeth. Suelos de humedales como sumideros de carbono y fuentes de metano. *Terra Latinoamericana*, 2010, vol. 28, no 2, pág. 139-147.
125. AGUDELO, Ruth Marina, y col. Eliminación simultánea de clorpirifos y carbono orgánico disuelto utilizando humedales piloto de flujo subterráneo horizontal. *Ingeniería ecológica*, 2010, vol. 36, no 10, pág. 1401-1408.
126. DE LA ESSE CEVALLOS, Denisse Caroline. Propuesta de producción más limpia en la finca Maranatha para el manejo eficiente del agua. 2015. Tesis Doctoral.
127. CABRERA-AMAYA, Diego Mauricio, et al. Diversidad florística y cambios en las coberturas de la cuenca del humedal Jaboque y el parque La Florida (Bogotá,

Colombia). Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2017, vol. 41, no 160, p. 326-337.

128. GILÓN, Laura Paredes. Remoción de contaminantes en la estabilización de humedales construidos de flujo vertical, sembrados con heliconia (sp), para el tratamiento de aguas residuales domésticas. 2014. Tesis Doctoral. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Tecnología Química.

129. ARIVOLI, A .; MOHANRAJ, R. La eficacia del sistema de humedales artificiales de flujo vertical basado en *Typha angustifolia* en la reducción de contaminantes de las aguas residuales domésticas. Revista internacional de ciencias ambientales , 2013, vol. 3, no 5, p. 1497-1508.

130. MOSQUERA, Yesica Natalia. Tratamiento de lixiviados mediante humedales artificiales: revisión del estado del arte. Revista Tumbaga, 2012, vol. 1, no 7.

131. PAZ, Ninoska, et al. Uso de humedales construidos de tipo superficial a escala piloto para la remoción de sulfuros y fenoles de agua de producción de petróleo. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia, 2012, vol. 35, no 1, p. 071-079.

132. ACOSTA, Cristian Marín, et al. Tratamiento de aguas residuales por humedales artificiales tropicales en Tabasco, México/Constructed wastewater treatment by tropical-wetlands in Tabasco, Mexico/Treatment of water waste by wetlands artificial tropical in Tabasco. CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias, 2016, vol. 5, no 10, p. 1-20.

133. GONZÁLEZ, John Alexander Arredondo. Nota del potencial de los humedales construidos como estrategia para la extracción de productos farmacéuticos y de cuidado personal presentes en aguas residuales domésticas . 2016. Tesis Doctoral. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales. Maestría en Ecotecnología.

134. SARMENTO, Antover Panazzolo; BORGES, Alisson Carraro; DE MATOS, Antonio Teixeira. Effect of cultivated species and retention time on the performance of constructed wetlands. Environmental technology, 2013, vol. 34, no 8, p. 961-965.

135. RÍOS-MONTES, Karina A.; PEÑUELA-MESA, Gustavo A. Chlorothalonil degradation by a microbial consortium isolated from constructed wetlands in laboratory trials. Actualidades Biológicas, 2015, vol. 37, no 102, p. 255-265.

136. Hernández A., M. E. y A. A. Hernández S. Manual de operación de las celdas de humedales construidos en Pinoltepec, Ver. Producto entregable del Proyecto —Asesoría para

el diseño y operación de la Unidad demostrativa de humedales construidos para tratar las aguas municipales con producción de plantas ornamentales en Pinoltepec, Ver. CONAGUA. INECOL. JAMOAP. México, D.F. 2013, p: 14.

137. SHEORAN, A. S.; SHEORAN, V. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. *Minerals engineering*, 2006, vol. 19, no 2, p. 105-116.

138. AYAZ, SC Post-tratamiento y reutilización de aguas residuales tratadas terciarias por humedales artificiales. *Desalinización* , 2008, vol. 226, no 1-3, pág. 249-255.

139. MARCHAND, Lilian, et al. Copper removal from water using a bio-rack system either unplanted or planted with *Phragmites australis*, *Juncus articulatus* and *Phalaris arundinacea*. *Ecological engineering*, 2014, vol. 64, p. 291-300.

140. CALHEIROS, Cristina SC, et al. Constructed wetland with a polyculture of ornamental plants for wastewater treatment at a rural tourism facility. *Ecological Engineering*, 2015, vol. 79, p. 1-7.

141. SANZ, Javier Mena; MARTÍN, Núñez; CAMACHO, José Villaseñor. Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: Ventajas de los sistemas híbridos. Castilla, España: CONAMA, 2009.

142. TANG, Xianqiang, et al. Processes impacting on benzene removal in vertical-flow constructed wetlands. *Bioresource technology*, 2009, vol. 100, no 1, p. 227-234.

143. CHEN, Jun, et al. Removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from domestic sewage by constructed wetlands: effect of flow configuration and plant species. *Science of the Total Environment*, 2016, vol. 571, p. 974-982.

144. Chen, D.; Gu, X.; Zhu, W.; He, S.; Huang, J.; Zhou, W. Electrons transfer determined greenhouse gas emissions in enhanced nitrogen-removal constructed wetlands with different carbon sources and carbon-to-nitrogen ratios. *Bioresour. Technol.* 2019, 285, 121313.

145. LI, Ming y col. Estudio comparativo de la estructura de la comunidad microbiana en diferentes medios de filtro de humedales artificiales. *Revista de Ciencias Ambientales* , 2010, vol. 22, no 1, pág. 127-133.

146. ZHAO, Yaqian, et al. Investigación preliminar de humedales construidos que incorporan celdas de combustible microbianas: ensayos de flujo continuo y discontinuo. *Revista de Ingeniería Química* , 2013, vol. 229, p. 364-370.

147. WHITE, Sarah A.; COUSINS, Matthew M. Floating treatment wetland aided remediation of nitrogen and phosphorus from simulated stormwater runoff. *Ecological Engineering*, 2013, vol. 61, p. 207-215.
149. CAO, Wenping, y col. Eliminación de compuestos nitrogenados del agua contaminada del río mediante humedales flotantes contruidos utilizando paja de arroz y ceramsita como sustratos en condiciones de baja temperatura. *Ingeniería Ecológica* , 2016, vol. 88, p. 77-81.
150. XIE, Zhenglei, et al. Effect of surrounding land-use change on the wetland landscape pattern of a natural protected area in Tianjin, China. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 2012, vol. 19, no 1, p. 16-24.
150. ZHOU, Xiaohong; WANG, Guoxiang. Nutrient concentration variations during *Oenanthe javanica* growth and decay in the ecological floating bed system. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, vol. 22, no 11, p. 1710-1717.
151. Marín-Muñiz, J. L., Hernández, M. E., Gallegos-Pérez, M. P., & Amaya-Tejeda, S. I. Plant growth and pollutant removal from wastewater in domiciliary constructed wetland microcosms with monoculture and polyculture of tropical ornamental plants. *Ecological Engineering*, (2020). 147, 105658.
152. Lai, D. Y., & Lam, K. C. Phosphorus sorption by sediments in a subtropical constructed wetland receiving stormwater runoff. *Ecological engineering*, 2009, 35(5), 735-743.
153. Badiou, P., Page, B. y Ross, L. Una comparación de la calidad del agua y las emisiones de gases de efecto invernadero en humedales contruidos y cuencas de retención convencionales con y sin manejo de macrófitos sumergidos para la regulación de aguas pluviales. *Ingeniería ecológica* , 2019, 127 , 292-301.
154. Diz Rosales, N. Revisión bibliográfica. Generación y almacenamiento de electricidad mediante sistemas biológicos: células de combustible microbiano, 2017.
155. Vargas, T., & Francisco, C. Generación de electricidad a través de microorganismos en los sedimientos de humedales, Ite-Tacna. 2018.
156. Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., ... & Rabaey, K. Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, 2006, 40(17), 5181-5192.

157. Liu, D., Wu, X., Chang, J., Gu, B., Min, Y., Ge, Y., ... y Wu, J. Humedales construidos como sistemas de producción de biocombustibles. *Nature Climate Change*, 2012, 2 (3), 190-194.
158. Corbella, C., Guivernau, M., Viñas, M., & Puigagut, J. Operational, design and microbial aspects related to power production with microbial fuel cells implemented in constructed wetlands. *Water research*, 2015, 84, 232-242.
159. MIRANDA, Suymara Toledo, et al. Influence of the substrate type and position of plant species on clogging and the hydrodynamics of constructed wetland systems. *Journal of Water Process Engineering*, 2019, vol. 31, p. 100871.
160. De San Miguel, S. R., & Jorge, A. Energía renovable en México: Retos y oportunidades. *Energía*, 2019, 40(25).
161. Jorge, S. I. L. V. A. Energía renovable en México: Retos y oportunidades. *Revista ESPACIOS*, 2019, 40(25).
163. Trejo-Téllez, L. I., Ramírez-Martínez, M., Gómez-Merino, F. C., García-Albarado, J. C., Baca-Castillo, G. A., & Tejeda-Sartorius, O. Physical and chemical evaluation of volcanic rocks and its use for tulip production. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2013, 4(Especial 5), 863-876.
164. Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Rice, E. W., & Greenberg, A. E. American Public Health Association (APHA) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington: American Water Works Association; Water Pollution Control Federation; 2005.
165. Haritash, A. K., Sharma, A., & Bahel, K. The potential of Canna lily for wastewater treatment under Indian conditions. *International journal of phytoremediation*, 2015, 17(10), 999-1004.
166. Tran, H. D., Vi, H. M. T., Dang, H. T. T., & Narbaitz, R. M. Pollutant removal by Canna Generalis in tropical constructed wetlands for domestic wastewater treatment. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 2019, 5(3), 331-344.
167. KATO, M., INTHAVONGSA, K., & IMAI, K. An estimation of leaf area in edible canna (Canna edulis Ker.). *Japanese Journal of Crop Science*, 1989, 58(4), 753-754.
168. Casierra Posada, F., Nieto, P. J., & Ulrichs, C. Crecimiento, producción y calidad de flores en calas (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) expuestas a diferente calidad de luz, 2012.

169. Zamora-Castro, S. A., Marín-Muñiz, J. L., Sandoval, L., Vidal-Álvarez, M., & Carrión-Delgado, J. M. Effect of Ornamental Plants, Seasonality, and Filter Media Material in Fill-and-Drain Constructed Wetlands Treating Rural Community Wastewater. *Sustainability*, 2019, *11*(8), 2350.
170. Cui, L., Ouyang, Y., Lou, Q., Yang, F., Chen, Y., Zhu, W., & Luo, S. Removal of nutrients from wastewater with *Canna indica* L. under different vertical-flow constructed wetland conditions. *Ecological Engineering*, 2010, *36*(8), 1083-1088.
171. Cui, L., Feng, J., Ouyang, Y., & Deng, P. Removal of nutrients from septic effluent with re-circulated hybrid tidal flow constructed wetland. *Ecological Engineering*, 2012, *46*, 112-115.
172. Alemu, K., Assefa, B., Kifle, D., & Kloos, H. Nitrogen and Phosphorous Removal from Municipal Wastewater Using High Rate Algae Ponds. *INAE Letters*, 2018, *3*(1), 21-32.
173. Zhang, X., Zha, L., Jiang, P., Wang, X., Lu, K., He, S., ... & Zhou, W. (2019). Comparative study on nitrogen removal and functional genes response between surface flow constructed wetland and floating treatment wetland planted with *Iris pseudacorus*. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(23), 23696-23706.
174. Li, X., Zhang, M., Liu, F., Chen, L., Li, Y., Li, Y., ... & Wu, J. (2018). Seasonality distribution of the abundance and activity of nitrification and denitrification microorganisms in sediments of surface flow constructed wetlands planted with *Myriophyllum elatinoides* during swine wastewater treatment. *Bioresource technology*, *248*, 89-97.
175. Zhou, X., Wang, X., Zhang, H., & Wu, H. Enhanced nitrogen removal of low C/N domestic wastewater using a biochar-amended aerated vertical flow constructed wetland. *Bioresource technology*, 2017, *241*, 269-275.
176. Vymazal, J. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: a review of a recent development. *Water research*, 2013, *47*(14), 4795-4811.
177. Vymazal, J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the total environment*, 2007, *380*(1-3), 48-65.
178. Zurita, F., De Anda, J., & Belmont, M. A. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 2009, *35*(5), 861-869.

179. Shen, Y., Zhuang, L., Zhang, J., Fan, J., Yang, T., & Sun, S. (2019). A study of ferric-carbon micro-electrolysis process to enhance nitrogen and phosphorus removal efficiency in subsurface flow constructed wetlands. *Chemical Engineering Journal*, 359, 706-712.
180. 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
181. Lin-Lan, Z., Ting, Y., Jian, Z., & Xiangzheng, L. The configuration, purification effect and mechanism of intensified constructed wetland for wastewater treatment from the aspect of nitrogen removal: A review. *Bioresource technology*, 2019, 122086.
182. Torres Bojorges, Á. X., Hernández Razo, N. A., Urquieta, F., Aseret, A., & Zurita Martínez, F. Evaluación de tres sistemas de humedales híbridos a escala piloto para la remoción de nitrógeno. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2017, 33(1), 37-47.
183. Gadkari, S., Shemfe, M., & Sadhukhan, J. Microbial fuel cells: A fast converging dynamic model for assessing system performance based on bioanode kinetics. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2019, 44(29), 15377–15386. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.04.065>
184. Feng, Y., Wang, X., Logan, B. E., & Lee, H. Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells, 2008, 873–880. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1360-2>
185. Yu, Y. Y., Song, H., Yan, X., & Chen, W. N. The effect of external resistance on biofilm formation and internal resistance in *Shewanella* inoculated microbial fuel cells Ting. 2016, <https://doi.org/10.1039/C5RA26125B>.
186. Capodaglio, A. G., Molognoni, D., Puig, S., Balaguer, M. D., & Colprim, J. Role of Operating Conditions on Energetic Pathways in a Microbial Fuel Cell. *Energy Procedia*, 2015, 74, 728–735. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.07.808>
187. Mohan, S. V., Raghavulu, S. V., Peri, D., & Sarma, P. N. Biosensors and Bioelectronics Integrated function of microbial fuel cell (MFC) as bio-electrochemical treatment system associated with bioelectricity generation under higher substrate load, 2009, 24(2009), 2021–2027. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.10.011>
188. WALTER, Xavier Alexis, et al. Scalability of self-stratifying microbial fuel cell: Towards height miniaturisation. *Bioelectrochemistry*, 2019, vol. 127, p. 68-75.

ANEXOS



International Journal of
*Environmental Research
and Public Health*



Article

Nitrogen Removal from Domestic Wastewater and the Development of Tropical Ornamental Plants in Partially Saturated Mesocosm-Scale Constructed Wetlands

Carlos Nakase ¹, Florentina Zurita ², Graciela Nani ³, Guillermo Reyes ⁴, Gregorio Fernández-Lambert ¹, Arturo Cabrera-Hernández ¹ and Luis Sandoval ^{1,4,*}

¹ Division of Research, Postgraduate Studies and Innovation, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Misantla, Misantla, Veracruz C.P. 93821, Mexico; cynakaser@itsm.edu.mx (C.N.); gfernandezl@itsm.edu.mx (G.F.-L.); arturocabrerahernandez@itsm.edu.mx (A.C.-H.)

