



Universidad Central de Venezuela
Facultad de Agronomía
Comisión de Estudios de Postgrado
Postgrado de Ingeniería Agrícola



Modelación matemática de los procesos de degradación de nitrógeno, en el humedal superficial de agua libre Tancat de la Pipa, en L'Albufera de Valencia, España.

Ing. Jesús Silva
Tutor: Prof. Lino Lugo

Maracay, septiembre de 2014

INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural escaso, indispensable para la vida y para el ejercicio de la inmensa mayoría de las actividades económicas; es irremplazable, no ampliable por la mera voluntad del hombre, irregular en su forma de presentarse en el tiempo y en el espacio, fácilmente vulnerable y susceptible de usos sucesivos; asimismo constituye un recurso, que se renueva a través del ciclo hidrológico y que se conserva, a efectos prácticos, en una magnitud casi constante dentro de cada una de las cuencas hidrográficas del planeta (Ley de Aguas del Estado Español, 2001). Es un recurso imprescindible para la vida y por ello es necesaria una gestión adecuada que permita un suministro en buenas condiciones y proteja los recursos hídricos existentes, es un recurso limitado que actualmente se encuentra sometido a fuertes presiones que pueden condicionar tanto su disponibilidad como sus condiciones de calidad. La demanda social de agua de buena calidad para múltiples usos, desde el abastecimiento humano hasta la agricultura y la industria, debe coexistir con las funciones ecológicas propias del agua y de los ecosistemas acuáticos (Arroyo, 2010).

La calidad del agua es una variable fundamental del estado de los ecosistemas, tanto desde el punto de vista de su caracterización ambiental, como desde la perspectiva de la planificación y gestión hidrológica, ya que delimita la aptitud del agua para mantener los ecosistemas y atender las diferentes demandas (Dimas y col, 2004). En Venezuela, a efectos de la vigente Ley de Aguas, (2007), se entiende por contaminación: *“acción y efecto de introducir materias o formas de energía o inducir condiciones en el agua que, de modo directo o indirecto, impliquen una alteración perjudicial de su calidad en relación a los usos posteriores o en su función ecológica”*.

La contaminación del agua y el deterioro de los ecosistemas acuáticos, como consecuencia de las actividades humanas, supone un grave riesgo para la salud del hombre, así como un severo problema ambiental (Ruiz, 1998). Estas actividades modifican las características de las aguas de partida, contaminándolas e invalidando su posterior aplicación para otros usos. En la actualidad se estima en más de un millón, el número de

diferentes sustancias que llegan a los cauces naturales, a partir de vertidos de origen antropogénico (Förstner y col, 1993), muchas de las cuales alteran y/o deterioran el equilibrio de los ecosistemas *per se* y/o son nocivas para la salud pública. Desde este punto de vista, la contaminación de las aguas no sólo tiene un efecto negativo sobre buena parte de la vegetación y la fauna asociadas al propio ecosistema acuático, sino que también ocasiona un desequilibrio perjudicial para todo el ecosistema terrestre que depende de estas masas de agua (Arroyo, 2010).

Debido a las graves consecuencias que ocasiona el vertido de aguas residuales sin depurar, es preciso el tratamiento de estas aguas antes de su deposición final; en dicho tratamiento, éstas se someten a una serie de procesos físicos, químicos y biológicos, con el objetivo de reducir las concentraciones de los contaminantes presentes y poder verter los afluentes depurados cumpliendo la legislación vigente.

El hecho de que los procesos de contaminación estén cada vez más extendidos, ha llevado a que términos como eutrofización sean cada vez más conocidos; de forma intuitiva este término se puede definir como el enriquecimiento de nutrientes de las aguas superficiales, principalmente nitrógeno en forma de nitrato, nitrito o amonio, y fósforo en forma de ortofosfato. Podría parecer que este hecho es bueno para el desarrollo de los seres vivos, pero si existe exceso de nutrientes, crecen en abundancia plantas y otros organismos por lo que se produce una disminución drástica del contenido de oxígeno en el agua y además se disminuye la transparencia del cuerpo de agua pudiendo provocar la desaparición de la vegetación del lecho. De esta forma, la masa de agua pierde su calidad y dejan de ser aptas para la vida, y en general, para el uso al que estaban predeterminadas (Emérita, 2010).

Debido a los problemas de eutrofización en los ambientes acuáticos naturales y a la toxicidad que representa el amonio para las especies de estos ecosistemas, la eliminación del nitrógeno de las aguas residuales se ha convertido en una preocupación emergente en todo el mundo (Tchobanoglous y col, 2003). El nitrógeno en las aguas residuales se puede

encontrar en diferentes formas (N orgánico, NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^-) y en concentraciones variables; normalmente en las aguas residuales urbanas el nitrógeno suele presentarse mayoritariamente en sus formas reducidas, es decir, como nitrógeno orgánico y amoniacal, en proporciones de un 40% y 60% respectivamente, mientras que la presencia de las formas nítricas y nitrosas, es inferior a un 1% (EPA, 1993). Las formas iónicas (reactivas) de nitrógeno inorgánico más comunes en los ecosistemas acuáticos son el amonio, el nitrito y el nitrato. Estos iones pueden estar presentes de manera natural en el medio acuático, sin embargo, las actividades humanas han alterado de manera significativa el ciclo global del nitrógeno aumentando su disponibilidad en muchas regiones del planeta, como consecuencia de fuentes puntuales y difusas de contaminación. Asociados a esta contaminación generalizada aparecen la acidificación de ríos y lagos con baja o reducida alcalinidad, la eutrofización de las aguas y proliferación de algas tóxicas y la toxicidad directa de los compuestos nitrogenados para los animales acuáticos, como problemas medioambientales en los ecosistemas acuáticos; además, la contaminación por nitrógeno inorgánico podría inducir efectos perjudiciales sobre la salud humana (Tchobanoglous y col, 2003).

Como respuesta al problema de la contaminación de los medios acuáticos, se han ido diseñando soluciones factibles para restar el impacto que los vertidos causan al medio. Se han desarrollado diferentes sistemas convencionales para tratar y depurar aguas residuales, junto con estos, también se han desarrollado sistemas naturales de depuración o sistemas no convencionales. Estos sistemas son tecnologías que han resultado de un diseño ecológico, tomando como punto de partida los ecosistemas naturales acuáticos (Martel y col, 2006).

En las pequeñas aglomeraciones urbanas, generalmente, la escasez de recursos técnicos y económicos hacen necesario abordar la depuración de sus aguas residuales con premisas diferentes a las que se adoptan en las grandes urbes, buscando soluciones de depuración sostenibles, que presenten el mínimo costo energético, un mantenimiento simple y una gran robustez de funcionamiento, este tipo de tecnologías no convencionales,

se presentan como una posible alternativa, su versatilidad y adaptabilidad, su integración en el entorno y su menor costo de implantación y explotación, las hacen especialmente indicadas para la depuración de vertidos urbanos en el medio rural (Rodríguez y col, 2007).

En esencia, el funcionamiento de un sistema natural y el de uno convencional es el mismo, la diferencia fundamental entre ambos radica en la velocidad a la que ocurren los procesos de depuración, ya que en un sistema convencional el proceso de depuración se realiza de forma secuencial y a altas velocidades, para lo que se fuerza el sistema mediante el aporte de energía y en algunos casos, el uso de reactivos químicos; mientras que en los sistemas naturales se trabaja a la velocidad propia de los procesos, sin gasto energético ni de reactivos. Estos sistemas no convencionales se pueden clasificar en función de la intensidad del tratamiento o en función del tipo de biomasa activa, en unos casos imitan las condiciones propias de los humedales naturales (humedales artificiales) o los procesos que de forma natural se dan en lagos y ríos (lagunajes) (Arroyo, 2010).

Los cauces fluviales, así como los humedales han sido desde siempre receptores directos e indirectos de la mayor parte de los residuos líquidos generados por el hombre, gracias a los procesos de autodepuración que ocurren dentro de estos ecosistemas, han podido soportar e incluso depurar las cargas contaminantes que recibían, en la actualidad, el acelerado ritmo de contaminación, imposibilita que pueda hablarse de procesos autodepurativos (Emérita, 2010).

Los humedales son ecosistemas de transición entre el medio terrestre y el medio acuático que funcionan como un enlace entre ambos medios. En ellos se desarrollan numerosos procesos biológicos debido a la acción de la energía solar, de los seres vivos y del suelo (Kadlec y Knight, 1996). Se encuentran entre los ecosistemas más productivos del mundo, proporcionando el soporte de agua y producción primaria del cual dependen, para su supervivencia, un sinnúmero de especies de plantas y animales. Su importancia radica tanto en sus grandes valores ecológicos, como en las funciones que desempeñan en el ciclo

del agua y de la materia orgánica, soporte de redes tróficas, reciclado de nutrientes y filtro biogeoquímico.

En España, uno de los cuerpos de agua más emblemáticos, en términos de valor ambiental, es el Lago L'Albufera, el cual se encuentra dentro del Parque Natural L'Albufera de Valencia. Este parque está ubicado al este de España, sobre la costa mediterránea de Valencia y comprende una superficie de 210 Km² que junto con los campos de arroz y bosques de pino, forman una unidad de alto valor turístico, económico y científico (Peris *y col*, 2005; Martín *y col*, 2013). El parque es un humedal de importancia internacional, incluido en la Convención de Ramsar, desde 1990, igualmente es una zona de protección especial para aves, desde 1991, y uno de los humedales más singulares en España, a pesar del hecho de que ha sido altamente modificado por la actividad humana desde la edad media (Martín *y col*, 2013). Los humedales naturales se han empleado como sistemas de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo no es aconsejable su empleo con dicha finalidad, por sus altos valores ecológicos y por las mejores oportunidades que ofrecen los humedales artificiales para la depuración, ya que están diseñados para la optimización de los procesos de eliminación de contaminantes (Verhoeven y Meuleman, 1999).

Los humedales artificiales se han creado como sistemas pasivos de depuración de agua, en ellos se combinan procesos físicos, químicos y biológicos por medio de los cuales se produce la depuración del agua. Hoy día, los humedales artificiales son ampliamente usados en la remoción de contaminantes de aguas residuales, para tratamientos de aguas de lluvias en ciudades, para tratamientos de aguas residuales industriales, y de aguas provenientes tanto de actividades mineras como agrícolas (Kadlec y Wallace, 2009). Además, estos sistemas de tratamientos de aguas se han empezado a usar en la remoción de contaminantes en ríos (Jing *y col*, 2001; Juang y Chen, 2007), y para proteger áreas de alto valor ecológico (Chimney y Goforth, 2006). Pero en la restauración de cuerpos de agua eutrofizados, la experiencia actual es escasa (Coveney *y col*, 2002; Li *y col*, 2008).

Aunque los humedales artificiales son extensivamente usados en Europa y alrededor del mundo, en España son relativamente nuevos (Puigagut y col, 2007). Estos sistemas fueron inicialmente introducidos para el saneamiento de pequeñas comunidades, y existen muy pocos, pero significativos estudios en el uso de humedales como sistemas de mejoras de calidad de agua en zonas agrícolas (Romero y col, 1999). Sin embargo, no existen suficientes estudios sobre el tratamiento de aguas eutrofizadas con estos sistemas, pero estudios previos muestran que es posible el uso de humedales artificiales para tratar las aguas desde el Lago L'Albufera (Martín y col, 2013).

Por otro lado, la elevada complejidad de los procesos biológicos que tienen lugar en un sistema de tratamiento de aguas residuales, así como su comportamiento altamente dinámico hace necesario el uso de modelos matemáticos en este campo. Un modelo matemático es una formulación idealizada que representa la respuesta de un sistema físico ante un estímulo externo (Martin y Marzal, 1999), su desarrollo sirve para describir el comportamiento actual y previsible de un proceso mediante unas bases teóricas bien establecidas. Al realizar la modelación se lleva a cabo un gran esfuerzo por conocer el sistema, primero de una forma cualitativa y luego de una manera cuantitativa, asignando un sentido físico para cada parámetro y estudiando su efecto por separado, los cuales tendrán una interacción combinada sobre el proceso global (Emérita, 2010). La modelación de la calidad de agua constituye una herramienta eficaz para evaluar planes alternativos de ingeniería ya que estos modelos permiten simular condiciones actuales y futuras, de tal manera que es posible analizar escenarios y anticipar las variaciones que sufrirán los diversos índices o parámetros de calidad de aguas, en el cuerpo acuático bajo estudio. En el campo de estudio de calidad de agua, se trataría de determinar el valor de la concentración de cualquier sustancia en el agua, en función de un vertido.

En este sentido, con la finalidad de evaluar la eficiencia como sistema depurativo natural de aguas contaminadas, se plantea modelar los procesos de degradación de nitrógeno, en el humedal artificial de flujo superficial de agua libre “Tancat de la Pipa”, construido en la zona norte del Parque Natural del L'Albufera de Valencia, España.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades en el tratamiento de aguas residuales.

El agua es un recurso imprescindible para la vida y por ello es necesaria una gestión adecuada que permita un suministro en buenas condiciones y proteja los recursos hídricos existentes, es un recurso limitado que se encuentra sometido a fuertes presiones que condicionan tanto su disponibilidad como su calidad. La demanda social de agua de buena calidad para múltiples usos, desde el abastecimiento humano hasta la agricultura y la industria, debe coexistir con las funciones ecológicas propias del agua y de los ecosistemas acuáticos (Arroyo, 2010). El aumento de la población en los núcleos urbanos, el desarrollo industrial y la creciente actividad agropecuaria ha aumentado la cantidad de vertidos a medios naturales hasta límites que superan la capacidad de autodepuración de estos medios receptores. Los vertidos están deteriorando la calidad del agua, variable importante tanto en lo que respecta a la caracterización ambiental como desde la perspectiva de la planificación hidrológica (Emérita, 2010).

Los vertidos de aguas residuales se definen como cualquier material de desecho que las instalaciones industriales o energéticas, las ciudades o núcleos de población o las actividades agrícolas o ganaderas arrojan al agua. Las aguas residuales son por tanto, las aguas usadas que, procedentes de las viviendas, del sector servicios y de las industrias, son evacuadas por las instalaciones de saneamiento hasta el medio receptor. Estas aguas contienen una serie de sustancias que se incorporan por los diferentes usos, provocando su contaminación (Arroyo, 2010).

Los aportes de aguas residuales a los cauces receptores son el origen de diversos problemas ambientales en ecosistemas acuáticos (Cuadro 1). Tanto la legislación venezolana como la europea, exigen procesos de depuración de aguas residuales con el fin de disminuir el impacto ambiental que estas producen a los ecosistemas acuáticos y al medio ambiente. En general, el agua residual urbana contiene un 99% de agua y un 1% de materia sólida. Esta materia está constituida en un 70% por sustancias orgánicas como

proteínas, grasas y carbohidratos; mientras que el 30% restante es materia mineral insoluble como arena, arcilla o grava (Cuadro 2). La materia orgánica de un agua residual urbana o doméstica está formada mayoritariamente por materia fecal, también contiene carbohidratos (celulosa, almidón y azúcares), grasas y jabones (sales metálicas de los ácidos grasos), detergentes sintéticos, proteínas y sus productos de descomposición (urea, glicina y cisteína) así como hidróxido de amonio y sales amoniacaes procedentes de la descomposición de complejos orgánicos nitrogenados (Rivas – Mijares, 1978; Knobelsdorf, 2005).

Para asegurar la calidad suficiente requerida en los diferentes usos del agua, han surgido normativas que establecen estándares y criterios de calidad específicos que definen los requisitos que debe reunir una determinada agua para un fin concreto. Los tipos de contaminación que pueden afectar a un medio natural se clasifican según el factor ecológico que altere, aunque suelen afectar a más de un factor. Las sustancias que modifican factores físicos, que pueden no ser tóxicas en sí mismas, pero modifican las características físicas del agua y afectan a la biota acuática, se clasifican como contaminantes físicos; y aquellos efluentes capaces de cambiar la concentración de los componentes químicos naturales del agua, causando niveles anormales de los mismos o introducen sustancias extrañas al medio ambiente acuático, se denominan contaminantes químicos (Emérita, 2010).

El conjunto de procesos y tratamientos físicos, químicos y/o biológicos a los que debe someterse el agua residual con el objetivo de reducir la carga contaminante presente hasta alcanzar unos determinados parámetros de calidad antes de su vertido final o de su reutilización, es lo que se conoce como depuración del agua residual. En función de las características del punto de vertido así como de los posteriores usos de esa agua, en el caso de la reutilización, los parámetros de calidad que deberán alcanzarse serán más o menos exigentes (Rodríguez – Roda y col, 2008).

Cuadro 1.- Contaminantes presentes en el agua residual y sus posibles efectos sobre las aguas receptoras.

Contaminantes de agua	Impactos más significativos.
Sólidos en suspensión	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de la turbidez del agua, alteración de la fotosíntesis y reducción de la producción. • Sedimentación en el lecho del río, lo que puede provocar que quede cubierto.
Compuestos inorgánicos	<ul style="list-style-type: none"> • Ecotoxicidad en algunos compuestos de las sales de algunos metales. • Reacciones con sustancias disueltas en el agua que pueden formar compuestos tóxicos.
Conductividad	<ul style="list-style-type: none"> • Concentraciones elevadas de sales pueden perjudicar gravemente la supervivencia de distintas especies de animales y vegetales
Nutrientes	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento masivo de algas y bacterias (aumento de la turbidez del agua). • Eutrofización.
Materia orgánica	<ul style="list-style-type: none"> • Su descomposición puede provocar una disminución de la concentración de oxígeno disuelto en el agua hasta condiciones que pueden perjudicar la supervivencia de animales y plantas. • Eutrofización. • Emisión de metano en el caso de que tenga lugar una descomposición anaeróbica.
Organismos patógenos	<ul style="list-style-type: none"> • Aparición de enfermedades de transmisión hídrica asociadas a la contaminación microbiológica del agua. • Posible contaminación de organismos
Contaminación térmica	<ul style="list-style-type: none"> • Alteración del ecosistema acuático. • Modificación de la solubilidad del oxígeno en el agua.

Fuente: Dewisme, (1997)

Cuadro 2.- Rangos de concentración de los principales contaminantes del agua residual urbana

Componente	Rango medio
Sólidos totales (mg/L)	375 – 1800
Sólidos sedimentables (mg/L)	5 – 20
Demanda biológica de oxígeno (mg/L)	110 – 400
Demanda química de oxígeno (mg/L)	200 – 780
Carbono orgánico total (mg/L)	80 – 290
Nitrógeno total (mg N/L)	20 – 85
Nitrógeno orgánico (mg N/L)	8 – 35
Amonio (mg N/L)	12 – 50
Nitritos y nitratos (mg N/L)	0
Fósforo total (mg P/L)	4 – 15
Fósforo orgánico (mg P/L)	1 – 5
Fósforo inorgánico (mg P/L)	3 – 10
pH	6,5 – 7,5
Alcalinidad (ma CaCO/L)	50 – 200
Dureza (mg CaCO/L)	180 – 350
Cloruros (mg Cl/L)	30 – 100
Grasas (mg/L)	50 – 150

Fuente: Metcalf y Eddy, (2003)

El hecho de que los procesos de contaminación estén cada vez más extendidos ha llevado a que términos como eutrofización sean cada vez más conocidos (Emérita, 2010). La causa de la eutrofización es siempre una aportación de nutrientes de muy diversa procedencia, tanto natural como de origen humano. Las fuentes naturales producen, normalmente, cantidades limitadas de nutrientes, por tanto, son los aportes humanos los que favorecen la eutrofización, denominándose eutrofización antropogénica o cultural. Estas aportaciones humanas pueden ser de naturaleza muy diversa, dependiendo de la fuente de

descarga (Arroyo, 2010). Así que en función del origen del vertido, se pueden distinguir diferentes tipos de contaminación de aguas (Cuadro 3).

Sistemas no convencionales de depuración de aguas residuales.

La depuración de las aguas residuales, ya sean urbanas, industriales o de origen agropecuario, se ha convertido en unos de los retos ecológicos y económicos más acuciantes del planeta. La escasez de agua potable como recurso, el imparable aumento de la población mundial, con el consiguiente incremento en la producción de aguas residuales, y la necesidad de conseguir los objetivos de reducción de emisiones de carbono contemplados en el Protocolo de Kyoto, ha enfrentado a la humanidad a diseñar tratamientos adecuados de las aguas residuales con el menor costo económico y energético posible (Fernández y *col*, 2005)

Como respuesta al problema de la contaminación de los medios acuáticos, se han venido diseñando soluciones factibles para restar el impacto que los vertidos causan el medio. Se han desarrollado diferentes sistemas convencionales para tratar y depurar aguas residuales, junto con estos, también se han desarrollado sistemas naturales de depuración o sistemas no convencionales. Estos sistemas son tecnologías que han resultado de un diseño ecológico, tomando como punto de partida los ecosistemas naturales acuáticos (Martel y *col*, 2006). En ellos se logra la eliminación de las sustancias contaminantes de las aguas residuales a través de mecanismos y procesos naturales los cuales no requieren de energía externa ni de aditivos químicos. En estos sistemas un buen número de procesos de descontaminación son ejecutados por sinergia de diferentes comunidades de organismos. (García y Corzo, 2008). En esencia, el funcionamiento de un sistema natural y el de un sistema convencional es el mismo. La diferencia fundamental entre ambos radica en la velocidad a la que ocurren los procesos de depuración. En un sistema convencional el proceso de depuración se realiza de forma secuencial y a velocidades altas para lo que se fuerza el sistema mediante el aporte de energía y, en algunos casos, de reactivos. En los sistemas naturales se trabaja a la velocidad natural propia de los procesos, sin gasto energético ni de otros reactivos (Arroyo, 2010).

Cuadro 3.- Tipos de contaminación, según el origen de vertido

Tipos de contaminación				
Fuentes naturales	Fuentes antropogénicas			
El aporte de nutrientes a un medio acuático de forma natural depende principalmente de sus condiciones geomorfológicas, climáticas y biológicas, como por ejemplo, poca profundidad que favorece la penetración de la luz, suelos ricos en nutrientes, poco movimiento del agua, climas cálidos, erosión y arrastre de nutrientes por precipitaciones, rocas sedimentarias que aportan mayor cantidad de fósforo por escorrentía, descomposición y excreción de organismos, fijación de nitrógeno por microorganismos, entre otros.	Actividades urbanas	Actividades productivas		
	Las aguas residuales urbanas contienen N y P procedente, principalmente de desechos humanos y de los productos de limpieza. Las aguas residuales urbanas presentan una cierta homogeneidad en cuanto a composición y carga contaminante, ya que sus aportes van a ser siempre los mismos. Pero esta homogeneidad tiene unos márgenes muy amplios, ya que las características de cada vertido urbano van a depender del núcleo de población en el que se genere.	Industriales	Agropecuarias	Otras
		En algunos tipos de industria puede darse presencia de nutrientes en sus vertidos. La contaminación de origen industrial es una de las que produce un mayor impacto, por la gran variedad de materiales y fuentes de energía que pueden aportar al agua: materia orgánica, metales pesados, incremento de pH y temperatura, radioactividad, aceites, grasas, etc.	Se produce principalmente por el uso de fertilizantes, biocidas y abonos, que son arrastrados por el agua de riego, llevando consigo sales compuestas de nitrógeno, fósforo, azufre y trazas de elementos organoclorados que pueden llegar al suelo por lixiviado y contaminar las aguas subterráneas. En las explotaciones ganaderas, la contaminación procede de restos orgánicos que caen al suelo y de vertidos de aguas cargadas de materia orgánica.	Otras fuentes de contaminación de origen antropogénico son los vertederos de residuos, tanto urbanos como industriales, la contaminación por restos de combustibles, la contaminación del agua por fugas en conducciones y depósitos de carácter industrial, las mareas negras, ocasionadas por el vertido de petróleo crudo sobre el mar, etc.

Fuente: Emérita, (2010)

Por lo tanto, se trata de sistemas con una aireación natural y una baja concentración de bacterias, lo que conlleva al uso de grandes superficies de terreno (sistemas extensivos) frente a la aireación mecánica, alta concentración de bacterias y poca superficie del reactor de los sistemas convencionales. En los sistemas naturales el control del proceso es más complicado que en los tratamientos convencionales, ya que se dispone de menos posibilidades de actuación frente a las perturbaciones del medio. Los distintos tipos de sistemas naturales se pueden clasificar en función de la intensidad del tratamiento, en función del tipo de biomasa activa o según donde tenga lugar el tratamiento, ya sea en el terreno o en una masa de agua. En unos casos, estos sistemas imitan las condiciones propias de los humedales naturales (humedales artificiales) o los procesos que de forma natural se dan en lagos y ríos (lagunajes). En otros casos se emplea el suelo como sistema natural para depurar (filtros verdes, zanjas, pozos y lechos filtrantes). Con frecuencia estos sistemas o tecnologías no funcionan de forma independiente sino que se busca una combinación de los mismos para lograr el grado de depuración deseado (Arroyo, 2010; García y Corzo, 2008).

Humedales para tratamientos de aguas residuales

Los humedales son ecosistemas de transición entre el medio terrestre y el medio acuático que funcionan como un enlace dinámico entre ambos medios. Según la Secretaría de la Convenio de Ramsar (2013), define a los humedales como: *“Extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de agua, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros”*.

Los humedales han sido usados como sistemas de tratamiento de aguas contaminadas en diferentes partes del mundo. Sin embargo, sus altos valores ecológicos junto con las mejores oportunidades que ofrecen los artificiales para la depuración, diseñados buscando la optimización de los procesos de eliminación de contaminantes, desaconsejan en la actualidad su empleo con dicha finalidad. Las preocupaciones ambientales sobre el desempeño individual de los sistemas sépticos, así como los altos

costos de construcción de sistemas de alcantarillado con la purificación centralizada de agua, estimularon la investigación sobre la conveniencia de los ecosistemas de humedales para este propósito. Los sistemas naturales incluyen humedales lacustres, extensos sistemas de ciénagas, pantanos y llanuras de inundación, en la que grandes helófitas como *Phragmites australis*, *Typha* spp., *Scirpus* spp., a menudo dominan la vegetación. Por su parte, los humedales artificiales también tienen camas helófitas y son principalmente de dos tipos: (a) los humedales de flujo superficial, en el que el agua residual está fluyendo horizontalmente sobre el sedimento de los humedales; y (b) los humedales de infiltración, en la que el agua residual fluye verticalmente a través de un sedimento altamente permeable y es recogido en drenes (Verhoeven y Meauleman, 1999).

El desarrollo de los humedales artificiales como sistemas para la depuración del agua tiene su origen en los experimentos realizados por Seidel en la década de 1950 en el Instituto Max-Planck de Alemania, Seidel documentó en sus trabajos como el paso de agua contaminada a través de una cama de vegetación en un humedal, eliminaba grandes cantidades de materia orgánica e inorgánica, microorganismo, hidrocarburos y metales pesados (Seidel, 1964; Seidel, 1966; Brix y col, 2007). Posteriormente, los trabajos de Kickuth, (1977) despertaron el interés de la comunidad científica y tecnológica en Europa hacia el empleo de los humedales artificiales. Sin embargo, los estudios sobre humedales artificiales fueron escasos hasta la celebración de la Segunda Conferencia Internacional sobre humedales artificiales desarrollada en Cambridge en 1990 (Cooper y Findlater, 1990). Desde entonces, se han construido alrededor del mundo con la finalidad de tratar una gama amplia de aguas contaminadas. Su aplicación más extendida se centra en el tratamiento de aguas residuales domésticas (Kadlec y Knight, 1996; Brix y Arias, 2005), y aguas de origen industrial (Cooper y col, 1996; Maine y col, 2006). Pero también se emplean como tratamientos pasivos de focos de contaminación difusa como son los drenajes ácidos de minas (Sobolewski, 1999; Jing y col, 2001), los drenajes de carreteras (McNeill y Olley, 1998), en la remoción de contaminantes en ríos (Jing y col, 2001; Juang y Chen, 2007) y para proteger áreas de alto valor ecológico (Chimney y Goforth, 2006).

Pero en la restauración de cuerpos de agua eutrofizados, la experiencia actual es escasa (Coveney y col, 2002; Li y col, 2008)

Según Brix, (1993); los humedales artificiales pueden clasificarse en función del tipo de macrófita dominante en el ecosistema:

a. Sistemas con macrofitas flotantes. Este tipo de macrofitas presentan una alta diversidad tanto en sus formas como en el hábitat que ocupan. Así, estas plantas pueden estar enraizadas al sustrato con hojas flotantes, como el jacinto de agua (*Eichornia crassipes*) o la lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), o pueden presentar pequeñas o inexistentes raíces como las lentejas de agua (*Lemna* sp. y *Spirodela polyrhiza*) (Brix y Schierup, 1989).

b. Sistemas con macrofitas sumergidos. En este caso las macrofitas dominantes tienen su sistema fotosintético totalmente sumergido. Estas plantas sólo crecerán adecuadamente en aguas bien oxigenadas por lo que no se trata del sistema más adecuado para el tratamiento de aguas residuales (Brix, 1993).

c. Sistemas con macrofitas emergentes. Aquí las macrofitas se encuentran enraizadas al sustrato y su sistema fotosintético está por encima de la lámina de agua. Es el caso de especies como la enea (*Typha latifolia*), el carrizo (*Phragmites australis*), o el lirio amarillo (*Iris pseudacorus*). En función de la circulación del agua en el humedal se dividen en dos subtipos principales:

- **Humedales de flujo hidráulico superficial.** Presentan una lámina de agua no muy profunda, de 1 metro como máximo y generalmente en torno a 40 centímetros que fluye por encima del sustrato. Esta lámina está expuesta directamente a la atmósfera y circula preferentemente a través de los tallos de las macrófitas. Estos humedales forman parte del grupo de los sistemas de depuración natural basados en la acción de mecanismos que suceden en el agua (García y col, 2004).
- **Humedales de flujo hidráulico subsuperficial.** El agua discurre en ellos a través de un medio granular muy permeable en contacto con los rizomas y las raíces de las macrofitas. La profundidad de la columna de agua se establece en torno a los 60 centímetros. Dentro de este tipo de humedales de flujo subsuperficial existen a su vez, dos modalidades diferentes: humedales con flujo horizontal y humedales con

flujo vertical. Este tipo de humedales de flujo subsuperficial pueden considerarse como una modificación de los sistemas clásicos de infiltración en el terreno. Formarían por tanto, parte de los sistemas naturales de depuración basados en la acción del terreno (García y col, 2004).

Existen diferentes modificaciones y variaciones sobre este esquema clásico de tipología de humedades artificiales. Con el objetivo de mejorar la depuración del agua residual, se han desarrollado sistemas híbridos, formados por una combinación de varios tipos de humedales que funcionan en serie (Vymazal, 2005). De esta forma, pueden combinarse humedales con distintos flujos hidráulicos o humedales con otro tipo de sistemas de tratamiento de agua residual, ya sean sistemas blandos o sistemas convencionales. La selección del humedal más apropiado dependerá de las características del agua residual, de la superficie disponible, así como de las necesidades de mantenimiento y gestión para cada situación específica (Arroyo, 2010).

Nitrógeno en las aguas residuales.

Debido a los problemas de eutrofización en los ambientes acuáticos naturales y a la toxicidad que representa el amonio para las especies de estos ecosistemas, la eliminación del nitrógeno de las aguas residuales se ha convertido en una preocupación emergente en todo el mundo. Las formas iónicas (reactivas) de nitrógeno inorgánico más comunes en los ecosistemas acuáticos son el amonio, el nitrito y el nitrato. Estos iones pueden estar presentes de manera natural en el medio acuático, sin embargo, las actividades humanas han alterado de manera significativa el ciclo global del nitrógeno aumentando su disponibilidad en muchas regiones del planeta, como consecuencia de fuentes puntuales y difusas de contaminación (Tchobanoglous y col, 2003).

- **Acidificación:** el dióxido de azufre (SO_2) y los óxidos de nitrógeno (NO, NO_2) emitidos a la atmósfera pueden reaccionar con otras moléculas (H_2O, OH^-, O_3) y formar ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido nítrico (HNO_3). Al depositarse estos ácidos sobre las aguas superficiales pueden incrementar, además de la concentración de

SO_4^{-2} y NO_3^- , la concentración de H^+ y en consecuencia, reducir el valor del pH del agua (Schindler, 1988; Baker y col, 1991).

