



DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DE PISCIFACTORÍA MEDIANTE HUMEDALES BIOELECTROGÉNICOS CONSTRUIDOS

PURIFICATION OF WASTEWATER FROM FISHFARM USING CONSTRUCTED BIOELECTROGENIC WETLAND

MÁSTER UNIVERSITARIO EN HIDROLOGÍA Y GESTIÓN DE RECURSOS HÍDRICOS

Presentado por:

D. BORJA CARCAS AGÓN

Dirigido por:

Dr. ABRAHAM ESTEVE NUÑEZ

Alcalá de Henares, a 17 de Septiembre de 2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres y hermana, sin su esfuerzo y confianza no podría haber llegado hasta aquí.

Agradecer a Abraham Esteve Núñez la oportunidad de conocer y aprender lo que es trabajar e investigar en un laboratorio, así como la confianza durante el proyecto para la toma de decisiones. También, me gustaría darle las gracias a Mario Jiménez por su guía, consejos y ánimos proporcionados durante todo el proyecto.

Darle las gracias a todo el equipo de Bioe, que me han resuelto cualquier duda que me ha surgido, en especial a Álvaro, Amanda y Carlos. Como no darle las gracias a todos los “pollitos”, que junto conmigo andábamos perdidos por el laboratorio: Tamara, Jorge, Daniela, Fer, Dani y Gabriel.

Y, por último, darle las gracias a compañero y amigos que he hecho durante este curso y sin los que su apoyo, visitas y salidas no habría sido lo mismo: Alex, Deysi, Franco, Jorge, Lucía, Marcelo, Paula y Ruddy, ¡¡GRACIAS!!

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Historia de la depuración.....	2
1.2. La depuración en España.....	2
1.3. Depuración de aguas procedente de la acuicultura.....	4
1.4. METs tecnologías electroquímicas microbianas.....	6
1.4.1 <i>Geobacter sulfurreducens</i> , electrogénesis microbiana.....	7
1.4.2 Eliminación del Nitrógeno con sistemas MET.....	8
1.5. METland®, una alternativa de tratamiento de aguas residuales de piscifactorías.....	9
1.6. Objetivos.....	10
2. Material y Métodos.....	11
2.1. Material del lecho de las columnas.....	11
2.2. Diseño de los biofiltros.....	12
2.3. Funcionamiento de las columnas.....	13
2.4. Tipos de agua.....	14
2.5. Parámetros analizados y muestreo.....	17
2.6. Instrumental utilizado.....	18
3. Resultados.....	20
3.1. Experimento con agua residual convencional procedente del Instituto de investigación IMDEA agua.....	20
3.1.1 Agua residual convencional, con TRH 24h sin adición de MO.....	21
3.1.2 Agua residual convencional, con TRH 24h y 20 g de MO.....	23
3.1.3 Agua residual convencional, con TRH 12h y 20 g de MO.....	25
3.2. Experimento con agua sintética de piscifactoría.....	27
3.2.1 Agua sintética de piscifactoría, con TRH 24h sin adición de MO.....	27
3.2.2 Agua sintética de piscifactoría, con TRH 12h sin adición de MO.....	29
4. Discusión.....	32
5. Conclusiones.....	35
6. Bibliografía.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la evolución de las normativas españolas en lo referente a depuración de aguas residuales.....	3
Figura 2. Esquema de funcionamiento de una MFC con una membrana de intercambio catiónico.....	7
Figura 3. Esquema de la oxidación de la materia orgánica y transferencia extracelular de electrones (DEET) a un material conductor.....	8
Figura 4. Reacciones durante el proceso de nitrificación.....	8
Figura 5. Reacciones durante el proceso de desnitrificación.....	9
Figura 6. Esquema de un humedal artificial bioelectrogénico. Imágen tomada del Proyecto iMETland.....	9
Figura 7. Aspecto real de distintos humedales construidos bioelectrogénicos en funcionamiento. Fuente: Proyecto iMETland.....	10
Figura 8. Esquema de las partes que forman el biorreactor.....	13
Figura 9. Aspecto real de las columnas. De izquierda a derecha, columna de grava, coque, biochar no conductor y biochar conductor.....	14
Figura 10. A) Esquema del proceso de precipitación que se produce en un tanque Imhoff. B) Diseño real de un tanque Imhoff con las distintas zonas, entradas y salidas señaladas....	15
Figura 11. Tabla de contenido más representativo del efluente de una piscifactoría.....	15
Figura 12. A la izquierda, un esquema de los distintos puntos de muestreo, entrada (E), cámara media (M), salida (S) y zona anegada (C). A la derecha, imagen real de la cámara media con los pellets de pino y coco añadidos.....	18
Figura 13. Fórmula empleada para el cálculo del porcentaje de eliminación o <i>Removal efficiency</i>	20
Figura 14. Fórmula empleada para el cálculo de la tasa de eliminación o <i>Removal rate</i>	20
Figura 15. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica.....	22
Figura 16. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica.....	23
Figura 17. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y añadiendo 20 g de materia orgánica.....	24
Figura 18. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y añadiendo 20 g de materia orgánica.....	25