² Quality Environmental Laboratory, Centro Universitario de la Ciénega, University of Guadalajara, Ocotlán, Jalisco C.P. 47820, Mexico; fzurita2001@yahoo.com

³ Department of Engineering in Business Management, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Misantla, Misantla, Veracruz C.P. 93821, Mexico; genanir@itsm.edu.mx

⁴ Master of Engineering in Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de San Andrés Tuxtla, San Andrés Tuxtla, Veracruz C.P. 95804 Mexico; greyesm_13@hotmail.com

* Correspondence: lcsandovalh@gmail.com

Received: 29 October 2019; Accepted: 25 November 2019; Published: 29 November 2019



Abstract: Vertical partially saturated (VPS) constructed wetlands (CWs) are a novel wastewater treatment system for which little information is known about its design parameters and performance under tropical climates. The objective of this study is to evaluate the nitrogen removal process from domestic wastewater and the production of tropical ornamental plants (*Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica*) in VPS CWs at a

mesocosms scale. Nine VPS CWs, with a free-flow zone of 16 cm and a saturated zone of 16 cm, were used as experimental units. Three units were planted with *Canna hybrids.*, and three, with *Zantedeschia aethiopica* (one plant per unit); the remaining three units were established as controls without vegetation. They were fed with domestic wastewater intermittently and evaluated for the elimination of COD, N-NH₄, N-NO₃, Norg, NT, and PT. The results showed an increase in the removal for some pollutants in the vegetated systems, i.e., N-NH₄ (35%), Norg (16%), TN (25%), and TP (47%) in comparison to the unvegetated systems. While N-NO₃ removal showed better removal in 10% of the systems without vegetation, no significant differences were found ($p > 0.05$) for COD removal. The aerobic and anaerobic conditions in the VPS CWs favor the elimination of pollutants in the systems, and also the development of the tropical species evaluated in this study; good development was exhibited by a high growth rate and biomass production.

Keywords: constructed wetlands; nitrogen; ornamental plants; biomass; wastewater

Introduction

Nitrogen is a common pollutant present in wastewater around the planet [1–3]. Its presence in a range of concentrations in wastewater that are discharged without treatment or poorly treated in surface aquatic bodies provokes negative impacts in aquatic ecosystems such as rivers and lakes [4]. Nitrogen is one of the main pollutants responsible for eutrophication of surface waters that in turn reduces dissolved oxygen and endangers aquatic life. Nitrogen concentrations in surface water and groundwater bodies are difficult to regulate and control [5,6]. In wastewater, nitrogen can be present in different forms and can be transformed when wastewater is treated by different mechanisms. In the process of nitrification and denitrification, nitrogen suffers two transformations if it is in the form of ammonium. The first is nitrification, where ammonium is converted to nitrate and develops in the presence of oxygen. However, through nitrification, nitrogen is not removed from the wastewater; it only changes chemically. In the second step, in denitrification that develops in an anoxic/anaerobic environment, nitrate is transformed into a removable gaseous product [7,8]. According to Metcalf and Eddy [9] and Bojorges et al. [10], in domestic wastewater, nitrogen is present as organic nitrogen (Norg), ammonium (N-NH₄), and nitrate (NO₃⁺). A cost-effective natural alternative to conventional wastewater treatment is constructed wetlands (CWs), which are engineered systems that mimic the functions of natural wetlands in terms of their phytoremediation capacity [11,12]. These are composed of substrates, plants, microorganisms, and wastewater and can be designed to remove nitrogen present in wastewaters with favorable

results; although their elimination in CWs along with phosphorus is still a challenge [13]. In this sense, new design trends have been developed by combining different types of wetlands in a single system to achieve higher removal efficiencies of these pollutants [14,15], taking into account the transformation mechanisms in wetlands. For the elimination of total nitrogen, Norg must be transformed to N-NH₄⁺, increasing the concentration of that already present in the wastewater. N-NH₄ can be assimilated by plants through their roots or by aerobic and anaerobic microorganisms that are present in the systems transforming it back into Norg [16]. In addition, at pH > 8, ammonium is transformed into ammonia and might be volatilized or sequestered on the substrates by ion exchange [17,18]. However, the main mechanism of elimination of N-NH₄ in CWs is the conversion to NO₃⁻ in aerobic conditions by *Nitrosomonas* and *Nitrobacter* [16,19]. Finally, the elimination NO₃⁻ in CWs takes place by the assimilation of plants in their tissues by absorption through the radical zone, but mainly through denitrification that is possible in anoxic/anaerobic conditions, where the nitric oxide (NO) is transformed to nitric oxide (N₂O) and finally to nitrogen gas (N₂) [20–22]. The different mechanisms for transforming nitrogen in wetlands depend on the type of wetland. Those with a horizontal subsurface flow are constantly saturated, prevailing anoxic/anaerobic conditions that favor denitrification (if organic matter is present), while in those with vertical flow, the presence of oxygen is greater, given their intermittent feeding, so nitrification is favored [10,20]. Although combined systems (vertical and horizontal flow wetlands) have been used to solve this problem, they increase the construction and implementation costs, as well as the space required for their operation [23,24]. An alternative to properly remove nitrogen is to include saturated and unsaturated conditions in a system in the same cycle, such as partially saturated vertical wetlands [13,25–27]; nitrification in these systems is possible in the free-flow zone and denitrification in the saturated zone of the system. Unfortunately, information on the operating mechanisms and the installation of these systems is little and are not clearly understood. In order to provide information on the design parameters and performance of these systems in tropical climate conditions, this study aims to evaluate the process of nitrogen removal present in domestic wastewater and the production of tropical ornamental plants (*Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica*) in vertical partially saturated (VPS) constructed wetlands (CWs) at a mesocosm scale.

Materials and Methods

1.1. Description of the Study Area

This study was conducted at the facilities of Instituto Tecnológico Superior de Misantla

(ITSM), Misantla, Veracruz Mexico, from 15 January 2019 to 15 July 2019. Misantla is a municipality that has

a tropical climate, with an average annual temperature of 23.3 °C; the coldest month of the year is December, and the hottest is June with temperatures of 19.9 °C and 32 °C, respectively; the average annual rainfall is 1862 mm [28]. The systems were protected by a shadow mesh (50% shade) at the height of 3.5 m from the ground. The wastewater used for the performance of this study was taken from a municipal sewer line which passes through the ITSM facilities. The wastewater was collected with a pump (Truper 1-HP-Model: BOAP-A) and was stored in a tank of 1500 L, which worked not only for storage but also to provide sedimentation to the municipal wastewater whose physico-chemical composition is shown in Table 1.

Table 1. Chemical characteristics of wastewater used in this study.

Parameter	Value
COD (mg/L)	550.7 ± 33.6
N-NH ₄ (mg/L)	75.8 ± 21.7
N-NO ₃ (mg/L)	5.7 ± 2.4
N Org (mg/L)	8.3 ± 1.7
TN (mg/L)	99.8 ± 25.78
TP (mg/L)	9.7 ± 3.4
Dissolved Oxygen	1.2 ± 0.78
pH	8.0 ± 0.32

1.2. Description of the System

Nine experimental units at mesocosm level were constructed in cylindrical units of high-density polyethylene and high molecular weight (recycled from paint containers) with a volume of 19 L. The experimental units imitated the operation of VPS CWs and were exposed to the environmental conditions but protected from direct sunlight by a 50% shade mesh. The wastewater level in all systems remained 16 cm below the surface of the substrate, generating a zone of constant saturation (anoxic/anaerobic), and the remaining 16 cm were of a drainage-free zone (Figure 1).

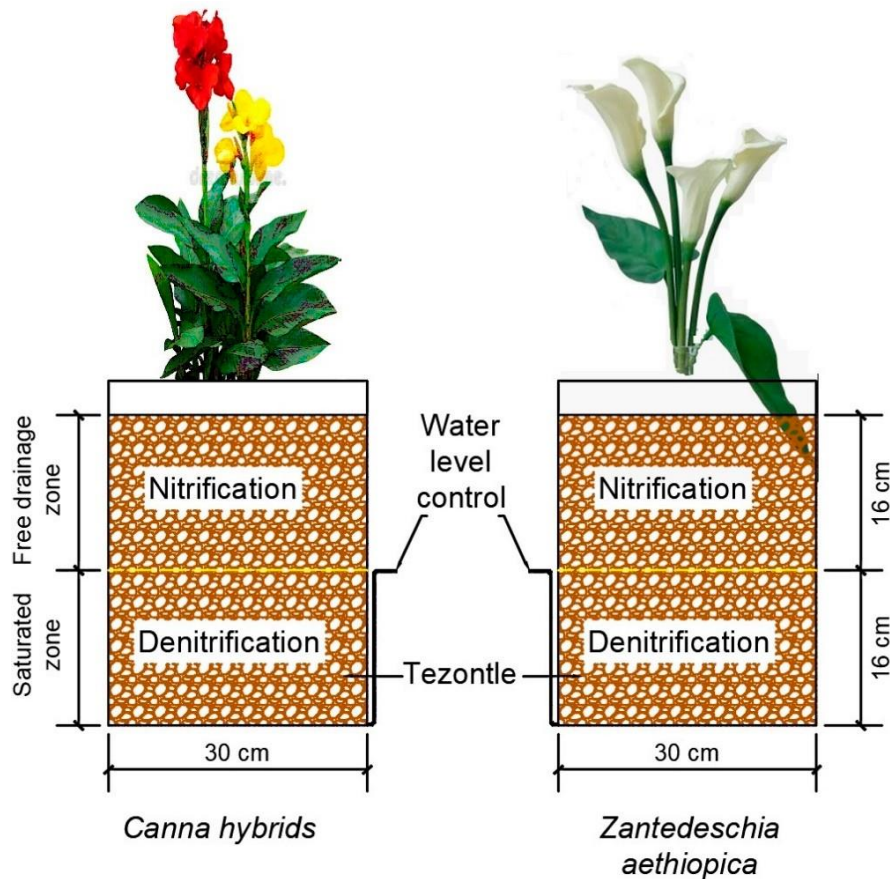


Figure 1. Configuration of the Vertical partially saturated (VPS) constructed wetlands (CWs) at a mesocosms sca

Tezontle was used as a substrate, with a diameter of 1 to 3.5 mm and a measured porosity of 0.53. This material has a larger contact surface than basaltic rocks, although it has the same chemical composition [29]. It is an inert material that has no toxic substances and is physically stable; its pH is close to neutral [30] and it is easily found in the study area.

The mesocosms were fed intermittently with 160 mL every 2 h by automatic 12-W pumps. Ornamental species of tropical climates were used, i.e., *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica*, which were collected from their natural habitat close to the area where the experimental units were established. All plants had a height in the range of 15 to 20 cm. Three VPS CWs mesocosms were planted with *Canna hybrids* and three with *Zantedeschia aethiopica* and other three units filled with the same substrate but without vegetation were used as controls. The systems were fed for two weeks with tap water and during the following three weeks, with diluted wastewater until 15 January 2019; thereafter, the systems were fed by wastewater directly.

2.3. Plant Development

In order to know the influence of different parameters on plant development, when the plants were well established in each mesocosms, the number of shoots, flower length, leaf

length, leaf width, stem thickness, and plant height were measured at 60, 120, and 180 days. The production of flowers was also quantified each month during the study period.

2.4. Biomass Production

Once the experiment was finished, the plants ($n = 6$ for *Canna hybrids*, and $n = 6$ for *Zantedeschia aethiopica*) were removed to determine the aerial and underground biomass, for which the plants were separated from its root. Each section of the plants was washed and dried in the open air for 48 h and then placed in an oven at 100 °C for at least 72 h to obtain its constant weight. Finally, to obtain the biomass production, the plants were weighed by a digital analytical balance (Shimadzu AUW-220D) [31].

2.5. System Monitoring

Once the VPS CWs mesocosms were stabilized, the wastewater quality parameters were measured at both mesocosm inputs and outputs from 15 January 2019 to 15 July 2019, every 15 days using standard methods for wastewater analysis [32]. These parameters were dissolved oxygen (DO), water temperature, pH, total phosphorus, chemical oxygen demand (COD), ammonium (N-NH₄), nitrates (N-NO₃), and total nitrogen Kjeldhal (TNK).

2.6. Data Analysis

The results obtained from the removal of contaminants were analyzed with the Dunnett test. The equality of means between control and vegetated systems was established as a null hypothesis, with a 95% confidence interval as a statistical requirement of this test. The data independence test was developed referring to X^2 of Bartlett variance test [33] in Statistical Software R version 3.6 and RStudio 1.1.4.

Results

1.3. Plant Development

The growth of *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* was monitored bimonthly for six months based on various vegetative growth parameters including plant height, stem thickness, number of leaves, leaf width and length, as well as the number of shoots. The sustained and vigorous growth of both species was observed according to the different parameters (Figure2).

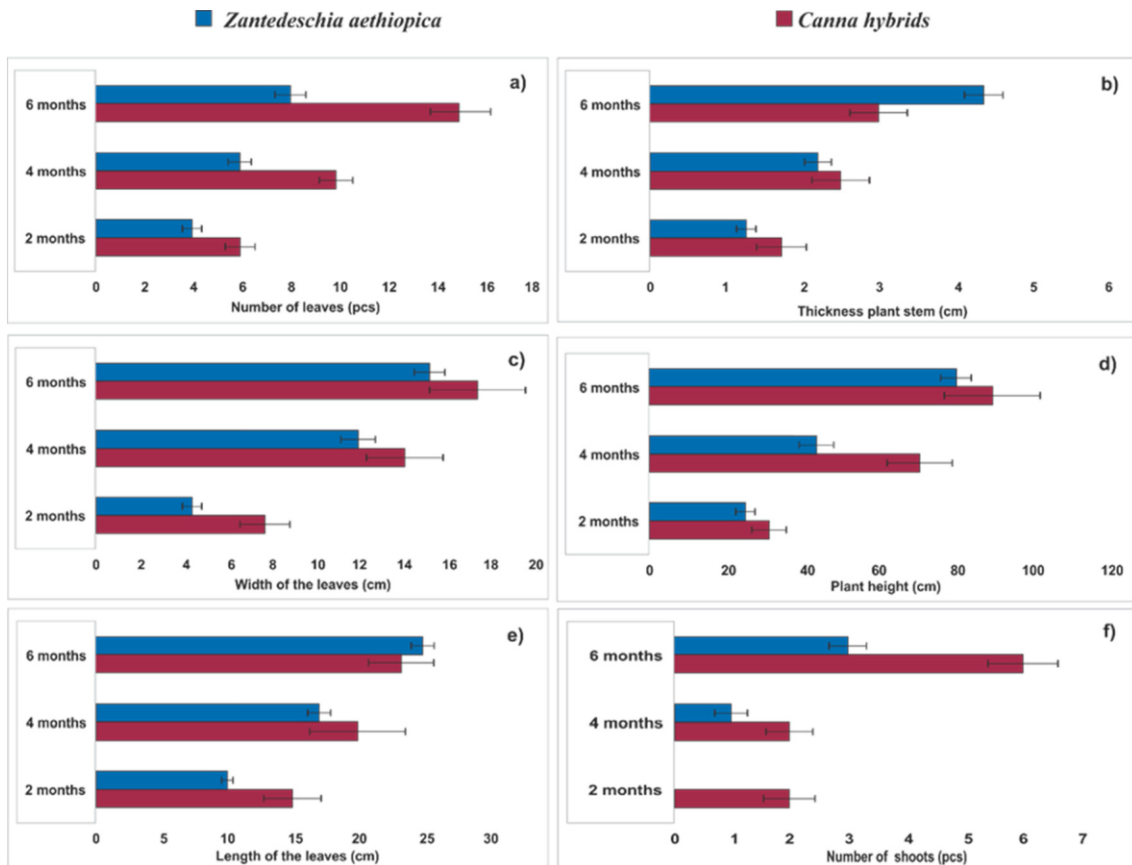


Figure 2. Development of *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica*, during the period of study in VPS CW mesocosms. (a) Number of leaves, (b) Thickness plant stem, (c) Width of the leaves, (d) Plant height,

(e) Length of the leaves, (f) Number of shoots. Average \pm standard deviation.