- **Eutrofización y aparición de algas tóxicas:** el incremento de los compuestos nitrogenados puede promover el desarrollo, mantenimiento y proliferación de los productores primarios (fitoplancton, algas bentónicas, macrofitas), contribuyendo a la eutrofización de los ecosistemas acuáticos (Anderson y col, 2002; Smith, 2003; EEA, 2005). La eutrofización puede producir diversos efectos ecológicos y toxicológicos, los cuales están directa o indirectamente relacionados con la proliferación de los productores primarios (Emérita, 2010).
- **Toxicidad de compuestos nitrogenados:** concentraciones elevadas de amonio, nitrito y nitrato pueden provocar una toxicidad directa sobre los organismos del medio:
 - **Amoníaco.** El NH_3 es muy tóxico para los animales acuáticos, mientras que el NH_4^+ es mucho menos tóxico. La acción tóxica del NH_3 puede ser debida a una o más de las siguientes causas (Camargo y Alonso, 2006): (a) destrucción del epitelio branquial; (b) estimulación de la glucólisis y supresión del ciclo de Krebs; (c) inhibición de la producción de ATP y reducción de sus niveles; (d) alteración de la actividad osmorreguladora; (e) disrupción del sistema inmunológico.
 - **Nitrito.** Tanto el NO_2^- como el HNO_2 son bastante tóxicos. Sin embargo, ya que en los ecosistemas acuáticos la concentración de NO_2^- suele ser mayor, los iones nitrito son considerados los principales responsables de la toxicidad. La acción tóxica del nitrito es debida fundamentalmente a la conversión de los pigmentos respiratorios en formas que son incapaces de transportar y liberar oxígeno, lo cual puede causar asfixia y la muerte (Camargo y Alonso, 2006).
 - **Nitrato.** Lo mismo que en el caso del NO_2^- , la acción tóxica del NO_3^- es debida básicamente a la conversión de los pigmentos respiratorios en formas que son incapaces de transportar y liberar oxígeno. Sin embargo, el nitrato presenta una menor toxicidad que el nitrito y el amoníaco como resultado de

su baja permeabilidad branquial, lo cual hace que su absorción a través de las branquias sea más limitada (Camargo y Alonso, 2006).

- **Efectos sobre la salud humana:** la ingestión directa de NO_2^- y NO_3^- a través del agua puede provocar diferentes efectos negativos sobre la salud humana. Los bebés pueden sufrir metahemoglobinemia, manifestando los síntomas típicos de cianosis, taquicardia, convulsiones, asfixia y en último término la muerte (Fewtrell, 2004). Algunas evidencias científicas sugieren que la ingestión prolongada de NO_2^- y NO_3^- podría contribuir al desarrollo de linfomas y cánceres, enfermedades coronarias, infecciones del tracto respiratorio, y malformaciones en los recién nacidos (Camargo y Alonso, 2006). Indirectamente, la acumulación de nutrientes de los ecosistemas acuáticos y la proliferación de algas tóxicas pueden causar también efectos adversos. La ingestión de agua o alimentos que contengan toxinas algales puede dar lugar a trastornos fisiológicos (náuseas, vómitos, diarrea, gastroenteritis, neumonía, dolores musculares, etc.) y diversos síndromes de intoxicación que, en último término, pueden desembocar en la muerte de la persona afectada (Landsberg, 2002; Busse y col, 2006). Además, la eutrofización de las aguas puede favorecer el desarrollo de organismos transmisores o causantes de enfermedades infecciosas (malaria, encefalitis, cólera, etc.).

Procesos de transformación de nitrógeno en los humedales

En la biósfera, el nitrógeno es continuamente transformado entre sus formas orgánicas, inorgánicas y gaseosa (Figura 1). El ciclo del nitrógeno es muy complejo y en los humedales, incluso las transformaciones más básicas son difíciles de controlar. El nitrógeno puede encontrarse en los humedales con diferentes estados de oxidación, así como en forma particulada o en forma disuelta. La eliminación de las distintas formas del nitrógeno en los humedales tiene lugar fundamentalmente por medio de procesos biológicos entre los que se encuentra la acción de las bacterias y en menor medida, la absorción por las plantas. Otros procesos que también intervienen en su eliminación son físico-químicos como la sedimentación y la adsorción. Se estima que entre el 60 y 70% del nitrógeno es eliminado por la acción de las bacterias, mientras que entre el 20 y el 30% se

debe a la absorción por las plantas (Reddy y D'Angelo, 1997; Spiels y Mitsch, 2000). La cantidad de nitrógeno removido o transformado en un humedal, desde la fase del agua y en el cual los flujos o procesos de nitrógeno son los más importantes, dependen de la química del agua y de otras condiciones del humedal, como clima, vegetación, profundidad del agua y el caudal (Bastviken, 2006).

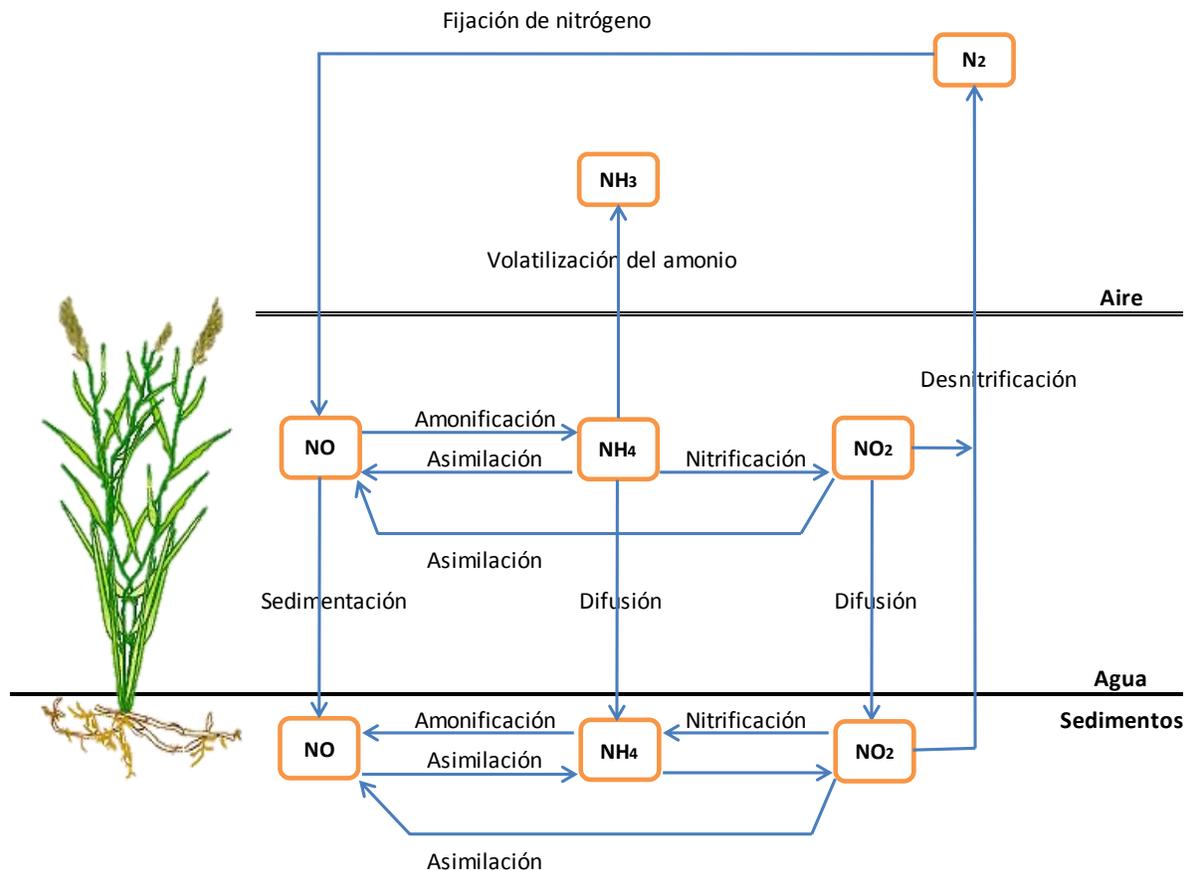


Figura 1.- Procesos y flujos de diferentes especies de nitrógeno en un humedal (Bastviken, 2006).

La amonificación es el proceso biológico de conversión del nitrógeno orgánico a amonio. Los contaminantes que contienen nitrógeno son rápidamente degradados tanto de forma aerobia como anaerobia en los humedales, dando lugar a la formación de nitrógeno amoniacal inorgánico. La amonificación tiene lugar cinéticamente a una mayor velocidad que el posterior proceso de nitrificación. Esta velocidad es mayor en las zonas aerobias y menor si el medio es más anaeróbico (Lee y col, 2009). Otros factores que afectan a la

velocidad de amonificación son la temperatura, el pH, la relación C/N, la disponibilidad de nutrientes y la estructura del suelo (Reddy y col, 1984). El nitrógeno amoniacal experimenta en los humedales artificiales fenómenos de adsorción, absorción por las plantas y volatilización. No obstante, estos procesos contribuyen de forma limitada a su eliminación en relación a los procesos biológicos de nitrificación – desnitrificación y anammox (Lee y col, 2009).

La nitrificación consiste en la oxidación quimiolitotrófica del amonio a nitrato. Este proceso tiene lugar en condiciones estrictamente aerobias, y se realiza en dos etapas: oxidación del amonio a nitrito y oxidación del nitrito a nitrato. Cada una de estas etapas se desarrolla gracias a la actividad de diferentes bacterias las cuales emplean el amonio o el nitrito como fuente de energía (bacterias amonio oxidantes y bacterias nitrito oxidantes respectivamente), el oxígeno como aceptor de electrones y el dióxido de carbono como fuente de carbono. Entre los géneros de bacterias amonio oxidantes se encuentran: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* y *Nitrosolobus*. En el caso de la oxidación del nitrito se encuentran bacterias de los géneros *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrocystis* y *Nitrobacter* (Ahn, 2006).

La nitrificación, seguida por la desnitrificación usualmente es el proceso más importante para la remoción permanente de nitrógeno en humedales que reciben aguas ricas en amonio (Johnston, 1991). El proceso más aceptado y utilizado corresponde con el proceso biológico en dos etapas de nitrificación – desnitrificación (Figura 2) que se basa en transformar el nitrógeno contenido en las aguas residuales en nitrógeno gas. La nitrificación, es la transformación del nitrógeno amoniacal en nitrato por acción de un conjunto de bacterias autótrofas (bacterias cuyo agente oxidante es la materia inorgánica) nitrificantes. Las bacterias encargadas de realizar este proceso utilizan el carbono inorgánico (CO_2 o HCO_3^-) como fuente de carbono y obtienen la energía necesaria para su crecimiento a partir de la oxidación del nitrógeno amoniacal (Gómez y col, 2010; Emérita, 2010).

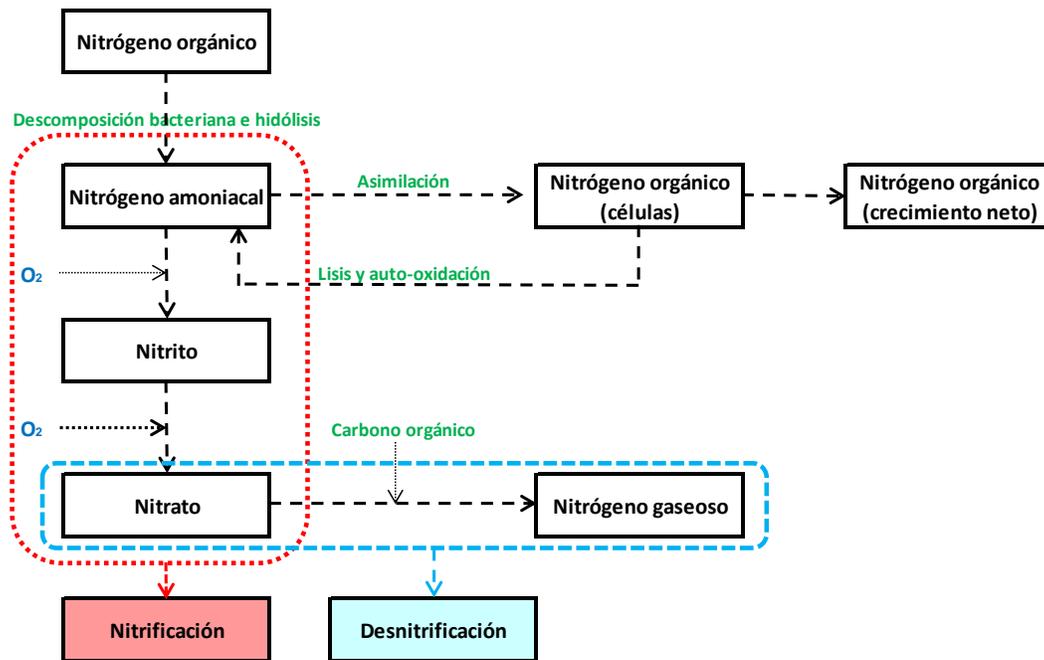
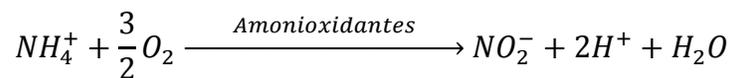


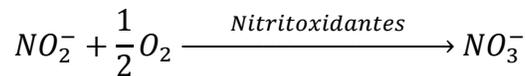
Figura 2.- Transformaciones del nitrógeno en los procesos de tratamiento biológico (Metcalf y Eddy, 2003).

La nitrificación del nitrógeno amoniacal se realiza en dos etapas llevadas a cabo por dos grupos diferentes de microorganismo (bacterias amonioxidantes y nitroxidantes). Las correspondientes reacciones bioquímicas representativas en cada etapa son:

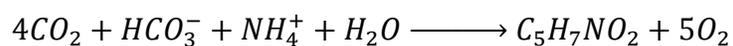
Primera etapa



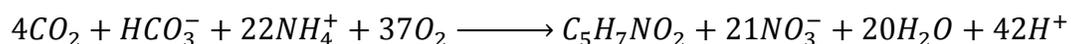
Segunda etapa



En las reacciones bioquímicas de ambas etapas, se produce energía que es utilizada por los microorganismos para el crecimiento y mantenimiento celular. También se ha de considerar la reacción de síntesis de los microorganismos implicados, que asimilan una fracción del amonio del agua residual para el tejido celular (Sedlak, 1991). Esta fracción de síntesis, asumiendo como fórmula química de la biomasa $C_5H_7NO_2$, correspondería a:



Por tanto, la reacción global representativa del proceso de nitrificación obtenida a partir de las reacciones de oxidación y síntesis, corresponde a:



En esta reacción global se puede observar que en el proceso de nitrificación se produce un consumo considerable de alcalinidad, cada mg/L de $N - NH_4$ oxidado provoca una disminución de 7,14 mg/L de alcalinidad expresada como $CaCO_3$, lo que provoca un importante descenso del pH del medio.

En la etapa de nitrificación se consigue oxidar el nitrógeno amoniacal a nitrato, pero para transformar ese nitrato a nitrógeno gas y por tanto poder reducir el contenido de nitrógeno del agua residual, se requiere de una segunda etapa, llamada desnitrificación. En humedales que reciben nitrato como la forma dominante de nitrógeno, como por ejemplo las aguas provenientes de zonas agrícolas, usualmente la desnitrificación es el proceso más importante (Johnston, 1991; Vymazal, 2001). El mecanismo de desnitrificación biológica consiste en el empleo por parte de bacterias generalmente heterótrofas de compuestos oxidados del nitrógeno (nitrato y nitrito) como aceptor final de electrones en ambientes con escasa concentración de oxígeno, dando lugar a la formación de nitrógeno molecular. Mediante este proceso se estima que se elimina entre el 60 y 95% del nitrógeno total en los humedales (Lee y col, 2009). La ruta clásica de desnitrificación implica la participación de bacterias principalmente heterótrofas. Esto no excluye a algunos organismos autótrofos que también pueden realizar el proceso de desnitrificación, entre las que se encuentra el grupo de las Nitrosomonas capaces de realizar la nitrificación y la desnitrificación de forma simultánea (Schmidt y col, 2003).

Para que este proceso tenga lugar de forma eficiente, es fundamental mantener condiciones anóxicas, ya que las bacterias heterótrofas facultativas prefieren utilizar el oxígeno como aceptor de electrones antes que el nitrato. El crecimiento bacteriano en

presencia de nitrato resulta menos eficiente que el crecimiento en presencia de oxígeno, ya que no se genera la misma cantidad de energía en forma de ATP por unidad de DQO degradada (Brock, 1994).

La reacción general de desnitrificación utilizando metanol como fuente de carbono, se representa a partir de la siguiente ecuación:



Si en la reacción anterior se considera la síntesis de biomasa ($C_5H_7NO_2$), la degradación de la materia orgánica del agua residual como fuente de carbono (considerada como $C_{10}H_{19}O_3N$) y el consumo de nitrógeno amoniacal como nutriente, la reacción global de eliminación de nitrato se puede escribir como (WEF y ASCE, 1998):



Como se puede observar en esta reacción, el proceso de desnitrificación compensa la disminución de la alcalinidad del proceso de nitrificación, ya que en la desnitrificación aumenta el pH. Este aumento del pH se produce como consecuencia del consumo de protones (Sedlak, 1991).

La fijación de nitrógeno es un proceso bacterial en el cual se transforma nitrógeno gaseoso gas en amonio, sin embargo, este proceso generalmente no tiene una influencia significativa sobre las tasas de remoción de nitrógeno que se manejan en humedales artificiales para tratamiento de aguas (Kadlec y Knight, 1996).

La asimilación de nitrógeno, es la transformación de nitrógeno inorgánico a nitrógeno orgánico en células y tejidos. La asimilación por parte de las plantas solamente ocurre en un pequeño porcentaje del total de remoción de nitrógeno cuando la carga de nitrógeno es alta (Tanner y *col*, 1995), el cual es el caso de la mayoría de los humedales artificiales de agua libre (Kadlec y Knight, 1996). Por otro lado, este tipo de asimilación no juega un papel importante en la remoción anual de nitrógeno, además el nitrógeno

asimilado por las plantas usualmente es liberado durante su descomposición (Johnston, 1991). Sin embargo, el consumo de nitrógeno por parte de las plantas puede contribuir a la dinámica estacional de remoción de nitrógeno durante períodos de crecimiento con rápido consumo de nitrógeno (Bastviken, 2006).

La volatilización del amonio es un proceso fisicoquímico en el cual, el amonio en el equilibrio amoniaco – amonio es transportado a la fase gaseosa. Este proceso puede ser importante en humedales con altas temperaturas y pH, aunque las pérdidas de amonio por volatilización usualmente son pequeñas si el pH es inferior a 8 (Reddy y Patrick, 1984). Otros flujos de nitrógeno que pueden ocurrir en un humedal son la sedimentación y resuspensión de varias formas de nitrógeno. El nitrógeno orgánico que se encuentra en los sedimentos, hace al nitrógeno menos disponible para plantas y microorganismos, mientras que la liberación de nitrógeno desde la biomasa durante su descomposición haría que los nutrientes estuviesen disponibles nuevamente (Bastviken, 2006).

Modelación matemática en el tratamiento de aguas residuales.

Un modelo matemático, es una formulación idealizada que representa la respuesta de un sistema físico ante un estímulo externo, generalmente lo forman un conjunto de ecuaciones diferenciales donde se relacionan las variables de estado del proceso de manera que su resolución proporciona la trayectoria seguida por estas variables en el tiempo. Estas ecuaciones son el resultado de la combinación de las ecuaciones de conservación de materia y energía con las ecuaciones de velocidad de los procesos implicados, que pueden ser físicos, químicos y/o biológicos (Emérita, 2010; Martín y Marzal, 1999). La definición del modelo también puede incorporar una serie de restricciones propias del modelo, como las leyes de equilibrio u otras restricciones externas referentes a la legislación o normas de seguridad; una vez formulado el modelo, éste se puede resolver y comparar con datos experimentales. Las diferencias observadas pueden ser utilizadas para refinar e incluso redefinir el modelo hasta conseguir una buena representación de los hechos experimentales.

De manera general, la evolución de una variable de estado con el tiempo viene definida por una ecuación diferencial ordinaria del tipo:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, u, t, \theta) \quad x_{t=0} = x_0$$

Donde f hace referencia a la estructura matemática del modelo, x representa el vector de variables de estado implicadas en el sistema, u hace referencia a las entradas del sistema y θ es el conjunto de parámetros del modelo.

Independientemente de la estructura del modelo, las ecuaciones matemáticas que relacionan las entradas y salidas contienen tres tipos de constituyentes: variables, constantes y parámetros. Las variables están formadas por las entradas y salidas del modelo y las diferentes variables de estado, mientras que la diferencia entre constantes y parámetros es menos evidente. Generalmente se consideran constantes todos aquellos parámetros que nunca cambian su valor en todas las posibles aplicaciones del modelo. Parámetros son entonces los constituyentes del modelo cuyo valor puede cambiar según las características del sistema donde se aplica, de manera que su determinación para cada caso particular es imprescindible (Emérita, 2010).

El desarrollo histórico de los modelos de calidad de aguas, ha estado íntimamente ligado con los tipos de sustancias contaminantes cuyo conocimiento permitía su estudio y tipo de sistema que se pretendía modelar (Martín y Marzal, 1999). Estos modelos iniciaron desde la pionera investigación de Streeter y Phelps, (1925); quienes desarrollaron un balance entre la tasa de incremento de oxígeno disuelto en el agua desde la reaireación y la tasa de consumo de oxígeno disuelto en el agua, desde la estabilización de un residuo orgánico en el cual la tasa de desoxigenación de la demanda bioquímica de oxígeno, fue expresada como una reacción empírica de primer orden, estableciendo el clásico modelo de consumo de oxígeno disuelto.

El desarrollo de modelos empíricos en el campo de calidad de aguas, se inició con los trabajos de Vollenwieder, (1968, 1975); donde a partir de una recolección de datos de vertido de fósforo a lagos, profundidad, tiempos de residencia y estado trófico de los mismos, estableció una correlación entre estas variables de forma que se podía determinar el grado de eutrofización que podía llegar a tener un lago sometido a cierto vertido; en conclusión, se podía determinar su capacidad de asimilación. Esta aproximación partió de la evidencia real de que los lagos profundos son menos susceptibles a la eutrofización que los someros y de la suposición de que el fósforo actúa como nutriente limitante en estos sistemas.

Los modelos empíricos establecen una serie de relaciones, por lo general mediante técnicas de correlación, entre las distintas variables que intervienen en un proceso a partir de un gran número de datos experimentales, en el estudio de eutrofización en lagos, estas aproximaciones han tenido un notable desarrollo y una aplicación válida (Martín y Marzal, 1999).

Duke, (1973), en investigación conjunta con la USEPA, presenta el QUAL – II, un modelo matemático computacional para ríos, en cuyo esquema de trabajo se dividía el río en celdas interconectadas, se establecía una resolución numérica de la ecuación diferencial en una dimensión y presentaba soluciones dinámicas a problemas de eutrofización e intercambio de calor. Luego Di Toro y Sifitpartic, (1983), igualmente en colaboración con la USEPA, presentan el WASP, un modelo matemático computacional para ríos, estuarios, lagos y zonas costeras, con un esquema de trabajo muy parecido al QUALII, pero con la mejora añadida de que las soluciones dinámicas que este modelo arrojaba incluían problemas de toxicidad de compuestos orgánicos y metales pesados, además de una introducción detallada de procesos de intercambio con el sedimento.

Las tendencias actuales apuntan al desarrollo de modelos biológicos cuyos parámetros varían en función de la evolución del tipo de microorganismos presentes; modelos de eutrofización en donde se consideran la introducción de varias especies de

fitoplancton, zooplancton y peces, y el empleo de modelos basados en redes neuronales (Martín y Marzal, 1999).

- **Modelación de los procesos biológicos.**

Los procesos biológicos consisten en transformaciones bioquímicas que realizan los microorganismos durante su crecimiento. La modelación matemática de estos procesos de crecimiento es fundamental para simular el funcionamiento del ecosistema que se esté estudiando. El grado de detalle con que se describe los procesos determina la complejidad final del modelo, pero también el grado de variabilidad de sus parámetros (Emérita, 2010).

- **Bases del crecimiento microbiano. La cinética de Monod**

La mayor parte de los modelos desarrollados para la simulación de los procesos biológicos de degradación se basan en el modelo empírico de crecimiento propuesto por Monod a mediados del siglo XX (Monod, 1942). Este modelo fue el primero en introducir el concepto de sustrato limitante en el crecimiento (S):

$$\mu = \mu_{max} * \frac{S}{K_S + S}$$

Según este modelo, los microorganismos crecen de manera exponencial siempre y cuando no haya limitaciones de sustrato en el medio. Por tanto, la velocidad de crecimiento de los microorganismos (X) vendrá definida por la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{dX}{dt} = \mu * X = \mu_{max} * \frac{S}{K_S + S} * X$$

En la expresión cinética de Monod, la velocidad específica de crecimiento (μ) viene dada en función de la concentración de sustrato que limita el crecimiento mediante dos parámetros: la velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{max}) y el coeficiente de afinidad por el sustrato (K_S). El significado biológico de los parámetros es el siguiente: μ_{max} indica la velocidad máxima de crecimiento en condiciones donde el sustrato no limita

el crecimiento y K_S hace referencia a la concentración de sustrato que hace que la velocidad específica de crecimiento sea la mitad de su valor máximo.

La aplicación del modelo de Monod a medios en los que el crecimiento de los microorganismos puede estar limitado por más de un tipo de sustrato o por la presencia de compuestos inhibidores del crecimiento ha llevado a posteriores modificaciones en la ecuación cinética del crecimiento (Emérita, 2010).

Para tener en cuenta la limitación de crecimiento por varios sustratos Dochain y Vanrolleghem, (2001) propusieron dos tipos de modelos alternativos:

- **Modelos interactivos.** En estos modelos se supone que ambos nutrientes controlan la velocidad de reacción en forma simultánea. Se propone la “ecuación múltiple de Monod”:

$$\mu = \hat{\mu} * \left(\frac{S_{S1}}{S_{S1} + K_{S1}} \right) * \left(\frac{S_{S2}}{S_{S2} + K_{S2}} \right)$$

El valor de la tasa de crecimiento depende de los dos sustratos involucrados. En cualquier caso las concentraciones de los sustrato S_1 y S_2 son tal que ambos términos son inferiores a la unidad, ambos sustratos actúan reduciendo μ por debajo de $\hat{\mu}$.

- **Modelos no-interactivos.** En este caso se considera que solo uno de los sustratos es limitante. De esta forma la tasa de crecimiento será la mínima obtenida por las funciones de Monod independientes de cada sustrato.

$$\mu = \min \left(\frac{\hat{\mu} S_{S1}}{S_{S1} + K_{S1}}, \frac{\hat{\mu} S_{S2}}{S_{S2} + K_{S2}} \right)$$

En la modelación de los procesos que tienen lugar en los sistemas de tratamiento de aguas residuales suele emplearse los modelos interactivos, ya que este tipo de formulación es apropiada cuando los sustratos limitantes son el dador y aceptor de electrones. En cuanto

a la inhibición del crecimiento, esta puede ser incluida en los modelos de diversas formas en función del tipo de inhibición de la sustancia correspondiente (Llavador, 2006):

- **Inhibición no competitiva:**

$$\frac{K_{I,i}}{K_{I,i} + S_i}$$

S_i = concentración de sustancia inhibidora

$K_{I,i}$ = coeficiente de inhibición

- **Inhibición competitiva:**

$$\frac{S_j}{S_j + K_{S,j} * \left(1 + \frac{S_i}{K_{I,i}}\right)}$$

La sustancia inhibidora i compite con el sustrato j . $K_{I,i}$ representa el valor de S_i que provoca un aumento de $K_{S,j}$ al doble de su valor.

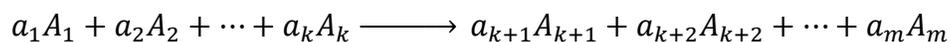
- **Inhibición acompetitiva:**

$$\frac{S_j}{K_{S,j} + S_j * \left(1 + \frac{S_i}{K_{I,i}}\right)}$$

Caso similar al anterior, pero aquí el grado de inhibición también es función de la cantidad de sustrato presente. El tipo de inhibición más utilizada en el campo de los tratamientos de aguas residuales es la inhibición no competitiva, la cual puede venir dada por una sustancia externa, por un producto formado por el propio proceso o por el mismo sustrato del proceso en cantidades elevadas.

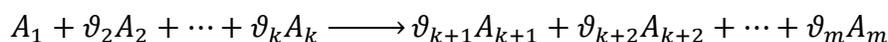
- **Estequiometria y cinética de los procesos biológicos.**

Las transformaciones que llevan a cabo los microorganismos pueden describirse por medio de reacciones bioquímicas. Por lo tanto, dichas transformaciones quedan definidas mediante relaciones estequiométricas y ecuaciones cinéticas. Según Emérita, (2010), las relaciones estequiométricas se expresan en unidades molares siendo su fórmula general:



donde a_1 hasta a_k representan los coeficientes estequiométricos de cada uno de los reactivos (A_1 hasta A_k). De la misma forma, los productos de la reacción química (desde A_{k+1} hasta A_m) tienen asociados sus correspondientes coeficientes estequiométricos (desde a_{k+1} hasta a_m).

En cambio, en el tratamiento biológico de aguas residuales las unidades molares no se suelen utilizar, expresando normalmente las relaciones estequiométricas en unidades másicas. Además, al escribir las reacciones químicas se suele normalizar los coeficientes estequiométricos en base a uno de los reactivos utilizados o productos formados. Por ejemplo, si se normaliza en base al reactivo A_1 , la reacción se convierte en:



Los coeficientes estequiométricos normalizados (ϑ_i) se calculan del siguiente modo:

$$\vartheta_i = \frac{a_i}{a_1}$$

La reacción química cumple el balance de masas, es decir, se puede reescribir de la siguiente manera:

$$(-1)A_1 + (-\vartheta_2)A_2 + \cdots + (-\vartheta_k)A_k + \vartheta_{k+1}A_{k+1} + \vartheta_{k+2}A_{k+2} + \cdots + \vartheta_mA_m = 0$$

Los coeficientes estequiométricos de los reactivos tienen signo negativo (se consumen) y de los productos positivos (se forman). Puesto que hay una relación entre los reactivos que se consumen y los productos que se forman, también existe una relación entre las variables a las que son consumidos o formados. Si se define r_i como la velocidad de transformación del componente i y r como la velocidad de la reacción química, la relación queda expresada del siguiente modo (Emérita, 2010):

$$\frac{r_1}{(-1)} = \frac{r_2}{(-\vartheta_2)} = \cdots = \frac{r_k}{(-\vartheta_k)} = \frac{r_{k+1}}{(\vartheta_{k+1})} = \cdots = \frac{r_m}{(\vartheta_m)} = r$$

donde r_i es la velocidad de consumo de los reactivos A_i para $i = 1, \dots, k$ y la velocidad de formación de los productos A_i para $i = k + 1, \dots, m$.

Por regla general, en el tratamiento biológico de aguas residuales un componente i ($i = 1, \dots, k$) participa en más de una reacción química j ($j = 1, \dots, n$), pudiendo ser reactivo en unas y producto en otras (Emérita, 2010):

$$\begin{aligned} (-1)A_1 + (-\vartheta_{2,1})A_2 + \dots + (-\vartheta_{k,1})A_k + \vartheta_{k+1,1}A_{k+1} + \dots + \vartheta_{m,1}A_m &= 0 & r_1 \\ (-\vartheta_{1,2})A_1 + (-\vartheta_{2,2})A_2 + \dots + (-1)A_k + \vartheta_{k+1,2}A_{k+1} + \dots + \vartheta_{m,2}A_m &= 0 & r_2 \\ \dots + \dots + \dots + \dots + \dots + \dots + \dots &= 0 \\ (-\vartheta_{1,n})A_1 + (-\vartheta_{2,n})A_2 + \dots + (-\vartheta_{k,n})A_k + \vartheta_{k+1,n}A_{k+1} + \dots + (-1)A_m &= 0 & r_n \end{aligned}$$

El coeficiente $\vartheta_{i,j}$ representa el coeficiente estequiométrico normalizado del componente i en la reacción química j . Por lo tanto, la velocidad de transformación de un componente i (r_i) se obtendrá de la suma de todas las velocidades de las reacciones en las que participa multiplicadas por su coeficiente estequiométrico en dicha reacción (Emérita, 2010).

$$r_i = \sum_{j=1}^n \vartheta_{i,j} * r_j$$

Si el resultado es un valor negativo, el componente i desaparecerá en el proceso global. En cambio, si r_i es positivo el componente i se estará formando.