Figura 19. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua convencional con un TRH de 12h y añadiendo 20 g de materia orgánica.....	26
Figura 20. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 12h y añadiendo 20 g de materia orgánica.....	27
Figura 21. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica.....	28
Figura 22. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica.....	29
Figura 23. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 12h y sin añadir materia orgánica.....	30
Figura 24. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 12h y sin añadir materia orgánica.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones máximas permitidas en los efluentes antes de su vertido, según la Directiva 91/271/CEE.....	5
Tabla 2. Distribución de los materiales por columnas.....	11
Tabla 3. Porosidades efectivas y volúmenes necesarios de los materiales de lecho de las cámaras de las columnas.....	12
Tabla 4. Composición de las aguas sintéticas de piscifactoría utilizadas.....	16
Tabla 5. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 24h y sin adición de materia orgánica.....	21
Tabla 6. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 24h y adición de 20 g de materia orgánica.....	23
Tabla 7. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 12h y adición de 20 g de materia orgánica.....	25
Tabla 8. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua sintética de piscifactoría, bajo las condiciones de TRH 24h y sin añadir materia orgánica.....	28
Tabla 9. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua sintética de piscifactoría, bajo las condiciones de TRH 12h y sin añadir materia orgánica.....	30

TABLA DE ABREVIATURAS

AC: Antes de Cristo

DC: Después de Cristo

RD: Real Decreto

DQO: Demanda Química de Oxígeno

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno en 5 días

FAO: Food and Agriculture Organization

MO: materia orgánica

mg: miligramo

L: litro

O₂: oxígeno

UICN: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza

EDAR: Estación Depuradora de Aguas Residuales

m³/año: metro cúbico por año

MET: Microbial Electrochemical Transfer

MFC: Microbial Fuel Cells

DIET: Transferencia extracelular directa de electrones

Fe³⁺: ion de hierro

NH₄⁺: amonio

NO₂⁻: nitrito

NO₃⁻: nitrato

N_{2g}: Nitrógeno gas

IMDEA agua: Instituto Madrileño de Estudios Avanzados agua

TFM: Trabajo Fin de Máster

TRH: Tiempo de Retención Hidráulico

h: horas

B. no conductor: Biochar no conductor

B. conductor: Biochar conductor

PVC: policloruro de vinilo

d: día

cm: centímetro

COD: Chemical oxygen demand

g: gramos

ml: mililitros

μm: micrómetros

Nt: Nitrógeno total

RESUMEN

La calidad de las aguas ha sido una preocupación social desde la antigüedad. Actualmente existen diversas normativas y leyes que dictaminan los parámetros necesarios que debe tener el agua tanto para su consumo, como para su vertido. La ley diferencia dos tipos de aguas residuales, las urbanas y las industriales, estas últimas requieren de un tratamiento previo antes de ser vertidas a la red de saneamiento público. En 2017 los vertidos de aguas residuales industriales procedentes de la acuicultura supusieron un 14,08%. Tratándose de una industria cuya necesidad prioritaria es el abastecimiento de agua, optimizar su depuración y posible reutilización se convierte en un objetivo prioritario. Pensando en este objetivo, se enfoca este trabajo, y se propone el uso de los METland® (*Microbial Electrochemical Technologies -land (wetland)*) como alternativa a los tratamientos de aguas residuales convencionales utilizados. Estos sistemas funcionan en torno a las tecnologías MET (*Microbial