The *Canna hybrids* reached a value of 90 ± 10 cm in height at the end of the experiment (Figure 2d), with a stem diameter of $3 \text{ cm} \pm 0.5 \text{ cm}$; these values are similar to those reported for several varieties of *Canna* spp., in experimental agricultural fields under optimal growing conditions. For *Zantedeschia aethiopica*, the average maximum height was $80 \text{ cm} \pm 5$ (Figure 2d) with a stem diameter of $4.4 \pm 0.5 \text{ cm}$; these values are congruent with those reported by Cruz-Castillo and Torres-Lima [34] in the crops of this species in producing areas within the same state of Veracruz, where this study was carried out.

On the other hand, the increase in the height of the two species showed a linear relationship with respect to time. For *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* (Figure 3) the height increases were 0.4166 cm/day ($R^2 = 0.9631$) and 0.388 cm/day ($R^2 = 0.9146$), respectively. This information is congruent for the cultivation of the same species in other CW systems reported by other authors [35,36]. Additionally, the value of the leaf area was estimated by applying the equation proposed by Kato et al. [37]: $Y = 0.704X$; where Y is the leaf area and X is the product of the length multiplied by leaf width (Figure 2a,c,e). It was found that the leaf areas for *Canna hybrids* were 475, 1971, and 4128 cm^2 for 2, 4, and 6 months, respectively; while for *Zantedeschia aethiopica*, these were 112, 861, and 2112 cm^2 , respectively. These values are lower than those reported in agricultural crops of the two species

[38]. Similar to the increase in height, the increase of the leaf area with respect to time presented a linear adjustment with a value of R^2 of 0.9892 for *Canna hybrids* and 0.9795 for *Zantedeschia aethiopica*.

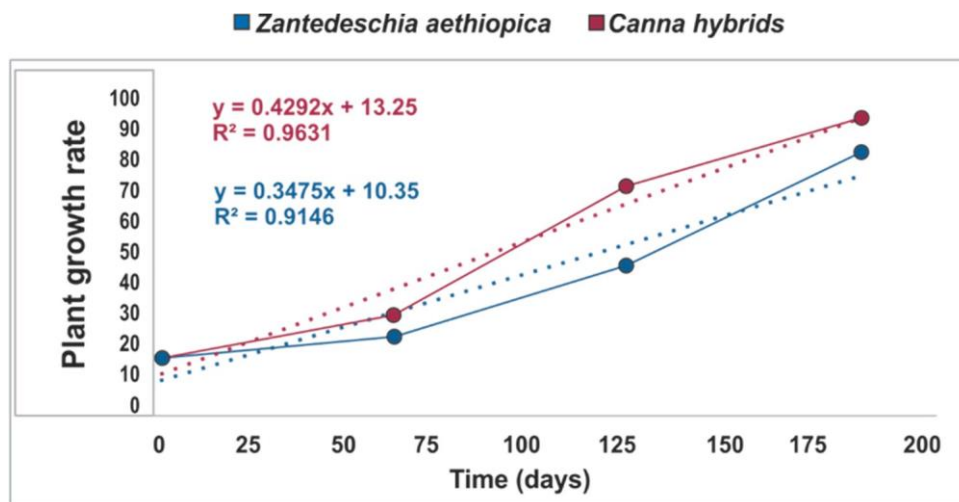


Figure 3. A linear relationship between the height increase and time for the two species.

With the flowers produced by *Canna hybrids*, data had an average measure of 9.3 ± 0.8 cm, similar to that reported by Zamora-Castro et al. [39] and Cui et al. [40] for *Canna* flowers. With respect to *Z. aethiopica*, the average length of the flowers was similar to the 14 cm reported in the literature for plants cultivated in an experimental agricultural field during the same period of time. In addition, the number of flowers per plant falls within the range of flowers produced by this plant reported from 3 to 5 per year, applying compost to the crop [34]. This behavior of higher flower production in less time could be due to the presence of constant nutrients in the wastewater and the high elimination of phosphorus reported in this study (Table 2). With regard to the production of shoots (Figure 2f), this was higher for *Canna hybrids* than *Zantedeschia aethiopica*, which may have been due to the fact that *Canna hybrids* is a promiscuous breeding plant.

Table 2. Control parameters in the VPS CWs at a mesocosms scale.

Parameter	Influent	<i>Canna indica</i>	<i>Zantedeschia aethiopica</i>	Control TZN
+		TZN	+ TZN	

Water Temperature (°C)	24.6 ± 2.3	18.3 ± 2.4	17.9 ± 1.4	19.1 ± 1.2
DO (mg/L)	1.2 ± 0.78	8.9 ± 0.3	7.2 ± 0.2	4.8 ± 0.4
pH	8.0 ± 0.32	7.4 ± 0.4	7.7 ± 0.2	7.05 ± 0.6

Values are given as the average ± standard deviation ($n = 24$). DO, dissolved oxygen; TZN, Tezontle.

As for the biomass production for *Canna hybrids*, it was fast in VPS CWs. This species is suitable for use in CWs, for its rapid growth (Figure 2d) and its positive effect on the elimination of some specific pollutants (Table 3), although it is not a typical plant of natural wetlands. Figure 4 shows the biomass produced at the end of the study period, the dry matter obtained for both species showed a ratio of root biomass to aerial biomass of approximately 60:40, similar to that reported for soil cultivation of *Z. aethiopica* (60/40) [38]. The above indicates that VPS CWs can be a suitable growing system for this type of plant, allowing their use for commercial and/or aesthetic purposes in CW systems. Apparently, the partially saturated conditions of the CWs favored the development of these two species, taking into account that these conditions are more similar to those they have in their natural form of cultivation.

Table 3. Wastewater quality parameters and pollutant removals in the mesocosms.

Parameters	Vegetation	Water Quality in the Mesocosms		
		(Concentration mg L)		Elimination Efficiency (%)
		Input	Output	
CDO (mg/L)	<i>Canna hybrids</i> + TZN	550.7 ± 33.6	16.4 ± 14.6	97.07 ± 2.72
	<i>Zantedeschia aethiopica</i> + TZN	550.7 ± 33.6	14.62 ± 11.4	97.47 ± 1.92
	Control TZN	550.7 ± 33.6	17.6 ± 11.6	96.92 ± 1.92
N-NH ₄ (mg/L)	<i>Canna hybrids</i> + TZN	75.8 ± 21.7	26.7 ± 12.6	72.52 ± 0.11
	<i>Zantedeschia aethiopica</i> + TZN	75.8 ± 21.7	33.5 ± 16.3	58.57 ± 9.64
	Control TZN	75.8 ± 21.7	52.4 ± 14.7	30.75 ± 0.43
N-NO ₃ (mg/L)	<i>Canna hybrids</i> + TZN	5.7 ± 2.4	1.1 ± 0.9	84.62 ± 9.32
	<i>Zantedeschia aethiopica</i> + TZN	5.7 ± 2.4	1.3 ± 1.1	82.44 ± 9.5
	Control TZN	5.7 ± 2.4	0.3 ± 0.2	94.40 ± 1.57
N Org (mg/L)	<i>Canna hybrids</i> + TZN	8.3 ± 1.7	2.1 ± 1.5	77.46 ± 13.46
	<i>Zantedeschia aethiopica</i> + TZN	8.3 ± 1.7	2.7 ± 2.1	71.38 ± 19.45
TN (mg/L)	Control TZN	8.3 ± 1.7	3.6 ± 1.4	58.34 ± 8.34
	<i>Canna hybrids</i> + TZN	99.8 ± 25.78	29.9 ± 14.87	72.02 ± 7.67
	TP (mg/L)			

<i>Zantedeschia</i>		99.8 ± 25.78	37.5 ± 19.49	65.15 ± 10.52
<i>aethiopica</i>				
+				
TZN	Control TZN	99.8 ± 25.78	56.3 ± 16.26	44.07 ± 1.84
	<i>Canna hybrids</i> + TZN	9.7 ± 3.4	0.3 ± 0.2	95.30 ± 0.89
/L)	<i>Zantedeschia aethiopica</i> + TZN	9.7 ± 3.4	2.1 ± 1.6	81.89 ± 10.17
	Control TZN	9.7 ± 3.4	5.6 ± 1.8	41.6 ± 1.91

Values are given as the average ± standard deviation ($n = 24$).

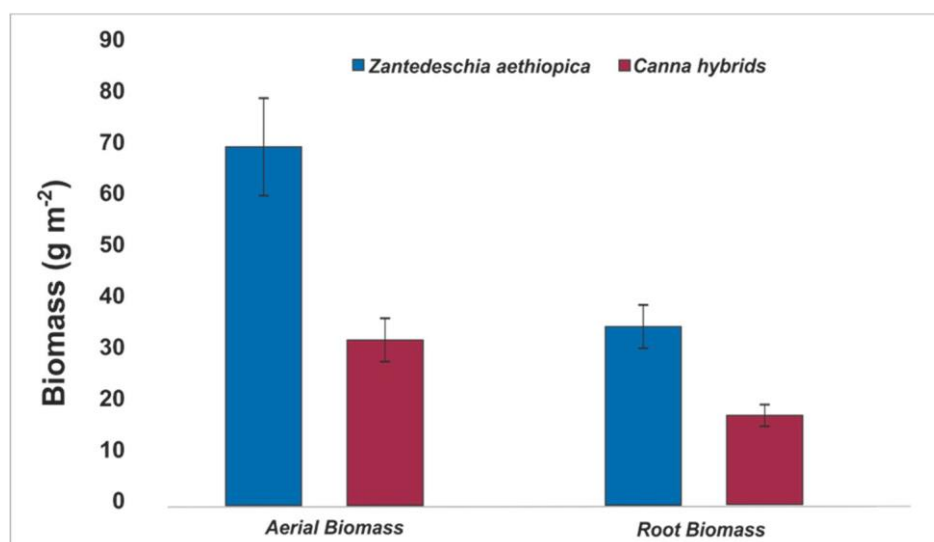


Figure 4. Aerial and subterranean biomass means of *Canna hybrids* and *Z. aethiopica* in partially saturated vertical CWs. Average \pm standard deviation.

1.4. Wastewater Analysis

The optimum temperature for removing different contaminants in constructed wetlands is above 15 °C [41]. In this study, the temperature was measured at the input and output of the systems with a laboratory glass thermometer, and the average values are shown in Table 2. A significant decrease was found after passing through the mesocosms ($p < 0.05$) on average at 6 °C, which could be due to the hydraulic retention time used in this study, according to Akrotos and Tsihrintzis [42].

According to Alemu et al. [43], the optimal pH to favor contaminant removal is in the range of 6.5–8.5, and the data reported in this study are in these ranges (Table 2). On the other hand, their behavior showed a significant increase after the treatment with the mesocosms (Table 2) ($p < 0.05$). This behavior can be explained by the capacity of the CWs to maintain approximately constant values (buffer) [44,45]. In relation to the OD, VPS CW mesocosms facilitate the diffusion of oxygen in the free-flow zones [13] (Figure 1). In the systems of this study, the presence of DO was high (Table 2), indicating aerobic conditions in the free drainage zone of the systems [13]. The systems with the presence of vegetation showed significant increases ($p < 0.05$) in relation to the systems without vegetation (Table 2); this could be due to the release of oxygen in the radical zone. However, this supply is very low and could be consumed quickly in the rhizosphere by aerobic microorganisms [46], which indicates that when taking the sample at the exit, oxygen could be increased.

1.5. Elimination of COD in CWs-VPS

COD is one of the main parameters used to measure the content of organic matter in wastewater and refers to the ability of the wastewater to deplete the content of dissolved

oxygen [47]. Table3 shows the removal of COD; no significant differences were found ($p > 0.05$) between systems planted with *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* and without vegetation during the study period. These results are consistent with other studies that have found no significant differences between systems with and without vegetation [48]. On the other hand, in other studies with conventional CWs planted with *Canna hybrids* and *Zantedeschia ethiopia*, the removal efficiencies for COD have been found in the range of 40% to 70% with influent concentrations between 120 to 350 mg/L [49]. However, in this study, by using the same ornamental plants in novel VPS CWs (Table3), the COD removal efficiencies were higher with also higher influent concentrations (517 to 584 mg/L). Apparently, the VPS CWs are more effective than other conventional CWs for COD removal; however, it is necessary to conduct a study with the same influent (and the same environmental conditions) to draw final conclusions.

1.6. Elimination of $N-NH_4$ in CWs-VPS

The capacity of vertical flow CWs to carry out nitrification processes is well known, but in conditions of total saturation it is affected by the low presence of oxygen [13,27]. In this study, the presence of vegetation in the VPS CWs favored the elimination of $N-NH_4$, in relation to the controls without vegetation (Table3). Therefore, in the mesocosms with vegetation was eliminated more NH_4^+-N , with significant difference ($p < 0.05$) between the systems planted with *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* but also between these and the controls without vegetation. The removals found in this study are superior to those reported by Zurita and White [50] in traditional vertical flow CWs planted with *Zantedeschia aethiopica* and superior to those reported by Zamora et al. [39] in vertical flow CWs using *Canna hybrids* and tezontle substrate. It appears that the elimination mechanisms in this study were probably, the adsorption on the substrate and the assimilation by the plants [20]. Therefore, regardless of the presence or absence of vegetation in the mesocosms, the vertical partially saturated CWs had greater ammonium eliminations than in other conventional vertical flow CWs, up to 15% in systems with vegetation and 12% in systems without vegetation. Table4 shows the results of other studies with traditional vertical CWs, some of them with aeration, demonstrating that CWs-VPS show greater behavior in the elimination of $N-NH_4$.

1.7. Elimination of $N-NO_3$ in CWs-VPS

Denitrification is the main mechanism of elimination of NO_3-N . It requires anoxic/anaerobic conditions (Figure1), as well as a carbon source where facultative heterotrophic bacteria obtain energy by oxidizing organic matter [51], and it is limited by the

presence of oxygen, pH, temperature, and supply of organic carbon [52]. The appropriate ranges for biological reactions in CWs are pH ranged between 6 to 8 [20,53], situations that prevailed in this study (Table2). In terms of elimination results, no significant differences were found ($p > 0.05$) between the systems planted with *Canna hybrids* or *Zantedeschia aethiopica* (Table3), but between the systems with and without vegetation ($p < 0.05$). Although the VPS CW systems have good oxygenation, due to the lower presence of oxygen in the saturated zone, these systems could make possible a greater elimination of nitrate. On the other hand, another mechanism for nitrate removal is the assimilation by plants (although plants prefer ammonium over nitrate) that in this study allowed the generation of high densities of tissues, corroborated with the biomass production (Figure4) [10]. Additionally, in the mesocosms, greater removal was observed with rapid plant growth, so that this could be an indicator of the presence of high nutrient content in the plant tissues [20].