- **Formato y notación.**

Muchos de los modelos cinéticos describen sistemas complejos, en los que la mayoría de sus componentes participan en más de un proceso dificultando el seguimiento de sus transformaciones. Para la presentación de los modelos de forma clara, sencilla y estructurada, se utiliza la notación matricial. En 1987, la IAW Task Group optó por esta modalidad en el desarrollo del modelo ASM1 (*Activated Sludge Model N°1*), (Henze y col, 1987), demostrando su gran utilidad.

Este tipo de notación se basa en colocar los coeficientes estequiométricos $\vartheta_{i,j}$ en una tabla, conocida como matriz de Petersen, indicando como varía cada componente i , presentado en columnas sucesivas, en cada uno de los procesos j , presentado en filas sucesivas. En la Cuadro 4, se puede ver un ejemplo de esta notación con el crecimiento de las bacterias heterótrofas en un medio aerobio utilizando sustrato soluble orgánico como fuente de energía y materia. En el ejemplo mostrado todos los coeficientes están normalizados respecto al correspondiente a la biomasa. Como se puede ver en la tabla el valor del coeficiente es cero cuando el componente no participa en el proceso, negativo cuando dicho componente se consume y positivo cuando se genera. Además de los coeficientes estequiométricos se debe presentar en la matriz o fuera de ella la ecuación de velocidad para cada uno de los distintos procesos.

Cuadro 4.- Notación matricial para el crecimiento de las bacterias heterótrofas bajo condiciones aerobias

Componente $i \rightarrow$	1	2	3	Velocidad de crecimiento
Proceso $j \downarrow$	X_B	S_S	S_O	r_j
	Biomasa (mg DQO/L)	Sustrato (mg DQO/L)	Oxígeno disuelto (mg DQO/L)	(mg DQO/L)
Crecimiento aerobio	1	$-\frac{1}{Y}$	$-\frac{1-Y}{Y}$	$\mu * \frac{S_S}{K_S + S_S} * X_B$
Lisis	-1	1		$b * X_B$

Fuente: Emérita, 2010

La aparición del modelo ASM1 supuso, además de la aparición de un nuevo concepto de simulación dinámica de los procesos de tratamiento de las aguas residuales, un creciente avance en la estandarización de la notación y estructura de los modelos. La notación utilizada permite distinguir entre los componentes solubles, representados por una "S" seguida del subíndice que representa cada componente y los componentes particulados, representados con una "X" seguida de su correspondiente subíndice. Por lo que respecta a

los parámetros del modelo, cabe distinguir entre parámetros estequiométricos y parámetros cinéticos. Los parámetros estequiométricos son aquellos que se utilizan para el cálculo de los coeficientes estequiométricos de cada proceso, como rendimiento de microorganismos, representado por una "Y" seguida del subíndice relativo a cada tipo de microorganismos considerado en el modelo. Los parámetros cinéticos son aquellos que se utilizan en las expresiones cinéticas de cada proceso, como la velocidad de crecimiento máxima de cada microorganismo, representada por una " μ " seguida del subíndice relativo al tipo de microorganismo (Henze y *col*, 2000).

La notación matricial permite comprobar las ecuaciones de continuidad o conservación en las filas de la matriz. Las ecuaciones de conservación se aplican a la masa, cargas eléctricas, DQO, SST, N y P para asegurar que ninguno de estos términos se crea ni se destruye, tan solo se transforman. La ecuación de continuidad válida para cualquier proceso j y todas las variables (c) sujetas a conservación, tiene la siguiente forma:

$$\sum_i \vartheta_{i,j} * i_{c,i} = 0$$

donde $\vartheta_{i,j}$ es el coeficiente estequiométrico del componente i en el proceso j e $i_{c,i}$ indica el contenido en material c del componente i . Este factor permite el paso de las unidades del componente i a las de la variable c a la cual se aplica la ecuación de conservación (Henze y *col*, 2000).

Estas ecuaciones de continuidad resultan de gran utilidad para el cálculo de algunos coeficientes estequiométricos, siempre y cuando se conozca el resto. De este modo, se ahorra su determinación experimental. En los modelos de fangos activados más utilizados, la ecuación de continuidad de la DQO se utiliza para determinar el coeficiente estequiométrico del oxígeno.

- **Modelos existentes en el tratamiento de aguas residuales.**

Los modelos biológicos para la descripción de fangos activados han evolucionado en gran medida desde los primeros modelos, donde sólo se consideraba la eliminación de

materia orgánica (Mckinney, 1962), hasta los más actuales, donde se han ido incorporando progresivamente nuevos procesos para tener en cuenta también la eliminación biológica de nitrógeno y fósforo.

A principios de los años 80, la *International Water Association* (IWA), organizó un grupo de trabajo para revisar los distintos modelos existentes de fangos activados e incorporar los procesos de nitrificación y desnitrificación. Fruto de esta iniciativa, en el año 1986 aparece la primera versión del modelo (Grady y col, 1986), que posteriormente sería publicado con el nombre de *Activated Sludge Model* N° 1 (ASM1) (Henze y col, 1987). Este modelo considera dos grupos de bacterias (autótrofas y heterótrofas) y divide la actividad de los microorganismos en los siguientes procesos: crecimiento de las bacterias heterótrofas en condiciones aerobias y en condiciones anóxicas (desnitrificación), crecimiento de las bacterias autótrofas, lisis de las bacterias heterótrofas, lisis de las bacterias autótrofas, amonificación del nitrógeno orgánico soluble, hidrólisis de la materia orgánica suspendida e hidrólisis del nitrógeno orgánico suspendido.

Posteriormente, el modelo ASM1 fue revisado y actualizado con la finalidad de corregir los defectos y limitaciones de este. La nueva versión de este modelo se denominó *Activated Sludge Model* N° 3 (ASM3) (Gujer y col, 1999). Una de las características más destacadas de este nuevo modelo es que el proceso de degradación de la materia orgánica soluble está dividido en dos etapas: una primera en que la materia orgánica soluble es almacenada en el interior de la bacteria y una segunda etapa, en la cual ésta es asimilada por el organismo. Además el nitrógeno orgánico no es considerado como un elemento independiente sino que forma parte de la materia orgánica, de manera que los procesos de hidrólisis del nitrógeno orgánico suspendido y la amonificación quedan implícitos en los procesos de hidrólisis de la materia orgánica suspendida y degradación de la materia orgánica soluble, respectivamente. Otra novedad importante de este modelo consiste en considerar que las bacterias tienen una velocidad de lisis en condiciones anóxicas menor que en condiciones aerobias. Contrario al ASM1, el ASM3 no considera el crecimiento de

las bacterias heterótrofas directamente a partir del sustrato y tampoco tiene en cuenta los procesos de eliminación biológica de fósforo.

El primer modelo que consideró los procesos de eliminación de fósforo fue publicado en 1988 por el grupo de investigación de la Universidad de Cape Town. Posteriormente el grupo de trabajo en modelación matemática de la IWA se encargó del desarrollo de un modelo de consenso para la simulación de los procesos de fangos activados con eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo. Así, en el año 1995 se publicó el modelo *Activated Sludge Model* N° 2 (ASM2) (Henze y col, 1995).

El modelo ASM2 incluye un tercer grupo de bacterias (PAO) encargadas de la eliminación biológica de fósforo, incluyendo los siguientes procesos de: almacenamiento de PHA (polihidroxialcanoatos), almacenamiento de PP (polifosfatos) en condiciones aerobias, crecimiento de bacterias en condiciones aerobias, lisis de las bacterias PAO, ruptura del PHA asociada a la lisis y ruptura de PP asociada a la lisis. En este modelo la hidrólisis de fósforo orgánico y posterior transformación a ortofosfato fue incluida de manera implícita, igual que para el caso del nitrógeno, en los procesos de hidrólisis de la materia orgánica particulada y la degradación de la materia orgánica soluble, respectivamente. De esta manera, la estequiometría de estos procesos es la que determina la cantidad de fosfato y amonio liberados al medio después de los procesos de hidrólisis y degradación de la materia orgánica. El ASM2 va a incorporar también los procesos de hidrólisis y fermentación en condiciones anaerobias, necesarios para poder simular la generación de ácidos volátiles a partir de la degradación anaerobia de la materia orgánica fermentable. Se tiene en cuenta también en el modelo los procesos de precipitación y redisolución, que permiten simular la eliminación química de fosforo por precipitación con sales de hierro y aluminio (Emérita, 2010).

Sin embargo, el ASM2 no consideraba la capacidad desnitrificante por parte de las bacterias PAO que fue ratificado por diversos autores con posterioridad a su publicación e incorporado en diversos modelos alternativos al modelo de la IWA (Baker y Dold, 1997;

Maurer y Gujer, 1998). Para tener en cuenta este hecho, la IWA publicó una extensión del modelo ASM2 con el nombre de *Activated Sludge Model* N° 2d (AMS2d) (Henze y col, 1999), que incorpora los procesos de almacenamiento del PP y crecimiento de las bacterias PAO en condiciones anóxicas. El ASM2d es el modelo más ampliamente aceptado por la comunidad científica para representar los procesos de eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo.

Paralelamente a los trabajos desarrollados por la IWA, existen otros grupos de investigación que han desarrollado otros modelos para los procesos de fangos activados. Destacar los modelos propuestos por el grupo de investigación de la Universidad de Delft y el grupo de investigación de la EAWAG (*Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology*, siglas en alemán). El grupo de la Universidad de Delft propuso un modelo con un enfoque diferente al de la IWA. Este modelo está basado en los mecanismos bioenergéticos y en la estequiometría de los procesos metabólicos de los microorganismos (Smolders y col, 1994a, 1994^a; Smolders, 1995). Por otro lado, el grupo de investigación de la EAWAG incluyó en su modelo los procesos de precipitación del fósforo inducido biológicamente por las bacterias PAO (Maurer y col, 1999).

Modelos propuestos

Modelo I. Cinética del nitrógeno.

Martín y Marzal, (1999), estudiando los modelos de eutrofización de cuerpos de agua, proponen el término S_K , expresión fuente/sumidero la cual representa las posibles entradas y/o salidas de la sustancia en estudio, no asociadas al transporte convectivo - dispersivo que puedan producirse por unidad de tiempo y volumen de fluido, para las distintas formas del nitrógeno; este incluye los siguientes procesos:

(a) **Amonificación:** mineralización del nitrógeno orgánico disuelto por parte de microorganismos y transformación a nitrógeno amoniacal (Martin y Marzal, 1999; Bowie y col, 1985).

(b) Nitrificación: oxidación de amonio a nitrato (NO_3^-) directamente (proceso de una etapa); o a nitrito (NO_2^-) y luego a nitrato (proceso de dos etapas). Está producido por bacterias autótrofas (*Nitrosomonas*) que emplean estas reacciones como fuente de energía, y bacterias del género *Nitrobacter*. La velocidad de crecimiento de las bacterias autótrofas es sensiblemente inferior a la de las heterótrofas; además, la conversión de nitritos a nitratos es mucho más rápida que la de amonio a nitratos (Martin y Marzal, 1999; Bowie y col, 1985).

(c) Desnitrificación: reducción del nitrato a nitrógeno gaseosos en condiciones anóxicas. También se genera óxido nítrico, pero dado que no suele tener mucha importancia en la calidad del agua no se suele considerar. Si las condiciones del medio son anóxicas puede ser un mecanismo de eliminación importante en los sedimentos (Martin y Marzal, 1999; Bowie y col, 1985).

(d) Consumo por parte del fitoplancton: amonio y/o nitratos son consumidos y acumulados en forma orgánica por el fitoplancton. El nitrógeno inorgánico es acumulado por las plantas durante su crecimiento fotosintético. Tanto el amonio como el nitrato son acumulados, con preferencia del amonio sobre formas oxidadas de nitrógeno (Martin y Marzal, 1999; Bowie y col, 1985).

(e) Fijación de nitrógeno atmosférico: reducción de N_2 a compuestos amoniacaes por las cianobacterias, este es una importante entrada de acumulación de nitrógeno en cuerpos de agua, que materialmente afecta la dinámica del nitrógeno. Puede ser una fuente de nitrógeno importante en el sistema. En cualquier caso, el consumo de nitrógeno inorgánico disuelto existente, es prioritario sobre la fijación de nitrógeno (Martin y Marzal, 1999; Bowie y col, 1985).

(f) Partición entre amonio y amoniaco no ionizado: ciertas formas de amonio no ionizado son tóxicas para numerosas formas de vida, incluso a bajas concentraciones. Se

considera que el amonio no ionizado está en equilibrio con el amonio y los iones hidróxido (Martin y Marzal, 1999).

○ **Nitrógeno orgánico [NO]**

La concentración del nitrógeno orgánico aumenta en la columna de agua a partir del fitoplancton muerto que se descompone y disminuye su mineralización, y por la sedimentación del nitrógeno orgánico particulado. Se admite que parte del fitoplancton muerto no se transforma en nitrógeno orgánico, sino que se mineraliza directamente a amonio, siendo su disponibilidad por parte del fitoplancton, casi inmediata. Por otra parte, la mineralización del nitrógeno orgánico depende, al igual que sucede con el fósforo, de la cantidad de fitoplancton presente (Martin y Marzal, 1999). La expresión cinética S_{KNO} es la siguiente:

$$S_{KNO} = \frac{\partial[NO]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * f_{NO} - k_{minN} * \theta_{minN}^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - \frac{V_{sNO} * (1 - f_{NOD})}{H} * [NO]$$

donde:

D : Constante de velocidad de muerte y respiración del fitoplancton (día⁻¹)

$[fito]$: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

$[NO]$: Concentración de nitrógeno orgánico (mg N/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

f_{NO} : Fracción de fitoplancton muerto que da lugar a nitrógeno orgánico

k_{minN} : Constante de mineralización del nitrógeno orgánico (día⁻¹)

θ_{minN} : Factor de corrección de temperatura para la mineralización del nitrógeno orgánico

X_{NRC} : Factor de limitación a la mineralización del nitrógeno orgánico por parte de fitoplancton (mg C/L)

$$X_{NRC} = \frac{[fito]}{k_{mNC} + [fito]}$$

k_{mNC} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de la mineralización del nitrógeno orgánico por parte del fitoplancton (mg C/L)

V_{sNO} : Velocidad de sedimentación del nitrógeno orgánico particulado (m/día)

f_{NOD} : Fracción de nitrógeno orgánico disuelto

H : Profundidad de la columna de agua (m)

○ **Nitrógeno amoniacal** [NH_4^+]

El contenido de nitrógeno amoniacal en la columna de agua aumenta, debido a la mineralización del nitrógeno orgánico y a la fracción del fitoplancton muerto cuyo nitrógeno se transforma en amonio, éste último disminuye debido a su consumo como nutriente por parte del fitoplancton y por el proceso de nitrificación. El consumo está afectado por la cantidad relativa de amonio y nitratos, existiendo una preferencia de consumo hacia el primero. En el proceso de nitrificación, la concentración de oxígeno disuelto actúa como limitante, de forma que a concentraciones superiores a 2 mg/L la reacción no se ve afectada, pero conforme disminuye la concentración de oxígeno disuelto, la velocidad de reacción también lo hace (Martín y Marzal, 1999). Teniendo en cuenta estas consideraciones y la expresión desarrollada para el nitrógeno orgánico, la expresión final empleada para el amonio, $S_{kNH_4^+}$, es la siguiente:

$$S_{kNH_4^+} = \frac{\partial[NH_4^+]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * (1 - f_{NO}) + k_{minN} * \theta_{minN}^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - G * FP_{NH_4^+} * a_{NC} - k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT}[NH_4^+]$$

donde:

D : Constante de velocidad de muerte y respiración del fitoplancton (día⁻¹)

$[fito]$: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

$[NO]$: Concentración de nitrógeno orgánico (mg N/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

f_{NO} : Fracción de fitoplancton muerto que da lugar a nitrógeno orgánico

k_{minN} : Constante de mineralización del nitrógeno orgánico (día⁻¹)

θ_{minN} : Factor de corrección de temperatura para la mineralización del nitrógeno orgánico

X_{NRC} : Factor de limitación a la mineralización del nitrógeno orgánico por parte de fitoplancton (mg C/L)

$$X_{NRC} = \frac{[fito]}{k_{mNC} + [fito]}$$

k_{mNC} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de la mineralización del nitrógeno orgánico por parte del fitoplancton (mg C/L)

G : Constante de velocidad de crecimiento del fitoplancton (día⁻¹)

$FP_{NH_4^+}$: Factor de preferencia por el amonio

$$FP_{NH_4^+} = \frac{[NH_4^+] * [NO_3^-]}{(k_{mN} + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])} + \frac{[NH_4^+] * k_{mN}}{([NO_3^-] + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])}$$

$[NH_4^+]$: Concentración de amonio (mg N/L)

$[NO_3^-]$: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{mN} : Constante de semisaturación para el nitrógeno (mg N/L)

k_{nitri} : Constante de nitrificación del amonio (día⁻¹)

θ_{nitri} : Factor de corrección de temperatura para la nitrificación del amonio

X_{NIT} : Factor de limitación de la nitrificación del amonio debido a la concentración de oxígeno en el agua

$$X_{NIT} = \frac{[OD]}{k_{NIT} + [OD]}$$

$[OD]$: Concentración de oxígeno disuelto (mg O₂/L)

k_{NIT} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno a la nitrificación (mg O₂/L)

La disponibilidad de NH_4^+ y NO_3^- muestra una significativa variabilidad espacial y temporal en los humedales. Usualmente el NO_3^- es la forma de nitrógeno dominante en el cuerpo de agua, pero en los sedimentos se dispersa rápidamente con la profundidad del suelo, en consecuencia el NH_4^+ se encuentra como la forma dominante del nitrógeno en las raíces de las macrofitas (Cedergreen y Madsen, 2003) y es la forma de nitrógeno que comúnmente prevalece en las aguas residuales (Tylová, 2007). Tanto el NH_4^+ como el NO_3^- son fuentes importantes de nitrógeno y la mayoría de las plantas (superiores e inferiores), muestran un alto potencial de crecimiento sobre mezclas de estas formas de nitrógeno. La preferencia por una fuente particular de nitrógeno, puede, sin embargo, ocurrir en especies

de biomasa particulares en respuesta a las condiciones químicas del hábitat (Kronzucker y *col*, 1997). La biomasa vegetal que se desarrolla en los humedales muestra una preferencia por el consumo de NH_4^+ (Brix y *col*, 2002; Cedergreen y Madsen, 2003). Si la concentración de NO_3^- tiende a cero, el valor del Factor de Preferencia ($FP_{NH_4^+}$), tiende a uno, lo que lógicamente significa que el fitoplancton consume únicamente NH_4^+ para su crecimiento. Si la concentración de NH_4^+ tiene a cero, el valor de FP igualmente tenderá a cero, por lo que el fitoplancton consumirá el NO_3^- disponible.

○ **Nitratos [NO_3^-]**

Los nitratos proceden de la nitrificación del amonio en condiciones aerobias. Su disminución en la columna de agua es debida a su consumo como nutriente por parte del fitoplancton y al proceso de desnitrificación, la cual está limitada por la presencia de oxígeno disuelto en el agua. Cuando la concentración de oxígeno disuelto es muy elevada, el factor de limitación de la desnitrificación es muy pequeño, por lo que dicho proceso apenas tiene lugar. Como sustancia disuelta, los nitratos se desplazan entre la columna de agua y el agua intersticial del sedimento, provocando un flujo cuya dirección dependerá de su concentración en ambos medios (Martín y Marzal, 1999). Teniendo en cuenta estas consideraciones y la expresión desarrollada para el nitrógeno orgánico, la expresión final empleada en los modelos de eutrofización para el término fuente/sumidero para los nitratos, $S_{kNO_3^-}$, es la siguiente:

$$S_{kNO_3^-} = \frac{\partial[NO_3^-]}{\partial t} = -G * (1 - FP_{NH_4^+}) * [fito] * a_{NC} + k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT} * [NH_4^+] - k_{dnit} * \theta_{dnit}^{(T-20)} * X_{DENIT} * [NO_3^-]$$

donde:

[fito]: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

G : Constante de velocidad de crecimiento del fitoplancton (día⁻¹)

$FP_{NH_4^+}$: Factor de preferencia por el amonio

$$FP_{NH_4^+} = \frac{[NH_4^+] * [NO_3^-]}{(k_{mN} + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])} + \frac{[NH_4^+] * k_{mN}}{([NO_3^-] + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])}$$

$[NH_4^+]$: Concentración de amonio (mg N/L)

$[NO_3^-]$: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{mN} : Constante de semisaturación para el nitrógeno (mg N/L)

k_{nitri} : Constante de nitrificación del amonio (día⁻¹)

θ_{nitri} : Factor de corrección de temperatura para la nitrificación del amonio

X_{NIT} : Factor de limitación de la nitrificación del amonio debido a la concentración de oxígeno en el agua

$$X_{NIT} = \frac{[OD]}{k_{NIT} + [OD]}$$

$[OD]$: Concentración de oxígeno disuelto (mg O₂/L)

k_{NIT} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno a la nitrificación (mg O₂/L)

$[NO_3^-]$: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{dnit} : Constante de desnitrificación (día⁻¹)

θ_{dnit} : Factor de corrección de temperatura para la desnitrificación

X_{DENIT} : Factor de limitación de la desnitrificación del nitrato debido a la concentración de oxígeno en el agua

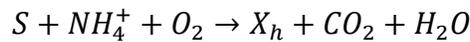
$$X_{DENIT} = \frac{k_{NO_3^-}}{k_{NO_3^-} + [OD]}$$

$k_{NO_3^-}$: Constante de Michaelis para la desnitrificación (mg O₂/L)

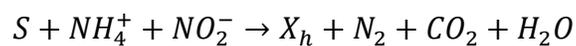
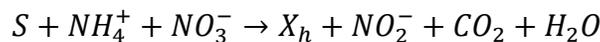
Modelo II. *Activated Sludge Model* N°1 (ASM1).

Este modelo considera dos grupos de bacterias (autótrofas y heterótrofas) y divide la actividad de los microorganismos en los siguientes procesos (Henze y col, 2000):

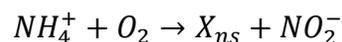
(a) **Crecimiento de las bacterias heterótrofas en condiciones aerobias.** Estos microorganismos utilizan la materia orgánica (S) como fuente de electrones, que se oxida a CO_2 y H_2O . Como agente oxidante utilizan oxígeno y consumen amonio en su síntesis celular (Gómez y col, 2010). Omitiendo los correspondientes coeficientes estequiométricos, el proceso completo se muestra en la siguiente reacción:



(b) **Crecimiento de bacterias heterótrofas en condiciones anóxicas (desnitrificación).** Estos microorganismos utilizan materia orgánica (S) como fuente de electrones, exógena o endógena, que se oxida a CO_2 y H_2O ; y como aceptor de electrones nitrato y nitrito. El consumo de estos compuestos se produce en serie y su producto final es el nitrógeno gaseoso. Además, se consume el amonio utilizado en la síntesis celular (Gómez y col, 2010). Omitiendo los correspondientes coeficientes estequiométricos, el proceso completo se muestra en las siguientes reacciones:

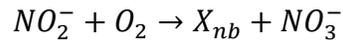


(c) **Crecimiento de las bacterias autótrofas aerobias, con consumo de amonio.** Estos microorganismos, del género *Nitrosomonas* (X_{ns}), utilizan el amonio como fuente de electrones, además de para la síntesis celular, que oxidan a nitrito, y oxígeno como agente oxidante (Gómez y col, 2010). Omitiendo los correspondientes coeficientes estequiométricos, el proceso completo se muestra en la siguiente reacción:



(d) **Crecimiento de las bacterias autótrofas aerobias, con consumo de nitrito.** Estos microorganismos, del género *Nitrobacter* (X_{nb}), utilizan nitrito como fuente de

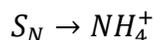
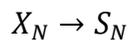
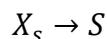
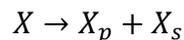
electrones, además de para la síntesis celular, que oxidan a nitrato, y oxígeno como agente oxidante. Igualmente consumen amonio en la síntesis celular (Gómez y col, 2010). Omitiendo los correspondientes coeficientes estequiométricos, el proceso completo se muestra en la siguiente reacción:



La combinación del crecimiento de *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, produce la transformación de amonio en nitrato (nitrificación).

(e) Lisis de las bacterias heterótrofas y autótrofas. Los compuestos obtenidos en la muerte de microorganismos, se pueden dividir en sustancias lentamente biodegradables (X_p) y sustancias rápidamente biodegradables (X_s), eliminadas por los microorganismos heterótrofos mediante el consumo endógeno. Tras la muerte de los microorganismos, la materia biodegradable es particulada, sin embargo, los microorganismos solo pueden alimentarse de materia soluble. Para que la materia orgánica particulada pueda ser consumida, debe ser hidrolizada primero, transformándose en materia orgánica soluble (S) (Gómez y col, 2010).

Parte de la materia orgánica biodegradable, será materia nitrogenada (X_N). Y de la misma manera que el sustrato biodegradable, se hidroliza a materia nitrogenada soluble (S_N). Finalmente, se produce la amonificación, o transformación de esta materia nitrogenada soluble, en amonio (Gómez y col, 2010). Las reacciones que tienen lugar se resumen a continuación:



En el Cuadro 5 se resume de manera matricial, cada uno de los procesos y reacciones consideradas en el modelo ASM1. Esta representación matricial corresponde con la propuesta por IAW (Henze *y col*, 1987; Schulthess y Gujer., 1995; Gómez, *y col* 2010). Las distintas reacciones corresponden con las diferentes filas y cada uno de los compuestos que intervienen en ellas, están definidos en una columna. Cada celda, corresponde con el coeficiente estequiométrico de cada compuesto en cada reacción.

Parámetros estequiométricos:

- Rendimiento heterotrófico Y_h
- Rendimiento autotrófico Y_{ns}, Y_{nb}
- Fracción de producto particulado en la producción de biomasa f_p
- Relación Masa de N/Masa de COD en biomasa i_x
- Relación Masa de N/Masa de COD en productos desde la biomasa i_p

Parámetros cinéticos:

- Crecimiento y deterioro heterotrófico $\mu_h, K_s, K_{H_2O}, K_{NO_3}, K_{NO_2}, b_h$
- Crecimiento y deterioro autotrófico $\mu_{ns}, \mu_{nb}, K_{NH_4}, K_{NO_2}, b_{ns}, b_{nb}$
- Factor de corrección para crecimiento anóxico de heterótrofos η_g
- Amonificación k_a
- Hidrólisis k_n, K_x
- Factor de corrección para hidrólisis anóxica η_h

Componentes:

- Sustrato rápidamente biodegradable S
- Sustrato lentamente biodegradable X_s
- Biomasa heterotrófica X_h
- Biomasa autotrófica X_{ns}, X_{nb}
- Aumento del producto particulado, desde el descenso de la biomasa X_p
- Oxígeno O_2

- Nitrógeno en forma de nitrato NO_3^-
- Nitrógeno en forma de nitrito NO_2^-
- Nitrógeno amoniacal NH_4^+
- Nitrógeno orgánico soluble S_N
- Nitrógeno orgánico particulado X_N

Cuadro 5.- Representación matricial del modelo ASM1

	S	X _S	X _h	X _{ns}	X _{nb}	X _p	O ₂	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	NH ₄ ⁺	S _N	X _N	
Crecimiento X _h aerobio	-1/Y _h		1				$-\frac{(1-Y_h)}{Y_h}$			-i _x		$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_h$	
Crecimiento X _h anóxico (NO ₃)	-1/Y _h		1				$-\frac{(1-Y_h)}{1,14 * Y_h}$	$\frac{(1-Y_h)}{1,14 * Y_h}$		-i _x		$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_3}{(K_{NO_3} + NO_3)} * \eta_g * X_h$	
Crecimiento X _h anóxico (NO ₂)	-1/Y _h		1					$-\frac{(1-Y_h)}{1,71 * Y_h}$		-i _x		$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_2}{(K_{NO_2} + NO_2)} * \eta_g * X_h$	
Crecimiento X _{ns} aerobio				1			$-\frac{(3,43 - Y_{ns})}{Y_{ns}}$		$\frac{1}{Y_{ns}}$	$-\frac{i_x - 1}{Y_{ns}}$		$\mu_{ns} * \frac{NH_4}{(K_{NH_4} + NH_4)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{ns}$	
Crecimiento X _{nb} aerobio					1		$-\frac{(1,14 - Y_{nb})}{Y_{nb}}$	$\frac{1}{Y_{nb}}$	$-\frac{1}{Y_{nb}}$	-i _x		$\mu_{nb} * \frac{NO_2}{(K_{NO_2} + NO_2)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{nb}$	
Muerte X _h		1 - f _p	-1			f _p						i _x - f _p * i _p	b _h * X _h
Muerte X _{ns}		1 - f _p		-1		f _p						i _x - f _p * i _p	b _{ns} * X _{ns}
Muerte X _{nb}		1 - f _p			-1	f _p						i _x - f _p * i _p	b _{nb} * X _{nb}
Amonificación										1	-1		k _a * S _N * X _h
Hidrólisis X _S	1	-1											$k_n * \frac{X_S}{(K_X + X_S/X_h)} * \left[\frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} + \eta_h * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_3}{(K_{NO_3} + NO_3)} \right]$
Hidrólisis X _N											1	1	$k_n * \frac{X_N}{(K_X + X_S/X_h)} * \left[\frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} + \eta_h * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_3}{(K_{NO_3} + NO_3)} \right]$

Fuente: Gómez, y col (2010).

METODOLOGÍA

Ubicación de la zona bajo estudio

La zona propuesta para la investigación es el humedal artificial de flujo superficial Tancat de la Pipa, situado en el Parque Natural L'Albufera de Valencia, a 12 Km al sur de la ciudad de Valencia, España. El Tancat de la Pipa, es el resultado de un proyecto mancomunado entre la Consellería de Medio Ambiente, Agua, Urbanismo y Vivienda de la Generalitat Valenciana y la Confederación Hidrográfica del Júcar, en la Comunidad Valenciana. Su objetivo principal es la reducción del contenido de fitoplancton, tratando el agua desde el lago con la finalidad de mejorar el estatus ecológico del mismo, el cual está altamente eutrofizado desde la década de 1970. Tal como se muestra en la Figura 3, para este objetivo fueron transformados 0,4 Km² de campos de arroz en tres sistemas independientes: Filtros Grandes (FG), Filtros Pequeños (fp) y F₄, los cuales fueron plantados con macrófitas emergentes; FG y fp fueron divididos en tres cuentas en series (FG₁, FG₂, FG₃, fp₁, fp₂ y fp₃, respectivamente). El promedio de profundidad del nivel del agua es de 20 cm. Las celdas FG₁, FG₂, fp₁ y fp₂ fueron plantadas con *Typha spp.* a una densidad de 1 planta/m² y el resto de las cuentas fueron plantadas con una mayor diversidad de plantas *Typha spp.*, *Scirpus spp.* entre otras, pero a una densidad mucho más baja (0,25 plantas/m²) (Hernández-Crespo *et al.*, 2012).