Electrochemical Technologies*), basadas en la transferencia extracelular de electrones desde microorganismos electrogénicos (*Geobacter sulfurreducens*) hasta materiales conductores u otros microorganismos similares. Además, se comprobó la eficiencia de depuración de un lecho formado por materiales conductores frente a materiales no conductores, como podría ser la Grava. Para ello se construyeron cuatro biofiltros en forma de columna, que simularan a escala de laboratorio un humedal bioelectrogénico construido, cada uno de ellos compuesto por materiales de lecho distintos (conductores y no conductores). Se trabajó con dos tipos de aguas distintas, un agua residual convencional y un agua sintética, que simuló las propiedades de un agua residual procedente de una piscifactoría. Mientras se trabajó con el agua convencional, se confirmó la mayor eficiencia de depuración que tienen los materiales conductores empleados como lecho de estos humedales. En el caso del agua sintética de piscifactoría se observó el mismo comportamiento empleando un TRH (tiempo de retención hidráulico) de 24h, en cambio, con un TRH de 12h se pudo ver la ventaja de emplear materiales conductores frente a la Grava, pero no frente al otro material no conductor.

Palabras clave: agua residual, depuración, desnitrificación, *Geobacter sulfurreducens*, humedal bioelectrogénico construido, nitrificación, piscifactoría

1.INTRODUCCIÓN

1.1 HISTORIA DE LA DEPURACIÓN

La calidad del agua para abastecimiento humano ha sido un factor de gran importancia tenido en cuenta desde la antigüedad. De hecho, algunas ciudades de la civilización griega (300 AC-500 DC), considerada la precursora de los sistemas modernos de saneamiento, contaban con un sistema de alcantarillado para aguas residuales y pluviales, que posteriormente reutilizaban para regar (Lofrano y Brown, 2010). El Imperio Romano perfeccionó este sistema y llegaron a diferenciar dos sistemas de alcantarillado, el de abastecimiento y el de aguas residuales; aunque su caída conllevó un retroceso en el cuidado de la calidad de las aguas, conocidos como los años negros del saneamiento (476-1800DC) donde el agua se vertía directamente, siendo un foco de enfermedades (Senante, Sancho, y Garrido 2012).

Fue en el siglo XX cuando se produjo un gran progreso en el tema de depuración de aguas residuales, la “Royal Commission on Sewage Disposal” estableció unas directrices que se debían aplicar para la caracterización de efluentes de las instalaciones depuradoras. Algunas de las directrices publicadas, como las del octavo informe de 1912 se siguen empleando como base en la actualidad (Senante, Sancho, y Garrido 2012).

1.2 LA DEPURACIÓN EN ESPAÑA

El 2 de agosto de 1985 se aprobó la Ley de Aguas 29/1985, que hace de dominio público todas las aguas, ya sean subterráneas o superficiales. Y desde entonces se han ido añadiendo nuevas políticas o adaptaciones (figura 1).

Posteriormente, el 21 de mayo de 1991 se implantó la Directiva 91/271/CEE por el Consejo de la Comunidad Europea, por la cual el 31 de diciembre del 2000 los núcleos urbanos con más de 15.000 habitantes debían disponer de un sistema colector y de tratamiento de aguas residuales. También se estableció el mismo propósito para poblaciones de entre 2.000 y 15.000 habitantes con fecha límite el 31 de diciembre de 2005. España, para alcanzar al cumplimiento de dicha Directiva, elaboró el Plan Nacional de Saneamiento y Depuración (1995-2005), entre sus objetivos se encontraba la implantación y mejora de las infraestructuras de saneamiento y depuración, la protección de la calidad del medio hídrico y el cumplimiento de los plazos establecidos por la directiva.