Table 4. Nitrogen removal in different studies with vertical flow CWs.

Scale	Type of Wetland	Plants	Pollutant Removal (%)	Reference
Microcosm	Subsurface Vertical Flow with Intermittent Aeration	<i>Oenanthe Javanica</i>	TN: 17–52% N-NH ₄ : 15–28%	Zhou et al. [54]
Microcosm	Subsurface Vertical Flow	<i>Phragmites australis</i>	N-NH ₄ : 57–65%	Dan et al. [55]
Mesocosms	Subsurface Vertical Outdoor Flow with Modified Pallet Tanks	<i>A. halimus</i> <i>J. acutus</i> <i>S. perennis</i> <i>P. australis</i>	TN: 23–30%	Fountoulakis et al. [56]
Microcosm	Aerated Vertical Flow	<i>Acorus calamus L</i>	N-NH ₄ : 43–81% TN: 20–52%	Zhang et al. [57]

1.8. Elimination of Norg in CWs-VPS

Facultative and/or anaerobic aerobic bacteria are responsible for the ammonification process, which is the main mechanism for the elimination of organic nitrogen in CWs [58]. In this study, removal efficiencies are shown in Table3, finding significant differences ($p < 0.05$) between mesocosms with *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* and without vegetation; the latter being lower than those planted with ornamental species. However, the results obtained are relatively higher than those reported in the literature in typical CWs [21,48]. Probably, these results were possible due to the greater presence of oxygen in the systems as well as the adequate pH values (Table2) in the mesocosms; ammonification takes place in the range of 6.5 to 8.5 pH [59].

1.9. Elimination of TN in CWs-VPS

The results for total nitrogen removal in the mesocosms systems (Table3) showed significant differences ($p < 0.05$) between systems with vegetation (similar results for both species) and without vegetation. The obtained results were superior to those found in 87 studies around the world with ornamental plants, reported by Sandoval et al. [49]. These results are explained by means of the nitrogen removal mechanisms in CWs, such as denitrification (in the saturated zone of the VPS CWs); assimilation by the plants, as demonstrated in their development (Figure2d) and generation of remarkable biomass (Figure4). Other processes were also possible, e.g., ammonification and nitrification (in the presence of oxygen in the free zone of the mesocosms and the plant radical zones). On the other hand, environmental conditions such as temperature and pH ranges favored the growth of bacteria (optimal ranges 6.6 to 8.0), which allowed an efficient elimination of NT in these systems. So that, different factors contributed to the high efficiencies of the mesocosms, such as the integration of free-flow and saturated conditions in the same system, the selection of an adequate substrate such as tezontle and the use of *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* as emergent vegetation, for its easy adaptation and its rapid development in CWs.

1.10. TP Elimination in CWs-VPS

The results for total phosphorus removal are shown in Table 3. Significant differences were found ($p < 0.05$) between the systems with vegetation, being the elimination in the system with *Canna hybrids*, superior in 13% with respect to the system with *Zantedeschia aethiopica*. There were also significant differences ($p < 0.05$) between the systems with vegetation and those without vegetation; the systems with vegetation were more efficient in 35% to 55%. These results are high in relation to other studies as those reported by Shen et al. [60], who report removal ranges of 21% to 39% and Brix and Arias [61] who report 25% removals, both using stony substrates. On the other hand, the presence of vegetation played an important role in the removal, this could be due to the high production of flowers generated by plant species and biomass production, taking into account that phosphorus induces flowering in plants and the increase of biomass in them [20]. Ion exchange, precipitation in the systems [10] and the minerals contained in the teat could be another way of elimination [62].

Conclusions

VPS CWs proved to be more efficient than free-flow vertical CW systems for nitrogen removal; an increase in nitrogen removal in the 20–30% range is reported in the literature; with the additional advantages of reducing space to reach the same percentages of elimination of pollutants achieved in combined vertical and horizontal subsurface flow CWs.

The use of *Canna hybrids* and *Zantedeschia aethiopica* as emergent vegetation in VPS CWs is an alternative that increases the presence of dissolved oxygen in the systems; it also favors the elimination of specific compounds such as ammonium and phosphorus and additionally gives an aesthetic value to the systems facilitating their insertion in inter-urban and rural environments of areas where they are required for wastewater treatment.

Tropical weather conditions are favorable for the operation of these systems, given the higher temperatures, higher light intensity, and more standing vegetation that can be used in VPS CWs.

The results of plant development and biomass production indicate that the operating conditions of the VPS CWs favor the further development of plants and promote an environment of growth more similar to that which they may face in natural conditions of

development. These multiple functions of the vegetation in the systems as phytoremediators and as ornamental plants that harmonize the landscape where they are implemented for the treatment of residual waters, and their use on a great scale can be with the aims of commercialize of this type of exotic plants that are developed in tropical and intertropical climates.

However, this study was performed only at the mesocosm scale, so that future studies should be implemented at a pilot scale (closer to large scales) to get more conclusive results with regard to the use of ornamental species with variations in design parameters, such as depth of saturated zones and free-flow zones in different climatic conditions and during longer periods of evaluation. In addition, other studies could focus on the evaluation of wastewater with a low carbon content that implies the addition of internal or external sources of carbon in the saturated zone of VPS CWs.

Author Contributions: Conceptualization, L.S., F.Z., G.R.; methodology, L.S., G.R.; validation, L.S., G.N., G.F.-L., A.C.-H.; formal analysis, L.S., G.R.; investigation, L.S., G.N., G.N., C.N.; resources, L.S., C.N.; data curation, L.S., G.R.; writing—original draft preparation, L.S., F.Z., G.R.; writing—review and editing, L.S., F.Z.; visualization, L.S., F.Z., G.N., G.F.-L.; supervision, L.S., G.N., C.N., A.C.-H.; project administration, L.S., C.N.; funding acquisition, G.R., G.N., G.F.-L., C.N. and A.C.-H.

Funding: The corresponding author thanks the Tecnológico Nacional de México, by the end of the project “Domestic wastewater treatment and bioenergy production mesocosms constructed wetlands” in the Announcement 2018-2:

Support for Scientific and Technological Research in Educational Programs Federal Technological Institutes, Decentralized and Centers.

Acknowledgments: Thanks to Eliud Franco Godínez, Environmental Engineering student of the Higher Technological Institute of Misantla, for his support for sampling activities along the project. Also thanks

to Melissa Galeana Luis for the grammar review of this article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Friedler, E.; Butler, D.; Alfiya, Y. *Source Separation and Decentralization Wastewater Management*; IWA Publishing: London, UK, 2013; Available online: www.iwappublishing.com (accessed on 1 November 2019).
2. Holmes, D.E.; Dang, Y.; Smith, J.A. Nitrogen cycling during wastewater treatment. *Adv. Appl. Microbiol.* **2019**, *106*, 113.
3. Chen, D.; Gu, X.; Zhu, W.; He, S.; Huang, J.; Zhou, W. Electrons transfer determined greenhouse gas emissions in enhanced nitrogen-removal constructed wetlands with different carbon sources and carbon-to-nitrogen ratios. *Bioresour. Technol.* **2019**, *285*, 121313. [[CrossRef](#)]
4. Chang, M.; Wang, Y.; Pan, Y.; Zhang, K.; Lyu, L.; Wang, M.; Zhu, T. Nitrogen removal from wastewater via simultaneous nitrification and denitrification using a biological folded non-aerated filter. *Bioresour. Technol.* **2019**, *289*, 121696. [[CrossRef](#)]
5. Aldaya, M.M.; Rodriguez, C.I.; Fernandez-Poulussen, A.; Merchan, D.; Beriain, M.J.; Llamas, R. Grey water footprint as an indicator for diffuse nitrogen pollution: The case of Navarra, Spain. *Sci. Total Environ.* **2019**, *698*, 134338. [[CrossRef](#)]
6. Ghimire, U.; Nandimandalam, H.; Martinez-Guerra, E.; Gude, V.G. Wetlands for Wastewater Treatment. *Water Environ. Res.* **2019**, *91*, 1378–1389. [[CrossRef](#)]
7. Shi, W.; Li, H.; Li, A. Mechanism and influencing factors of nitrogen removal in subsurface flow constructed wetland. *Appl. Chem. Eng.* **2018**, *1*, 9–14. [[CrossRef](#)]
8. Kumar, S.; Dutta, V. Constructed wetland microcosms as sustainable technology for domestic wastewater treatment: An overview. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, *26*, 11662–11673. [[CrossRef](#)]
9. Tchobanoglous, G.; Burton, F.L.; Stensel, H.D. *Metcalf & Eddy wastewater engineering: Treatment and reuse*. *Int. Edition. McGrawHill* **2003**, *4*, 361–411.
10. Bojorges, T.; Xitlalli, Á.; Hernández Razo, N.A.; Urquieta, F.; Aseret, A.; Zurita Martínez, F. Evaluación de tres sistemas de humedales híbridos a escala piloto para la remoción de nitrógeno. *Rev. Int. Cont. Amb.* **2017**, *33*, 37–47. [[CrossRef](#)]
11. Avellán, T.; Gremillion, P. Constructed wetlands for resource recovery in developing countries. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2019**, *99*, 42–57. [[CrossRef](#)]
12. Aalam, T.; Khalil, N. Performance of horizontal sub-surface flow constructed wetlands with different flow patterns using dual media for low-strength municipal wastewater: A case of pilot scale experiment

- in a tropical climate region. *J. Environ. Sci. Health Part A* **2019**, *54*, 1245–1253. [[CrossRef](#)]
13. Martínez, N.B.; Tejada, A.; Del Toro, A.; Sánchez, M.P.; Zurita, F. Nitrogen removal in pilot-scale partially saturated vertical wetlands with and without an internal source of carbon. *Sci. Total Environ.* **2018**, *645*, 524–532. [[CrossRef](#)]
 14. Ali, Z.; Mohammad, A.; Riaz, Y.; Quraishi, U.M.; Malik, R.N. Treatment efficiency of a hybrid constructed wetland system for municipal wastewater and its suitability for crop irrigation. *Int. J. Phytoremed.* **2018**, *20*, 1152–1161. [[CrossRef](#)]
 15. Herrera-Melián, J.; Borreguero-Fabelo, A.; Araña, J.; Peñate-Castellano, N.; Ortega-Méndez, J. Effect of Substrate, Feeding Mode and Number of Stages on the Performance of Hybrid Constructed Wetland Systems. *Water* **2018**, *10*, 39. [[CrossRef](#)]
 16. Li, H.; Liu, F.; Luo, P.; Chen, X.; Chen, J.; Huang, Z.; Peng, J.; Xiao, R.; Wu, J. Stimulation of optimized influent C: N ratios on nitrogen removal in surface flow constructed wetlands: Performance and microbial mechanisms. *Sci. Total Environ.* **2019**, *694*, 133575. [[CrossRef](#)]
 17. Groh, T.A.; Gentry, L.E.; David, M.B. Nitrogen removal and greenhouse gas emissions from constructed wetlands receiving tile drainage water. *J. Environ. Qual.* **2015**, *44*, 1001–1010. [[CrossRef](#)]
 18. Mitsch, W.J.; Gosselink, J. *Wetlands*; John Wiley and Sons Inc.: New York, NY, USA, 2015.
 19. Saeed, T.; Sun, G. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. *J. Environ. Manag.* **2012**, *112*, 429–448. [[CrossRef](#)]
 20. Vymazal, J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* **2007**, *380*, 48–65. [[CrossRef](#)]
 21. Ilyas, H.; Masih, I. The performance of the intensified constructed wetlands for organic matter and nitrogen removal: A review. *J. Environ. Manag.* **2017**, *198*, 372–383. [[CrossRef](#)]
 22. Lin-Lan, Z.; Ting, Y.; Jian, Z.; Xiangzheng, L. The configuration, purification effect and mechanism of intensified constructed wetland for wastewater treatment from the aspect of nitrogen removal: A review. *Bioresour. Technol.* **2019**, *293*, 122086. [[CrossRef](#)]
 23. Vymazal, J. The use of hybrid constructed wetlands for wastewater treatment with special attention to nitrogen removal: A review of a recent development. *Water Res.* **2013**, *47*, 4795–4811. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 24. Srivastava, P.; Yadav, A.K.; Garaniya, V.; Lewis, T.; Abbassi, R.; Khan, S. Electrode dependent anaerobic ammonium oxidation in microbial fuel cell integrated hybrid constructed wetlands: A new process. *Sci. Total Environ.* **2019**, *698*, 134248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 25. Silveira, D.D.; Belli Filho, P.; Philippi, L.S.; Kim, B.; Molle, P. Influence of partial saturation on total nitrogen removal in a single-stage French constructed wetland treating raw domestic wastewater. *Ecol.*

- Eng.* **2015**, *77*, 257–264. [CrossRef]
26. Kraiem, K.; Kallali, H.; Wahab, M.A.; Fra-vazquez, A.; Mosquera-Corral, A.; Jedidi, N. Comparative study on pilots between ANAMMOX favored conditions in a partially saturated vertical flow constructed wetland and a hybrid system for rural wastewater treatment. *Sci. Total Environ.* **2019**, *670*, 644–653. [CrossRef]
 27. Han, Z.; Miao, Y.; Dong, J.; Shen, Z.; Zhou, Y.; Liu, S.; Yang, C. Enhanced nitrogen removal and microbial analysis in partially saturated constructed wetland for treating anaerobically digested swine wastewater. *Front. Environ. Sci. Eng.* **2019**, *13*, 52. [CrossRef]
 28. National Institute of Statistical Geography and Data Processing. Yearbook Statistical and Geographical of Veracruz de Ignacio de la Llave. 2014. Available online: <http://www.inegi.gob.mx> (accessed on 29 July 2019).
 29. Zurita, F.; de Anda, J.; Belmont, M.A. Performance of laboratory-scale wetlands planted with tropical ornamental plants to treat domestic wastewater. *Water Qual. Res. J.* **2006**, *41*, 410–417. [CrossRef]
 30. Trejo-Téllez, L.I.; Ramírez-Martínez, M.; Gómez-Merino, F.C.; García-Albarado, J.C.; Baca-Castillo, G.A.; Tejeda-Sartorius, O. Physical and chemical evaluation of volcanic rocks and its use for tulip production. *Rev. Mex. Cienc. Agrícolas* **2013**, *4*, 863–876. Available online: <http://www.inifap.gob.mx/SitePages/revistas/rmca.aspx> (accessed on 15 November 2019).
 31. Marín-Muñiz, J.L.; García-González, M.C.; Ruelas-Monjardín, L.C.; Moreno-Casasola, P. Influence of different porous media and ornamental vegetation on wastewater pollutant removal in vertical subsurface flow wetland microcosms. *Environ. Eng. Sci.* **2018**, *35*, 88–94. [CrossRef]
 32. American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed.; American Public Health Association: Washington, DC, USA, 2005; p. 1220.
 33. Montgomery, D.C. *Design and Analysis of Experiments*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2017.
 34. Cruz-Castillo, J.G.; Torres-Lima, P.A. ‘Deja Vu’: A new calla lily (*Zantedeschia aethiopica*) cultivar. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **2017**, *23*, 97–101. [CrossRef]
 35. Haritash, A.K.; Sharma, A.; Bahel, K. The Potential of Canna lily for Wastewater Treatment Under Indian Conditions. *Int. J. Phytoremed.* **2015**, *17*, 999–1004. [CrossRef]
 36. Tran, H.D.; Vi, H.M.T.; Dang, H.T.T.; Narbaitz, R.M. Pollutant removal by Canna Generalis in tropical constructed wetlands for domestic wastewater treatment. *Glob. J. Environ. Sci. Manag.* **2019**, *5*, 331–344. [CrossRef]
 37. Kato, M.; Inthavongsa, K.; Imai, K. An estimation of leaf area in edible canna (*Canna edulis* Ker.). *Jpn. J. Crop. Sci.* **1989**, *58*, 753–754. [CrossRef]
 38. Casierra-Posada, F.; Nieto, P.J.; Ulrichs, C. Crecimiento, producción y calidad de flores en calas (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) expuestas a diferente calidad de luz. *Rev. UDCAv Div. Cient.*

2012, 15, 97–105.