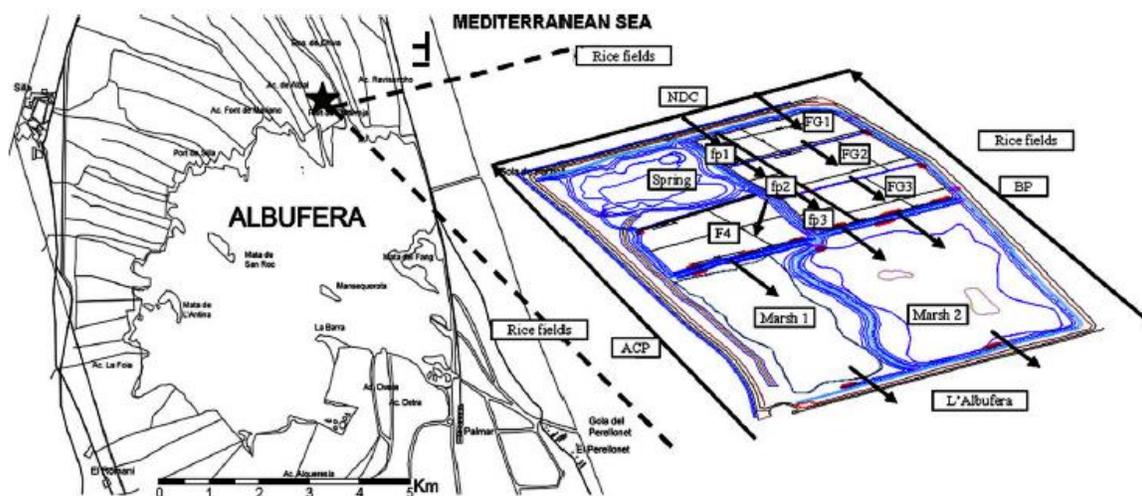


Figura 3.- Ubicación del Tancat de la Pipa y mapa del humedal artificial (Martin *et al.*, 2013)

Fase I

A fin de cumplir con los objetivos planteados en la investigación, se realizó una exhaustiva revisión en libros y revistas científicas especializadas sobre trabajos e investigaciones realizadas en cuanto a:

- (a) Los procesos biológicos que tienen lugar en una estación depuradora de aguas residuales.
- (b) Las transformaciones bioquímicas que realizan los microorganismos durante su crecimiento y que influyen de manera directa e indirecta en los procesos depurativos de aguas residuales.
- (c) Las transformaciones físico – químicas que ocurren dentro de los humedales, direccionadas por las interacciones microorganismos – suelo – planta, como parte del proceso depurativo.
- (d) La descripción matemática de los procesos biológicos, físicos y químicos, que ocurren en sistema de tratamiento de aguas residuales.
- (e) Los modelos biológicos que se han desarrollado para la descripción de fangos activados en tratamientos de aguas residuales, principalmente el *Activated Sludge Model* N° 1 (ASM1) propuesto por la *International Water Association Task* (Henze *et al.*, 1987; Henze *et al.*, 2001) y la descripción de las cinéticas de comportamiento de contaminantes dentro de un modelo de eutrofización, detallados por Martín & Marzal, (1999).

Fase II

En esta fase del trabajo se recabaron los datos, que se usaron como componentes físico – químicos (variables) con los que se alimentaron los modelos seleccionados. Estos datos corresponden al contenido de nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal, nitrato, nitrito, oxígeno disuelto, pH y conductividad eléctrica.

- **Toma de muestras**

Se dispuso de 4 puntos (Figura 4), ubicados uno en la entrada de agua del filtro FG₁ y el resto en las salidas del FG₁, FG₂ y FG₃, dichos puntos fueron muestreados en intervalos de 2 semanas para análisis biológicos, físicos y químicos. Las muestras de agua fueron tomadas en botellas de plástico, previamente higienizadas; recogidas a 0,10 m de profundidad desde la lámina de agua presente en cada filtro, entre las 9:00 am y las 2:00 pm, en una misma ruta. Las muestras de agua fueron analizadas en cuanto a contenido de materia orgánica (DQO total y soluble), nitrógeno total, amonio, nitrito, nitrato, fósforo total, fosfato, silicio, sólidos suspendidos totales y volátiles, turbidez y contenido de fitoplancton como concentración de clorofila “a” (Chl *a*). Además, los parámetros físico – químicos de temperatura del agua, pH, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto, se midieron *in situ*. Tanto la frecuencia como la cantidad de muestras fueron definidas por el jefe del Laboratorio de Calidad de Agua del Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente (IIAMA) de la Universidad Politécnica de Valencia, España.

- **Análisis de las muestras**

Con la finalidad de determinar los parámetros físico – químicos de calidad de agua, las muestras luego de ser tomadas en los distintos puntos del humedal, se analizaron en el Laboratorio de Calidad de Agua del Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente (IIAMA) de la Universidad Politécnica de Valencia, España. Con estos parámetros con los que se alimentaron los modelos para su análisis en el software y cálculo de parámetros cinéticos. Siguiendo el sistema de análisis Spectroquant®, propuesto por Merck, (2005) y las metodologías propuestas por Apha, (1992) y EPA, (1983), para análisis de aguas, aguas residuales y suelos:

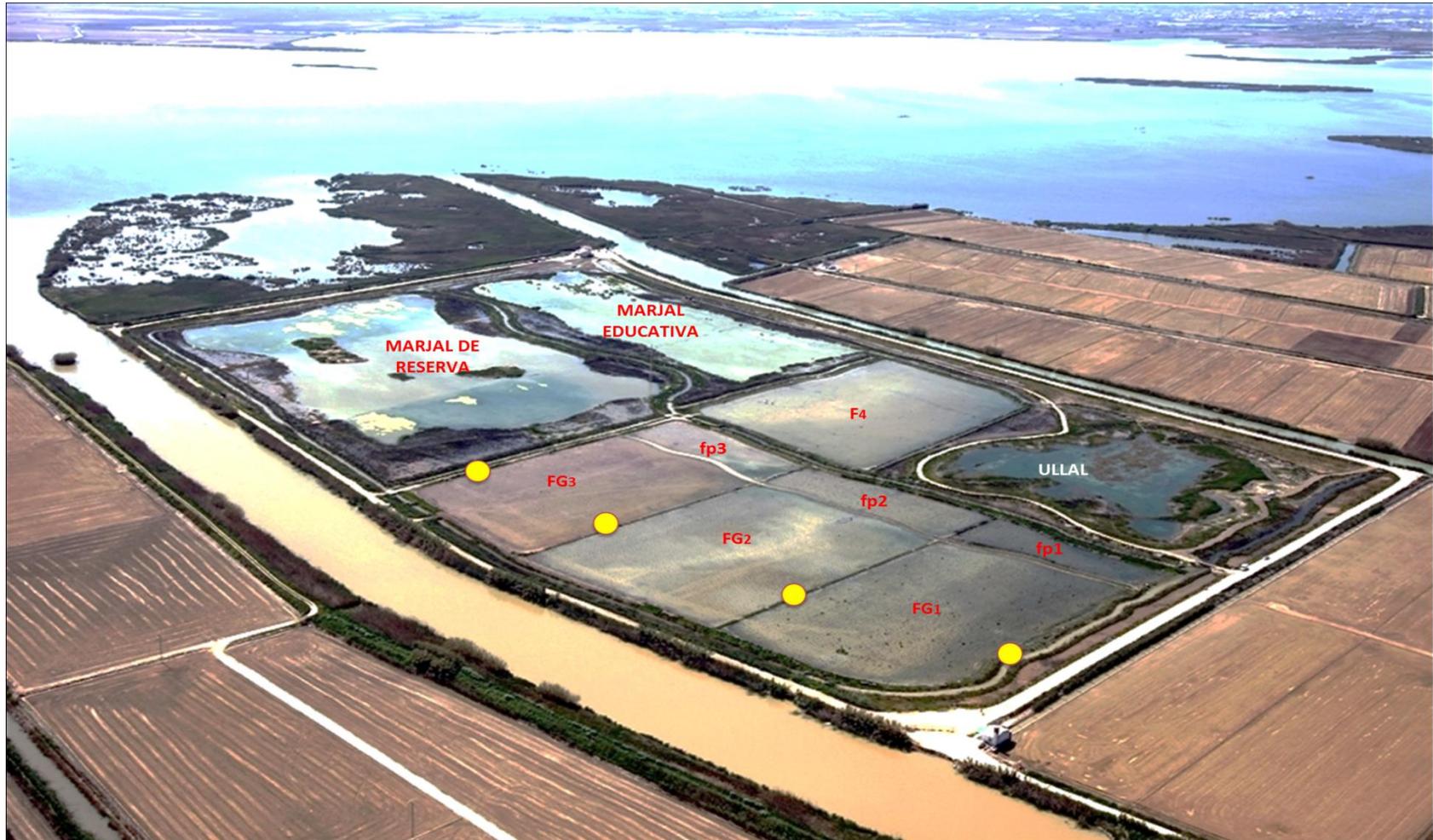


Figura 4.- Señalización de los puntos toma muestras, en los Filtros Grandes (FG's) del Tancat de la pipa (Hernández-Crespo y col, 2012).

✓ DETERMINACIÓN DE pH (Apha, 1992; EPA; 1983)

Método electrométrico

Definiciones

El pH o la actividad del ión hidrógeno indican a una temperatura dada, la intensidad de las características ácidas o básicas del agua. El pH se define como el logaritmo de la inversa de la actividad de los iones hidrógeno:

$$pH = -\log[H^+]$$

$[H^+]$ = actividad de los iones hidrógeno en mol/L.

Principio

El método consiste en la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas usando un electrodo combinado o un electrodo estándar de hidrógeno de vidrio con un electrodo de referencia.

Equipos y materiales

- Medidor de pH.
- Electrodo de referencia de potencial constante y electrodo de vidrio.
- Termómetro o sensor de temperatura para compensación automática en el instrumento.
- Agitador magnético y barras agitadoras.
- Vasos de Bohemia.

Reactivos

- Agua destilada y desionizada.
- Agua destilada y desaireada con conductividad menor a 2 $\mu\text{mhos/cm}$. Para desairearla, se sometió a ebullición durante 15 minutos y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- Soluciones buffer estándar de pH conocido, necesarias para calibrar el instrumento:
 - a) Solución buffer de pH = 4,004 a 25 °C. Se pesaron 10,12 g de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ y se diluyó a 1 L en matraz aforado con agua destilada.

- b) Solución buffer de pH = 6,863 a 25 °C. Se pesaron 3,387 g de KH_2PO_4 previamente secado en estufa a 110 – 130 °C durante 2 horas y 3,533 g de Na_2HPO_4 . Se disolvieron y se llevó a 1 L en matraz aforado con agua destilada.
- c) Solución buffer de pH = 10,014 a 25 °C. Se pesaron 2,092 g NaHCO_3 y 2,640 g de Na_2CO_3 , se disolvieron y se llevó a 1 L en matraz aforado con agua destilada.

Procedimiento

- Calibración del instrumento: Para ello se siguieron las instrucciones del medidor de pH. En la calibración se usaron dos soluciones buffer, una solución de pH 6,863 y una solución de pH 10,014 cuyo rango de pH era el esperado para las muestras a medir.
- Al momento en que se realizó la medición del pH, se registró la temperatura de cada muestra. La medida se realizó directamente en el punto de toma de muestra, y cuando las condiciones de la zona no lo permitían, la medición se realizaba dentro del envase. Durante la medición era necesario realizar una agitación moderada para minimizar la entrada de dióxido de carbono y suficiente como para homogeneizar la muestra.
- Una vez finalizada la medida, se enjuagaba el electrodo con agua destilada y desionizada y se secaba suavemente.

Expresión de resultados

Los resultados se reportaron en unidades de pH con una precisión de 0,1 y la temperatura con una precisión de 1 °C.

- ✓ **DETERMINACIÓN DE CONDUCTIVIDAD (Apha, 1992; EPA; 1983)**

Definiciones

La conductividad es la capacidad que posee una solución acuosa de conducir la corriente eléctrica, a 25 °C.

Principio

El método consiste en la medida directa de la conductividad utilizando una celda de conductividad previamente estandarizada con una solución de KCl.

Equipos y materiales

- Medidor de conductividad.
- Celda de conductividad.
- Termómetro con precisión de 0,1 °C, en el rango de 20 – 30 °C, o sensor de temperatura en el equipo.
- Matraz aforado de 1 L.
- Vasos de bohemia.

Reactivos

- Agua destilada y desionizada.
- Solución estándar de KCl 0,01 M: Se disolvió en agua destilada, 0,7456 g de cloruro de potasio (KCl) previamente secado en estufa a 105 °C por 2 horas, y se diluyó a 1 L en matraz aforado a 25 °C. Esta solución estándar de referencia tenía, a 25 °C, una conductividad de 1412 $\mu\text{mhos/cm}$. Dicha solución se preservó en un frasco de vidrio de borosilicato.

Procedimiento

- Determinación de la constante de la celda (calibración): Se enjuagó la celda de conductividad con al menos tres porciones de la solución de KCl 0,01 M. Se ajustó la temperatura de la cuarta porción a $25,0 \pm 0,1$ °C y se midió una solución estándar de laboratorio.
- Al momento de hacer la medición se enjuagó la celda de conductividad con una o más porciones de la muestra. Se ubicó la celda en el punto de toma de muestra de tal manera que no queden retenidas burbujas de aire, ni que tocara la superficie del filtro, cuando las condiciones de la zona no lo permitían, la medición se realizaba dentro del envase.

- Luego de que el medidor se estabilizaba, se tomaba el valor de conductividad de la muestra registrado por el instrumento.
- ✓ **SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES Y VOLATILES (Apha, 1992; EPA; 1983)**

Método Gravimétrico

Definición

Los sólidos suspendidos totales son los materiales retenidos por un filtro estándar de fibra de vidrio y secado 103 – 105 °C.

Los sólidos suspendidos fijos son los residuos resultantes luego de calcinar a 550 ± 50 °C la muestra retenida en el filtro.

Los sólidos suspendidos volátiles corresponden a los compuestos perdidos durante la calcinación a 550 ± 50 °C de la muestra retenida en el filtro. Se determinan por diferencia de peso entre sólidos suspendidos totales y fijos.

Muestreo y preservación de la muestra

Las muestras se recolectaron en botellas de plástico de 1 L de capacidad. Se refrigeraron a 4 °C.

Equipos y materiales

- Filtros de fibra de vidrio: Whatman 934 AH o Gelman A/E o Milipore AP 40. Preferentemente de 4,7 cm de diámetro.
- Equipo de filtración por vacío: embudo de membrana filtrante, preferentemente de 4,7 cm de diámetro, frasco de succión de suficiente capacidad para la muestra, trampa de agua, bomba de vacío.
- Estufa para operar a 103 – 105 °C.
- Mufla para operar a 550 ± 50 °C.
- Desecador conteniendo un desecante con indicador coloreado de humedad.
- Balanza analítica de precisión 0,1 mg.
- Probetas

Procedimiento

- Preparación del papel de filtro: Se colocó el papel de filtro en el embudo de filtración. Se aplicó vacío y enjuagó con tres porciones de 20 mL de agua destilada. Se continuó la succión hasta la eliminación total del agua. Se secó en estufa a 103 – 105 °C por 1 hora en un crisol de porcelana. Se dejó enfriar en el desecador y se pesó; se repitió el ciclo hasta obtener peso constante. Para la determinación de sólidos volátiles, el filtro se sometió a mufla por 15 minutos a 550 °C, se dejó enfriar en el desecador y se pesó. Se repitió el ciclo de muflado, enfriado y pesado hasta peso constante.
- Determinación: Una vez que se obtuvo el peso constante de filtro, se pesó inmediatamente antes de usarlo. Se tomó un volumen de 100 mL de la muestra homogeneizada y se vertió en el embudo de filtración. Seguidamente se inició la succión. Se continuó la succión por 3 minutos hasta que la filtración fue completa. Se removió el papel de filtro y se colocó sobre un crisol de porcelana. Se secar en estufa a 103 – 105 °C durante 1 hora, se dejó enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y se pesó. Se repetir el ciclo de secado, enfriado y pesado hasta peso constante. El papel de filtro anterior se colocó en la mufla a 550 ± 50 °C durante 1 hora. Se dejó enfriar en desecador y se pesó. Se repitió la secuencia hasta obtener peso constante.

Cálculos y expresión de resultados

$$SST, mg/L = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$SSF, mg/L = \frac{(P_3 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$SSV, \frac{mg}{L} = SST - SSF$$

donde:

SST = Sólidos suspendidos totales (mg/L)

SSF = Sólidos suspendidos fijos (mg/L)

SSV = Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)

P_1 = Peso del filtro preparado (mg)

P_2 = Peso del filtro más el residuo seco a 103 – 105 °C

P_3 = Peso del filtro más el residuo calcinado a 550 °C

V = Volumen de muestra tomando (mL)

✓ DETERMINACIÓN DE TURBIDEZ (Apha, 1992; EPA; 1983)

Método Nefelométrico

Definición

La turbidez es una medida de la propiedad óptica que causa dispersión y absorción de la luz con disminución de la transmisión en línea recta. Se miden en unidades de turbidez nefelométrica, (NTU).

Principio del método

Este método está basado en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas con la luz dispersada por una suspensión estándar de referencia bajo las mismas condiciones. Cuanto mayor sea la intensidad de la luz dispersada, mayor será la turbidez.

Equipos y materiales

- Turbidímetro: es un nefelómetro con una fuente de luz para iluminar la muestra y uno o más detectores fotoeléctricos con mecanismo de lectura para indicar la intensidad de la luz dispersada a 90° del camino de luz incidente.
- Tubos para la muestra: de vidrio transparente y limpio.
- Matraces aforados de 100 mL
- Pipetas aforadas de 5 y 10 mL
- Balanza analítica de 1 mg de precisión.

Reactivos

- Agua libre de turbidez: se obtuvo pasando agua destilada a través de un filtro de membrana de diámetro de poro de 0,2 μm

- Solución I: Se disolvió 1,00 g de sulfato de hidrazina en agua destilada y se diluyó hasta 100 mL en matraz aforado.
- Solución II: Se disolvieron 10,00 g de hexametileno – tetraamina en agua destilada y se diluyó hasta 100 mL en matraz aforado.
- Suspensión stock de turbidez, 400 NTU: En un matraz aforado de 100 mL mezclaron 5,0 mL de solución I con 5,0 mL de solución II. Se dejó reposar 24 horas a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, y luego se enrasó y mezcló.
- Suspensión estándar de turbidez, 40 NTU: Se diluyeron 10,00 mL de suspensión stock de turbidez en 100 mL con agua libre de turbidez en matraz aforado.

Procedimiento

Se realizó la calibración del equipo de acuerdo al manual de instrucciones. Una vez calibrado con la solución de 40 NTU, se procedió a las lecturas de turbidez de las diferentes muestras.

Expresión de resultados

La turbidez se informa en NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez)

$$\text{Turbidez, } NUT = \frac{A \times V}{T}$$

donde:

A = NTU de la muestra diluída

V = volumen del matraz de dilución (mL)

T = volumen de muestra tomado para diluir (mL)

- ✓ **DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL (Merck, 2005).**

Método Spectroquant® 14537

Procedimiento.

- Se tomaron 10,0 mL de la muestra en una cubeta redonda vacía.
- Se añadió 1 microcuchara azul rasa de N-1K.

- Se añadieron 6 gotas de N-2K, se cerró la cubeta redonda con la tapa roscada y se mezcló.
- Se calentó la cubeta durante 1 hora a 120 °C en el termorreactor.
- Sacar la cubeta del termorreactor, dejarla enfriar hasta temperatura ambiente en el soporte para cubetas redondas.
- Se añadió 1 microcuchara azul rasa de N-3K en un tubo de reacción, luego se cerró con la tapa roscada.
- Se agitó vigorosamente la cubeta durante 1 minuto para disolver la sustancia sólida.
- Se añadieron 1,5 mL de la muestra preparada con la pipeta muy lentamente, se cerró firmemente con la tapa roscada y se mezcló.
- Se esperó un tiempo de reacción de 10 minutos (sugerido por el proveedor Merck).
- En el espectrofotómetro se seleccionó el método con el AutoSelector (Método Oxidación de peroxodisulfato/Nitrospectral)
- Se colocó la cubeta en el compartimiento para cubetas, de manera que coincidiera la raya de marcado de cubeta con la marca de fotómetro. Luego se realizó la lectura.

✓ **DETERMINACIÓN DE AMONIO (Merck, 2005)**

Método Spectroquant® 14752

Procedimiento.

- Se tomaron 5,0 mL de la muestra en un tubo de ensayo
- Se añadieron 0,6 mL de NH₄ – 1 con la pipeta y se mezcló
- Se añadió 1 microcuchara azul rasa de NH₄ – 2
- Se agitó intensamente el tubo para disolver la sustancia sólida.
- Se esperó un tiempo de reacción de 5 minutos (sugerido por el proveedor Merck).
- Se añadieron 4 gotas de NH₄ – 3 y se mezcló.
- Se esperó un tiempo de reacción de 5 minutos (sugerido por el proveedor Merck).
- Se añadió la solución en la cubeta correspondiente.
- En el espectrofotómetro se seleccionó el método con el AutoSelector (Método Azul de Indofenol)

- Se colocó la cubeta en el compartimiento para cubetas, de manera que coincidiera la raya de marcado de cubeta con la marca de fotómetro. Luego se realizó la lectura.

✓ **DETERMINACIÓN DE NITRITOS (Merck, 2005)**

Método Spectroquant® 14776

Procedimiento.

- Se tomaron 5,0 mL de la muestra en un tubo de ensayo.
- Se añadió 1 microcuchara azul rasa de $\text{NO}_2 - 1$
- Se agitó intensamente la cubeta para disolver la sustancia sólida.
- Se comprobó el valor de pH de la muestra, intervalo previsto pH 2,0 – 2,5
- Se esperó un tiempo de reacción de 10 minutos (sugerido por el proveedor Merck).
- Se añadió la solución en la cubeta correspondiente.
- En el espectrofotómetro se seleccionó el método con el AutoSelector (Reacción de Griess)
- Se colocó la cubeta en el compartimiento para cubetas, de manera que coincidiera la raya de marcado de cubeta con la marca de fotómetro. Luego se realizó la lectura.

✓ **DETERMINACIÓN DE NITRATOS (Merck, 2005)**

Método Spectroquant® 14776

Procedimiento.

- Se vertió 1 microcuchara azul rasa de $\text{NO}_3 - 1$ en una cubeta redonda vacía.
- Se añadieron 5,0 mL de $\text{NO}_3 - 2$ con la pipeta y se cerró la cubeta con la tapa roscada.
- Se agitó intensamente la cubeta durante 1 minuto para disolver la sustancia sólida.
- Se añadieron 1,5 mL de la muestra con la pipeta muy lentamente, se cerró la cubeta con la tapa roscada y se mezcló.
- Se esperó un tiempo de reacción de 10 minutos (sugerido por el proveedor Merck).
- Se añadió la solución en la cubeta correspondiente.

- En el espectrofotómetro se seleccionó el método con el AutoSelector (Nitrospectral)
 - Se colocó la cubeta en el compartimiento para cubetas, de manera que coincidiera la raya de marcado de cubeta con la marca de fotómetro. Luego se realizó la lectura.
- ✓ **DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (Merck, 2005)**

Procedimiento.

- Se resuspendió el sedimento del fondo de la cubeta mediante agitación por balanceo.
 - Se añadieron 3,0 mL de la muestra con la pipeta cuidadosamente en una cubeta de reacción, se cerró firmemente con tapa roscada y se mezcló intensamente.
 - Se calentó la cubeta de reacción en el termorreactor durante 2 horas a 148 °C.
 - Se sacó la cubeta del termorreactor, se dejó enfriar en el soporte de cubetas redondas.
 - Después de enfriar durante unos 10 minutos, se agitó otra vez la cubeta por balanceo.
 - Se volvió a colocar la cubeta en el soporte y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente.
 - Se colocó la cubeta en el compartimiento para cubetas, de manera que coincidiera la raya de marcado de cubeta con la marca de fotómetro. Luego se realizó la lectura.
- ✓ **DETERMINACIÓN DE CLOROFILA POR ESPECTROFOTOMETRÍA (Apha, 1992; EPA; 1983).**

La determinación de clorofila “a” es una medida indirecta de la biomasa del fitoplancton. El procedimiento para su análisis incluye la concentración del fitoplancton, la extracción de los pigmentos con una solución acuosa de acetona (90%) y la determinación de la densidad óptica (absorbancia) del extracto por medio de un espectrofotómetro.

Equipos y reactivos

Para la extracción de pigmentos:

- Equipo de filtración.
- Bomba de vacío.
- Filtros de microfibras de vidrio de 0,4 – 0,6 μm de poro.
- Solución de carbonato magnésico saturada: Se disolvió 1,00 g de MgCO_3 en polvo en 100 mL de agua destilada.
- Solución de acetona 90%: Se mezclaron 90 partes de acetona en 10 partes de la solución saturada de carbonato magnésico.

Para la determinación de clorofila:

- Triturador de tejidos vegetales o aparato de sonicación.
- Centrifugadora clínica y tubos de centrifuga de 15 mL (opcional).
- Espectrofotómetro, con banda estrecha (0,50 a 20 nm; por lo general de 2 nm).
- Cubetas con recorridos de 1,50 y 10 cm
- Pipetas (0,10 y 5 mL)

Extracción de pigmentos

- Se concentró la muestra mediante filtrada de un volumen suficiente de agua a través de un filtro de microfibras de vidrio. Se le adicionó la suspensión acuosa de carbonato magnésico para aumentar la eficiencia de la retención del filtro y evitar la degradación de la clorofila.
- Se mantuvo el filtro congelado ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), en el mismo tubo donde se realizó posteriormente la extracción y protegido de la luz.
- Se añadió al tubo con el filtro de fitoplancton una cantidad aproximada de 5 mL de solución de acetona y se mantuvo en frío ($0 - 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) y en la oscuridad, al menos 12 – 24 horas. Se aceleró la extracción mediante la trituración mecánica del filtro para romper las células. Durante la extracción se agitó el tubo un par de veces.

- Finalizada la extracción, se filtró el solvente a través de otro filtro de microfibra de vidrio. Se midió el volumen del extracto (aproximadamente 5 mL). El extracto es muy sensible a la luz por lo que este proceso se realizó, así como la lectura del espectrofotómetro, con la luz del laboratorio muy atenuada y se mantuvieron los tubos en una caja negra, debidamente protegidos de la luz.

Espectrofotometría

Se llenó la cubeta del espectrofotómetro y se midieron las densidades del extracto clarificado para las longitudes de onda que requiere la fórmula de cálculo publicada por Jeffrey y Humphrey (1975), para determinación de la concentración de clorofila “a” (Chl *a*) en una muestra.

$$\text{Chl } a \text{ } (\mu\text{g/L}) = \frac{[11,85 \times (A_{664} - A_{750}) - 1,54 \times (A_{647} - A_{750}) - 0,08 \times (A_{630} - A_{750})] \times v}{V}$$

donde:

A_{664} , A_{647} , A_{630} , A_{750} = Densidad óptica medida en las longitudes de onda indicadas de paso óptico de 1 cm

v = Volumen del extracto (mL)

V = Volumen de agua filtrada (L)

Modelos propuestos

Modelo I. Adaptación de la Cinética del nitrógeno.

Las ecuaciones de la cinética de nitrógeno, descritas por Martín y Marzal, (1999), para las distintas formas del nitrógeno incluyen los siguientes procesos:

(a) *Amonificación*: mineralización del nitrógeno orgánico disuelto por parte de microorganismos y transformación a nitrógeno amoniacal.

(b) *Nitrificación*: oxidación de amonio a nitritos y de nitritos a nitrato. Puede suceder en una etapa o dos. Está producido por bacterias autótrofas (*Nitrosomonas*) que emplean estas reacciones como fuente de energía, y bacterias del género *Nitrobacter*.

(c) *Desnitrificación*: reducción del nitrato a nitrógeno gaseosos en condiciones anóxicas. También se genera óxido nítrico, pero dado que no suele tener mucha importancia en la calidad del agua no se suele considerar. Si las condiciones del medio son anóxicas puede ser un mecanismo de eliminación importante en los sedimentos.

(d) *Consumo por parte del fitoplancton*: amonio y/o nitratos son consumidos y acumulados en forma orgánica por el fitoplancton.

○ **Nitrógeno orgánico [NO]**

La expresión cinética S_{KNO} es la siguiente:

$$S_{KNO} = \frac{\partial[NO]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * f_{NO} - k_{minN} * \theta_{minN}^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - \frac{V_{SNO} * (1 - f_{NOD})}{H} * [NO]$$

donde:

D : Constante de velocidad de muerte y respiración del fitoplancton (día^{-1})

$$D = r + e_x$$

$$D = (0,05 - 0,2)$$

r : Tasa de respiración del fitoplancton

$$r = (0,05 - 0,15) \text{ (Di Toro y col, 1975; O'Connor y col, 1981; Thomann y col, 1979)}$$

e_x : Tasa de muerte del fitoplancton

$$e_x = e_{depredación} + e_{no\ depredación}$$

$e_{depredación}$: Tasa de muerte por depredación

$$e_{depredación} = (0,03) \text{ (Martín y Marzal, 1999)}$$

$e_{no\ depredación}$: Tasa de muerte por no depredación

$$e_{no\ depredación} = (0,02) \text{ (Thomann y Fitzpatrick, 1982)}$$

$[fito]$: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

$[NO]$: Concentración de nitrógeno orgánico (mg N/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

$$a_{NC} = (0,01 - 0,25) \text{ (Thomann y Fitzpatrick, 1982; Di Toro y col, 1975; Martín y Marzal, 1999)}$$

f_{NO} : Fracción de fitoplancton muerto que da lugar a nitrógeno orgánico

$$f_{NO} = e_{no\ depredación} \times [N]_{Fito}$$

k_{minN} : Constante de mineralización del nitrógeno orgánico (día⁻¹)

$k_{minN} = (0,004 - 0,53)$ (Reddy y D'Angelo, 1997; Tanner y col, 2002)

θ_{minN} : Factor de corrección de temperatura para la mineralización del nitrógeno orgánico

$\theta_{minN} = (1,02 - 1,103)$ (Di Toro y Matystik, 1980, Nyholm, 1978)

X_{NRC} : Factor de limitación a la mineralización del nitrógeno orgánico por parte de fitoplancton (mg C/L)

$$X_{NRC} = \frac{[fito]}{k_{mNC} + [fito]}$$

k_{mNC} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de la mineralización del nitrógeno orgánico por parte del fitoplancton (mg C/L)

$k_{mNC} = (0,001 - 0,9)$ (Di Toro y Connolly, 1980)

V_{sNO} : Velocidad de sedimentación del nitrógeno orgánico particulado (m/día)

$V_{sNO} = (0,05 - 0,5)$ (Tetra Tech, 1976)

f_{NOD} : Fracción de nitrógeno orgánico disuelto

H : Profundidad de la columna de agua (m)

○ **Nitrógeno amoniacal** [NH_4^+]

Teniendo en cuenta la expresión desarrollada para el nitrógeno orgánico, la expresión final empleada para el amonio, $S_{kNH_4^+}$, es la siguiente:

$$S_{kNH_4^+} = \frac{\partial[NH_4^+]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * (1 - f_{NO}) + k_{minN} * \theta_{minN}^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - G * FP_{NH_4^+} * a_{NC} - k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT}[NH_4^+]$$

donde:

D : Constante de velocidad de muerte y respiración del fitoplancton (día⁻¹)

$[fito]$: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

$[NO]$: Concentración de nitrógeno orgánico (mg N/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

f_{NO} : Fracción de fitoplancton muerto que da lugar a nitrógeno orgánico

k_{minN} : Constante de mineralización del nitrógeno orgánico (día⁻¹)

θ_{minN} : Factor de corrección de temperatura para la mineralización del nitrógeno orgánico

X_{NRC} : Factor de limitación a la mineralización del nitrógeno orgánico por parte de fitoplancton (mg C/L)

$$X_{NRC} = \frac{[fito]}{k_{mNC} + [fito]}$$

k_{mNC} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de la mineralización del nitrógeno orgánico por parte del fitoplancton (mg C/L)

G : Constante de velocidad de crecimiento del fitoplancton (día⁻¹)

$G = (1,30 - 2,50)$ (Di Toro y Connolly, 1980; Thomann y Fitzpatrick, 1982; O'Connor y col, 1981)

$FP_{NH_4^+}$: Factor de preferencia por el amonio

$$FP_{NH_4^+} = \frac{[NH_4^+] * [NO_3^-]}{(k_{mN} + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])} + \frac{[NH_4^+] * k_{mN}}{([NO_3^-] + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])}$$

$[NH_4^+]$: Concentración de amonio (mg N/L)

$[NO_3^-]$: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{mN} : Constante de semisaturación para el nitrógeno (mg N/L)

$k_{mN} = (0,001 - 1,30)$ (O'Connor y col, 1975)

k_{nitri} : Constante de nitrificación del amonio (día⁻¹)

$k_{nitri} = (0,003 - 2,15)$ (Chen y Orlob, 1975; Reddy y D'angelo, 1997; Tanner y col, 2002)

θ_{nitri} : Factor de corrección de temperatura para la nitrificación del amonio

$\theta_{nitri} = (1,02 - 1,103)$ (Smith, 1978)

X_{NIT} : Factor de limitación de la nitrificación del amonio debido a la concentración de oxígeno en el agua

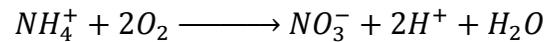
$$X_{NIT} = \frac{[OD]}{k_{NIT} + [OD]}$$

$[OD]$: Concentración de oxígeno disuelto (mg O₂/L)

k_{NIT} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno para la nitrificación (mg O₂/L)

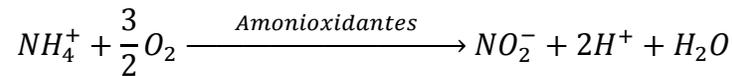
$k_{NIT} = (0,25 - 2,50)$ (Painter, 1986).