Paralelamente a la Directiva 91/271 vigente, la Unión Europea desarrolló la Directiva Marco del Agua (2000/60/CEE) implantando unas condiciones más restrictivas en lo que a parámetros ambientales se refiere; por lo que el Ministerio de Medio Ambiente español junto con las Comunidades Autónomas crearon el Plan Nacional de Calidad de las Aguas: Saneamiento y Depuración (2007-2015) (Del Río Gamero, 2018).

Debido a las sequías que se produjeron en España en los años 80 y a las medidas cada vez más exigentes en materia de calidad de aguas, medio ambiente y sostenibilidad de ecosistemas se empieza a plantear la idea de la necesidad de la reutilización o regeneración el agua depurada.

Por estas razones, se establece el RD 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se dictamina el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. Uno de los principales conceptos que establece es el de aguas regeneradas: “aguas residuales depuradas que, en su caso, han sido sometidas a un proceso de tratamiento adicional o complementario que permite adecuar su calidad al uso al que se destina” (Ministerio de Hacienda y Administraciones Públicas de España, 2013).

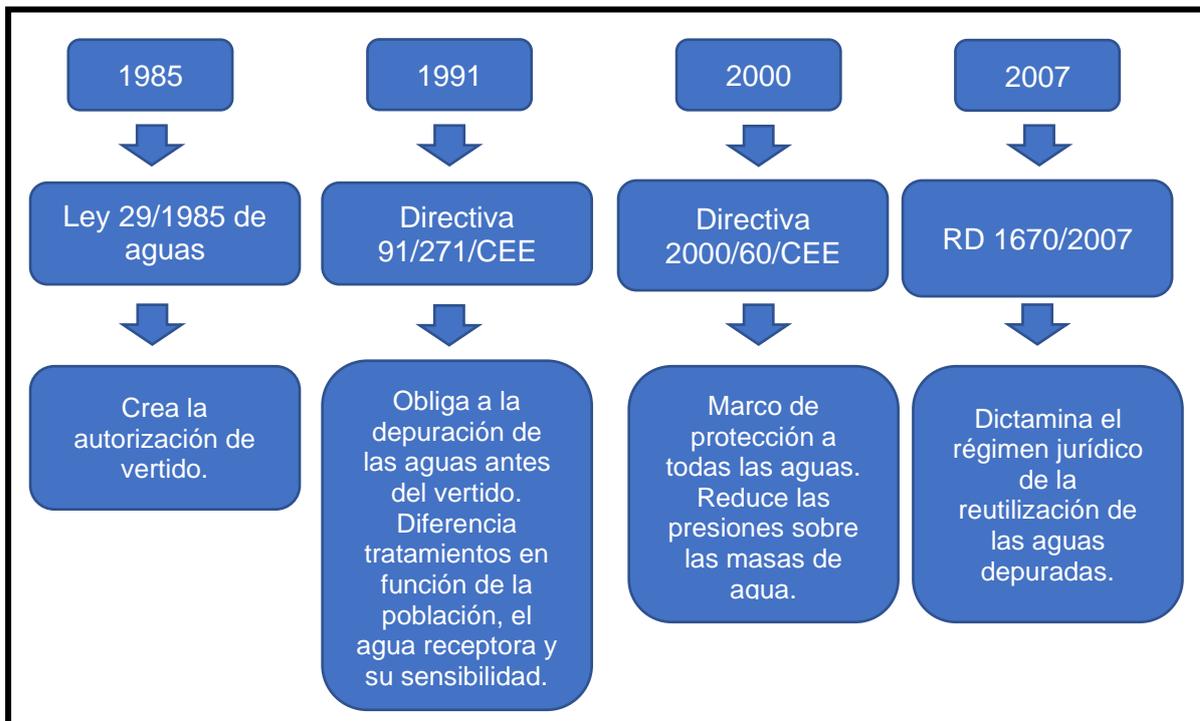


Figura 1. Esquema de la evolución de las normativas españolas en lo referente a depuración de aguas residuales. (Adaptado Del Río Gamero, 2018)