Available online:<https://repository.udca.edu.co/handle/11158/1858>(accessed on 15 November 2019).

39. Zamora-Castro, S.A.; Marín-Muñiz, J.L.; Sandoval, L.; Vidal-Álvarez, M.; Carrión-Delgado, J.M. Effect of Ornamental Plants, Seasonality, and Filter Media Material in Fill-and-Drain Constructed Wetlands Treating Rural Community Wastewater. *Sustainability* **2019**, *11*, 2350. [[CrossRef](#)]
40. Cui, L.; Ouyang, Y.; Lou, Q.; Yang, F.; Chen, Y.; Zhu, W.; Luo, S. Removal of nutrients from wastewater with *Canna indica* L. under different vertical-flow constructed wetland conditions. *Ecol. Eng.* **2012**, *36*, 1083–1088. [[CrossRef](#)]
41. Kuschik, P.; Wiessner, A.; Kappelmeyer, U.; Weissbrodt, E.; Kästner, M.; Stottmeister, U. Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Res.* **2003**, *37*, 4236–4242. [[CrossRef](#)]
42. Akrotos, C.S.; Tsihrintzis, V.A. Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* **2007**, *29*, 173–191. [[CrossRef](#)]
43. Alemu, K.; Assefa, B.; Kifle, D.; Kloos, H. Nitrogen and Phosphorous Removal from Municipal Wastewater Using High Rate Algae Ponds. *INAE Lett.* **2018**, *3*, 21–32. [[CrossRef](#)]
44. Kadlec, R.H. Comparison of free water and horizontal subsurface treatment wetlands. *Ecol. Eng.* **2009**, *35*, 159–174. [[CrossRef](#)]
45. Winkler, M.K.; Straka, L. New directions in biological nitrogen removal and recovery from wastewater. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2019**, *57*, 50–55. [[CrossRef](#)]
46. Wiebner, A.; Kappelmeyer, K.; Kuschik, P.; Kästner, M. Influence of the redox condition dynamics on the removal efficiency of a laboratory-scale constructed wetland. *Water Res.* **2005**, *39*, 248–256. [[CrossRef](#)]
47. Zhang, X.; Zha, L.; Jiang, P.; Wang, X.; Lu, K.; He, S.; Huang, J.; Zhou, W. Comparative study on nitrogen removal and functional genes response between surface flow constructed wetland and floating treatment wetland planted with *Iris pseudacorus*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, *26*, 23696–23706. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Li, X.; Zhang, M.; Liu, F.; Chen, L.; Li, Y.; Xiao, R.; Wu, J. Seasonality distribution of the abundance and activity of nitrification and denitrification microorganisms in sediments of surface flow constructed wetlands planted with *Myriophyllum elatinoides* during swine wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* **2018**, *248*, 89–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Sandoval, L.; Zamora-Castro, S.A.; Vidal-Álvarez, M.; Marín-Muñiz, J.L. Role of Wetland Plants and Use of Ornamental Flowering Plants in Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: A Review. *Appl. Sci.* **2019**, *9*, 685. [[CrossRef](#)]

50. Zurita, F.; White, J. Comparative study of three two-stage hybrid ecological wastewater treatment systems for producing high nutrient, reclaimed water for irrigation reuse in developing countries. *Water* **2014**, *6*, 213–228. [CrossRef]
51. Saggarr, S.; Jha, N.; Deslippe, J.; Bolan, N.S.; Luo, J.; Giltrap, D.L.; Kim, D.-G.; Zaman, M.; Tillman, R.W. Denitrification and N₂O: N₂ production in temperate grasslands: Processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. *Sci. Total Environ.* **2013**, *465*, 173–195. [CrossRef]
52. Vera, L.; Vidal, G.; Salvato, M.; Borin, M. Consideraciones para la eliminación del nitrógeno en humedales artificiales. *Tecnol. Agua* **2011**, *31*, 40–49. Available online: <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/283695> (accessed on 15 November 2019).
53. Dušek, J.; Pícek, T.; Čížková, H. Redox potential dynamics in a horizontal subsurface flow constructed wetland for wastewater treatment: Diel, seasonal and spatial fluctuations. *Ecol. Eng.* **2008**, *34*, 223–232. [CrossRef]
54. Zhou, X.; Wang, X.; Zhang, H.; Wu, H. Enhanced nitrogen removal of low C/N domestic wastewater using a biochar-amended aerated vertical flow constructed wetland. *Bioresour. Technol.* **2017**, *241*, 269–275. [CrossRef]
55. Dan, A.; Fujii, D.; Soda, S.; Machimura, T.; Ike, M. Removal of phenol, bisphenol A, and 4-tert-butylphenol from synthetic landfill leachate by vertical flow constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* **2017**, *578*, 566–576. [CrossRef]
56. Fountoulakis, M.S.; Sabathianakis, G.; Kritsotakis, I.; Kabourakis, E.M.; Manios, T. Halophytes as vertical-flow constructed wetland vegetation for domestic wastewater treatment. *Sci. Total Environ.* **2017**, *583*, 432–439. [CrossRef]
57. Zhang, X.; Hu, Z.; Ngo, H.H.; Zhang, J.; Guo, W.; Liang, S.; Xie, H. Simultaneous improvement of waste gas purification and nitrogen removal using a novel aerated vertical flow constructed wetland. *Water Res.* **2018**, *130*, 79–87. [CrossRef][PubMed]
58. Arteaga-Cortez, V.M.; Quevedo-Nolasco, A.; del Valle-Paniagua, D.H.; Castro-Popoca, M.; Bravo-Vinaja, Á.; Ramírez-Zierold, J.A. A current review of the mechanisms that make the artificial wetlands for the removal of nitrogen and phosphorus. *Tecnol. Cienc. Agua* **2019**, *10*, 319–342. [CrossRef]
59. Zurita, F.; De Anda, J.; Belmont, M.A. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* **2009**, *35*, 861–869. [CrossRef]
60. Shen, Y.; Zhuang, L.; Zhang, J.; Fan, J.; Yang, T.; Sun, S. A study of ferric-carbon micro-electrolysis process to enhance nitrogen and phosphorus removal efficiency in subsurface flow constructed wetlands. *Chem. Eng. J.* **2019**, *359*, 706–712. [CrossRef]
61. Brix, H.; Arias, C.A. The use of vertical flow constructed wetlands for on-site treatment of domestic

wastewater: New Danish guidelines. *Ecol. Eng.* **2005**, *25*, 491–500. [[CrossRef](#)]

62. Bolton, L.; Joseph, S.; Greenway, M.; Donne, S.; Munroe, P.; Marjo, C.E. Phosphorus adsorption onto an enriched biochar substrate in constructed wetlands treating wastewater. *Ecol. Eng.* **2019**, *1*, 100005. [[CrossRef](#)]

Journal of Environmental Science and Health, Part A
Bioelectricity Generation and Production of Ornamental Plants in
Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Article
Section/Category:	Original Article
Keywords:	Bioelectricity; constructed wetlands; microbial combustion cells; ornamental plants
Corresponding Author:	Veronica Guerrero-Hernandez Instituto Tecnológico Superior de San Andrés Tuxtla San Andrés Tuxtla, MEXICO
First Author:	Luis Sandoval
Order of Authors:	Luis Sandoval Guillermo Reyes-Morales Fidel Aguilar-Aguilar Oscar del Ángel-Coronel José Luis Marín-Muñiz Veronica Guerrero-Hernandez
Manuscript Region of Origin:	MEXICO
Abstract:	<p>Energy production in constructed wetlands is a little-known field, as well as the operation of Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands (VPS-CWs) that promote both aerobic and anaerobic microbial interactions. And by doing so, bacterial degradation is increased, becoming the main mechanism of pollutant removal in constructed wetlands (CWs). For the first time, the generation of bioelectricity, together with the production of ornamental plants in vertical partially saturated constructed wetlands during the treatment of domestic wastewater were evaluated. Six VPS-CWs systems were functioned as bioelectricity generators, where the systems were filled with red volcanic gravel and activated carbon as anode and cathode. Three systems were planted with <i>Zantedeschia a.</i> and three, with <i>Canna h.</i> plant. The development was measured through mother plants and shoots produced every 60 days. The input and output of each VPS-CWs was monitored using control parameters such as BOD₅, Phosphates (P-PO₄), and nitroge as TNK. Regarding bioelectricity, power, voltage and current were measured, they were performed every 15 days for a period of 7 months. It was found that the VPS-CWs used as biopiles in combination with the use of domestic wastewater as a substrate, improve the development of the two evaluated plant species and stimulate growth and germination of new shoots. No significant differences were found between the different treatments ($p > 0.05$). Likewise, an efficient removal of BOD₅ (98%) was observed, yet significant differences ($p < 0.05$) were found between systems planted with <i>Zantedeschia e.</i> (TNK: 65%; P-PO₄: 20%) and <i>Canna h.</i> (TNK: 69%; P-PO₄: 27%). This method of water treatment and bioelectricity production with <i>Canna h.</i> was an efficient system that generated a great current density (9.7 mW/m²), voltage (750 mV) and power (140 mA/m²), compared to a of conventional microbial fuel cell .</p>

Dr. Shahamat U. Khan, Department of Chemistry & Biochemistry, MSN 3E2, Planetary Hall, Room 301, George Mason University, 4400 University Drive, Fairfax, Virginia 22030-4444, U.S.A.

Editor-in-Chief

Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic / Hazardous Substances and Environmental Engineering

Friday, May 29, 2020

Dear PhD. Khan

We would like to submit our manuscript entitled “Bioelectricity Generation and Production of Ornamental Plants in Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands” for publication as an original paper in Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic / Hazardous Substances and Environmental Engineering. Energy production in constructed wetlands is a littleknown field, as well as the operation of Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands (VPSCWs) that promote both aerobic and anaerobic microbial interactions. And by doing so, bacterial degradation is increased, becoming the main mechanism of pollutant removal in constructed wetlands (CWs). For the first time, the generation of bioelectricity, together with the production of ornamental plants in vertical partially saturated constructed wetlands during the treatment of domestic wastewater were evaluated. The systems that functioned as bioelectricity generators were filled with red volcanic gravel and activated carbon as anodium and cathode. Six VPS-CWs were used as experimental units. Three units were planted with *Zantedeschia aethiopica* and three, with *Canna* hybrids. Plant development was measured through mother plants and shoots produced every 60 days. The input and output of each VPS-CWs was monitored using control parameters such as Biochemical Oxygen Demand (BOD₅), Phosphates (P-PO₄), and total nitrogen Kjeldhal (TNK). Regarding bioelectricity, power, voltage and current were measured, they were performed every 15 days for a period of 7 months. It was found that the VPS-CWs used as biopiles in combination with the use of domestic wastewater as a substrate, improve the development of the two evaluated plant species and stimulate growth and germination of new shoots. No significant differences were found between the different treatments ($P > 0.05$). Likewise, an efficient removal of BOD (98%) was observed, yet significant differences ($p < 0.05$) were found between systems planted with *Zantedeschia*

eathiopica (TNK: 65%; P-PO4: 20%) and Canna hybrids (TNK: 69%; P-PO4: 27%). This method of water treatment and bioelectricity production with Canna hybrid was an efficient system that generated a good current density (9.7 mW/m²), voltage (750 mV) and power (140 mA/m²), compared to a cell of conventional microbial fuel. We confirm that this manuscript has not been published elsewhere and is not under consideration by another journal. All authors have approved the manuscript and agree with its submission to Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic / Hazardous Substances and Environmental Engineering. The study was supported with using of the infrastructure of the Environmental laboratories of the postgraduate of the Instituto Tecnológico de Misantla. The authors have no conflicts of interest to declare.

Please address all correspondence to:

Verónica Guerrero Hernández División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de San Andrés Tuxtla, san Andrés Tuxtla, Veracruz. México

Cover

Tel. 52 (294) 1093944. E-mail: verogrohdez20@gmail.com We look forward to hearing from you at your earliest convenience.

Yours sincerely,

Verónica Guerrero Hernández, PhD.

We would like to suggest the following experts in the research area as potential reviewer:

1. Prof. Saul Rivera Gonzales

Department of Environmental Science, Calle Barrio 2 Caminos No. 22, Col Barrio 2 Caminos. Technological National of Mexico. Tel.: +52 +235 108 80 07. E-mail: 152t0383@misantla.tecnm.mx Description of the area of research: Environmental technology, waste management, bioenergy.

2. PhD. Sergio Zamora castro

Department of Environmental Science, 12, centro, Boca del Rio. Universidad Veracruzana.
Tel.: +52 +442 2266337. E-mail: szamora@uv.mx Description of the area of research:
Environmental technology, waste management, bioenergy.

3. Prof. Jukka A. Rintala

Department of Biological and Environmental Science, P.O. Box 35, FI-40014 University of
Jyväskylä, Finland. Tel.: +358 14 260 1211, fax: +358-14-617 239. E-mail:
jukka.rintala@bytl.jyu.fi Description of the area of research: Environmental technology,
waste management, bioenergy

4. PhD. Paul Jensen

Advanced Water Management Centre, The University of Queensland, Gehrmann
Laboratories Building (60), Level 4, 4072 Brisbane, QLD, Australia. Tel.: +61 733469973.
E-mail: p.jensen@uq.edu.au Description of the area of research: methanogenic
biodegradability and activity testing and active, wastewater characterization, recovery of
energy and nutrients from paunch solid waste, waste and wastewater treatment.

Bioelectricity Generation and Production of Ornamental Plants in Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands

Luis Sandovala-b , Guillermo Reyes-Moralesb, Fidel Aguilar-Aguilarf , Oscar del Ángel Coroneld, José Luis Marín- Muñize, and Veronica Guerrero-Hernándezb*

^aDivisión de Investigación y posgrados, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Misantla, Km 1.8 Carretera a loma del Cojolite, C.P. 93821, Misantla, Veracruz, México.

^bMaestría en Ingeniería, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de San Andrés Tuxtla, Carretera costera del golfo s/n, km. 140 + 100 C.P. 95804 San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

^fPrograma de energías renovable de la Universidad Tecnológica de Gutiérrez Zamora, Prolongación Dr, Miguel Patiño s/n, Centro, 93556 Gutiérrez Zamora, Veracruz, México. ^dDivisión de Investigación y posgrados, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Huatusco, Huatusco, Veracruz, México.