El proceso de nitrificación puede ocurrir de dos maneras, la primera es aquella en la que la degradación de amonio a nitrato ocurre directamente en una sola etapa, proceso representado por la siguiente manera:

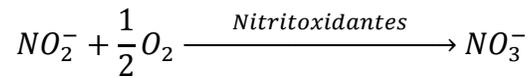


La segunda es aquella que se realiza en dos etapas llevadas a cabo por dos grupos diferentes de microorganismo (bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes). Las correspondientes reacciones bioquímicas representativas en cada etapa son:

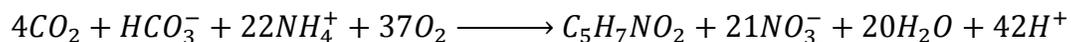
Primera etapa



Segunda etapa



La reacción global representativa del proceso de nitrificación obtenida a partir de las reacciones de oxidación y síntesis, corresponde a:



Debido a la importancia biológica, como contaminante, que representa el nitrito, para esta investigación se consideró el proceso de nitrificación en dos etapas, como el más idóneo para estudiar la cinética de degradación de nitrógeno dentro del humedal.

○ **Nitratos [NO_3^-]**

Teniendo en cuenta la expresión desarrollada para el nitrógeno orgánico, la expresión final empleada en los modelos de eutrofización para el término fuente/sumidero para los nitratos, $S_{kNO_3^-}$, es la siguiente:

$$S_{kNO_3^-} = \frac{\partial[NO_3^-]}{\partial t} = -G * (1 - FP_{NH_4^+}) * [fito] * a_{NC} + k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT} * [NH_4^+] - k_{dnit} * \theta_{dnit}^{(T-20)} * X_{DENIT} * [NO_3^-]$$

donde:

[*fito*]: Concentración de fitoplancton (mg C/L)

a_{NC} : Relación nitrógeno/carbón en el fitoplancton

G : Constante de velocidad de crecimiento del fitoplancton (día⁻¹)

$FP_{NH_4^+}$: Factor de preferencia por el amonio

$$FP_{NH_4^+} = \frac{[NH_4^+] * [NO_3^-]}{(k_{mN} + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])} + \frac{[NH_4^+] * k_{mN}}{([NO_3^-] + [NH_4^+]) * (k_{mN} + [NO_3^-])}$$

[NH_4^+]: Concentración de amonio (mg N/L)

[NO_3^-]: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{mN} : Constante de semisaturación para el nitrógeno (mg N/L)

k_{nitri} : Constante de nitrificación del amonio (día⁻¹)

θ_{nitri} : Factor de corrección de temperatura para la nitrificación del amonio

X_{NIT} : Factor de limitación de la nitrificación del amonio debido a la concentración de oxígeno en el agua

$$X_{NIT} = \frac{[OD]}{k_{NIT} + [OD]}$$

[OD]: Concentración de oxígeno disuelto (mg O₂/L)

k_{NIT} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno para la nitrificación (mg O₂/L)

[NO_3^-]: Concentración de nitratos (mg N/L)

k_{dnit} : Constante de desnitrificación (día⁻¹)

$k_{dnit} = (0,003 - 1,02)$ (Engler y Patrick, 1974; Johnston, 1991; Reddy y D'Angelo, 1997).

θ_{dnit} : Factor de corrección de temperatura para la desnitrificación

$\theta_{dnit} = (0,80 - 1,09)$ (Porcella y col, 1983)

X_{DENIT} : Factor de limitación de la desnitrificación del nitrato debido a la concentración de oxígeno en el agua

$$X_{DENIT} = \frac{k_{NO_3^-}}{k_{NO_3^-} + [OD]}$$

$k_{NO_3^-}$: Constante de Michaelis para la desnitrificación (mg O₂/L)

$k_{NO_3^-} = (0,002 - 1,0)$ (Henze y col, 2007; Wild y col, 1995)

Modelo II. Simplificación del Activated Sludge Model N°1 (ASM1). Este modelo considera dos grupos de bacterias (autótrofas y heterótrofas) y divide la actividad de los microorganismos en los siguientes procesos (Henze y col, 2000):

- (a) Crecimiento de las bacterias heterótrofas en condiciones aerobias.
- (b) Crecimiento de bacterias heterótrofas en condiciones anóxicas (desnitrificación).
- (c) Crecimiento de las bacterias autótrofas aerobias, con consumo de amonio.
- (d) Crecimiento de las bacterias autótrofas aerobias, con consumo de nitrito.
- (e) Lisis de las bacterias heterótrofas y autótrofas.

La materia orgánica y los compuestos nitrogenados presentes en una corriente típica de agua residual, pueden ser eliminados mediante un tratamiento de fangos activos, donde tienen lugar las diferentes reacciones y procesos ya mencionados. Considerando constante el número de microorganismo, se pueden despreciar las columnas correspondientes a estos, logrando una reestructuración (Cuadro 6) de representación matricial propuesta por IAW.

Parámetros estequiométricos:

- Rendimiento heterotrófico Y_h

$Y_h = 0,67$ (Henze y col, 1987; Schulthess y Gujer., 1995; Gómez, y col 2010)

- Rendimiento autotrófico Y_{ns}, Y_{nb}

Y_{ns} : Rendimiento autotrófico (nitrosomonas)

$Y_{ns} = 0,21$ (Henze y col, 1987; Schulthess y Gujer., 1995; Gómez, y col 2010)

Y_{nb} : Rendimiento autotrófico (nitrobacter)

$Y_{nb} = 0,04$ (Henze y col, 1987; Schulthess y Gujer., 1995; Gómez, y col 2010)

Parámetros cinéticos:

- Crecimiento X_h aerobio

$$\mu_h * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_h$$

μ_h : Tasa de crecimiento heterotrófico en condiciones aerobias

$$\mu_h = 0,7056 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

K_{H_2O} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno.

$$K_{H_2O} = 0,20 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

X_h : Concentración de bacterias heterótrofas

- Crecimiento X_h anóxico (NO_3^-)

$$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_3^-}{(K_{NO_3^-} + NO_3^-)} * \eta_g * X_h$$

μ_h : Tasa de crecimiento heterotrófico en condiciones anóxicas

$$\mu_h = 0,1872 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

K_s : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de sustrato.

$$K_s = 20 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

K_{H_2O} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno en condiciones anóxicas.

$$K_{H_2O} = 0,20 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

$K_{NO_3^-}$: Constante de Michaelis para la desnitrificación

$$K_{NO_3^-} = 0,251 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

η_g : Factor de corrección para crecimiento anóxico de heterótrofos

$$\eta_g = 0,80 \text{ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)}$$

X_h : Concentración de bacterias heterótrofas

Cuadro 6.- Simplificación del modelo ASM1, considerando constante la carga de microorganismos

	S	O_2	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+	S_N	
Crecimiento X_h aerobio		-1					$\mu_h * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_h$
Crecimiento X_h anóxico (NO_3)	$-\frac{1,14}{(1 - Y_h)}$		-1	1			$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_3}{(K_{NO_3} + NO_3)} * \eta_g * X_h$
Crecimiento X_h anóxico (NO_2)	$-\frac{1,71}{(1 - Y_h)}$			-1			$\mu_h * \frac{S}{(K_s + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_2}{(K_{NO_2} + NO_2)} * \eta_g * X_h$
Crecimiento X_{ns} aerobio		$-(3,43 - Y_{ns})$		1	-1		$\mu_{ns} * \frac{NH_4}{(K_{NH_4} + NH_4)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{ns}$
Crecimiento X_{nb} aerobio		$-(1,14 - Y_{nb})$	1	-1			$\mu_{nb} * \frac{NO_2}{(K_{NO_2} + NO_2)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{nb}$
Amonificación					1	-1	$k_a * S_N * X_h$

Fuente: Gómez, y col 2010

➤ Crecimiento X_h anóxico (NO_2^-)

$$\mu_h * \frac{S}{(K_S + S)} * \frac{K_{H_2O}}{(K_{H_2O} + O_2)} * \frac{NO_2^-}{(K_{NO_2^-} + NO_2^-)} * \eta_g * X_h$$

μ_h : Tasa de crecimiento heterotrófico en condiciones anóxicas

$\mu_h = 0,2030$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_S : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de sustrato.

$K_S = 20$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_{H_2O} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno en condiciones anóxicas.

$K_{H_2O} = 0,20$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

$K_{NO_2^-}$: Constante de Michaelis para la desnitrificación

$K_{NO_2^-} = 0,215$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

η_g : Factor de corrección para crecimiento anóxico de heterótrofos

$\eta_g = 0,80$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

X_h : Concentración de bacterias heterótrofas

➤ Crecimiento X_{ns} aerobio

$$\mu_{ns} * \frac{NH_4}{(K_{NH_4} + NH_4)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{ns}$$

μ_{ns} : Tasa de crecimiento autotrófico para *Nitrosomonas*

$\mu_{ns} = 6,48$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_{NH_4} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de amonio.

$K_{NH_4} = 0,945$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_{H_2O} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno.

$K_{H_2O} = 0,50$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

X_{ns} : Concentración de bacterias autótrofas (*Nitrosomonas*)

- Crecimiento X_{nb} aerobio

$$\mu_{nb} * \frac{NO_2}{(K_{NO_2} + NO_2)} * \frac{O_2}{(K_{H_2O} + O_2)} * X_{nb}$$

μ_{nb} : Tasa de crecimiento autotrófico para *Nitrobacter*

$\mu_{nb} = 24,48$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_{NO_2} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación por nitrito.

$K_{NO_2} = 0,588$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

K_{H_2O} : Constante de semisaturación (Constante de Michaelis) para la limitación de oxígeno.

$K_{H_2O} = 0,59$ (Henze y col, 2000; Gómez, y col 2010)

X_{nb} : Concentración de bacterias autótrofas (*Nitrobacter*)

Componentes:

- Sustrato rápidamente biodegradable S
- Oxígeno O_2
- Nitrógeno en forma de nitrato NO_3^-
- Nitrógeno en forma de nitrito NO_2^-
- Nitrógeno amoniacal NH_4^+
- Nitrógeno orgánico soluble S_N

- **Software matemático**

La herramienta seleccionada para simular el comportamiento de los filtros es el programa AQUASIM, este fue diseñado para la identificación y simulación de sistemas acuáticos en el laboratorio, tanto en plantas pilotos como en la naturaleza (Reichter, 1998). En este programa la configuración espacial de un sistema está representada por compartimientos, los cuales están conectados por *links* o enlaces. El programa permite al usuario definir un número arbitrario de sustancias a ser modeladas y es extremadamente flexible en la formulación de los procesos de transformación. No solo ofrece la posibilidad de realizar simulaciones en el tiempo de evolución del sistema en específico, también provee métodos para la identificación de sistemas, como son análisis de sensibilidad y

estimación automática de parámetros. Estas características, junto con una interface amigable con el usuario, ofrecen un buen soporte científico para el análisis de datos (Reichter, 1994). El AQUASIM, permitió formular ambos modelos, planteando para cada uno, todos los procesos involucrados, con sus respectivas variables y relacionándolos con los coeficientes estequiométricos correspondientes.

Fase III

Calibración y validación de los modelos.

El proceso de calibración proporciona los valores de los parámetros que intervienen en el proceso biológico y que servirán para que los resultados del modelo matemático se ajusten a la realidad (Emérita, 2010). De una serie temporal de datos correspondientes a tres años de estudio sobre la zona del Tancat de la Pipa, se dispusieron los dos primeros años para la fase de modelación y calibración de parámetros. La determinación de dichos parámetros, tanto cinéticos como estequiométricos, se obtuvo mediante la optimización de una función objetivo empleando algoritmos matemáticos específicos, ésta función objetivo corresponde a la minimización de la suma del cuadrado del error, el cual viene dado por la diferencia entre los valores experimentales y los predichos por el modelo (Dochain y Vanrolleghem, 2001; Langergraber y *col*, 2004), es decir, se compararon los valores arrojados por los modelos con los que corresponden al tercer año de los datos y aquellos que reflejaron la menor diferencia, se consideraron como los más adecuados para la descripción.

Índices de eficiencia de los modelos

Con la finalidad de evaluar la bondad de ajustes de los datos arrojados por los modelos seleccionados, se propuso el uso del Índice de Eficiencia de Nash – Sutcliffe (NSE), el cual es un estadístico potencialmente fiable y es ampliamente usado para tal fin (McCuen *et al*, 2006). Este estadístico fue propuesto originalmente por Nash y Sutcliffe, (1970) y está denotado por:

$$NSE = 1 - \frac{\sum(Q_{calc} - Q_{obs})^2}{\sum(\bar{Q}_{obs} - Q_{obs})^2}$$

donde Q_{Obs} corresponde a los datos observados, Q_{Calc} corresponde a los datos calculados por el modelo y \bar{Q}_{Obs} corresponde al promedio de los datos observados en el intervalo de interés. Igualmente se propone el índice de Eficiencia Volumétrica (VE), propuesto por Criss y Wilson, (2008), esta es una formulación más general de eficiencia basada en valores absolutos, denotada por:

$$VE = 1 - \frac{\sum |Q_{Calc} - Q_{Obs}|}{\sum Q_{Obs}}$$

donde Q_{Obs} corresponde a los datos observados y Q_{Calc} corresponde a los datos calculados por el modelo. Motovilov y col., (1999), en el proceso de validación de un modelo hidrológico distribuido (DHM), establecieron un rango de eficiencia para NSE (Cuadro 7), y debido a la similitud en la formulación de NSE y VE , se puede asumir que tienen tasas de eficiencia similares.

Cuadro 7.- Tasas de eficiencia para NSE

Valor	Eficiencia
> 0,75	Bueno
0,36 – 0,75	Satisfactorio
< 0,36	No Satisfactorio

Fuente: Motovilov y col., (1999)

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La dinámica del nitrógeno es modelada en una forma considerablemente más compleja que la dinámica de otros nutrientes, debido a su papel en los ciclos biogeoquímicos, a su relevancia sobre las reacciones de óxido – reducción en las que este nutriente está involucrado, y a otras variables de importancia en calidad de agua que son afectadas por el nitrógeno.

Selección del modelo.

La aplicación de cualquier modelo matemático, fundamentalmente depende de la posibilidad de disponer o calibrar una serie de parámetros, cinéticos y estequiométricos, que permitan al investigador explicar de forma numérica, el sistema biológico bajo estudio; pero aún más es importante la posibilidad de disponer del valor de las variables que se consideren determinantes en dicho sistema, sin esto se hace imposible el uso de cualquier modelo matemático, en cualquier área.

En el caso del modelo ASM1, las condiciones para su aplicación, sus variables y parámetros, tanto cinéticos como estequiométricos, fueron descritos al detalle en la fase metodológica, sin embargo, a pesar de que se disponían de valores teóricos para dichos parámetros y de una serie temporal de concentraciones de las diferentes especies de nitrógeno; no se disponían de una serie temporal de datos de la concentración de microorganismos totales, microorganismos heterótrofos y microorganismos autótrofos en el humedal, por lo cual no fue posible la aplicación de dicho modelo para describir la cinética de nitrógeno en el Tancat de la Pipa.

Adaptación de la Cinética del nitrógeno.

○ *Nitrógeno orgánico [NO]*

$$S_{KNO} = \frac{\partial[NO]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * f_{NO} - k_{minN} * \theta^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - \frac{V_{SNO} * (1 - f_{NOD})}{H} * [NO]$$

La ecuación planteada para la cinética de nitrógeno orgánico, está formada por tres términos que engloban los procesos involucrados en su dinámica. El primer término hace referencia a la influencia del fitoplancton sobre la producción de nitrógeno orgánico en todas sus formas, aminoácidos, urea, ácido úrico, purinas y pirimidinas; el segundo término describe de forma implícita la influencia de la actividad microbiana sobre el consumo de nitrógeno orgánico y su transformación a nitrógeno amoniacal; por último, el tercer término de la ecuación se refiere al impacto del proceso físico de sedimentación del nitrógeno orgánico, sobre su concentración dentro de la zona de estudio, en el Cuadro 8 se resumen los parámetros calculados de S_{KNO} para cada filtro

Cuadro 8.- Parámetros teóricos y calculados para la cinética de degradación de nitrógeno orgánico en los FG's

Parámetro	Rango	Valor calculado		
		FG ₁	FG ₂	FG ₃
D	(0,05 – 0,20)	0,20	0,20	0,20
k_{minN}	(0,004 – 0,53)	0,53	0,53	0,53
$\theta_{minN}^{(T-20)}$	(1,02 – 1,103)	1,03245	1,0449	1,0449
k_{mNC}	(0,001 – 0,9)	0,9	0,9	0,7914
V_{sNO}	(0,05 – 0,5)	0,1175	0,5	0,5

De los elementos que conforman el primer término de la ecuación, sólo se calibró el parámetro D (constante de velocidad de muerte y respiración del fitoplancton) de acuerdo a las concentraciones de fitoplancton medidas en los filtros, obteniéndose un valor de $0,20 \text{ día}^{-1}$ para cada filtro, que coincide con el valor máximo del rango teórico estimado y con investigaciones hechas sobre modelos matemáticos de calidad de aguas y eutrofización en lagos (Jorgensen, 1976; Rodgers y Salisbury, 1981) y sistemas de calidad de agua en ríos y reservorios (Smith, 1978). El parámetro D es un valor resultante de la suma de la tasa de respiración (r) y la tasa de excreción o muerte (e_x) del fitoplancton, en esta última se considera a su vez tanto la muerte por depredación como la descomposición del fitoplancton; el valor obtenido es concordante con las condiciones de eutrofización que actualmente presenta el lago L'Albufera, el cual a pesar de los grandes esfuerzos que se han

hecho para tratar de reducir sus niveles de concentración de clorofila a, estos se han mantenido en una media anual por encima de 100 $\mu\text{g/L}$ durante los últimos diez años (Martín y *col*, 2013).

Del segundo término de la ecuación se calibró el parámetro k_{minN} (constante de mineralización del nitrógeno orgánico), obteniéndose un valor de $0,53 \text{ día}^{-1}$ para los tres filtros, valor que se encuentre dentro del rango teórico establecido en estudios de eficiencia depurativa hechos en humedales artificiales (Reddy y D'Angelo, 1997; Tanner y *col*, 2002), en investigaciones realizadas en modelos de calidad de aguas (Baca y *col*, 1973) y en modelos matemáticos planteados para estudiar la eutrofización de grandes lagos (Di Toro y Connolly, 1980; Di Toro y Matystik, 1980). La constante de mineralización hace referencia a la actividad de bacterias heterótrofas sobre todas las formas de nitrógeno orgánico que puedan estar presentes en el humedal, estos microorganismos aparte de consumir el nitrógeno orgánico para sus funciones metabólicas, son los encargados de la transformación de éste en nitrógeno amoniacal, una forma ionizada de nitrógeno y que sirve de sustrato para otro grupo de bacterias. El valor obtenido para k_{minN} en los tres filtros indica una alta actividad de este grupo de microorganismos, consecuencia del alto contenido de nitrógeno las aguas que ingresan al Tancat de la Pipa, provenientes del Puerto de Catarroja y el Barranco del Poyo, y sumado a esto, las condiciones de aireación, vegetación y factores meteorológicos, que presenta un humedal de flujo superficial de agua libre, permite el desarrollo de idóneo de microorganismos.

Otro parámetro calculado fue la constante de Arrhenius – Van't Hoff (θ_{minN}) como factor de corrección de temperatura para la mineralización del nitrógeno orgánico, obteniendo para cada filtro, valores de $\theta_{minN} = 1,03245$, $\theta_{minN} = 1,0449$ y $\theta_{minN} = 1,0449$; en FG₁, FG₂ y FG₃, respectivamente. Se obtuvieron valores similares para θ_{minN} en los tres filtros, encontrándose éstos dentro del rango teórico reportado en investigaciones previas (Smith, 1978; Baca y Arnett, 1976; Di Toro y Matystik, 1980; Nyholm, 1978). El valor más alto de θ_{minN} correspondió al calculado para FG₂ y FG₃ donde aparentemente la temperatura tuvo una mayor influencia sobre la tasa de crecimiento de los microorganismos

heterótrofos y en conciencia sobre la velocidad de mineralización del nitrógeno orgánico, este valor es coincidente con simulaciones hechas en lagos eutrofizados, en donde se modelaron los ciclos de nutrientes en el cuerpo de agua (Nyholm, 1978), además indica que el efecto de la temperatura sobre los procesos biológicos que ocurren dentro de estos filtros fue de mayor impacto en FG₂ y FG₃ que en FG₁. Teóricamente la tasa de mineralización de nitrógeno orgánico muestra un incremento paralelo al aumento de la temperatura en el hábitat, incluso con temperaturas superiores a los 35 °C (Stanford y col, 1973), el proceso esencialmente se detiene cuando la temperatura desciende a valores cercanos al punto de congelación (Kadlec y Reddy, 2001), además la eficiencia de los microorganismos responsables de la remoción de nitrógeno dentro de un humedal está estrechamente ligada a la temperatura, donde ocurre una optimización del proceso de degradación, cuando ésta supera los 15 °C (Vymazal, 1999; Kusch y col, 2003), en humedales con macrofitas, la interacción combinada de éstas con la temperatura, suele tener un efecto mucho más significativo sobre la eficiencia de degradación de nitrógeno (Newman y col, 2000; Yang y col, 2001; Kusch y col, 2003).

El elemento X_{NRC} está representado por una ecuación de Monod, la cual indica que la velocidad de reacción de ese término está limitada por la concentración del sustrato (fitoplancton) presente, estableciendo una inhibición competitiva por parte del fitoplancton sobre la velocidad de mineralización del nitrógeno orgánico. El elemento k_{mNC} (constante de semisaturación para la limitación de la mineralización del nitrógeno orgánico por parte del fitoplancton) se consideró como un parámetro a calibrar dentro de la ecuación, para lograr un mejor ajuste del modelo a los datos experimentales, éste fue de $k_{mNC} = 0,9$ para FG₁, FG₂ y $k_{mNC} = 0,7914$, para FG₃, coincidiendo dentro de los rangos teóricos reportados en las literaturas (Di Toro y Connolly, 1980; Di Toro y Matystik, 1980). Partiendo del principio de que la velocidad de reacción en un proceso biológico tenderá asintóticamente al valor máximo de su velocidad específica de reacción (k_{minN}), entonces una constante de semisaturación para cualquier proceso, está definida como la concentración a la cual la velocidad del proceso es igual a la mitad de su velocidad máxima de reacción. Los valores calculados para k_{mNC} en cada uno de los filtros, se encuentran por

encima del valor que dicho parámetro debería presentar, según la definición de constante de semisaturación y de acuerdo a la concentración de fitoplancton presente en los filtros; por ende se puede considerar como una situación límite para dicho proceso, en el cual la concentración del sustrato (fitoplancton) es mucho menor al valor de k_{mNC} , por lo tanto la velocidad de degradación del sustrato sería directamente proporcional a la concentración del mismo.

En el tercer término de S_{KNO} se calibró el parámetro V_{sNO} (velocidad de sedimentación del nitrógeno orgánico particulado), el cual arrojó un valor de $0,1175 \text{ m/día}$ para FG_1 y de $0,5 \text{ m/día}$, para FG_2 y FG_3 , estos dos últimos coincidiendo con el valor máximo reportado dentro de su rango teórico (Tetra Tech, 1976), dicho valor permite sugerir que las especies de nitrógeno orgánico presentes en los filtros, son aquellas de mayor peso molecular tal y como reportan investigaciones hechas en modelado de procesos bioquímicos en sistemas acuáticos (Chen y Wells, 1976), calidad de agua en ríos (Chen y Wells, 1975) y eutrofización en grandes lagos (Jorgensen, 1976). La sedimentación es uno de los procesos físicos de transformación de nitrógeno, que ocurre naturalmente dentro de un humedal y que depende de factores como densidad de la partícula y la turbulencia en el cuerpo de agua (Kadlec y Wallace, 2009) y aunque en una magnitud mucho menor que otros procesos, igual afecta la concentración de nitrógeno en el medio.

Para evaluar la bondad de ajuste de los datos predichos por los modelos, se propuso el uso del Índice de Eficiencia de Nash – Sutcliffe (NSE) (Nash y Sutcliffe, 1970) y el índice de Eficiencia Volumétrica (VE) (Criss y Wilson, 2008), estadísticos ampliamente usados en modelos de calidad de agua, sin embargo, debido a que el índice VE permitió la calibración de los parámetros en rangos biológicamente viables, en contraste con NSE , se decidió por el uso de VE como indicador de eficiencia. En el Cuadro 9, se presentan los valores del índice VE para S_{KNO} en cada filtro, el valor más alto de VE lo presentó la cinética desarrollada para FG_1 , indicando que los parámetros calibrados en dicho filtro permitieron un mayor ajuste de los datos modelados con respecto a los datos medidos en campo, a diferencia con los calibrados para FG_2 y FG_3 . De manera general la eficiencia de

predicción del modelo en el estudio de la cinética del nitrógeno orgánico fue satisfactoria, ya que los valores de VE estuvieron entre 0,36 – 0,75.

Cuadro 9.- Valores del índice VE en S_{KNO} para los FG's

Celda	$0 < VE < 1$	Eficiencia
FG ₁	0,6118	Satisfactoria
FG ₂	0,4829	Satisfactoria
FG ₃	0,3800	Satisfactoria

En las figuras 5, 6 y 7, se muestran los gráficos de los datos medidos de nitrógeno orgánico en las salidas de cada filtro junto a los datos del nitrógeno orgánico modelados, en donde se observa que, tal como ya lo indican los valores de VE calculados, se logra un mejor ajuste de los datos para FG₁, en comparación para FG₂ y FG₃, donde los datos predichos se alejan de los datos reales.

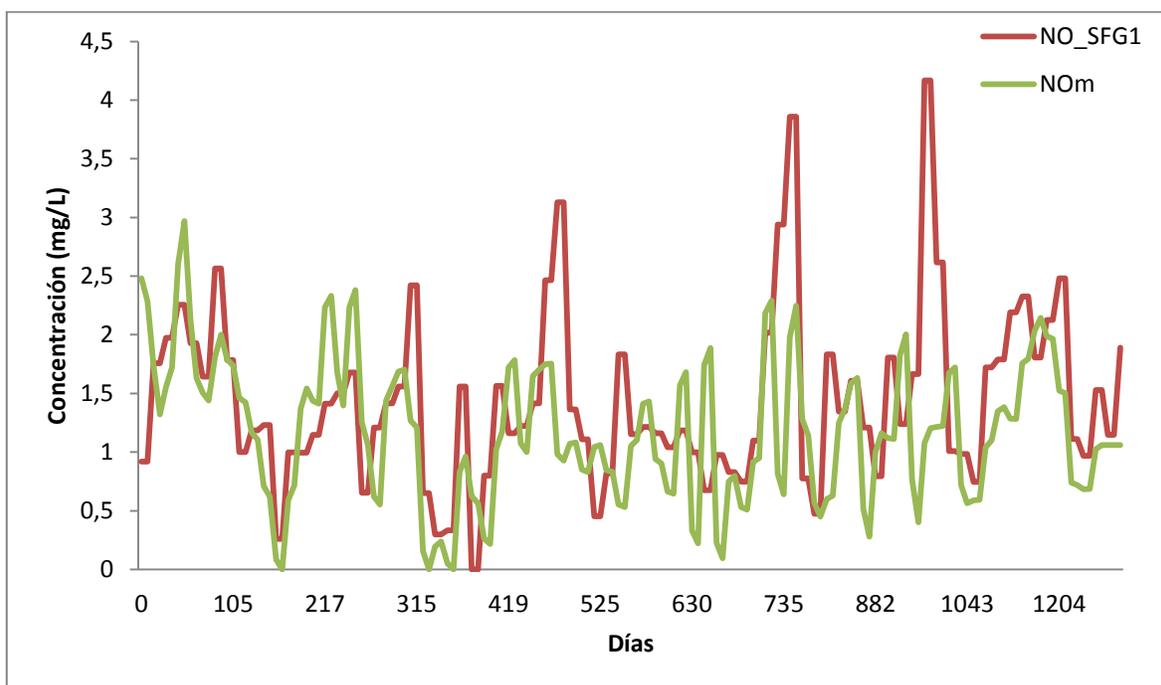


Figura 5.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitrógeno orgánico en el FG1

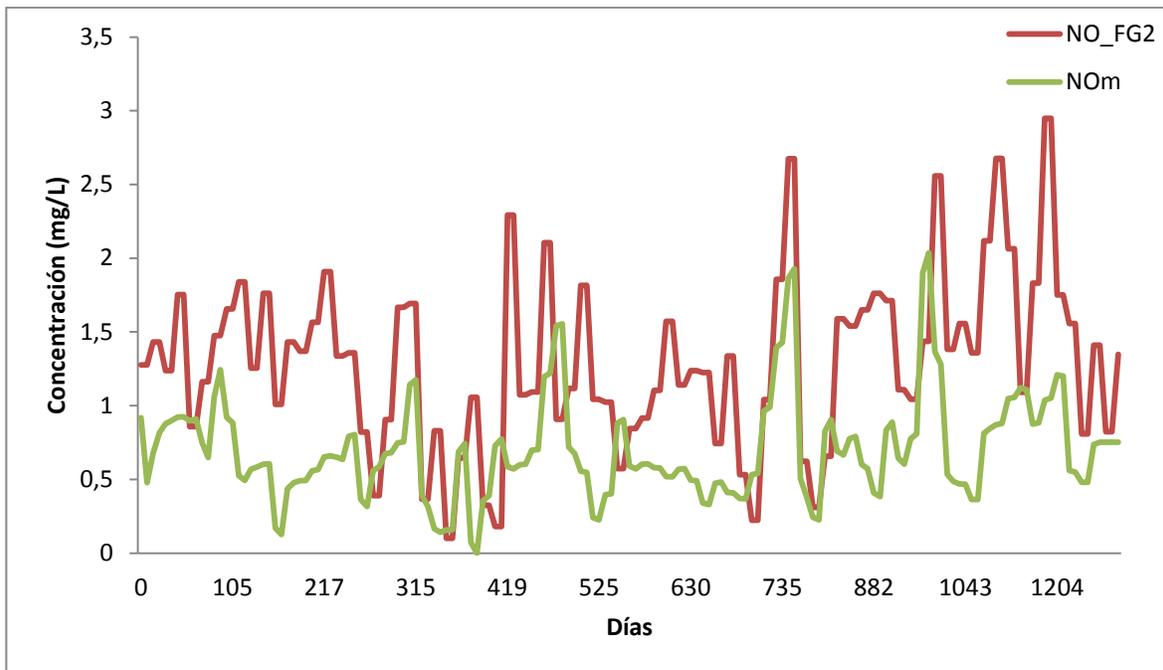


Figura 6.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitrógeno orgánico en el FG2

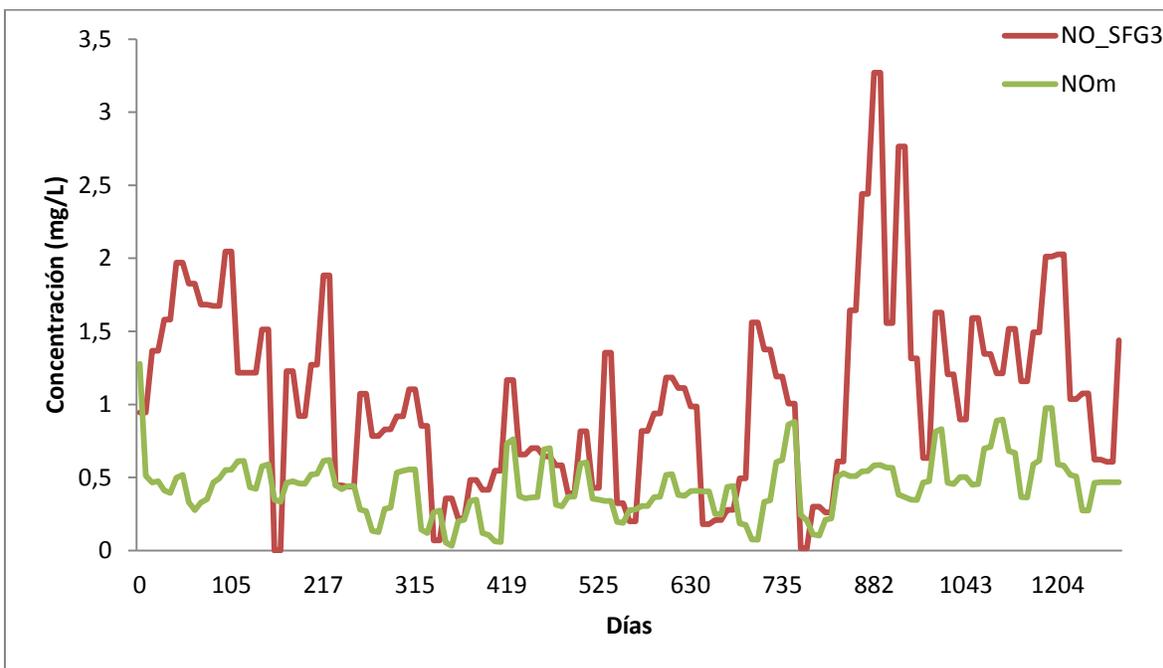
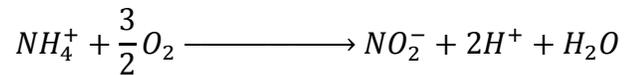