En la Directiva 91/271/CEE, se distinguen aguas residuales urbanas y aguas residuales industriales. Las aguas residuales industriales se definen como “todas las aguas residuales vertidas desde locales utilizados para cualquier actividad comercial o industrial, que no sean aguas residuales domésticas ni aguas de escorrentía pluvial” según el REAL DECRETO-LEY 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de aguas residuales urbanas, o “las procedentes de los procesos propios de la actividad en instalaciones comerciales o industriales con presencia de sustancias disueltas o en suspensión”, de acuerdo con la Ley 5/2002, de 3 de junio, sobre vertidos de aguas residuales industriales a los sistemas públicos de saneamiento.

1.3 DEPURACIÓN DE AGUAS PROCEDENTE DE LA ACUICULTURA

La acuicultura, al igual que muchas otras actividades humanas, produce aguas residuales procedentes de la cría de especies acuáticas. Las aguas residuales derivadas de piscifactorías se consideran aguas residuales industriales, tal y como se puede comprobar en la Ley 5/2002, de 3 de junio. Durante dicha actividad se genera una cantidad considerable de desechos orgánicos en forma de materia particulada o soluble, que aumentan la Demanda Química de Oxígeno (DQO), la Demanda Biológica de Oxígeno en 5 días (DBO₅), nitratos y fosfatos tal como indica la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en 2006.

Para poder verter estas aguas al medio o a la red de saneamiento pública es necesario someterlas a un tratamiento previo de forma que no alteren de ninguna forma (físico-química o biológica) dicho medio o den lugar a un sobre coste en los procesos de depuración financiados públicamente. Debido a los contaminantes que presentan las aguas de piscifactoría es necesario realizar:

- Pretratamiento: eliminación de arenas, objetos voluminosos (si los hubiera) y aceites y grasas. Generalmente se realiza mediante el uso de rejillas o tamices.
- Tratamiento primario: tratamiento físico-químico en el que se eliminan los sólidos en suspensión. Eliminación por precipitación o coagulación-floculación.
- Tratamiento secundario: tratamiento biológico en el que se eliminan compuestos que contengan nutrientes, como Nitrógeno o Fósforo además de la materia orgánica (MO).

La Directiva 91/271/CEE establece unos parámetros mínimos que los efluentes deben cumplir antes de ser vertidos (tabla 1).

Tabla1. Concentraciones máximas permitidas en los efluentes antes de su vertido a zonas sensibles, según la Directiva 91/271/CEE.

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN
DBO ₅	25 mg/L O ₂
DQO	125 mg/L O ₂
Sólidos en suspensión totales	35 mg/L
Nitrógeno total	10 mg/L
Fósforo total	1 mg/L

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) afirmó en 2007, que si el efluente procedente de piscifactorías no se tratase podrían darse casos de interacción química entre la instalación y el medio, entre los que se incluirían la eutrofización, agotamiento de oxígeno en el agua o cepas patógenas resistentes a antibióticos.

En la actualidad la acuicultura se enfrenta a un gran reto, pues debe poder abastecer el reciente aumento de la demanda de productos a la vez que minimiza el impacto ambiental que produce esta industria (UICN, 2010).

Los sistemas de depuración convencionales (EDAR) escalados para estas industrias no son rentables, ya que generan un alto gasto energético y económico. Según el Libro Blanco de la Acuicultura en España (2001) el sistema de depuración más utilizado eran las balsas de decantación. Se puede aumentar la eficiencia de este sistema mediante la instalación de filtros de tambor, filtro de banda o espumadores, con los que eliminar los sólidos en suspensión, en su mayoría productos excretados y restos de alimento no consumido.

Para el tratamiento biológico y eliminación de nutrientes presentes en el efluente, los sistemas más comunes son los biofiltros. En los biofiltros, son comunidades bacterianas las que se fijan al medio de filtración y estas se encargan de asimilar estos nutrientes, eliminándolos del agua. Los biofiltros empleados más frecuentes son: los sumergidos, los de percolación, los de lecho fluidizado o rotativos (Timmons et al., 2002).