^eDepartment of Sustainability and Regional Development, El Colegio de Veracruz, Xalapa, Veracruz, México

*Corresponding author: verogrohdez20@gmail.com

Abstract

Energy production in constructed wetlands is a little-known field, as well as the operation of Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands (VPS-CWs) that promote both aerobic and anaerobic microbial interactions. And by doing so, bacterial degradation is increased, becoming the main mechanism of pollutant removal in constructed wetlands (CWs). For the first time, the generation of bioelectricity, together with the production of ornamental plants in vertical partially saturated constructed wetlands during the treatment of domestic wastewater were evaluated. Six VPS-CWs systems were functioned as bioelectricity generators, where the systems were filled with red volcanic gravel and activated carbon as anode and cathode. Three systems were planted with *Zantedeschia a.* and three, with *Canna h.* plant. The development was measured through mother plants and shoots produced every 60 days. The input and output of each VPS-CWs was monitored using control parameters such as BOD5, Phosphates (P-PO₄), and nitroge as TNK. Regarding bioelectricity, power, voltage and current were measured, they were performed every 15 days for a period of 7

months. It was found that the VPS-CWs used as biopiles in combination with the use of domestic wastewater as a substrate, improve the development of the two evaluated plant species and stimulate growth and germination of new shoots. No significant differences were found between the different treatments ($p > 0.05$). Likewise, an efficient removal of BOD₅ (98%) was observed, yet significant differences ($p < 0.05$) were found between systems planted with *Zantedeschia e.* (TNK: 65%; P-PO₄: 20%) and *Canna h.* (TNK: 69%; P-PO₄-27%). This method of water treatment and bioelectricity production with *Canna h.* was an efficient system that generated a great current density (9.7 mW/m²), voltage (750 mV) and power (140 mA/m²), compared to a of conventional microbial fuel cell .

Keywords: Bioelectricity, constructed wetlands, microbial combustion cells, ornamental plants.

Introduction

Vertical partially saturated constructed wetlands (VPS-CWs) are an emerging technology for domestic and industrial wastewater treatment, of which their operation is not clearly known.

[1] These work around four main components: water, substrate, plant and microbial interaction; by the action of aerobic and anaerobic microorganisms that degrade pollutants through biochemical processes. [2-3] Since they are fundamental in the bioremediation that takes place in these bioprocesses. Aerobic and anaerobic conditions that can allow contaminants to be removed are incorporated into VPS-CWs in a single treatment system, thus reducing the amount of solids in the water and, in turn, making the process efficient. [4-5] .In the last decade, constructed wetlands (CWs) have become popular for their low cost of implementation, operation, and easy maintenance by moderately qualified personnel. [6,7] Recent studies have aimed at evaluating the performance of CWs as Microbial Fuel Cell (MFC) for the production of bioelectricity, through biochemical reactions that occur in these systems. [8,9,10,11] Its operation evokes a cell, where the zone with absence of oxygen (anaerobia) acts as an anode (zones far from roots of CW plants) and zones with presence of oxygen (aerobic) as a cathode (regions close to the root zone of CWs plants). During the decomposition process of organic matter, the action of microorganisms act as electron

receptors, while during the oxidation process, the protons of the anode are released and travel through artificial circuits to the cathode. Thus, completing the energy process by the reactions of oxide-reduction (redox potential) and the oxygen available in the system. ^[12,13] The bioenergy generated by the MFCs is promoted in oxide-reduction processes (the higher the redox potential, the greater the production of bioelectricity). This occurs when the microorganisms degrade the organic matter present in the media used. ^[14] The CWs system that works as MFC in the presence of vegetation, increases the dissolved oxygen present in the substrates, due to the release of this radical area. ^[15,10,16] Research aimed at the use of CW-MFC is recent, with limitations such as the cost of materials used to favor the generation of bioenergy and make the systems more efficient in terms of energy production. In the elements that promote these, there are interactions such as: the anode and the cathode in these novel systems that treat contaminated water, which generate bioelectricity. For this reason, activated carbon and graphite, ^[17] titanium and activated carbon, ^[11] graphite and titanium ^[18] & copper and carbon fiber ^[9] are commonly used as electrodes. These materials promote the conduction of energy due to their properties and their generation in the CW-MFC through the degradation of pollutants and organic matter. However, they leave this biotechnology far from the reach of communities with limited resources. Rural communities in developing countries suffer from the need for wastewater treatment and energy supply, ^[19] due to their high cost, ^[20] or when they are implemented in large-scale systems. ^[21] On the other hand, operating mechanisms require hybrid aerobic and anaerobic operating conditions; with the aim of improving the processes of elimination of pollutants ^[22] and the production of bioelectricity. ^[23] In this sense, the generation of bioelectricity and the production of ornamental plants were evaluated in VPS-CWs during the treatment of domestic wastewater.

Methodology

Description of Vertical Partially Saturated Constructed Wetlands

This study was carried out in Misantla, Veracruz, Mexico, at an average annual temperature of 23°C, with an average annual rainfall of 1862 mm, considered as a tropical climate. ^[1] The VPS-CWs were under a 50% shade mesh 3 meters from the experimental units. The water used came from an undiluted municipal waste water tank, stored in a 1500-liter container that

functions as a settler. The water supply to the VPS-CWs was 160 ml every 2 hours, with an automated 12 W pump. Six cylindrical experimental units as shown in Figure 1 were used as VPS-CWs. Plus, activated carbon sheets 20 cm in diameter by 3 cm in height, one in the free flow zone and the other in the saturation zone (Figure. 1) were used as anode and cathode. An insulated copper cable was used, due to its low cost in the market, to connect an open circuit for a period of 30 days and then a closed circuit, each system had a resistance of 1000 Ω (Figure 1). Likewise, each CWs experimental unit was filled with red volcanic gravel (1-3.5 mm) with a 53% porosity. Regarding the vegetation, plants of the genus *Zantedeschia aethiopica* and *Canna hybrids* were used, whose exotic flowers were collected in their natural state, with an average height of 17 cm. Likewise, three VPS-CWs were built with *Zantedeschia aethiopica* and three more with *Canna hybrids*. Measurements started when the system was well established, on January 15, 2019.

Figure 1. Wastewater treatment system using *Zantedeschia aethiopica* and *Canna hybrids* for bioelectricity production.

2.2 Production of ornamental plants in VPS-CWs

To know the production of ornamental plants in VPS-CWs, the production of shoots and the height of mother plants were monitored every 60 days, during the study period.

2.3 VPS-CWs system monitoring

In a sample obtained from the bottom of each of the systems, the following physical parameters were monitored as follows: Dissolved oxygen, water temperature, electrical conductivity and pH, by means of a Multiparameter probe meter Milwaukee MW802 for pH/EC/TDS/DO.

The following values were measured at the entrance and exit of each VPS-CWs: Biochemical Oxygen Demand (BOD5) (by NMX-AA-028-SCF-2001), Phosphates (P-PO₄) (Amino Acid Method), Total nitrogen Kjeldahl (Kjeldahl method), Water temperature, Dissolved oxygen, and pH (Milwaukee MW802 for pH/EC/TDS/DO), it should be noted that each parameter was measured in duplicate and monitored from 11 to 12 hours every 15 days.

Regarding the generated voltage, they were monitored in three-time ranges from 9 to 10, 13 to 14 and 18 to 19, using a RMS Autoranging professional multimeter with USB interface (Steren), these values were recorded every hour. The generated current was calculated using Ohm's law and the power by means of the relation:

Where: P = power measured in Watts; I = current measured in Amps; V = voltage measured in Volts

2.4. Statistical analysis

The obtained data were submitted to Tukey tests of variance and comparison of means ANOVA, with a confidence interval of 95% (Minitab® 16 Statistical Software). Prior to analysis, normality tests were performed on the data to determine that they really fit a normal distribution curve. In this regard, all the variables present typical characteristics of a normal distribution. The graphs were made with SigmaPlot v.10.

3. Results and discussions

3.1. Production of Ornamental Plants in VPS-CWs

Figure 2 shows the development of ornamental mother plants during the study period. It can be seen that both species managed to adapt adequately to partially saturated conditions. Apparently, this method of feeding and operating systems favored growth and encouraged flower generation. In this study, 28 *Canna hybrids* and 6 *Zantedeschia aethiopica* flowers were produced. This could be because the environmental conditions were adequate for their development. On average, the environmental temperature was 23°C, which is in the range of 15 to 25°C, ideal temperature for the development of tropical ornamental plants. Likewise, the pH was found in adequate ranges between 7 and 8, [24,25,26] optimal values found in this study (Figure 3, 4 and Table 1). On the other hand, growth reports are higher than those reported by other authors, although in fully saturated conditions [27,28] apparently the conditions of partially saturated and activated carbon as anode and cathode, stimulated the growth of plants up to 15% more than in conditions of total saturation, as reported in the studies for the same periods.

Figure 2. Growth of mother plants

In relation to the production of shoots, figure 3 shows the production of 6 *Canna hybrids* shoots that grew and became new plants during the study period. Similarly, *Zantedeschia aethiopica* produced 4 shoots, which developed mostly 120 days after planting. These results are greater than those reported by Nakase et al. ^[1], under similar conditions. This could be due to the fact that, unlike them, the substrates in this study had the presence of activated carbon as anode and as cathode. This may favor the development and production of new seedlings in the systems, since activated carbon has been shown to favor the emergence of new shoots. As observed in other studies of Citrus Limon plants, such as that reported by Vasconez et al. ^[29] which may be related to the greater development of shoots in this study. On balance, new studies are required to demonstrate the effect of activated carbon as a stimulating medium for the development of ornamental plants in VPS-CWs, with mechanisms that generate higher biomass and flower production.

Figure 3. Growth of shoots 161

3.2. Contaminant Removal

Table 1 shows effluent and system influent data during the study, finding that the pH and temperature of the water were in adequate ranges for plant development in tropical climates [30] Regarding the OD, we found that two mechanisms could be combined, the free drainage zone and the root pressure in the free flow zone, which could increase the presence of dissolved oxygen in the system after treatment (Table 1). Oxygen release studies in constructed humidity systems demonstrate that the presence of vegetation favors the increase in dissolved oxygen in these systems, but not in ranges greater than 0.5 to 4.6 mg/L, [31,32]. In this study the data was superior to twice the normal reported in studies on CWs.

Table 1. Physicochemical parameters of input and output in CWs-VPS systems with *Z. aethiopica* and *C. hybrids*.

Biochemical oxygen demand (BOD) is an indicator of contamination or presence of organic matter in water. This helps to monitor the degradation of organic matter present in wastewater, which in turn reflects the amount of oxygen used by microorganisms (mainly

aerobic bacteria), plankton and fungi. [33,34] Table 1 shows the elimination of BOD after treatment, the VPS-CWs managed to eliminate above 95% in both treatments, no significant differences ($p < 0.05$) were found between the systems planted with *Canna* hybrids and *Zantedeschia aethiopica*. These BOD results are superior to those reported by other studies, with 50% greater removal than in vertical flow constructed wetlands [35,36] and up to 55% removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands, [37,38]. With BDO concentrations up to 50% lower than those presented in this study at the entry of the systems. This could be due to the conditions presented in the systems (Figure 1), in which the free flow zone and the saturation zone could allow a greater development of microbial communities, both aerobic and anaerobic, which are the main organic matter degraders in CWs. Proving VPS-CWs to be a suitable alternative for the removal of organic matter in wastewater, when they are used as systems that generate bioelectricity, as is the case in this study. In relation to TN Kjeldahl (Table 1), significant differences ($p > 0.05$) were found, between systems planted with *Zantedeschia aethiopica* and *Canna* hybrids, the removal of contaminants in systems planted with *Canna* hybrids was 5% higher. The above could be due to the fact that this plant produced a greater number of shoots and there was a greater nitrogen requirement for its development; it is well known that nitrogen is essential for plant development. [39,40] Likewise, phosphate (table 1) presented significant differences ($p > 0.05$), showing a behavior similar to that of total nitrogen (Table 1). However, the elimination was very low in the system with *Zantedeschia aethiopica* (Table 1), being 6% higher in systems with the presence of *Canna* hybrids, this behavior could be due to the presence of greater vegetation and the development of young plants in the systems (Figure 3). Taking into consideration that plants require the absorption of this nutrient for their development and production of flowers and fruits.

3.3. Bioelectricity Production in VPS-CWs

The water treatment system VPS-CWs was monitored approximately 8 months, determining the system voltage in a constant period. It should be noted that the first 60 days corresponded to microbiota adaptation (aerobic and anaerobic) and the creation of a biofilm around electrons within the same system. This system was used for the domestic wastewater treatment with an initial BDO of 286 mg/L, observing an organic matter removal efficiency

of 96.1% in the system with *Z. aethiopica* and 98.1% with *C. hybrids* (Table 1). It is probable that as the residual water degraded (BDO removal), the availability of electrons in the medium increased and the power also increased exponentially with 9.7 mW/m² in the system with *Canna* hybrid and 6.4 mW/m² with *Z. aethiopica*, during the experimentation time for both systems. However, a higher potency was observed when the *C. hybrid* plant was used, being this the one that generated a greater removal of BDO (98.1%). According to the study carried out by Gadkari, Shemfe, & Sadhukhan (2019) [43], they mention that in the MTC treatment systems the high current densities are a function of the initial concentration of organic matter, Chemical Oxygen Demand (COD). Likewise, some studies [44,45] of conventional microbial fuel cells, indicate that the increase in the use of the anode for respiration of the electrode by the mixed microbial population at low resistance, plus the increase in ionic forces improves conductivity within the system at higher concentrations of organic matter. This could be one of the possible reasons for the increase in power densities. The maximum power measured between the two wetland systems showed a very significant difference of 5%, where the power tends to increase as time passes (Figure 4). Being the system with *Canna* hybrid the one that produced the highest voltage of 9.7 mW/m² and *Z. aethiopica* the lowest average value of 6.4 mW/m². It should be noted that the power values are high compared to a conventional microbial fuel cell. According to the study carried out by Capodaglio, et al. [46], the maximum power results were 2.1 mW/m² using residual water from porcine excreta under laboratory conditions. However, our study with the VPS-CWs system showed a maximum power of 9.7 mW/m² using domestic wastewater in environmental conditions.

Figure 4. Comparison of maximum power (mW/m²) generated in VPS-CWs systems using *C. hybrid* (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

Figure 5 illustrates the change in peak voltage between VPS-CWs systems with *C. hybrid* and *Z. aethiopica*. As observed, in the first weeks of treatment the maximum voltage was approximately 225 mV for the *C. hybrid* system, while the *Z. aethiopica* system generated approximately 350 mV, higher compared to the other VPS-CWs system. Likewise, it is noticed that in the first month of monitoring the change in voltage remained constant, probably the microbiota of the medium, both aerobic and anaerobic, has adapted to the

substrates and the conditions of the medium. After the first month, an exponential increase in voltage (mV) was observed reaching a maximum peak of approximately 750 mV in the system with *C. hybrid*, while the one with *Z. aethiopica* showed an exponential change in voltage until the second week of May with a maximum of 450 mV, it should be noted that this voltage remained until the first week of August. The difference between both VPS-CWs systems was significant ($p>0.05$) observing the highest voltage with *C. hybrid*. This increase in voltage could be attributed to the availability of organic matter as the substrate was consumed. In this way, the metabolic pathway of wastewater decomposition generated more electrons in the medium that can be transferred to the anode, leading to higher voltage generation. [47] In the work carried out by Capodaglio et al. [46] they studied the electrical performance of a microbial fuel cell (MFC). In the obtained results, a removal yield of 52% of organic matter and a maximum voltage of 31.29 (mV) were observed. When compared to our study, the best results were observed in the VPS-CWs system with the *C. hybrid* with a maximum voltage of 750 mV and a residue removal of 98%. This result is likely to have been superior to that of Capodaglio et al. [46] due to the synergy between the microbiota and the plants (*C. hybrid*), with an adequate C: N: P (Carbon: nitrogen: phosphorus) ratio. for microorganisms. This favored the availability of electrons in the medium in a progressive way. Likewise, we assume that the availability of electrons was also due to the growth of *C. hybrid* shoots, since as shoots appeared, the wastewater was consumed, the electrons became available and generated higher voltage.