Figura 7.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitrógeno orgánico en el FG3

- **Nitrógeno amoniacal** [NH_4^+]

Nitrificación – Primera Etapa

La nitrificación usualmente es definida como la oxidación biológica del amonio a nitrato, con nitrito como un intermediario en la secuencia de la reacción (Hauck, 1984). Este proceso típicamente ha sido asociado con bacterias quimioautotróficas, aunque hoy día se reconoce que ocurre la nitrificación heterotrófica con relativa significancia (Paul y Clark, 1996). Es un proceso que ocurre en dos etapas e involucra a principalmente dos tipos de microorganismos, un grupo de microorganismos que oxida el amonio a nitrito (*Nitrosomonas*) y otro grupo que oxida el nitrito a nitrato (*Nitrobacter*) (Paul y Clark, 1996; Schmidt y col, 2001; Schmidt y col, 2003); en la primera etapa de la reacción estequiométricamente por cada gramo de amonio oxidado, se consumen 3,43 gramos de oxígeno, cumpliendo con la siguiente ecuación:



Este primer paso, en donde se oxida el amonio a nitrito, es ejecutado estrictamente por bacterias quimioautotróficas aerobias estrictas, las cuales son enteramente dependientes de la oxidación del amonio para la generación de energía para su crecimiento (Vymazal, 2007). La ecuación planteada para la cinética del amonio ($S_{kNH_4^+}$) está relacionada con S_{KNO} en dos términos, el primer considera la acción del fitoplancton, en sus procesos de respiración y muerte, y el segundo, considera la degradación y transformación del nitrógeno orgánico, ambos con aportes positivos hacia el cálculo de la concentración de amonio en el humedal. El tercer término hace referencia al crecimiento, desarrollo y preferencia de consumo de sustrato (amonio o nitrato) por parte del fitoplancton, y por último, el cuarto término involucra la actividad de microorganismos autótrofos sobre la degradación del amonio y su transformación bioquímica a nitrito. En el Cuadro 10, se resumen los parámetros calculados para $S_{kNH_4^+}$ en cada filtro.

$$S_{kNH_4^+} = \frac{\partial[NH_4^+]}{\partial t} = D * [fito] * a_{NC} * (1 - f_{NO}) + k_{minN} * \theta_{minN}^{(T-20)} * X_{NRC}[NO] - G * FP_{NH_4^+} * a_{NC} - k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT}[NH_4^+]$$

Cuadro 10.- Parámetros teóricos y calculados para la cinética de degradación de amonio en los FG's

Parámetro	Rango teórico	Valor calculado		
		FG ₁	FG ₂	FG ₃
D	(0,05 – 0,20)	0,20	0,20	0,20
k_{minN}	(0,004 – 0,53)	0,53	0,53	0,53
$\theta_{minN}^{(T-20)}$	(1,02 – 1,103)	1,03245	1,0449	1,0449
k_{mNC}	(0,001 – 0,9)	0,9	0,9	0,7914
G	(1,30 – 2,50)	2,50	2,50	2,50
k_{mN}	(0,001 – 1,30)	0,8611	0,4719	0,3723
k_{nitri}	(0,003 – 2,15)	3,15*	0,15	0,15
$\theta_{nitri}^{(T-20)}$	(1,02 – 1,103)	1,03245	1,05735	1,0449
k_{NIT}	(0,25 – 2,50)	2,50	2,50	2,0197

*Fuera de rango

Para los dos primeros términos, los parámetros fueron calibrados en S_{KNO} . En el tercer término, se calibró el valor de G (constante de velocidad de crecimiento del fitoplancton) cuyo valor fue de $2,50 \text{ dia}^{-1}$ para los tres filtros, éste coincide con el valor máximo teórico sugerido (Di Toro y Connolly, 1980; Thomann y Fitzpatrick, 1982; O'Connor y col, 1981) e igualmente coincide con los resultados obtenidos en investigaciones realizadas sobre la dinámica de fitoplancton en lagos junto a su relación con ciclos de nutrientes (Scavia, 1979; Salisbury y col, 1983; Larsen y col, 1973) y con el modelado de procesos en calidad de agua en ríos (Chen y Wells, 1975). El crecimiento del fitoplancton se desarrolla en función de la temperatura, radiación solar y disponibilidad de nutrientes, en cuanto a éstos, los nutrientes que limitan su crecimiento son fósforo, nitrógeno y carbón; otros micronutrientes esenciales como hierro, manganeso, azufre, zinc, cobre, cobalto, molibdeno y vitamina B₁₂ también limitan el crecimiento en condiciones de disponibilidad restringida. La temperatura tiene una influencia directa sobre el crecimiento y desarrollo del fitoplancton, aunque ésta depende de la especie presente; matemáticamente se consideran tres tipos de funciones para tratar de explicar el impacto de la temperatura

sobre el desarrollo del fitoplancton: la primera es una relación lineal entre la velocidad de crecimiento y la temperatura, donde se establece que la velocidad de crecimiento aumenta de forma lineal con la temperatura hasta que se alcanza un máximo biológico; la segunda es una curva exponencial de la velocidad de crecimiento basada en la ecuación de Arrhenius – Van't Hoff y la tercera es una curva de respuesta óptima, mediante la cual el crecimiento aumenta hasta una temperatura a partir de la cual disminuye (Martín y Marzal, 1999; Bowie *et al.*, 1985). Posiblemente, de acuerdo a las condiciones meteorológicas que rigen en la Comunidad Valenciana, el comportamiento de G esté fuertemente ligado al comportamiento de las variables climáticas de la región, obteniéndose incrementos y descensos paralelos entre la velocidad de crecimiento del fitoplancton y dichas variables climáticas, tal comportamiento temporal de G conlleva a un aumento o disminución, según sea el caso, del aporte del fitoplancton sobre la concentración del nitrógeno amoniacal en el humedal.

El factor de preferencia por el amonio ($FP_{NH_4^+}$) es un elemento indicativo sobre qué tipo de sustrato (amonio o nitrato) usa el fitoplancton para su crecimiento y desarrollo; en el cálculo de dicho factor se determinó el valor de k_{mN} (constante de semisaturación para el nitrógeno) que al igual que k_{mNC} se consideró como un parámetro a calibrar dentro de la ecuación, determinándose un valor particular para cada filtro 0,8611 mg/L para FG_1 , 0,4719 mg/L para FG_2 y 0,3723 mg/L para FG_3 ; valores que cumplen con el principio de constante de semisaturación y que se encuentran dentro de su rango teórico (O'Connor *et al.*, 1975). El comportamiento de k_{mN} está descrito por una disminución gradual desde FG_1 hasta FG_3 , tendencia esperada para dicho elemento de la ecuación, ya que la concentración de amonio disminuye secuencialmente desde FG_1 hasta FG_3 .

Del cuarto término de la ecuación, se calibró el valor de k_{nitri} (constante de nitrificación del amonio) obteniéndose valores de 3,15 $día^{-1}$ para FG_1 y 0,15 $día^{-1}$ para FG_2 y FG_3 . El valor obtenido para FG_1 se encuentra por encima del rango teórico, sugiriendo una alta actividad de bacterias amonio oxidantes en la zona, como consecuencia de las condiciones aerobias que presenta un humedal de flujo superficial de agua libre y de

la concentración de amonio *per se* en el área, producto tanto de la carga de nitrógeno amoniacal que entra a los filtros desde L'Albufera como de la actividad de microorganismos heterótrofos que actúan sobre las diversas especies de nitrógeno orgánico y lo transforman en nitrógeno amoniacal; este valor es coincidente con los rangos de k_{nitri} reportados en otras investigaciones, $(0,2 - 4,41) \text{ día}^{-1}$ (Gowda, 1983); $(1,10 - 7,10) \text{ día}^{-1}$ (Deb y col, 1983) y con los resultados obtenidos por Wezernak y Gannon, (1968); Stratton y McCarty, (1969) y Blain, (1969); quienes estudiando las zonas poco profundas del Río Clinton, Michigan, desarrollaron uno de los primeros modelos matemáticos para nitrificación, para el que obtuvieron rangos de k_{nitri} para la oxidación del amonio de entre $(3,10 - 6,20) \text{ día}^{-1}$.

Por otro lado, los valores de k_{nitri} para FG₂ y FG₃, se encuentran dentro del rango sugerido para este parámetro (Chen y Orlob, 1975; Reddy y D'angelo, 1997; Tanner y col, 2002), coincidiendo con los valores de k_{nitri} reportados por Curtis, (1983) y Ruane y Krenkel, (1978). El significado biológico de k_{nitri} en la primera etapa de la nitrificación, se refiere a la acción, sobre el amonio, de bacterias autótrofas (*Nitrosomonas*) estrictamente aerobias, que dependen enteramente de la oxidación de este compuesto para la generación de energía necesaria para su crecimiento (Paul y Clark, 1996).

La velocidad de nitrificación depende de factores ambientales tales como temperatura, pH, concentración de sustrato y presencia de compuestos tóxicos (Vymazal, 1995); y su cinética posee un grado de limitación por parte del sustrato, el cual viene determinado por una constante de semisaturación, a elevadas concentraciones de sustrato, se puede llegar a inhibir el desarrollo de este grupo de bacterias y en consecuencia la tasa de nitrificación (Anthonisen y col, 1976; Vadivelu y col, 2007; Van Hulle y col, 2007), contrariamente existen estudios en los que las inhibiciones por el sustrato se consideran despreciables (Hellings y col, 1999; Volcke, 2006; Moussa y col, 2005). Esta gran diversidad de resultados se puede deber a diferentes comunidades de bacterias y/o la aclimatación de la biomasa a condiciones extremas.

Otro parámetro calculado en el cuarto término de la ecuación, fue la constante de Arrhenius – Van't Hoff (θ_{nitri}) como factor de corrección de temperatura para la oxidación del amonio, obteniéndose los valores de $\theta_{nitri} = 1,03245$ para FG₁, $\theta_{nitri} = 1,05735$ para FG₂ y $\theta_{nitri} = 1,0449$ para FG₃; encontrándose estos dentro de su rango teórico (Smith, 1978). Estudios anteriores, en condiciones climáticas similares a las presentes en el Parque Natural L'Albufera, reportaron valores de θ_{nitri} de hasta 1,37 a temperaturas inferiores a 10 °C (Sutton y col, 1975; Randall y Buth, 1984); valores entre 1,07 – 1,16 en rangos de temperatura de entre 10 – 15 °C (Willers y col, 1993; Shammass, 1986) y valores de entre 1,06 – 1,12 en rangos de temperatura de entre 15 – 20 °C (Hutton y LaRocca, 1975; Shammass, 1986). El proceso de nitrificación es una reacción notablemente sensible a la temperatura, cuya tasa de acción cesa cuando la temperatura del hábitat aumenta por encima de los 45 °C.

Debido a que las bacterias amonio oxidantes requieren en el proceso de oxidación, una importante cantidad de oxígeno, el efecto de la limitación del crecimiento debido a una falta de oxígeno ha sido estudiado ampliamente. El efecto del oxígeno disuelto se ajusta a una cinética de Monod, que en esta ecuación se encuentra representado por el elemento X_{NIT} , la cual indica que la velocidad de reacción de ese término está limitada por la concentración del oxígeno disuelto presente en el humedal, estableciendo una inhibición competitiva por parte del oxígeno sobre la velocidad de oxidación del amonio. El elemento k_{NIT} (constante de semisaturación para la limitación de oxígeno para la nitrificación) se consideró como un parámetro a calibrar dentro de la ecuación, obteniéndose valores de 2,50 mg/L para FG₁ y FG₂, y de 2,0197 mg/L para FG₃, valores que se encuentran dentro del rango de 0,25 – 2,50 mg/L para cultivos de bacterias amonio oxidantes y nitrificantes (Painter, 1986), arrojando valores concordantes con la concentración promedio de oxígeno disuelto presente en los filtros y que de acuerdo a la definición de constante de semisaturación, éste elemento debería tener.

En el Cuadro 11, se presentan los valores del índice VE para $S_{kNH_4^+}$ en cada filtro, los cuales presentaron magnitudes por debajo de 0,36 en todos ellos, indicando que el

desempeño del modelo no fue satisfactorio en el estudio del proceso de amonificación, debido a que existe una marcada diferencia entre los datos predichos por el modelo y los medidos en campo, esta deficiencia en el ajuste se puede deber a la amplia variedad de factores físicos y biológicos, que influyen de manera directa e indirecta en el proceso de oxidación de amonio, y que no son del todo considerados en la ecuación planteada para su cinética, tales como la volatilización del amonio, la consideración de la fijación del nitrógeno como un aporte positivo a la concentración de amonio en el medio, la influencia del pH sobre los procesos, entre otros. La eficiencia del modelo

Cuadro 11.- Valores del índice VE en $S_{kNH_4^+}$ para los FG's

Celda	$0 < VE < 1$	Eficiencia
FG ₁	0,3323	No Satisfactoria
FG ₂	0,2559	No Satisfactoria
FG ₃	0,3487	No Satisfactoria

En las figuras 8, 9 y 10, se muestran los gráficos de los datos medidos de amonio en las salidas de cada filtro junto a los datos del amonio modelados, en donde se observa para cada filtro, tal como ya lo indican los valores de VE calculados, la amplia diferencia que existe entre los datos predichos por la ecuación y los medidos en campo.

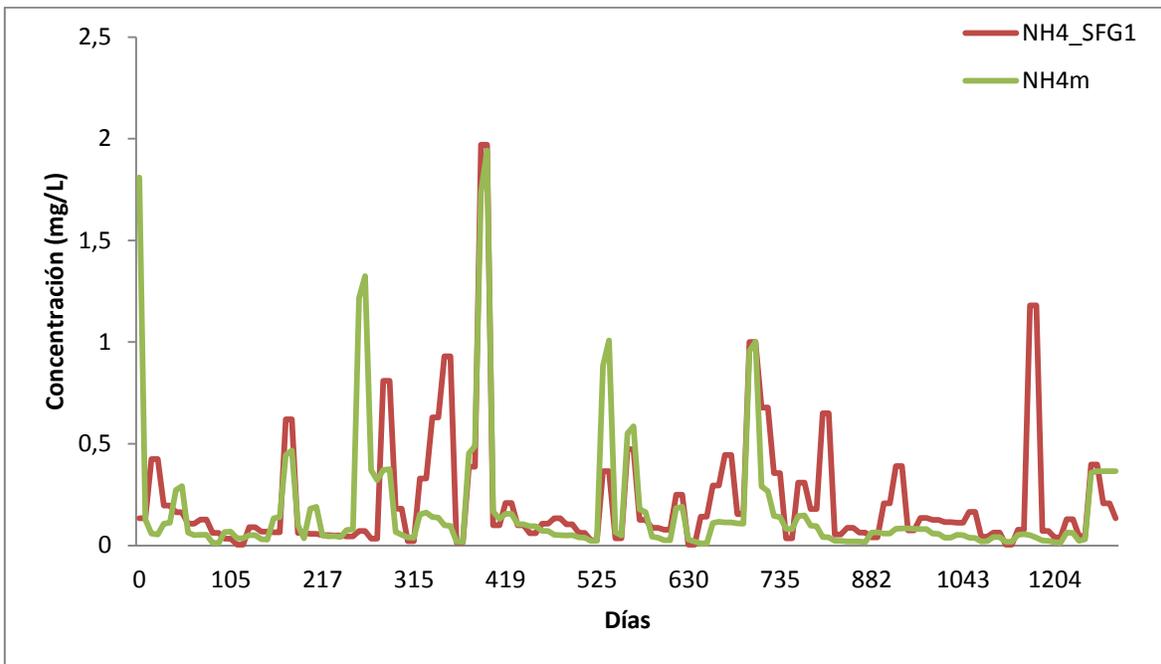


Figura 8.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de amonio en el FG1

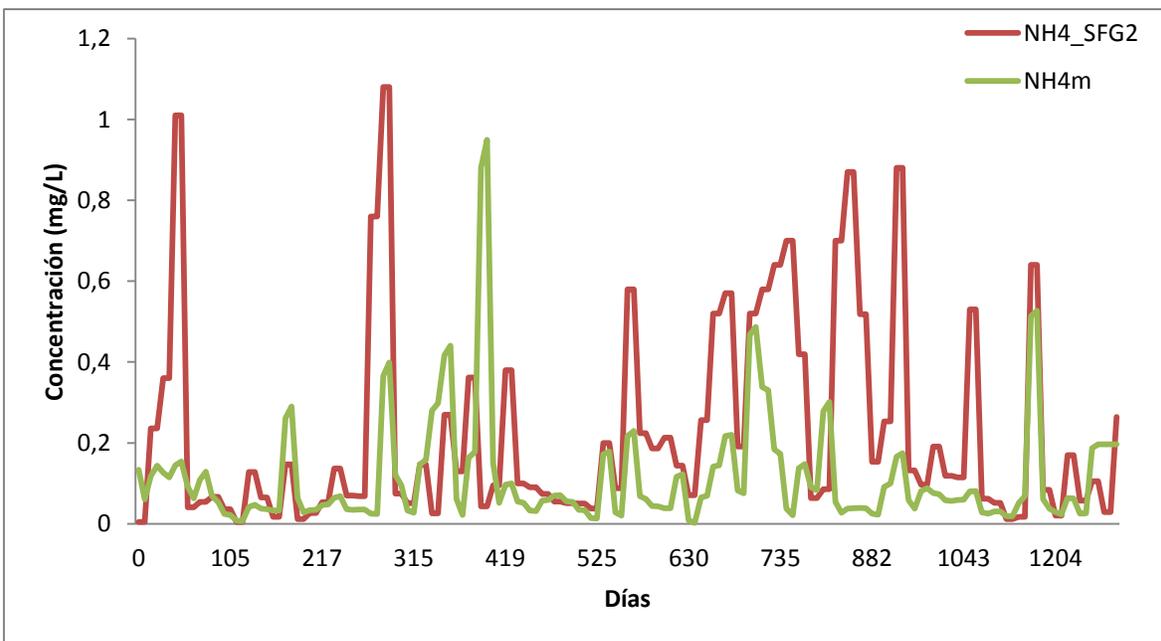


Figura 9.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de amonio en el FG2

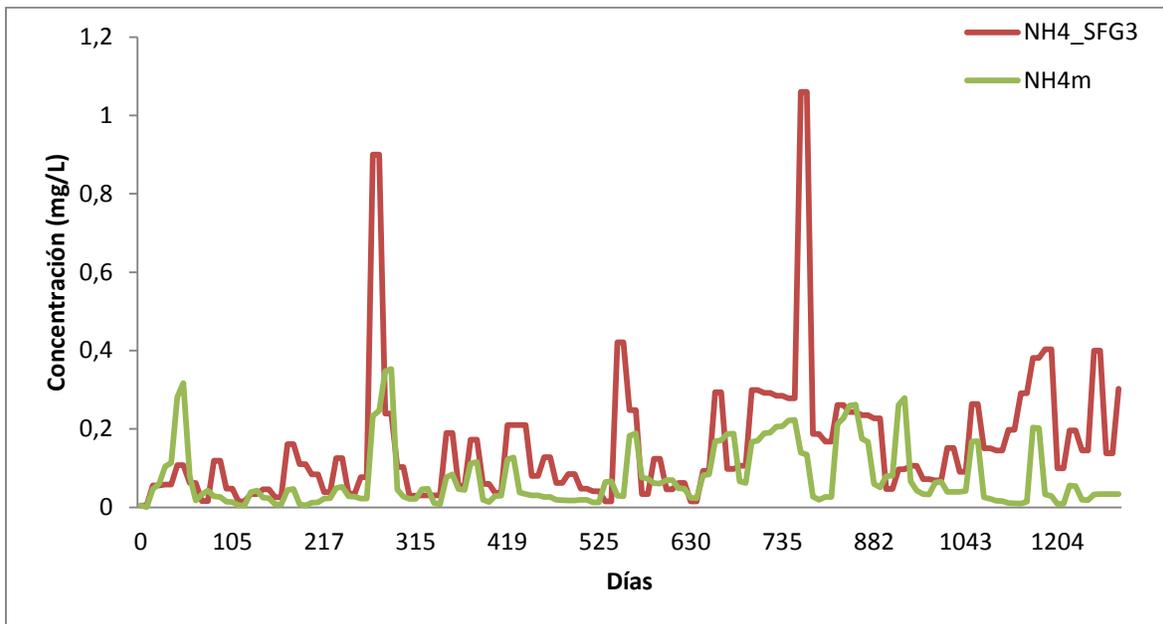
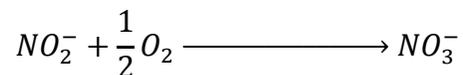


Figura 10.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de amonio en el FG3

Nitrificación – Segunda Etapa

La segunda etapa en el proceso de nitrificación, la oxidación del nitrito a nitrato, es realizada por bacterias quimiolitotróficas facultativas, representadas por bacterias del género *Nitrobacter*, las cuales pueden usar compuestos orgánicos en adición al nitrito, para la obtención de la energía necesaria para su crecimiento (Vymazal, 2007), en esta segunda etapa de la reacción, estequiométricamente por cada gramo de nitrito oxidado, se consumen 1,14 gramos de oxígeno, cumpliendo con la siguiente ecuación:



La ecuación planteada para la cinética del nitrito ($S_{kNO_2^-}$) considera la acción de microorganismos autótrofos nitrito oxidante sobre la degradación del nitrito y su transformación bioquímica a nitrato. En el Cuadro 12, se resumen los parámetros calculados para $S_{kNO_2^-}$ en cada filtro.

$$S_{kNO_2^-} = \frac{\partial [NO_2^-]}{\partial t} = -k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT} [NO_2^-]$$

Cuadro 12.- Parámetros teóricos y calculados para la cinética de degradación de nitrito en los FG's

Parámetro	Rango teórico	Valor calculado		
		FG ₁	FG ₂	FG ₃
k_{nitri}	(0,003 – 2,15)	6,61*	6,07*	5,99*
$\theta_{nitri}^{(T-20)}$	(1,02 – 1,103)	1,0449	1,103	1,0449
k_{NIT}	(0,25 – 2,50)	2,50	2,50	2,50

*Fuera de rango

La concentración de nitrito en el humedal, principalmente viene dada tanto por el aporte del caudal de entrada a los filtros desde L'Albufera como de la actividad microbiana sobre el amonio y su consecuente transformación a nitrito, este aporte se evidencia en la estequiometría del tercer y cuarto término de $S_{kNH_4^+}$ lo cuales tienen un efecto negativo (consumo) sobre la concentración de amonio y positivo (producción) sobre la concentración de nitrito.

En la cinética planteada para la degradación de nitrito, se hace referencia a un único término en el que se considera la acción de microorganismos autótrofos (bacterias quimiolitotróficas facultativas) sobre esta especie de nitrógeno, su uso y consumo por parte de este grupo de microorganismos y la consecuente transformación del nitrito a nitrato. De este término se calibró el valor de k_{nitri} (constante de nitrificación del nitrito) arrojando valores de $6,61 \text{ día}^{-1}$ para FG₁, $6,07 \text{ día}^{-1}$ para FG₂ y $5,99 \text{ día}^{-1}$ para FG₃, superando en gran proporción el rango teórico propuesto para esta reacción, pero coincidiendo con los trabajos del Wezernak y Gannon, (1968); Stratton y McCarty, (1969); Blain, (1969); Deb y col, (1983) y Koltz, (1982); quienes trabajando en ríos y estuarios poco profundos en Canadá y EEUU, zonas con condiciones climáticas similares a L'Albufera, reportaron valores de k_{nitri} , para esta segunda etapa de la nitrificación, de hasta $9,00 \text{ día}^{-1}$, concluyendo además que la nitrificación era el mecanismo primario responsable en las transformaciones de nitrógeno observadas. De igual forma que en las cinéticas anteriores,

para $S_{kNO_2^-}$ se calibró la constante de Arrhenius – Van't Hoff (θ_{nitri}) como factor de corrección de temperatura para la oxidación del nitrito, obteniéndose valores de $\theta_{nitri} = 1,0449$ para FG_1 , $\theta_{nitri} = 1,103$ para FG_2 y $\theta_{nitri} = 1,0449$ para FG_3 ; encontrándose estos dentro de su rango teórico (Smith, 1978), correspondiendo con los valores reportados en los modelos MIT Nitrogen (Harleman y col, 1977); Bigth New York (O'Connor y col, 1981); QUAL – II (Roesner y col, 1981) y Estuary Potomac (Thomann y Fitzpatrick, 1982); primeros modelos matemáticos formulados para el estudio de la cinética de nitrógeno en ríos y estuarios.

De manera similar que la primera etapa de la nitrificación, las bacterias implicadas en este proceso requieren una importante cantidad de oxígeno disuelto en el agua para poder llevar a cabo el proceso de oxidación del nitrito. El efecto del oxígeno disuelto se ajusta a una cinética de Monod, que al igual que en $S_{kNH_4^+}$ se encuentra representado por el elemento X_{NIT} , el cual indica que la velocidad de reacción de ese término está limitada por la concentración del oxígeno disuelto presente en el humedal, estableciendo una inhibición competitiva por parte del oxígeno sobre la velocidad de oxidación del nitrito y afectando de forma directa la velocidad de degradación del mismo. El elemento k_{NIT} (constante de semisaturación para la limitación de oxígeno para la nitrificación) se consideró como un parámetro a calibrar dentro de la ecuación, obteniéndose valores de $2,50 \text{ mg/L}$ para los tres filtros, valores que se encuentran dentro del rango de $0,25 - 2,50 \text{ mg/L}$ para cultivos de bacterias amonio oxidantes y nitrificantes (Painter, 1986), correspondiendo con valores de concentración promedio de oxígeno disuelto presente en el humedal y que teóricamente debería presentar.

En el Cuadro 13, se presentan los valores del índice VE para $S_{kNO_2^-}$ en cada filtro, para FG_1 y FG_2 el modelo tuvo un desempeño satisfactorio, ya que el valor de VE en cada uno estuvo en el rango de $0,36 - 0,75$, caso contrario ocurrió para FG_3 cuyo desempeño se consideró no satisfactorio, su valor para VE fue inferior a $0,36$, indicando diferencias entre los datos arrojados por el modelo y los medidos en campo, al igual que en la primera etapa

de la nitrificación esta deficiencia en el ajuste del modelo, se puede deber a la amplia variedad de factores físicos y biológicos, que influyen de manera directa e indirecta en el proceso de oxidación de nitrito, y que no son considerados en la ecuación propuesta para el estudio de su cinética.

Cuadro 13.- Valores del índice VE en $S_{kNO_2^-}$ para los FG's

Celda	$0 < VE < 1$	Eficiencia
FG ₁	0,4790	Satisfactoria
FG ₂	0,4155	Satisfactoria
FG ₃	0,2386	No Satisfactoria

En las figuras 11, 12 y 13, se muestran los gráficos de los datos medidos de nitrito en las salidas de cada filtro junto a los datos de nitrito predichos por el modelo, en donde se observa para cada filtro, tal como ya lo indican los valores de VE calculados, existe una marcada diferencia entre los datos arrojados por la ecuación y los medidos en campo.