Con el fin de optimizar la producción, a la vez que se mejora la calidad de las aguas durante el proceso de cría, como la calidad del efluente se han ido instalando sistemas alternativos de tratamiento y reutilización de las aguas, de forma que se minimizase la demanda de abastecimiento de agua del medio, así como la carga contaminante en los efluentes (UICN, 2007). Algunos de estos sistemas alternativos han sido:

- Cuerpos de agua artificiales: referidos a sistemas de tratamiento basados en áreas anegadas, conocidos como “humedales construidos”. La idea es utilizarlos con plantas acuáticas sobre sustratos de arena, grava u otro material en el que se forme un “biofilm” formado por diversas comunidades bacterianas, actuando como filtro biológico. En estos sistemas se consigue un tratamiento eficiente a la vez que económico, sobre todo para empresas de poco tamaño como suele ser el caso de las piscifactorías (M.Guerra Moura e Silva et al.,2013).
- Sistemas de Recirculación de Agua: mediante estos sistemas se consigue aumentar la producción con un uso más responsable del agua. Este sistema se implanta después del proceso de depuración (M.Guerra Moura e Silva et al.,2013).

Según el informe de autorizaciones de vertido de 2017, los vertidos correspondientes a piscifactorías fueron de 1.787.917.067 m³/año procedentes de 145 vertidos, lo que supone un 14,08% de los vertidos industriales. Pese a que se ha reducido el vertido respecto a años anteriores, sigue siendo necesario mejorar los sistemas de tratamiento y pensar en otros sistemas de depuración alternativos, como podría ser los METland[®] (*Microbial Electrochemical Technologies -land (wetland)*).

1.4 METs TECNOLOGÍAS ELECTROQUÍMICAS MICROBIANAS

Los METland[®] son humedales construidos bioelectrogénicos basados en las METs. La base de estas tecnologías es la capacidad electrogénica que presentan algunas especies de microorganismos, es decir, su capacidad de aceptar y donar electrones extracelularmente entre organismos o a materiales conductores que se encuentren en el medio (Rotaru A, et al.,2014).

Basadas en estas tecnologías surge la idea de las *Microbial Fuel Cells* (MFC) o celdas de combustible microbiana (figura 2). Este sistema sería capaz de convertir los residuos

procedentes de aguas residuales en energía limpia. Estos dispositivos están compuestos por 2 cámaras (una anaerobia y otra aerobia) separadas por una membrana de intercambio catiónico, y en cada una de ellas hay un electrodo ambos conectados entre si mediante un cable conductor en el que se encuentra una resistencia. Con esta disposición, los electrones procedentes del metabolismo se transfieren a uno de los electrodos (ánodo) y de éste, a través del cable conductor llegan al segundo electrodo (cátodo), generando así una corriente eléctrica. De esta forma el ánodo actúa como donador de electrones, en la naturaleza podría ser compuestos orgánicos, y el cátodo actúa como aceptor final de electrones, como sería el caso del oxígeno (Aguirre A, 2016).