Figure 5. Comparison of the voltage (mV) generated in VPS-CWs systems using *C. hybrid* (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

Current density was calculated in systems with *C. hybrid* and *Z. aethiopica* during the time the wetlands were in operation. As illustrated in Figure 6, the VPS-CWs with *C. hybrid* obtained an initial current density of approximately 65 mA/m², while the VPS-CWs with *Z. aethiopia* obtained an average density of approximately 40 mA/m². Both systems remained with a slight increase in current density until April 1 (04/01/19). After April 1, an exponential increase in current density was observed in the VPS-CWs with *C. hybrid* until reaching a maximum peak of approximately 140 mA/m². However, the VPS-CWs with *Z. aethiopica*

showed a behavior with little increase in current density of 61.5%, compared to the start, until obtaining a value of almost 65 mA/m², much lower compared to 140 mA/m² produced with VPS-CWs with *C. hybrids*. It is likely that the *C.hybrid* system with higher current density than the variations in external resistance were not so great or so frequent that it allowed the electronically active microbiota to acclimatise properly with each change of external resistance, promoting a higher current density over time.

Figure 6. Comparison of the current (mA/m²) generated in the VPS-CWs systems using *C. hybrids* (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

Vertical partially saturated constructed wetlands (VPS-CWs) are a recently used technology for the treatment of domestic and industrial wastewater. It is important to mention that the use of these wetlands with *C. hybrid*, including activated carbon electrodes and domestic wastewater as substrate, presented a better performance than the wetland with *Z. aethiopica* under the same conditions. It should also be noted that this method of water treatment and bioelectricity production is an efficient system that generates a good current, voltage and power density, compared to a conventional microbial fuel cell. Since studies with microbial combustion cells are generally performed under controlled laboratory conditions [44,48], whereas ours are carried out under environmental conditions in the study area. This could be an efficient technology for marginalized areas, since it is a low-cost system, with efficient wastewater treatment (BDO removal > 90%), potential to generate bioelectricity, plus the factor that ornamental plants can also be commercialized.

4. Conclusions

Our study demonstrated that vertical partially saturated constructed wetlands (VPS-CWs) are an efficient technology for the treatment of domestic wastewater, since removal of organic matter was observed. It is important to mention that the use of these wetlands with *C. hybrid*, including activated carbon electrodes and domestic wastewater as a substrate, performed better than the wetland with *Z. aethiopica* under the same conditions. This method of water treatment and bioelectricity production is an efficient system that generates a current density of 9.7 mW/m², a voltage of 750 mV and a maximum power of 140 mA/m², compared to a

conventional microbial fuel cell. Unlike microbial combustion cells studies that are generally performed under controlled laboratory conditions, ours are performed under environmental conditions in the study area. This could be an efficient technology for marginalized areas, since it is a low-cost system, with efficient wastewater treatment (BDO removal > 90%), potential to generate bioelectricity, plus the advantage that ornamental plants can be commercialized.

Funding: This study was partially funded by the “Tecnológico Nacional de México” with their “Convocatoria de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica 2018”

Acknowledgments: The first author of this study wishes to thank the Tecnológico Nacional de México Campus San Andrés Tuxtla, for allowing him to studies his Master of 310 Engineering.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- [1] Nakase, C., Zurita, F., Nani, G., Reyes, G., Fernández-Lambert, G., Cabrera-Hernández, A., & Sandoval, L. Nitrogen Removal from Domestic Wastewater and the Development of Tropical Ornamental Plants in Partially Saturated Mesocosm-Scale Constructed Wetlands. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(23), 4800. DOI: 10.3390 / ijerph16234800.
- [2] Doherty, L., Zhao, Y., Zhao, X., Hu, Y., Hao, X., Xu, L., & Liu, R. A review of a 320 recently emerged technology: constructed wetland–microbial fuel cells. *Water research*, 2015, 85, 38-45. DOI: 10.1016/j.watres.2015.08.016.
- [3] Ramírez-Vargas, C. A., Arias, C. A., Zhang, L., Paredes, D., & Brix, H. Community level physiological profiling of microbial electrochemical-based constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 2020, 137761. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137761.
- [4] Pelissari, C., Ávila, C., Trein, C. M., García, J., de Armas, R. D., & Sezerino, P. H. Nitrogen transforming bacteria within a full-scale partially saturated vertical subsurface flow constructed wetland treating urban wastewater. *Science of the total environment*, 2017, 574, 390-399. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.08.207.
- [5] Pelissari, C., Guivernau, M., Viñas, M., García, J., Velasco-Galilea, M., Souza, S. S., ... & Ávila, C. Effects of partially saturated conditions on the metabolically active microbiome and on nitrogen removal in vertical subsurface flow constructed wetlands. *Water research*, 2018, 141, 185-195. DOI: 10.1016/j.watres.2018.05.002.
- [6] Gikas, G. D., Pérez-Villanueva, M., Tsioras, M., Alexoudis, C., Pérez-Rojas, G., Masís-Mora, M., ... & Tsihrintzis, V. A. Low-cost approaches for the removal of terbuthylazine from agricultural wastewater: Constructed wetlands and biopurification system. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 335, 647-656. DOI: 10.1016/j.cej.2017.11.031.
- [7] Snyder, B. F. The Inclusion of Ecosystem Service Valuations in Bioenergy Cost Analysis: A Case Study of Constructed Wetlands in the Neotropics. *Ecological Economics*, 2019, 156, 196-201. DOI: 10.1016/j.ecolecon.2018.10.005.

- [8] Schröder, U. Microbial fuel cells and microbial electrochemistry: into the next century! *ChemSusChem*, 2012, 5(6), 959-959. DOI: 10.1002/cssc.201200319.
- [9] Wang, J., Song, X., Wang, Y., Abayneh, B., Ding, Y., Yan, D., & Bai, J. Microbial community structure of different electrode materials in constructed wetland incorporating microbial fuel cell. *Bioresource technology*, 2016, 221, 697-702. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.09.116.
- [10] Oon, Y. L., Ong, S. A., Ho, L. N., Wong, Y. S., Dahalan, F. A., Oon, Y. S., ... & Nordin, N. Role of macrophyte and effect of supplementary aeration in up-flow constructed wetland-microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and energy recovery. *Bioresource technology*, 2017, 224, 265-275. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.10.079.
- [11] Xu, F., Cao, F. Q., Kong, Q., Zhou, L. L., Yuan, Q., Zhu, Y. J., & Wang, Q. Electricity production and evolution of microbial community in the constructed wetland-microbial fuel cell. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 339, 479-486. DOI: doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.003.
- [12] Jadhav, D. A., Ray, S. G., & Ghangrekar, M. M. Third generation in bio-electrochemical system research—A systematic review on mechanisms for recovery of valuable by-products from wastewater. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017, 76, 1022-1031. DOI: 10.1016/j.rser.2017.03.096.
- [13] Corbella, C., & Puigagut, J. Improving domestic wastewater treatment efficiency with constructed wetland microbial fuel cells: Influence of anode material and external resistance. *Science of The Total Environment*, 2018, 631, 1406-1414. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.084.
- [14] Gude, V. G. Wastewater treatment in microbial fuel cells—an overview. *Journal of cleaner production*, 2016, 122, 287-307. DOI: 10.1016/j.jclepro.2016.02.022.
- [15] Lombard Latune, R., Laporte-Daube, O., Fina, N., Peyrat, S., Pelus, L., & Molle, P. Which plants are needed for a French vertical-flow constructed wetland under a tropical climate?. *Water Science and Technology*, 2017, 75(8), 1873-1881. DOI: 10.2166/wst.2017.064.
- [16] Walter, X. A., Merino-Jiménez, I., Greenman, J., & Ieropoulos, I. PEE POWER@urinal II—Urinal scale-up with microbial fuel cell scale-down for improved lighting. *Journal of Power Sources*, 2018, 392, 150-158. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2018.02.047.
- [17] Xu, L., Zhao, Y., Fan, C., Fan, Z., & Zhao, F. First study to explore the feasibility of applying microbial fuel cells into constructed wetlands for COD monitoring. *Bioresource technology*, 2017, 243, 846-854. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.06.179.
- [18] Do, M. H., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y., Chang, S. W., Nguyen, D. D., ... & Ni, B. J. Challenges in the application of microbial fuel cells to wastewater treatment and energy production: A mini review. *Science of The Total Environment*, 2018, 639, 910-920. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.136.
- [19] Montiel, V., Valero, D., Gallud, F., García-García, V., Expósito, E., & Iniesta, J. Prospective Applications of Renewable Energy-Based Electrochemical Systems in Wastewater Treatment. In *Electrochemical Water and Wastewater Treatment*, 2018, (pp. 513-541). DOI: 10.1016/B978-0-12-813160-2.00019-5.
- [20] Hagen, M., Dörfler, S., Fanz, P., Berger, T., Speck, R., Tübke, J., ... & Kaskel, S. Development and costs calculation of lithium–sulfur cells with high sulfur load and binder free electrodes. *Journal of Power Sources*, 2013, 224, 260-268. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2012.10.004.
- [21] Lawry, S., Samii, C., Hall, R., Leopold, A., Hornby, D., & Mtero, F. The impact of land

property rights interventions on investment and agricultural productivity in developing countries: a systematic review. *Journal of Development Effectiveness*, 2017, 9(1), 61- 81. DOI: 10.1080/19439342.2016.1160947.

[22] Mateo, N., Nani, G., Montiel, W., Nakase, C., Salazar-Salazar, C., y Sandoval, L. Effect of *Canna* hybrids in wetlands built specifically saturated for the treatment of pig waters. *RINDERESU*, 2020, 4 (1-2), 59-68. Available in: <http://rinderesu.com/index.php/rinderesu/article/view/41>.

[23] Di, L., Li, Y., Nie, L., Wang, S., & Kong, F. Influence of plant radial oxygen loss in constructed wetland combined with microbial fuel cell on nitrobenzene removal from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 122542. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122542.

[24] Sandoval, L., Zurita, F., Ángel-Coronel, D., Andrés, O., Adame-García, J., & Marín-Muñiz, J. L. Influence of a new ornamental species (*Spathiphyllum blandum*) on the removal of cod, nitrogen, phosphorus and fecal coliforms: a mesocosm wetland study with pet and tezontle substrates. *Water Science and Technology*. 2020, Available in: <https://doi.org/10.2166/wst.2020.185>.

[25] Mateo, N., Nani, G., Montiel, W., Nakase, C., Salazar-Salazar, C., & Sandoval, L. Effect of *Canna* hybrids in partially saturated constructed wetlands for swine water treatments. *RINDERESU*, 2019, 4(1-2), 59-68.

[26] Sandoval-Herazo, L. C., Alvarado-Lassman, A., Marín-Muñiz, J. L., Méndez-Contreras, J. M., & Zamora-Castro, S. A. Effects of the Use of Ornamental Plants and Different Substrates in the Removal of Wastewater Pollutants through Microcosms of Constructed Wetlands. *Sustainability*, 2018, 10(5), 1594. DOI: 10.3390/su10051594.

[27] Zamora, S., Sandoval, L., Marín-Muñiz, J. L., Fernández-Lambert, G., & Hernández Orduña, M. G. Impact of ornamental vegetation type and different substrate layers on pollutant removal in constructed wetland mesocosms treating rural community wastewater. *Processes*, 2019, 7(8), 531. DOI: 10.3390/pr7080531.

[28] Sandoval-Herazo, L. C., Marín-Muñiz, J. L., y Orduñas, M. G. H., & Aleman-Chang, A. J. Role of Wetland Plants and Use of Ornamental Flowering Plants in Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: A Review. 2018, DOI: <https://doi.org/10.3390/app9040685>.

[29] Vasconez, R. D. A., Utreras, V. P. C., & Suquillo, I. D. V. Efecto Del Carbón Activado En La Germinación Y Brotación In Vitro De Citrus Limon (L.) Y Su Dinámica De Crecimiento. *Bionatura*, 2018, 3(3). Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2018.03.03.5>.

[30] Sandoval, L., Marín-Muñiz, J. L., Zamora-Castro, S. A., Sandoval-Salas, F., & Alvarado Lassman, A. Evaluation of Wastewater Treatment by Microcosms of Vertical Subsurface Wetlands in Partially Saturated Conditions Planted with Ornamental Plants and Filled with Mineral and Plastic Substrates. *International journal of environmental research and public health*, 2019b, 16(2), 167. DOI: 10.3390/ijerph16020167.

[31] Decezaro, S. T., Wolff, D. B., Pelissari, C., Ramírez, R. J., Formentini, T. A., Goerck, J., & Sezerino, P. H. Influence of hydraulic loading rate and recirculation on oxygen transfer in a vertical flow constructed wetland. *Science of the total environment*, 2019, 668, 988-995. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.057.

[32] Sánchez-Olivares, E., Marín-Muñiz, J. L., & Hernandez-Alarcón, M. E. Radial oxygen loss by roots of native tropical wetland plants of Veracruz in response of different flooding conditions. *Botanical Sciences*, 2019, 97(2), 202-210. DOI:

<https://doi.org/10.17129/botsci.2069>.

[33] Xiao, N., Wu, R., Huang, J. J., & Selvaganapathy, P. R. Development of a xurographically fabricated miniaturized low-cost, high-performance microbial fuel cell and its application for sensing biological oxygen demand. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 304, 127432. DOI: 10.1016/j.snb.2019.127432.

[34] Kumar, S., Pratap, B., Dubey, D., & Dutta, V. Microbial Communities in Constructed Wetland Microcosms and Their Role in Treatment of Domestic Wastewater In Emerging Eco-friendly Green Technologies for Wastewater Treatment, 2020, (pp. 311-327). DOI: 10.1007/978-981-15-1390-9.

[35] Hussain, Z., Arslan, M., Malik, M. H., Mohsin, M., Iqbal, S., & Afzal, M. Treatment of the textile industry effluent in a pilot-scale vertical flow constructed wetland system augmented with bacterial endophytes. *Science Of The Total Environment*, 2018, 645, 966-973. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.163.

[36] Tulun, Ş. Treatment of Leachate Using Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactors/Vertical Flow Subsurface Constructed Wetlands. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 2020, 27(1), 129-137. DOI: <https://doi.org/10.2478/eces-2020-0008>.

[37] Ashraf, S., Afzal, M., Rehman, K., Tahseen, R., Naveed, M., & Zahir, Z. A. Enhanced remediation of tannery effluent in constructed wetlands augmented with endophytic bacteria. *Desalination and Water Treatment*, 2018, 102, 93-100. DOI: 10.5004/dwt.2018.21860.

[38] Lin, C. J., Chyan, J. M., Zhuang, W. X., Vega, F. A., Mendoza, R. M. O., Senoro, D. B., .. & Liao, C. H. Application of an innovative front aeration and internal recirculation strategy to improve the removal of pollutants in subsurface flow constructed wetlands. *Journal of Environmental Management*, 2020, 256, 109873. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.109873.