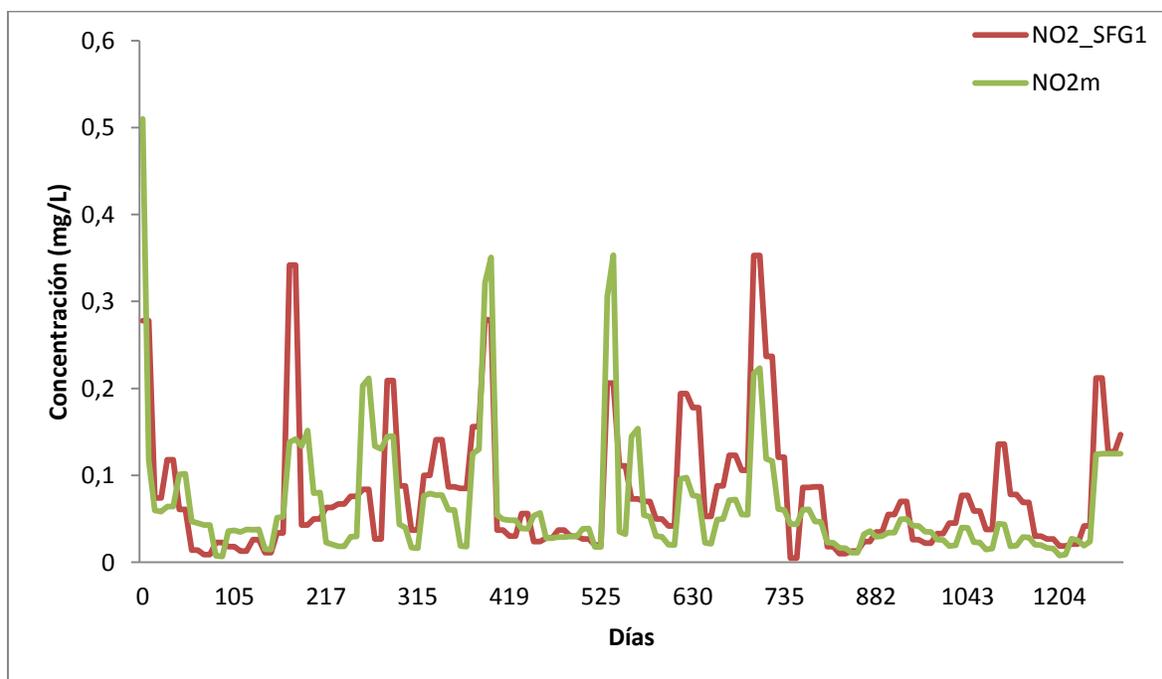


Figura 11.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitritos en el FG1

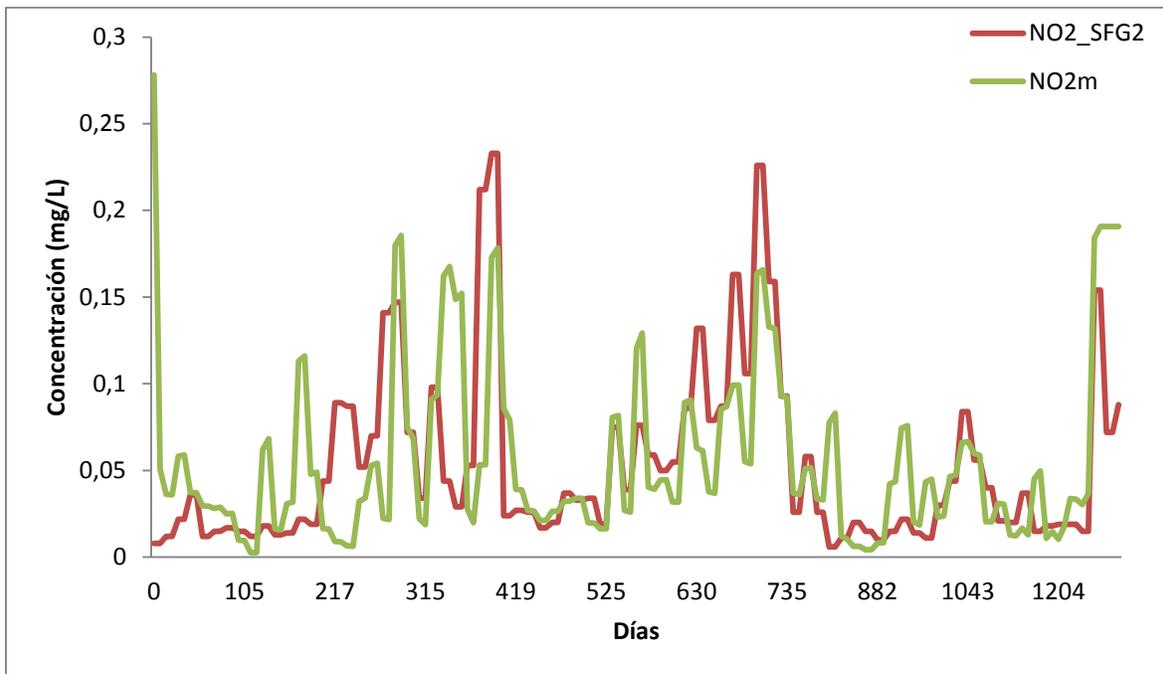


Figura 12.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitritos en el FG2

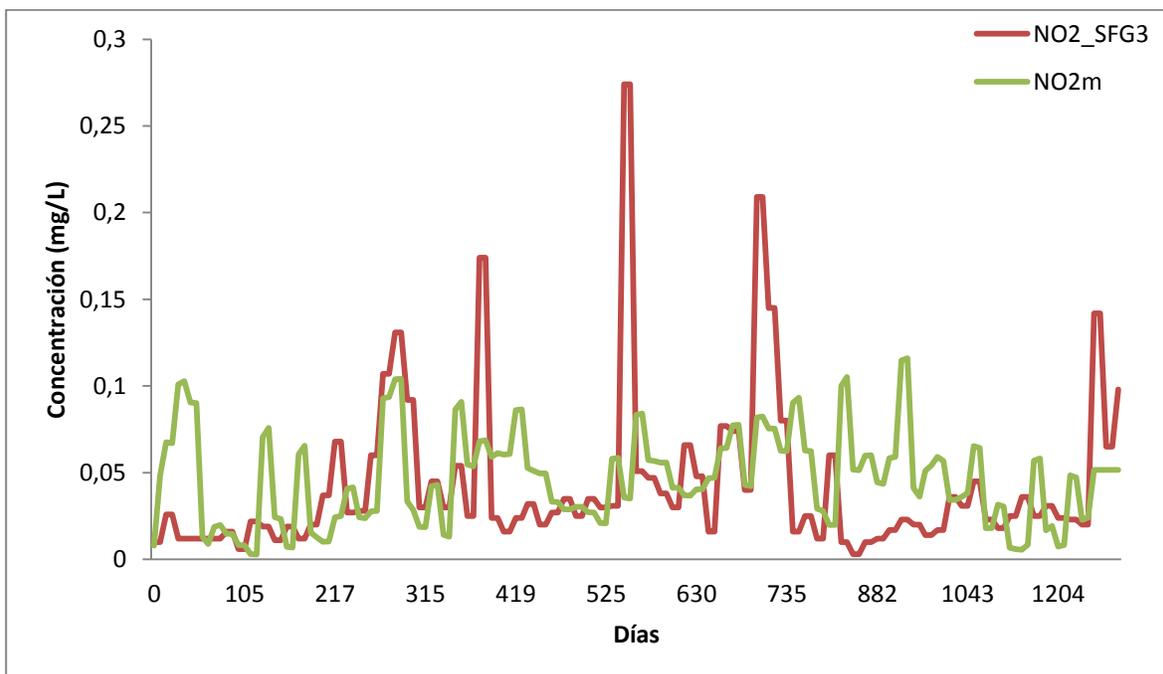


Figura 13.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitritos en el FG3

De manera general el proceso de nitrificación es influenciado por diferentes factores, en primer lugar destaca la concentración de nitrógeno amoniacal y nitrito (Wild y col, 1971; Sharma y Ahlert, 1977; Bridle y col, 1979), estos son fuentes de energía para las bacterias que oxidan estas especies de nitrógeno, por ello, junto con la concentración de oxígeno disuelto se consideran como los factores limitantes más importantes en el crecimiento de estos microorganismos; si sus concentraciones son muy elevadas pueden llegar a inhibir la actividad de estos microorganismos en el medio, en consecuencia incidir directamente en la velocidad de reacción de la nitrificación (Anthonisen y col, 1976; Wiesmann, 1994; Vadivelu y col, 2007; Van Hulle y col, 2007), particularmente las bacterias nitrito oxidantes son más sensibles que las amonio oxidantes, a los efectos inhibitorios, consecuencia de la concentración de estos compuestos en el medio (Vadivelu y col, 2007; Emérta, 2010); por otra parte la concentración de oxígeno disuelto es el segundo factor de importancia que influye sobre la nitrificación, ya que este grupo de bacterias requieren una importante cantidad de oxígeno durante el proceso de oxidación; resulta un hecho constatado que las bacterias que oxidan amonio tienen una constante de saturación diferente que la de las bacterias que oxidan nitrito. Existen estudios que determinan que las bacterias amonio oxidantes tienen una menor afinidad por el oxígeno que las bacterias nitrito oxidantes (Hellings y col, 1998; Pérez – Cañestro, 2004) y otros, que por el contrario, proponen una constante de afinidad mayor para las nitrito oxidantes (Wiesmann, 1994; Guisasola y col, 2005; Ciudad y col, 2006), pero hay que tener también en cuenta que elevadas concentraciones de oxígeno pueden llegar a tener un efecto inhibitorio.

Otros factores que influyen la nitrificación son la temperatura, el valor de pH, la alcalinidad del agua, fuentes inorgánicas de carbono, humedad, sólidos suspendidos y población microbiana (Wild y col, 1971; Sharma y Ahlert, 1977; Hockenbury y Grady, 1977; Kholdebarin y Oertli, 1977a; Kholdebarin y Oertli, 1977b; Bridle y col, 1979; Stenstrom y Poduska, 1980; Quinlan, 1980; Vymazal, 1995). La temperatura óptima para a nitrificación en cultivos puros varía en un rango de 20 – 35 °C y en suelos en un rango de 30 – 40 °C, Cooper y col, (1996), señalan que la temperatura óptima de crecimiento para *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* son de 5 y 4 °C, respectivamente. En la zona de L'Albufera

rige un clima estacional, con marcadas diferencias en las temperaturas registradas entre estaciones, lo que induce una variación de la velocidad de reacción junto a la temperatura provocado por una modificación generalizada en la velocidad de las reacciones enzimáticas con esta variable climática. En época de verano es posible que ocurra muerte de los microorganismos a altas temperaturas, esto debido a la desnaturalización de las proteínas y a las alteraciones producidas en las membranas lipídicas a esas temperaturas. Caso contrario sucede en invierno, cuya falta de crecimiento a temperaturas muy bajas se debe a la reducción de la velocidad de crecimiento por la reducción de la velocidad de reacción y al cambio de estado de los lípidos de la membrana celular que pasan de ser fluidos a cristalinos, impidiendo el funcionamiento de la membrana celular. También es importante destacar que la temperatura tiene un efecto diferente sobre la actividad de las bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes. Las amonio oxidantes tienen una mayor tasa de crecimiento que las bacterias nitrito oxidantes, a una temperatura superior a 15 °C, pero esta tendencia se invierte a temperaturas inferiores (Hellings y col, 1998), una alta temperatura no solamente favorece al crecimiento de las amonio oxidantes, también incrementa la diferencia entre las tasas de crecimiento de ambos grupos de bacterias (Balmelle, 1992; Hunik, 1993; Yoo y col, 1999), estas condiciones meteorológicas afectan directamente la tasa de nitrificación, en sus dos etapas, afectando en consecuencia la oxidación de amonio y nitrito, y su aporte en la transformación a nitrato; provocando una mayor o menor contribución, de uno u otro grupo de microorganismo, dependiendo de la época del año.

Por otro lado, se conoce que el proceso de nitrificación es muy sensible al pH del medio. Las bacterias autótrofas nitrificantes requieren de un rango determinado de pH para poder llevar a cabo el proceso de oxidación de amonio y nitrito en condiciones óptimas. En la limitación del crecimiento de las bacterias debido al pH se pueden diferenciar dos causas. La primera es que el pH afecta directamente a la actividad enzimática, lo que provoca una pérdida de actividad en las células, este es debido a la activación – desactivación de las bacterias, relacionado con la inhibición de los sitios activos de las enzimas por la unión de iones H^+ y OH^- (García y Fernández-Polanco, 1996). La segunda causa es la concentración de protones, cuya influencia afecta al equilibrio ácido-base de los sustratos

de ambos grupos de bacterias: NH_3/NH_4^+ y HNO_2/NO_2^- (lo cual puede provocar inhibición) y afecta también a la concentración disponible de HCO_3^- (fuente de carbono). Paul y Clark, (1996) reportaron que un valor de pH óptimo podría variar de 6,6 a 8,0, sin embargo, en sistemas climatizados la nitrificación podría optimizarse a valores de pH mucho más bajos (Cooper y col, 1996). Durante las mediciones realizadas en las tomas de muestras, el pH reportado estuvo dentro del rango óptimo de actividad, mencionado en la literatura, variando desde 7,17 a 8,92; lo que sugiere que la estabilidad que presenta dicho factor, no afectaría de forma significativa el desempeño de la actividad microbiana dentro del humedal y en consecuencia a la tasa de nitrificación.

○ **Nitratos [NO_3^-]**

La segunda etapa del proceso biológico de eliminación de nitrógeno es la desnitrificación, es un proceso mediante el cual las bacterias heterotróficas facultativas, en ausencia de oxígeno, utilizan el nitrato como aceptor de electrones para degradar la materia orgánica. De este modo, las bacterias en presencia de una fuente de carbono, reducen el nitrato a nitrógeno gas dando fin al proceso de eliminación biológica de nitrógeno (Brock, 1994). La reacción general de desnitrificación utilizando metanol como fuente de carbono, se representa a partir de la siguiente ecuación:



La expresión empleada en los modelos de eutrofización para el término fuente/sumidero para los nitratos es $S_{kNO_3^-}$, dicha expresión está compuesta de tres términos, el primero hace referencia a la acción del fitoplancton sobre el consumo de nitrato, empleando de esta especie de nitrógeno como fuente de energía para llevar a cabo sus actividades fisiológicas. El segundo término proviene de $S_{kNO_2^-}$ y hace referencia a la actividad de bacterias nitrificantes sobre la degradación del nitrito y su aporte a la concentración de nitratos. Por último, el tercer término implica la actividad de los microorganismos, principalmente heterótrofos facultativos, responsables de la degradación

y consumo de nitrato en los filtros. En el Cuadro 14, se resumen los parámetros calculados para $S_{kNO_3^-}$ para cada filtro.

$$S_{kNO_3^-} = \frac{\partial[NO_3^-]}{\partial t} = -G * (1 - FP_{NH_4^+}) * [fito] * a_{NC} + k_{nitri} * \theta_{nitri}^{(T-20)} * X_{NIT} * [NH_4^+] - k_{dnit} * \theta_{dnit}^{(T-20)} * X_{DENIT} * [NO_3^-]$$

Cuadro 14.- Parámetros teóricos y calculados para la cinética de degradación de nitrato en los FG's

Parámetro	Rango teórico	Valor calculado		
		FG ₁	FG ₂	FG ₃
G	(1,30 – 2,50)	2,50	2,50	2,50
k_{mN}	(0,001 – 1,30)	0,8611	0,4719	0,3723
k_{nitri}	(0,003 – 2,15)	6,61*	6,07*	5,99*
$\theta_{nitri}^{(T-20)}$	(1,02 – 1,103)	1,0449	1,103	1,0449
k_{NIT}	(0,25 – 2,50)	2,50	2,50	2,50
k_{dnit}	(0,002 – 1,02)	9,02*	9,02*	6,02*
$\theta_{dnit}^{(T-20)}$	(0,80 – 1,09)	1,037	1,0635	1,09
$k_{NO_3^-}$	(0,002 – 1,0)	1,0	0,7152	0,5506

*Fuera de rango

En las ecuaciones planteadas para las cinéticas de la amonificación y nitrificación, en sus dos etapas, se calibraron los parámetros que forman los dos primeros términos de $S_{kNO_3^-}$, aquí son expresados de manera que expliquen su influencia sobre la concentración de nitratos en el humedal; así mismo la introducción del factor de preferencia de consumo de NH_4^+ por parte del fitoplancton en el primer término de $S_{kNO_3^-}$, sugiere que el consumo de nitratos sólo se produzca cuando la concentración del primero sea suficientemente baja. Como sustancia disuelta, los nitratos se desplazan entre la columna de agua y el agua intersticial del sedimento, provocando un flujo cuya dirección dependerá de su concentración en ambos medios.

Para este último término se calibró el parámetro k_{dnit} (Constante de desnitrificación) arrojando valores de $9,02 \text{ día}^{-1}$ para FG_1 y FG_2 , y de $6,02 \text{ día}^{-1}$ para FG_3 , valores que exceden en gran proporción a los límites sugeridos en literatura. La desnitrificación comúnmente es definida como un proceso mediante el cual el nitrato es convertido en nitrógeno gaseoso, bioquímicamente es un proceso bacterial en el cual óxidos de nitrógeno sirven como aceptor final de electrones; desde este punto de vista, los valores obtenidos para k_{dnit} indican una elevada actividad de microorganismos sobre esta especie de nitrógeno, favorecida por las condiciones anóxicas, alta disponibilidad de nitrato y carbón orgánico biodisponible. Sin embargo, se sabe que este parámetro es afectado por factores a diferentes escalas; a nivel de proceso la actividad bacteriana está influenciada directamente por la temperatura y las condiciones redox. A su vez estos factores de proceso pueden ser afectados por factores a nivel del humedal, tales como flujo de agua, carga de nutrientes y la comunidad de plantas que se hayan desarrollado en él. Finalmente el humedal está influenciado por factores a nivel de ecosistema, tales como el clima y el uso de la tierra (Bastviken, 2006).

Otro parámetro calibrado fue la constante de Arrhenius – Van't Hoff (θ_{dnit}) como factor de corrección de temperatura para la desnitrificación, obteniendo $\theta_{dnit} = 1,037$ para FG_1 , $\theta_{dnit} = 1,0635$ para FG_2 y $\theta_{dnit} = 1,09$ para FG_3 , valores que se encuentran dentro del rango teórico que se ha registrado para este parámetro y coincide con los datos reportados por Baca y Arnett, (1976); en su modelo limológico para lagos eutrofizados; al igual que Di Toro y Connolly, (1980) en su modelo matemático para calidad de agua en grandes lagos y Thomann y Fitzpatrick, (1982) en su modelo matemático para el estudio de la eutrofización del estuario Potomac, Montana, EEUU.

La disminución del contenido de nitrato en la columna de agua, esencialmente se debe a su consumo como nutriente por parte del fitoplancton y al proceso de desnitrificación, este último está limitado por la presencia de oxígeno disuelto en el agua. La forma de expresar esta dependencia es mediante una ecuación de Monod, representado en la ecuación de $S_{kNO_3^-}$ por el elemento X_{DENIT} , el cual teóricamente sugiere una

inhibición no competitiva por parte de la concentración de oxígeno disuelto en el agua sobre la degradación del nitrato; la constante de inhibición en X_{DENIT} está representado por $k_{NO_3^-}$ (constante de Michaelis para la desnitrificación), el cual se consideró como un parámetro a calibrar en cada uno de los filtros, arrojando valores de $k_{NO_3^-} = 1,0 \text{ mg/L}$ para FG_1 , $k_{NO_3^-} = 0,7152 \text{ mg/L}$ para FG_2 y $k_{NO_3^-} = 0,5506 \text{ mg/L}$ para FG_3 , valores que se encuentran dentro del rango teórico que se ha descrito para dicho parámetro, y que en cuyo comportamiento se observa que $k_{NO_3^-}$ disminuye gradualmente desde FG_1 hasta FG_3 , indicando que el efecto inhibitorio de la concentración de oxígeno disuelto sobre la desnitrificación es menor desde FG_1 hasta FG_3 , comportamiento que teóricamente sugiere un posible aumento de la influencia de otros factores que afectan dicho proceso.

En el Cuadro 15, se presentan los valores del índice VE para $S_{kNO_3^-}$ en cada filtro, al igual que en la segunda etapa de la nitrificación, para FG_1 y FG_2 el modelo tuvo un desempeño satisfactorio, ya que el valor de VE en cada uno estuvo en el rango de 0,36 – 0,75, caso contrario ocurrió para FG_3 cuyo desempeño se consideró no satisfactorio, su valor para VE fue inferior a 0,36, indicando diferencias entre los datos arrojados por el modelo y los medidos en campo, de manera similar que en las cinéticas anteriores esta deficiencia en el ajuste del modelo, se puede deber a la amplia variedad de factores físicos y biológicos, que influyen de manera directa e indirecta en el proceso de oxidación de nitrato, y que no son considerados en la ecuación.

Cuadro 15.- Valores del índice VE en $S_{kNO_3^-}$ para los FG's

Celda	$0 < VE < 1$	Eficiencia
FG_1	0,4513	Satisfactoria
FG_2	0,4041	Satisfactoria
FG_3	0,3451	No Satisfactoria

En las figuras 14, 15 y 16, se muestran los gráficos de los datos medidos de nitrato en las salidas de cada filtro junto a los datos predichos por el modelo, en donde se observa para cada filtro, tal como ya lo indican los valores de VE calculados, existe una marcada

diferencia entre los datos arrojados por la ecuación y los medidos en campo, dicha diferencia es más notoria para FG_3 .

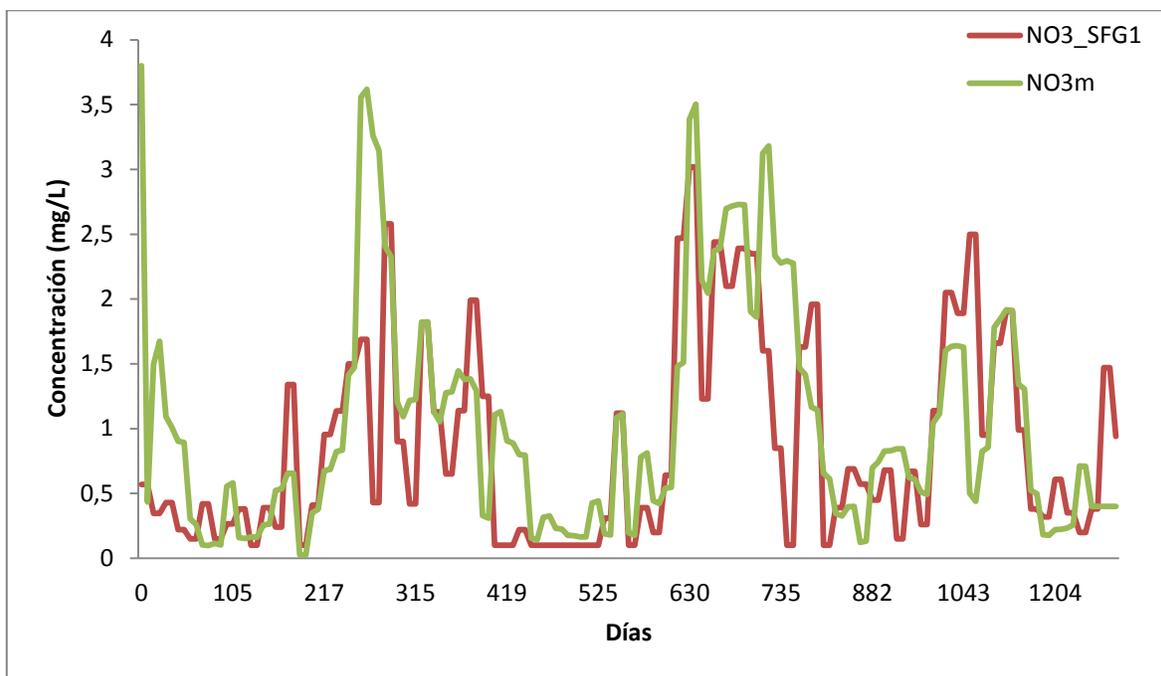


Figura 14.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitratos en el FG1

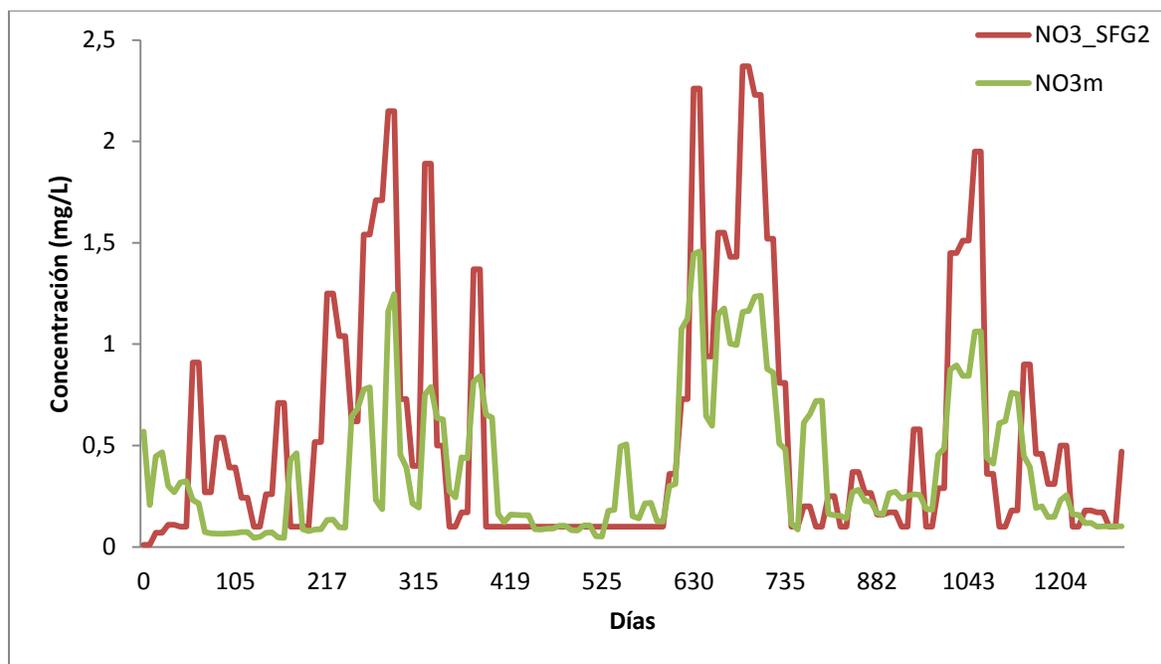


Figura 15.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitratos en el FG2

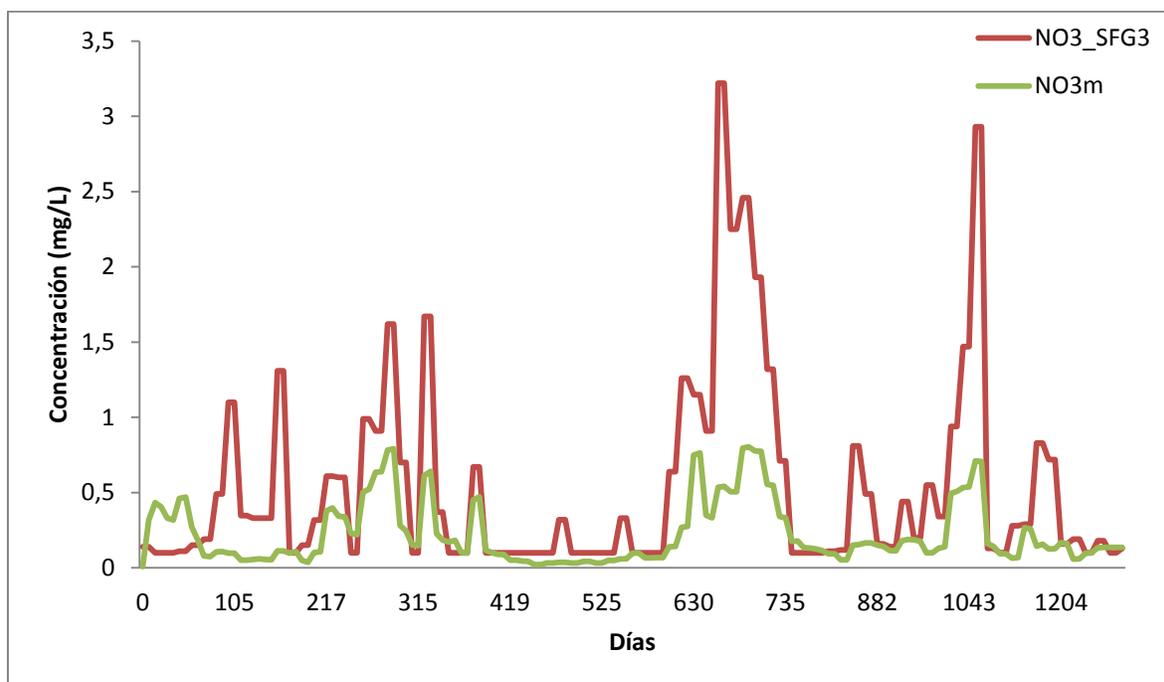


Figura 16.- Gráfica comparativa de datos medidos versus modelados, de nitratos en el FG3

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los procesos y las variables consideradas en las ecuaciones planteadas por Martin y Marzal, (1999) para el estudio de la cinética de nitrógeno y aplicadas en el Tancat de la Pipa, permitieron explicar un buen porcentaje de los datos medidos en cada uno de los filtros, con diferentes niveles de adaptación para cada uno de ellos. De manera general la eficiencia promedio del modelo puede considerarse como satisfactoria, pero en gran medida, mejorable. La cinética del nitrógeno orgánico fue la que menor diferencia arrojó entre los datos medidos y los datos predichos por el modelo.

El nitrógeno orgánico, en todas sus formas, participa en una serie de procesos biológicos involucrados con su consumo y utilización por parte del fitoplancton y las macrofitas; de igual forma ocurren procesos físicos como resuspensión, adsorción y difusión, que repercuten de manera directa e indirecta, en la concentración del nitrógeno orgánico en el cuerpo de agua y que no son considerados dentro la ecuación planteada para el estudio de su cinética; posiblemente la inclusión de un factor de bioacumulación por parte de las macrofitas, junto con la consideración de los procesos físicos que influyen de una manera más directa sobre la concentración del nitrógeno orgánico en todas sus formas, permita aumentar la bondad de ajuste del modelo con respecto a los datos tomados en campo.

La cinética de nitrificación fue la que menor ajuste tuvo a los datos teóricos, como es evidente, existen un sinnúmero de procesos y factores, que al igual que en la cinética del nitrógeno orgánico, no son considerados para explicar la nitrificación y que, en mayor o menor grado, directa o indirectamente, repercuten sobre la concentración de estas especies de nitrógeno en el cuerpo de agua, sin duda alguna, para obtener un mejor ajuste del modelo, es necesario la inclusión de estos factores a dicha ecuación. De la misma forma en que el pH o la temperatura afectan positiva o negativamente al crecimiento de las bacterias, según el valor de estos parámetros en el medio, el efecto de sustancias tóxicas sobre las bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes depende de la concentración de las mismas y

del tiempo de exposición de las bacterias a éstas. Las más estudiadas en el ámbito de calidad de aguas son: tiourea, cianuro, fenoles, anilina (efecto importante sobre las *Nitrosomonas*), clorato y cianato (mayor toxicidad sobre *Nitrobacter*). Además los compuestos orgánicos (proteínas, aminos y taninos) pueden también inhibir la actividad de las bacterias autótrofas nitrificantes (Emérita, 2010). Aunque no se identifican ni cuantifican sustancias tóxicas durante los muestreos, sería interesante estudiar la presencia de sustancias orgánicas e inorgánicas que puedan afectar de forma significativa el desempeño de las bacterias implicadas en los procesos de degradación de nitrógeno; en el desarrollo y crecimiento de las macrofitas, y en general a aquellas sustancias que puedan influir sobre el desempeño del humedal como un sistema natural de depuración de aguas.

Vale la pena destacar la participación de microorganismos heterótrofos en la nitrificación, éstos son conocidos por ser capaces de producir nitrato tanto de fuentes orgánicas como inorgánicas, y debido a que también pueden ser desnitrificadores, comúnmente se desestima la significancia de su papel sobre la nitrificación en medios naturales (Focht y Verstraete, 1977; Paul y Clark, 1996); pero se hace necesario estudios más precisos sobre la participación de estos microorganismos en las reacciones de degradación de nitrógeno, a fin de poder establecer su aporte real en la cinética.

De igual manera, es importante considerar el papel de la vegetación en los procesos de nitrificación y desnitrificación, ya que en un humedal las plantas pueden jugar un papel importante en la remoción total de nitrógeno. Los humedales plantados con macrofitas han mostrado tener una mayor remoción de nitrato en comparación con los que carecen de ellas (Bachand y Horne, 2000; Lin y col, 2002). Se ha demostrado también que la vegetación puede afectar de muchas formas a la población de bacterias nitrificantes y desnitrificantes; ésta es el principal proveedor de materia orgánica, que es directamente usada como fuente de carbono y energía por microorganismos heterótrofos. Por otro lado, las macrofitas pueden incrementar las concentraciones de oxígeno en el agua y así crear condiciones no favorables para la desnitrificación (Nielsen y col., 1990; Toet y col., 2005), pero contrariamente favorables para la nitrificación.

La consideración del aporte de las macrofitas en la cinética del nitrógeno, debería diferenciar sobre el tipo de vegetación que se ha desarrollado en el humedal, puesto que durante las horas de luz las plantas sumergidas pueden liberar oxígeno al agua a través de su fotosíntesis, mientras que las plantas emergentes pueden transportar oxígeno a través de sus tejidos vasculares hasta el rizoma y las raíces, que eventualmente puede difundir al sedimento o al agua (Reddy y *col.*, 1989), antagónicamente ocurre durante las horas de oscuridad, cuando se lleva a cabo el proceso de respiración, donde fisiológicamente las plantas consumen oxígeno, afectando directamente la concentración de éste en el humedal y en consecuencia a los procesos en los cuales el oxígeno participa.

El patrón climático estacionario del Mediterráneo, repercute directamente sobre los procesos biológicos que ocurren en el Tancat de la Pipa; por ende el estudio de estos procesos junto con la aplicación del modelo en cada estación climática, permitiría un mayor entendimiento sobre el comportamiento de la cinética del nitrógeno de acuerdo a la época del año, además de que se podría determinar con mayor exactitud la influencia de variables climáticas como temperatura y humedad relativa, sobre las tasas de mineralización, amonificación, nitrificación y desnitrificación, y en consecuencia tener una perspectiva más detallada de la eficiencia de este humedal como sistema depurativo.

Por último, la consideración, según sea pertinente, de procesos físico – químicos como la volatilización del amonio, la nitrato amonificación, la fijación de nitrógeno como proceso de conversión de nitrógeno gaseoso a amonio, la adsorción y oxidación anaeróbica del amonio; como parte de la dinámica natural del nitrógeno en el humedal, conllevaría a un mayor ajuste del modelo al desempeño real del sistema. Finalmente se puede decir que la cinética del nitrógeno, planteada por Martin y Marzal, (1999), es un modelo apropiado para explicar dicha dinámica, con una eficiencia mejorable, considerando la inclusión sistemática de los diferentes factores biológicos que influyen sobre el nitrógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- American Public Health Association (APHA). 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th Edition. Washington, DC, USA.
- Anderson, D.; Glibert, P. and Burkholder, J. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*. 25, 704 – 726.
- Ahn, Y-H. 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry* 41, 1709 – 1721.
- Anthonisen, A.; Loehr, R.; Prakasan T. and Srineth E. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Water Pollution Control Federation*. 48, 835 – 852.
- Arroyo, P. 2010. Los humedales construidos como sistemas para el tratamiento de agua residual industrial y urbana. Caracterización de las comunidades de bacterias presentes en estos ecosistemas. Universidad de León. España.
- Baca, R.; Waddel, W.; Cole, C.; Brandstetter, A. and Clearlock, D. 1973. EXPLORER – I: A river basin water quality model. Battelle, Inc. Pacific Northwest Laboratories, Washington, EEUU.
- Baca, R. and Arnett, R. 1976. A limological model for eutrophic lakes and impoundments. Battelle, Inc. Pacific Northwest Laboratories, Washington, EEUU.
- Bachand, P. and Horne, A. 2000. Denitrification in constructed free-water surface wetlands: II. Effects of vegetation and temperature. *Ecological Engineering*. 14,17 – 32.
- Baker, P. and Dold, P. 1997. General model for biological nutrient removal activated sludge systems: model presentation. *Water Environment Research*, 69, 969 – 984.
- Baker, L.; Herlihy, A.; Kaufmann, P. and Eilers, J. 1991. Acidic lakes and streams in the United States: the role of acidic deposition. *Science*. 252, 1151 – 1154.
- Balmelle, B. 1992. Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Water Science and Technology*. 26, 1018 – 1025.
- Bastviken, S. 2006. Nitrogen removal in treatments wetlands – Factors influencing spatial and temporal variations. Department of Biology, Linköping University, Sweden.