[39] Rodríguez-Momroy, J., & Durán-de-Bazúa, C. Remoción de nitrógeno en un sistema de tratamiento de aguas residuales usando humedales artificiales de flujo vertical a escala de banco. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 2006, 21(1), 25-33. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48221104>.

[40] Rahimikhoob, H., Sohrabi, T., & Delshad, M. Development of a Critical Nitrogen Dilution Curve for Basil (*Ocimum basilicum* L.) Under Greenhouse Conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 1-11. DOI: 10.1007/s42729-020-00174-5.

FIGURE CAPTIONS

Figure 1. Wastewater treatment system using *Zantedeschia aethiopica* and *Canna* hybrids for bioelectricity production.

Figure 2. Growth of mother plants

Figure 3. Growth of shoots

Figure 4. Comparison of maximum power (mW/m²) generated in VPS-CWs systems using *C.* hybrid (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

Figure 5. Comparison of the voltage (mV) generated in VPS-CWs systems using *C.* hybrid (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

Figure 6. Comparison of the current (mA/m²) generated in the VPS-CWs systems using *C.*

hybrid (●) and *Z. aethiopica* (○) during 8 months of retention.

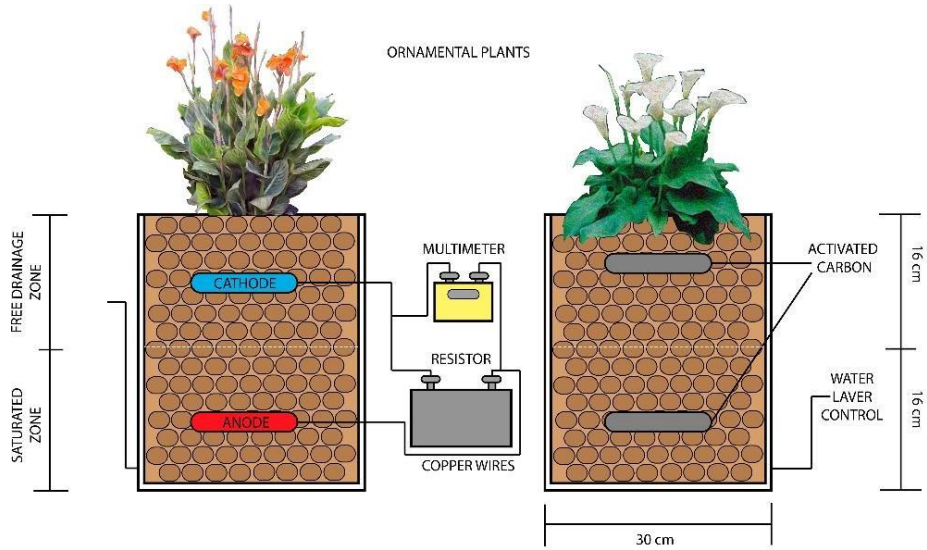


Figura 1

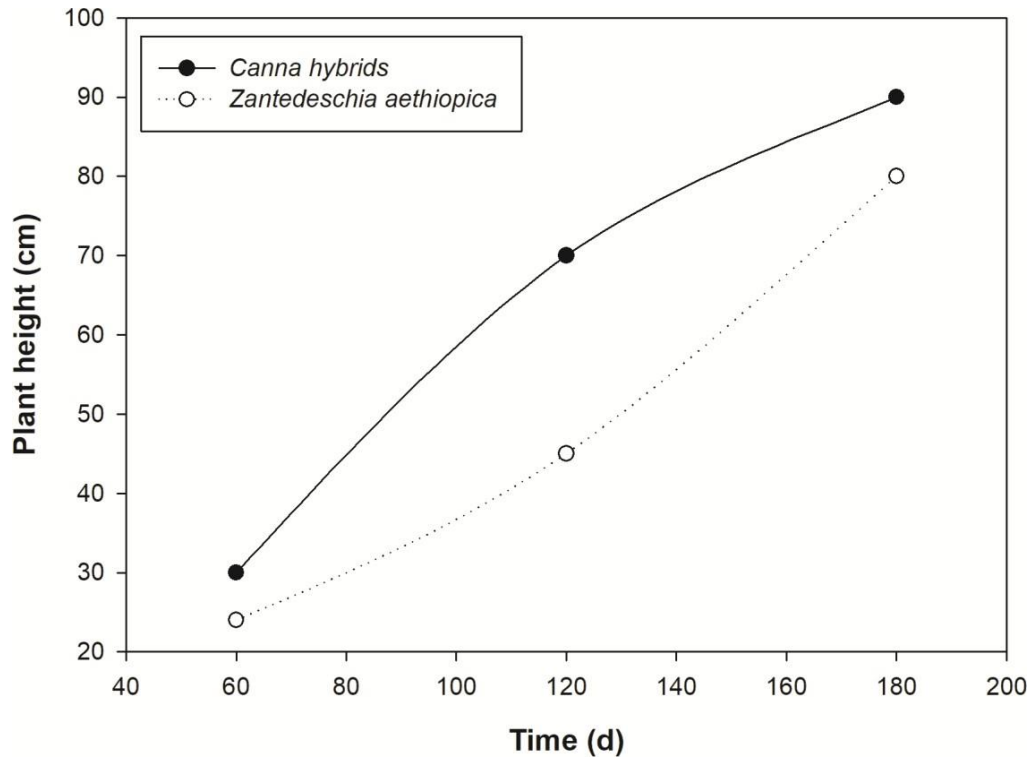


Figura 2.

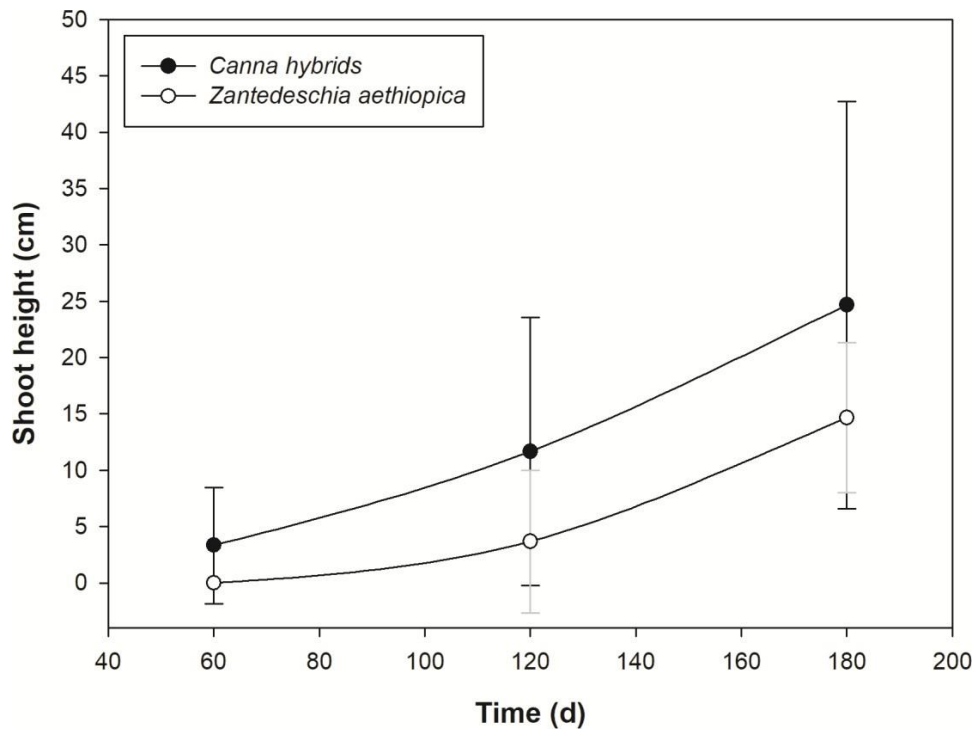


Figura 3.

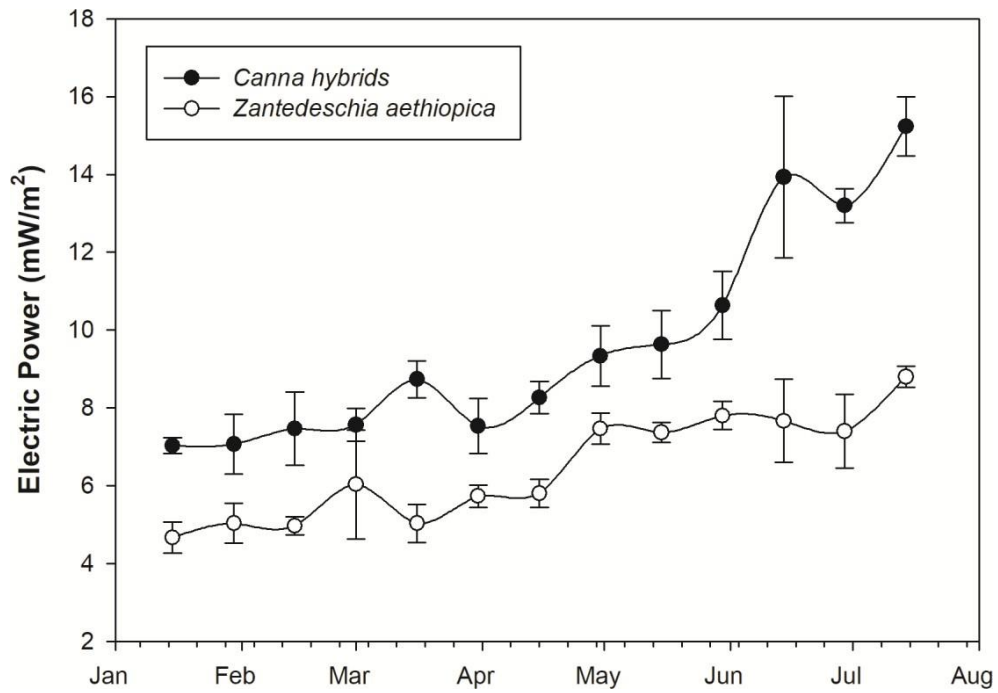


Figura 4.

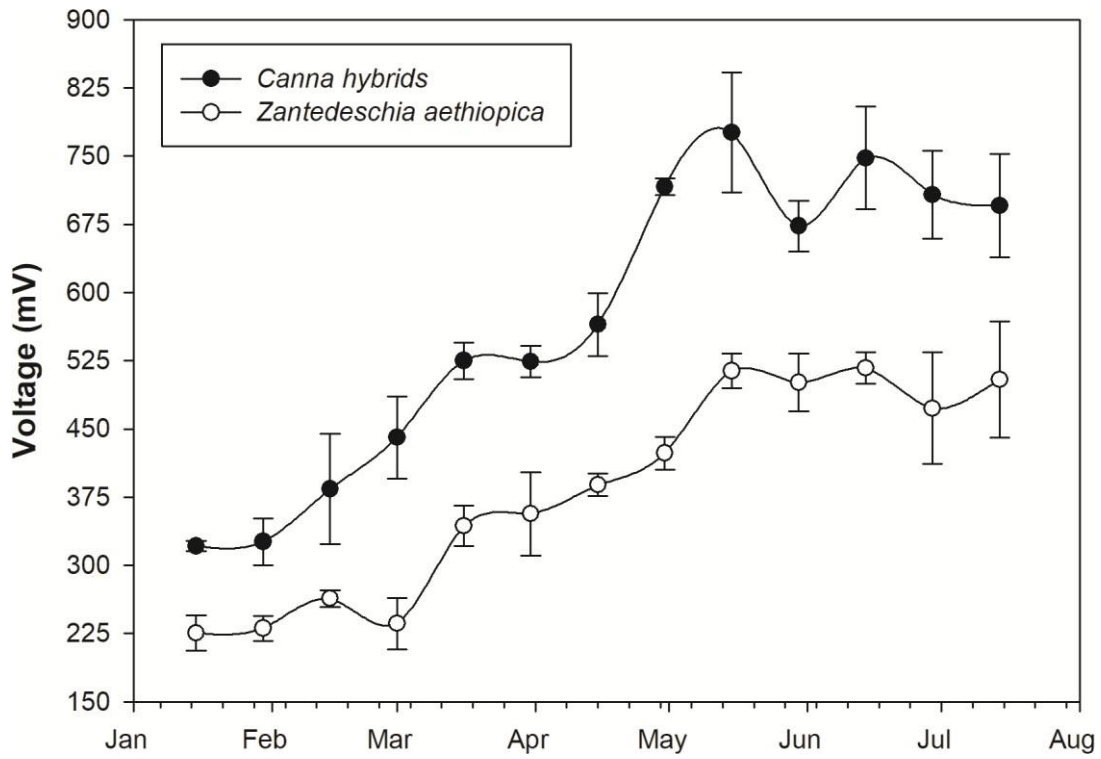


Figura 5.

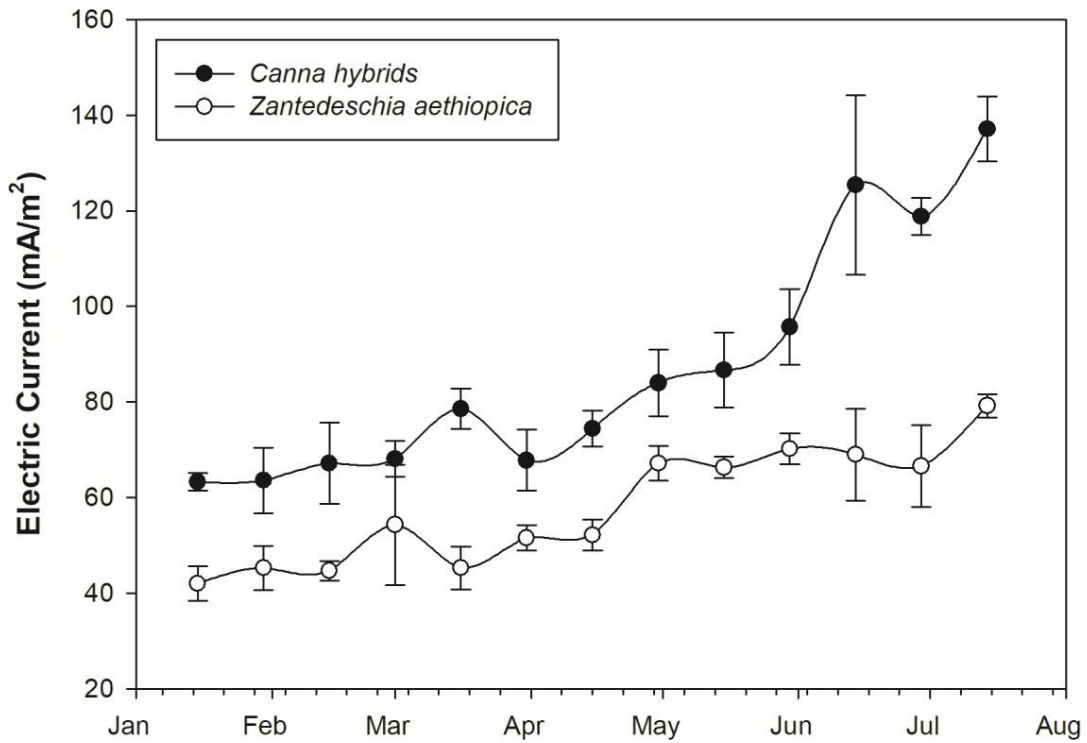


Figura 6.