- Blain, W. 1969. Discussion of evaluation of nitrification in streams. Journal of the Sanitary Engineering Division, ASCE. 956 – 958
- Bowie, G.; Mills, W.; Porcella, D.; Campbell, C.; Pagenkopf, J.; Rupp, G.; Johnson, K.; Chan, P.; Gherini, S. and Charbelin, D. 1985. Rates, constants, and kinetics formulations in surface water quality modeling. 2th Edition. Environmental Research Laboratory. Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency, Georgia, EEUU.
- Bridle, T.; Climenhage, D. and Stelzig, A. 1979. Operation of a full – scale nitrification . denitrification industrial waste treatment plant. Journal Water Pollution Control Federation. 51, 127 – 139
- Brix, H. 1993. Wastewater treatment in constructed wetlands: system design, removal processes, and treatment performance. In: Moshiri G.A., Constructed wetlands form water quality improvement. pp. 9 – 22. CRC press, Boca Raton, Florida, Estados Unidos.
- Brix, H. and Aria, C. (2005). Danish guidelines for small-scale constructed wetland systems for onsite treatment of domestic sewage. Water Science and Technology 51, 1 – 9.
- Brix, H.; Dyhr – Jensen, K. and Lorenzen, B. 2002. Root – zone acidity and nitrogen source affects *Thypha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. Journal of Experimental Botany. 53, 2441 – 2450
- Brix, H.; Koottatep, T. and Laugesen, C. 2007. Wastewater treatment in tsunami affected areas of Thailand by constructed wetlands, Water Science and Technology. 56, 69 – 74.
- Brix, H. and Schierup, H. 1989. The use of aquatic macrophytes in water pollution control. Ambio 18, 100 – 107.
- Brock, T. 1994. Biology of microorganisms. 7th Edition. Editorial Prentice-Hall International. New York, EEUU.
- Busse, L.; Venrick, E.; Antrobus, R.; Miller, P.; Vigilant, V.; Silver, M.; Mengelt, C.; Mydiarz, L. and Prezelin, B. 2006. Domoic acid in phytoplankton and fish in San Diego, CA. Harmful Algae. 5, 91 – 101.

- Camargo, J. and Alonso, A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environmental International*. 32, 831 – 849.
- Cedergreen, N. and Madsen, T. 2003. Nitrate reductase activity in roots and shoots of aquatic macrophytes. *Aquatic Botany*. 76, 203 – 212
- Chimney, M. and Goforth, G. 2006. History and description of the Everglades Nutrient Removal Project, a subtropical constructed wetland in south Florida (USA). *Ecological Engineering*. 27, 268 – 278.
- Chen, C. and Wells, J. 1975. Boise river quality – ecological model for urban planning study. Tetra Tech, Inc. Lafayette, California. For U.S. Army Engineering District, Idaho Water Resources Board, Idaho, EEUU.
- Chen, C. and Orlob, C. 1975. Ecological simulation for aquatic environments. In: *Systems analysis and simulation in ecology*, Vol. 3. B.C. Patten Editorial. Academic Press, Inc., New York, pp. 476 – 588
- Chen, C. and Wells, J. 1976. Boise river modeling. In: *Modeling biochemical processes in aquatic ecosystems*. R.P. Canale Editorial. Ann Arbor Science Publishers, 171 – 204.
- Ciudad, G.; Werner, A.; Bornhardt, C.; Muñoz, C. and Antileo, C. 2006. Differential kinetics of ammonia-oxidizing bacteria: A simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification. *Process Biochemistry*. 41, 1764 – 1772.
- Cooper, F. and Findlater, B. 1990. *Constructed Wetlands in Water Pollution Control*. Proceedings of the IAWPRC Meeting, Cambridge, UK.
- Cooper, P.; Job, G.; Green, M. and Shutes, R. (1996). *Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment*. WRc plc, Swindon, United Kingdom, 202 pp.
- Coveney, M.; Stites, D., Lowe, E., Battoe, L. and Conrow, R. 2002. Nutrient removal from eutrophic lake water by wetland filtration. *Ecological Engineering*. 19, 141 – 159.
- Criss, R. and Wilson, W. 2008. Do Nash values have value? Discussion and alternate proposals. *Hidrological Processes*. 22, 2726 – 2725.

- Curtis, M. 1983. Oxidative and non – oxidative ammonia modeling. Proceedings of the ASCE 1983 National Conference on Environmental engineering, Boulder, Colorado. 493 – 499 pp.
- Deb, A.; Klafter – Snyder, J. and Richards, W. 1983. Water quality modelling of shallor surface active systems – a case study. National Conference on Environmental Engineering, Colorado, EEUU. 1020 – 1034
- Dewisme, E. 1997. Características de las aguas residuales. En: XV Curso sobre tratamiento de las aguas residuales y explotación de estaciones depuradoras. CEDEX. Madrid, España.
- Di Toro, D. and Connolly, J. 1980. Mathematical models of water quality in large lakes: Part II: Lake Erie. U. S. Environmental Protection Agency, Ecological Research Series. EPA – 600/3 – 3 – 80 – 065
- Di Toro, D. and Matystik, W. 1980. Mathematical models of water quality in large lakes. Part I: Lake Huron and Saginaw Bay. U. S. Environmental Protection Agency, Ecological Research Series. EPA – 600/3 – 80 – 056
- Di Toro, D.; O'Connor, D.; Thomann, R. and Mancini, J. 1975. Phytoplankton – Zooplankton nutrient interaction model for western Lake Erie. In: Systems Analysis and Simulation in Ecology. Vol III. B. C. Patton Ed. Academic Press, Inc. New York, EEUU. 423 pp.
- Di Toro, D. and Sifitzpartic, J. 1983. Documentation for water quality analysis simulation program (WASP) and Model Verification Program (MVP). Environmental Protection Agency (EPA). EEUU. 213 pp.
- Dimas, M.; Estrela, T.; Ordiérez, P. y Krinner W. 2004. Las aguas continentales en la Unión Europea. Centro de publicaciones Secretaría General Técnica. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, España.
- Dochain, D. and Vanrolleghem, P. 2001. Dynamical Modelling and Estimation in Wastewater Treatment Processes. IWA Publishing, London, UK.
- Duke, J. 1973. Provision of a steady – state versión of the stream model, QUAL. Water Resources Engineers, Inc. Environmental Protection Agency. EEUU.

- Emérita, J. 2010. Modelación matemática del proceso de nitrificación en dos etapas. Desarrollo de metodologías de calibración del modelo para un reactor SHARON y un proceso de fangos activados. Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente. Universidad Politécnica de Valencia, España. 301 pp.
- Engler, R. and Patrick, W. 1974. Nitrate removal from floodwater overlying flooded soils and sediments. *Journal Environmental Quality*; 3, 409 – 413.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1983. Methods for chemical analysis of water and wastes. 2th Edition. Cincinnati, USA.
- European Environment Agency (EEA). 2005. Source apportionment of nitrogen and phosphorus inputs into the aquatic environment. Environmental Assessment Report N° 7, Copenhagen. Denmark.
- Fernández, J.; De Miguel, E.; De Miguel, J. y Curt – Fernández, M. 2005. Manual de fitodepuración. Filtro de macrófitas en flotación. Universidad Politécnica de Madrid, España. 115 pp.
- Fewtrell, L. 2004. Drinking-water nitrate, methemoglobinemia, and global burden of disease: a discussion. *Environmental Health Perspective*. 112, 1371 – 1374.
- Focht, D. and Verstraete, W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. *Microbiology Ecological*; 1:135 – 214.
- Förstner, U.; Ahlf, W. and Calmano, W. 1993. Sediment quality, objectives and criteria development in Germany. *Water Science and Technology* 28, 307 – 316.
- García, J.; Bayona, J. y Morató, J. 2004. Depuración con sistemas naturales: humedales construidos. IV Congrés Ibèric de Gestió i Planificació de l'Aigua, Diciembre, Tortosa, España.
- García, J. y Corzo, A. 2008. Depuración con humedales construidos. Guía práctica de diseño, construcción y explotación de sistemas de humedales de flujo subsuperficial. Universidad Politécnica de Catalunya, España. 108 pp.
- García, P. y Fernández – Polanco, F. 1996. Parámetros de operación en sistemas de eliminación de nutrientes. In: Floats, X. (Ed). Eliminació biològica de nutrients en aigües residuals. 2nd Course on Environmental Engineering. Paperkite Editorial, Lleida, Spain.

- Gómez, L.; Merino, A. y de Prada, C. 2010. Estudio de sensibilidad global y estimación de parámetros en un reactor SBR, con nitrificación – desnitrificación, utilizando el modelo ASM1. Departamento de Ingeniería de Sistemas y Automática, Universidad de Valladolid, España.
- Gowda, T. 1983. Modeling nitrification effects on the dissolved oxygen regime of the Speed River. *Water Research*, 17:1917 – 1927
- Grady, C.; Gujer, W.; Henze, M.; Marais, G. and Matsuo, T. 1986. A model for single-sludge wastewater treatment systems. *Water Science and Technology*. 18, 47 – 61.
- Gujer, W.; Henze, M.; Mino, T. and van Loosdrecht, M. 1999. Activated sludge model N° 3. *Water Science and Technology*. 39, 183 – 193
- Guisasola, A.; Jubany, I.; Baeza, J.; Carrera, J. and Lafuente, J. 2005. Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation. *Journal Chemistry Technology Biotechnology*. 80, 388 – 396.
- Harleman, D.; Dailey, J.; Thatcher, M.; Najarian, T.; Brocard, D. and Ferrara, R. 1977. User's manual for the MIT transient water quality network model – Including Nitrogen – Cycle dynamics for rivers and estuaries. R.M. Parson Laboratory for Water Resources and Hydrodynamics, Massachusetts Institute of Technology, Massachusetts, for US. Environmental Protection Agency.
- Hauck, R. 1984. Atmospheric nitrogen chemistry, nitrification, denitrification, and their relationships. In: Hutzinger O, Editor. *The handbook of environmental chemistry*. Vol. 1. Part C, the natural environment and biogeochemical cycles. Berlin: Springer – Verlag . p. 105 – 27.
- Hellinga, C.; Van Loosdrecht, M. and Heijnen, J. 1999. Model based design of a novel process for nitrogen removal from concentrated flows. *Mathematical and Computer Modeling of Dynamical Systems*. 5, 351 - 371.
- Henze, M.; Grady, C.; Gujer, W.; Marais, G. and Matsuo, T. 1987. Activated Sludge Model N°1. IAWPRC Scientific and Technical Report N° 1. IAWPRC, London. ISSN 1010-707X.

- Henze, M.; Gujer W.; Mino, T.; Matsuo, T.; Wentzel, M. and Marais, G. 1995. Activated Sludge Model N° 2. IAWQ Scientific and Technical Report N° 2. IAWQ, London.
- Henze, M.; Gujer, W.; Mino, T.; Matsuo, T.; Wentzel, M. C.; Marais, G. and van Loosdrecht, M. 1999. Activated Sludge Model N° 2d. Water Science and Technology. 39, 165 – 182.
- Henze, M.; Gujer, W.; Mino, T. and van Loosdrecht M. 2000. Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IWA Publishing, London, UK. 128 pp.
- Henze, M.; Gujer, W.; Mino, T. and van Loosdrecht M. 2007. Scientific and technical report N° 9. Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IWA Publishing, London, UK.
- Hernández – Crespo, C.; Martín, M.; Oliver, N. and Palmero, C. 2012. Variation of soils characteristics in the free water surface constructed wetland of the “Tancat de la Pipa” Albufera of Valencia, Spain. Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Hockenbury, M. and Grady, C. 1977. Inhibition of nitrification – Effects of selected organic compounds. Journal Water Pollution Control Federation, 768 – 777
- Hunik, J. 1993. Engineering aspects of nitrification with immobilized cells. PhD thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.
- Hutton, W. and LaRocca, S. 1975. Biological treatment of concentrated ammonia wastewater. Journal Water Control Pollution Federation, 47, 989.
- Jeffrey, S. and Humphrey, G. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. Biochem. Physiol. Pflanzen. 19, 191–194.
- Jing, S.; Lin, Y.; Lee, D. and Wang, T. 2001. Nutrient removal from polluted river water by using constructed wetlands. Bioresource Technology 76, 131 – 135.
- Jorgensen, S. 1976. An eutrophication model for a lake. Ecological Modeling, 2, 147 – 165.
- Johnston, C. 1991. Sediment and nutrient retention by freshwater wetlands: Effects on surface water quality. Critical Reviews in Environmental Control 21, 491 – 565
- Juang, D. and Chen, P. 2007. Treatment of polluted river water by a new constructed wetland. International Journal Environmental Science Technology. 4, 481 – 488.

- Kadlec, R. and Knight, R. 1996. *Treatments wetlands*. Editorial Lewis, Chelsea, Michigan, EEUU. 850 pp.
- Kadlec, R. and Reddy, K. 2001. Temperature effects in treatment wetlands. *Water Environmental Research*. 73, 543 – 557
- Kadlec, R. and Wallace, S. 2009. *Treatment Wetlands*, 2nd edition. CRC Press, Boca Raton, FL. USA. 965 pp.
- Kholdebarin, B. and Oertli, J. 1977a. Effect of pH and ammonia on the rate of nitrification of surface water. *Journal of the Water Pollution control Federation*. 49, 1688 – 1692
- Kholdebarin, B. and Oertli, J. 1977a. Effect of suspended particles and their sizes on nitrification of surface water. *Journal of the Water Pollution control Federation*. 49, 1693 – 1697
- Kickuth, R. 1977. Degradation and incorporation of nutrient from rural wastewater by plant rhizosphere under limnic condition. En: *Utilization of manure by land spreading*. Comm. Of the Europ. Communities, London. UK.
- Knobelsdorf, J. 2005. Eliminación biológica de nutrientes en un ARU de baja carga orgánica mediante el proceso VIP. Tesis doctoral, Escola Técnica Superior d'enginyers de camins canals i ports de Barcelona, Universidad Politécnica de Cataluña. España.
- Koltz, B. 1982. Nitrogen transformation in the Iowa and Cedar Rivers. Masther's Thesis. University of Iowa, Iowa City, Iowa, EEUU. 320 pp.
- Kronzucker, H.; Siddiqi, M. and Glass, A. 1997. Conifer root discrimination against soil nitrate and ecology of forest succession. *Nature*. 385, 59 – 61
- Kuschik, P.; Wiebner, A.; Kappelmeyer, U.; Weibbrodt, E.; Kastner, M. and Stottmeister, U. 2003. Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Restored*. 37, 4236 – 4242.
- Landsberg, J. 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Fish Science*. 10, 113 – 390.

- Langergraber, G.; Rieger, L.; Winkler, S.; Alex, J.; Wiese, J.; Owerdieck, C.; Ahnert, M.; Simon, J. and Maurer, M. 2004. A guideline for simulation studies of wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*. 50, 131 – 138.
- Larsen, D.; Mercier, H. and Malueg, K. 1973. Modeling algal growth dynamics in Shagawa Lake, Minnesota. Utah State University, EEUU.
- Lee, C.; Fletcher, T. and Sun, G. 2009. Nitrogen removal in constructed wetland systems. *Engineering in Life Sciences* 9, 11-22.
- Li, L.; Li, Y.; Biswas, D.; Nian, Y. and Jiang, G. 2008. Potential of constructed wetlands in treating the eutrophic water: evidence from Taihu Lake of China. *Bioresources Technology*. 99, 1656 – 1663.
- Lin, Y.; Jing, S.; Wang, T. and Lee, D. 2002. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environmental Pollution*. 119, 413 – 420.
- Llavador, F. 2006. *Metabolismo bacteriano y modelización matemática de procesos*. Departamento de Control de Calidad. Entidad Pública de Saneamiento de Aguas Residuales de la Comunidad Valenciana. Valencia, España. 76 pp.
- Maine, M.; Suñe, N.; Hadad, H.; Sánchez, G. and Bonetto, C. 2006. Nutrient and metal removal in a constructed wetland for wastewater treatment from a metallurgic industry. *Ecological Engineering* 26, 341 – 347.
- Martel, G.; Vera, L.; Salas, J. y Sardón, N. 2006. *Gestión sostenible del agua residual en entornos rurales*. Instituto Tecnológico de Canarias. España.
- Martin, M. y Marzal, P. 1999. *Modelación de la calidad del agua*. Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente. Universidad Politécnica de Valencia, España. 210 pp.
- Martín, M.; Oliver, N.; Hernández – Crespo, C.; Gargallo, S. and Regidor, M. 2013. The use of free water surface constructed wetland to treat the eutrophicated waters of lake L'Albufera de Valencia (Spain). *Ecological Engineering*. 30, 52 – 61.
- Maurer, M. and Gujer, W. 1998. Dynamic modelling of enhanced biological phosphorus and nitrogen removal in activated sludge systems. *Water Science and Technology*, 38, 203 – 210

- Maurer, M.; Abramovich, D.; Siegrist, H. and Gujer, W. 1999. Kinetics of biologically induced phosphorus precipitation in waste-water treatment. *Water Research*, 33, 484 – 493.
- McCuen, R.; Knight, Z. and Cutter, G. 2006. Evaluation of Nash – Sutcliffe Index. *ASCE Journal of Hydrological Engineering*. 11, 597 – 602.
- Mckinney, R. 1962. Mathematics of complete mixing activated sludge. *ASCE Journal of Sanitary Engineering Division*. SA. 3, 87 – 113.
- McNeill, A. and Olley, S. 1998. The effects of motorway runoff on watercourses in south-west Scotland. *Water and Environment Journal* 12, 433 – 439.
- Merck. 2005. Spectroquant® Analysis System. Food y Enviromental Analysis. Merck KGaA. Darmstadt, Germany.
- Metcalf y Eddy. 2003. Wastewater engineering. Treatment and reuse. 4^{ta} Edition. McGraw-Hill. New York, EEUU, 1819 pp.
- Monod, J. 1942. The sludge index. *Sewage Works Journal*. 6, 119 – 122.
- Motovilov, Y.; Gottschalk, L.; England, K. and Rodhe, A. 1999. Validation of distributed hydrological model against spatial observations. *Agriculture Forest Meteorology*. 98, 257 – 277.
- Moussa, M.; Hooijmans, C.; Lubberding, H.; Gijzen, H. and Van Loosdrecht, M. 2005. Modelling nitrification, heterotrophic growth and predation in activated sludge. *Water Research*. 39, 5080 – 5098.
- Nash, E. and Sutcliffe, V. 1970. River flow forecasting through conceptual models: Part 1- A discussion of principles. *Journal of Hydrology* 10, 282 – 290.
- Newman, J.; Clausen, J. and Neafsey, J. 2000. Seasonal performance of a wetland constructed to process dairy milkhouse wastewater in Connecticut. *Ecological Engineering*. 14, 181 – 198.
- Nielsen, L.; Christensen, P.; Revsbech, N. and Sørensen, J. 1990. Denitrification and photosynthesis in stream sediment studied with microsensor and whole-core techniques. *Limnology Oceanogafic*. 35, 1135 – 1144.
- Nyholm, N. 1978. A simulation model for phytoplankton grow and nutrient cycling in eutrophic, Shallow Lakes. *Ecological Modeling*, 4:279 – 310

- O'Connor, D.; Di Toro, D. and Thomann, R. 1975. Phytoplakton models an eutrophitacion problems. In: Ecological Modelling in a Resource Management Framework. Cs Russell Ed. Resources for the Future. Inc. Washington, DC, EEUU
- O'Connor, D.; Mancini, J. and Guerriero, J. 1981. Evaluation of factors influencing the temporal variation of dissolved oxygen in the New York Bight, Phase II. Manhattan College, Bronx, New York, EEUU.
- Painter, H. 1986. Nitrification in the treatment of sewage and waste waters. Nitrification. Editorial IRL Press. 185 - 211.
- Paul, E. and Clark, F. 1996. Soil microbiology and biochemistry. 2nd Edition.. San Diego, California: Academic Press. 340 pp.
- Perez – Cañestro, J. 2004. Aplicación de *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* en forma de biopelícula para la nitrificación biológica en reactores de lecho fijo. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Porcella, D.; Grieb, T.; Bowie, G.; Ginn, T. and Lorenze, M. 1983. Assessment methodology for new cooling lakes, Vol 1. Tetra Tech. Inc. Lafatte, California. For Electric Power Research Institute Report EPRI EA – 2059.
- Puigagut; J.; Villaseñor, J.; Salas, J.; Bécars, E. and García, J. 2007. Subsurface – flow constructed wetlands in Spain for the sanitation of small communities: A comparative study. Ecological Engineering. 30, 312 – 319
- Quinlan, A. 1980. The thermal sensitivity of nitrification as a function of the concentration of nitrogen substrate. Water Research. 14, 1501 – 1507.
- Randall, C. and Buth, D. 1984. Nitrite build – up in activated sludge resulting from temperature effects. Journal Water Control Pollution Federation, 56, 1039.
- Real Decreto Legislativo 1/2001. 2001. Ley de aguas. Madrid. España.
- Reddy, K. and D'Angelo, E. 1997. Biogeochemical indicators to evaluate pollution removal efficiency in constructed wetlands. Water Science Technology; 35, 1 – 10
- Reddy, K. and Patrick, W. 1984. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. Critical Reviews in Environmental Control. 13, 273 – 309
- Reddy, K.; Patrick, W. and Lindau, C. 1989. Nitrification-denitrification at the plant root-sediment interface in wetlands. Limnology and Oceanography 34, 1004-1013.

- Reichert, P. 1994. AQUASIM – A tool for simulation and data analysis of aquatic systems. *Water Science Technology*. 30, 21 – 30.
- Reichert, P. 1998. AQUASIM 2.0 – Computer program for the identification and simulation as aquatic systems. Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology. CH – Dübendorf, Switzerland.
- República Bolivariana de Venezuela 2007. Ley de aguas. Gaceta oficial N° 38.595, Caracas, Venezuela
- Rivas – Mijares, G. 1978. Tratamiento de aguas residuales. 20^{av} Edición. Editorial Vega. Madrid, España, 534 pp.
- Rodgers, P. and Salisbury, D. 1981. Water quality modeling of Lake Michigan and consideration of the anomalous Ice Cover of 1976 – 1977. *J. Great Lakes Resources.*, 7, 467 – 480
- Rodríguez – Roda, I.; Comas, I. and Poch, M. 2008. Evaluación y prevención de riesgos ambientales en Centroamérica. Girona, España. 285 – 301.
- Rodríguez, J.; Bocardo, J. y Fernández, I. 2007. Manual de tecnologías no convencionales para la depuración de aguas residuales. Consejería del Medio Ambiente de Andalucía. España.
- Roesner, L.; Giguere, P. and Evenson, D. 1981. User's manual for stream quality model (QUAL – II). U.S. Environmental Protection Agency. Environmental Research Laboratory, Georgia, EEUU.
- Romero, J.; Comín, F. and García, C. 1999. Restored wetlands as filters to remove nitrogen. *Chemosphere*. 39, 323 – 332
- Ruane, R. and Krenkel, P. 1978. Nitrification and other factors affecting nitrogen in the Holston River. *Journal Water Pollution Control Federation*. 50, 2016.
- Ruíz, J. 1998. Aspectos económicos relacionados con la calidad de las aguas. Aplicación al caso de España. En: Congreso ibérico sobre gestión y planificación de las aguas. El agua a debate desde la Universidad. Hacia una nueva cultura del agua. Zaragoza, España.

- Salisbury, D.; DePinto, J. and Young, T. 1983. Impact of algal – available phosphorus on Lake Erie water quality: Mathematical modeling. For U.S. Environmental Protection Agency, environmental Research Laboratory, Minnesota, EEUU.
- Scavia, D. 1979. Examination of phosphorus cycling and control of phytoplankton dynamics in Lake Ontario with an ecological model. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 36, 1336 – 1346.
- Schindler, D. (1988). Effects of acid rain on freshwater ecosystems. Science. 239, 149 – 157.
- Schmidt, I.; Zart, D. and Bock, E. 2001. Effects of gaseous NO₂ on cells of *Nitrosomonas eutropha* previously incapable of using ammonia as an energy source. *Antonie van Leeuwenhoek*. 79, 39 – 47.
- Schmidt, I.; Sliemers, O.; Schmidt, M.; Bock, E.; Fuerst, J. and Kuenen, J. 2003. New concepts of microbial treatment process for the nitrogen removal from wastewaters. *FEMS Microbiological Review*. 27, 481 – 492.
- Secretaría de la Convención de Ramsar. 2013. Manual de la convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971). 6a. edición. Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland. Suiza. 120 pp.
- Sedlak, R. 1991. Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater. Principle and practice. 2nd Edition. Lewis Publishers.
- Seidel, K. 1964. Abau von *Bacterium coli* durch höhere Pflanzen, *Naturwissenschaften* 51, 395.
- Seidel, K. 1966. Reinigung von Gewässern durch höhere Pflanzen, *Naturwissenschaften* 53, 289 – 297.
- Shammas, N. 1986. Interactions of temperature, pH and biomass on the nitrification process. *Journal Water Control Pollution Federation*, 58, 52.
- Sharma, B. and Ahlert, R. 1977. Nitrification and nitrogen removal. *Water Research*. 11, 897 – 925
- Smith, D. 1978. Water quality for river – reservoir systems. Resource Management Associates, Inc. Lafayette, California. For U.S. Army Corps of Engineers, Hydrologic Engineering Center, Davis, California, EEUU.

- Smith, V. 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: a global problem. *Environmental Science Pollution*. 10, 126-139.
- Smolders, G.; van der Meij, J.; van Loosdrecht, M. and Heijnen, J. 1994a. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence. *Biotechnology and Bioengineering*, 43, 461 – 470.
- Smolders, G.; van der Meij, J.; van Loosdrecht, M. and Heijnen, J. 1994b. Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. *Biotechnology and Bioengineering*, 44, 837 – 848.
- Smolders, G. 1995. A structured metabolic model for the anaerobic and aerobic stoichiometry of the biological phosphorus removal process. *Biotechnology and Bioengineering*. 47, 277 – 287.
- Sobolewski, A. 1996. Metal species indicate the potential of constructed wetlands for long-term treatment of mine drainage. *Ecological Engineering* 6, 259 – 271.
- Spiels, D. and Mitsch, W. 2000. The effects of season and hydrologic and chemical loading on nitrate retention in constructed wetlands: a comparison of low- and high-nutrient riverine systems. *Ecological Engineering* 14, 77–91.
- Stanford, G.; Frere, M. and Schwaning, D. 1973. Temperature coefficients of soil nitrogen mineralization. *Soil Science*. 115, 321.
- Stenstrom, M. and Poduska, R. 1980. The effect of dissolved oxygen concentration on nitrification. *Water Research*. 14, 643 – 649
- Stratton, F. and McCarty, P. 1969. Discussion of evaluation of nitrification in streams, in *Transactions of ASCE*. 89, 1351.
- Streeter, H. and Phelps, E. 1925. “A Study of the Pollution and Natural Purification of the Ohio River, III. Factors Concerned in the Phenomena of Oxidation and Reaeration,” U.S. Public Health Service, Bulletin 146 pp.
- Sutton, P.; Murphy, K.; Jank, B. and Monaghan, B. 1975. Efficacy of biological nitrification. *Journal Water Control Pollution Federation*, 47, 2665.
- Tanner, C.; Kadlec, R.; Gibbs, M.; Sukias, J. and Nguyen, L. 2002. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands. *Ecological Engineering*;18, 499 – 520.

- Tchobanoglous, G.; Burton, F. and Stensel, H. 2003. Metcalf y Eddy, Inc.'s Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse, 4th Edition. McGraw-Hill, Inc., New York. 1819 pp.
- Tera Tech, Inc. 1976. Documentation of water quality models for the Helms Pumped Storage Project. Tetra Tech, Inc. California. For Pacific Gas and Electric Company.
- Thomann, R. and Fitzpatrick, J. 1982. Calibration and verification of mathematical model on the eutrophication of the Potomac Estuary. Government of the District of Columbia, Washington, D. C., EEUU.
- Thomann, R.; Segna, J. and Winfield, R. 1979. Verification analysis of Lake Ontario and Ronchester Embayment three – dimensional eutrophitacion models. Manhattan College, Bronx, New York. For U. S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development.
- Toet, S.; Logtestijn, R.; Schreijer, M.; Kampf, R. and Verhoeven, . 2005. The functioning of a wetland system used for polishing effluent from a sewage treatment plant. *Ecological Engineering*. 25, 101 – 124.
- Tylová, E. 2007. Nitrogen acquisition in wetland plants: nutritional aspects of plant performance under eutrophication. Department of Plant Physiology, Faculty of Science, Charles University in Prague. 26 pp.
- Vadivelu, V.; Keller, J. and Yuan, Z. 2007. Free ammonia and free nitrous acid inhibition on the anabolic and catabolic processes of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Science and Technology*. 56, 89 – 97.
- Van Hulle, S.; Volcke, E.; López, J.; Donckels, B.; Van Loosdrecht, M. and Vanrolleghem, P. 2007. Influence of temperature and pH on the kinetics of the SHARON nitrification process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 82, 471 – 480.
- Verhoeven, J. and Meuleman, A. 1998. Wetlands for wastewater treatments: opportunities and limitations. *Ecological Engineer* 12, 5 – 12.
- Volcke, E. 2006. Modelling, analysis and control of partial nitrification in a SHARON reactor. Thesis. Department of Biotechnology. Delft University of Technology.

- Vollenweider, R. 1968. Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication OECD. Paris. Tech Report DA 515C1168 27. 250 p.
- Vollenweider, R. 1975. Input-output models with special reference to the phosphorus loading concept in limnology. *Scotweiz. A. Hyorol* 37, 53-84
- Vymazal, J. 1995. Algae and element cycling in wetlands. Chelsea, Michigan: Lewis Publishers. 698 pp.
- Vymazal, J. 1999. Nitrogen removal in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow—can we determine the key process? In: Vymazal, J . (Ed.), *Nutrient Cycling and Retention in Natural and Constructed Wetlands*. Backhuys Publishers, Leiden, 17 pp.
- Vymazal, J. 2001. Types of constructed wetlands for wastewater treatment: Their potential for nutrient removal. *Transformations of nutrients in natural and constructed wetlands*. Backhuys Publishers, Leiden, 93 pp.
- Vymazal, J. 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 25, 478 – 490.
- Vymazal, J. 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environmental*, 380, 48 – 65.
- WEF and ASCE. 1998. Design of municipal wastewater treatment plants. Volume 2. Liquid treatment processes. ASCE manuals and reports on engineering practice N° 76, WEF manual of practice N° 8, American Society of Civil Engineers and Water Environment Federation, Alexandria, Egypt.
- Wezernak, C. and Gannon, J. 1968. Evaluation of nitrification in streams. *Journal of the Sanitary Engineering Division, ASCE*. 94, 883 – 895
- Wiesmann, U. 1994. Biological nitrogen removal from wastewater. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Editorial Springer Berlin, New York. 51, 113 – 154.
- Wild, H.; Sawyer, C. and Mc;ahon, T. 1971. Factors affecting nitrification kinetics. *Journal of Water Pollution Control Federation*. 43, 1845 – 1854

- Wild, D.; von Schulthess, R. and Gujer, W. 1995. Structured modelling of denitrification intermediates. *Water Science and Technology*. 31, 45 – 54.
- Willers, H.; ten Have, P.; Derikx, P. and Arts, M. 1993. Temperature dependency of nitrification and required anoxic volume for denitrification in the biological treatment of veal calf manure. *Bioresourde Technology*. 43, 47.
- Yang, L.; Chang, H. and Huang, M. 2001. Nutrient removal in gravel and soil based wetland microcosms with and without vegetation. *Ecological Engineering*. 18, 91 – 105.
- Yoo, H.; Ann, K-H.; Lee, H-J.; Lee, K-H.; Kwak, Y-J. and Song, K-G. 1999 Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Research*. 33, 145–154.