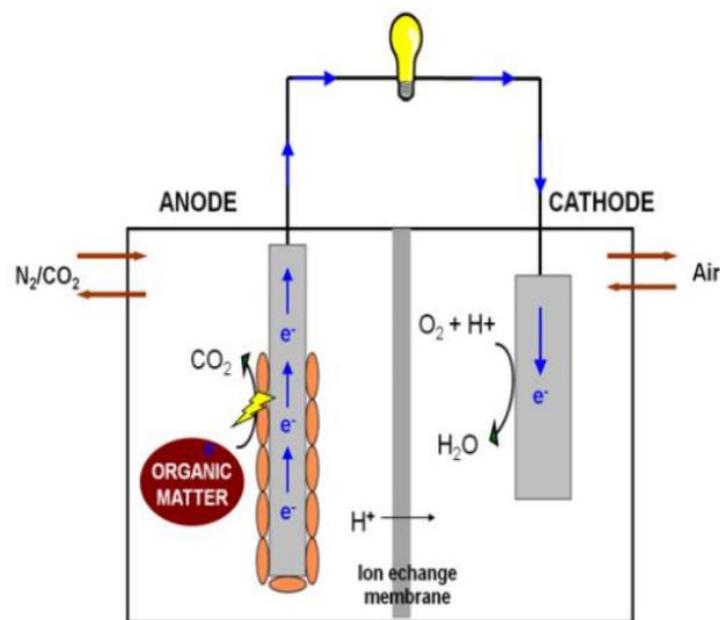


Figura 2. Esquema de funcionamiento de una MFC con una membrana de intercambio catiónico. Fuente: Aguirre A, 2016

1.4.1 *Geobacter sulfurreducens*, electrogénesis microbiana.

La batería más estudiada en el ámbito de la electrogénesis microbiana es *Geobacter sulfurreducens* (figura 3). Es una proteobacteria gran negativa, que se encuentra en una gran variedad de nichos, la podemos encontrar en lechos fluviales y marinos, sedimentos e incluso aguas residuales (Lovley et al., 2011).

Geobacter sulfurreducens es capaz de oxidar compuestos orgánicos y transferir electrones extracelularmente de forma directa (DEET) a iones metálicos como el Fe^{3+} o en presencia de un material conductor, a éste y a otras bacterias (DIET) (Esteve-Núñez A., 2008). Debido

a su capacidad para transferir electrones extracelularmente, estas bacterias poseen una ventaja ecológica y de competencia por el nicho si éste lo forman materiales conductores (figura 3).

Estos microorganismos constituyen en sí mismo una MFC, ya que son capaces de convertir la energía química en energía eléctrica. La transferencia de electrones se realiza a través de proteínas de membrana, como los citocromos de tipo C. Los pili, estructuras extracelulares, presentes en estas bacterias se podrían emplear como nanoconductores para la transferencia extracelular de electrones (Borjas Hernández, 2016).

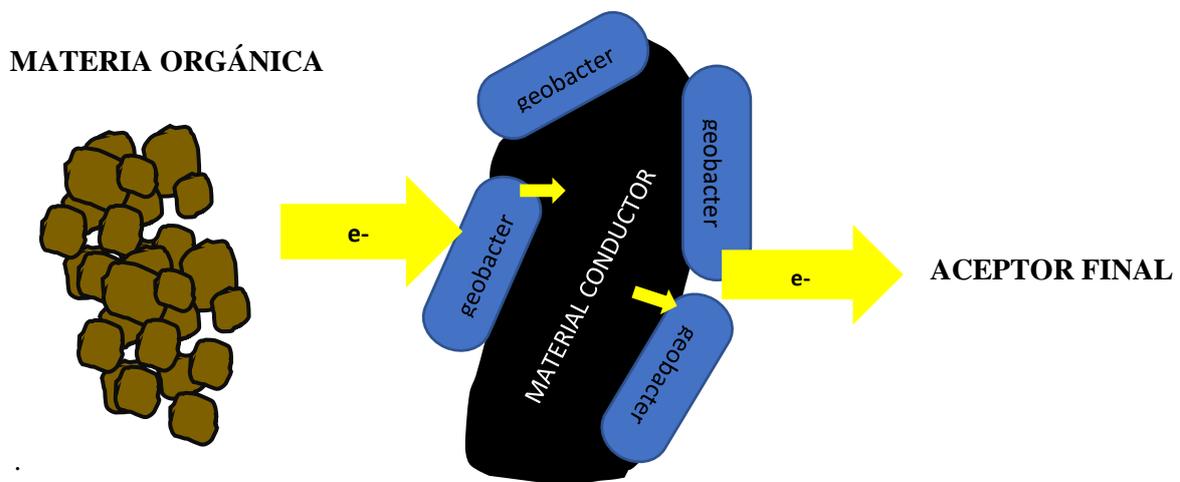


Figura 3. Esquema de la oxidación de la materia orgánica y transferencia extracelular de electrones (DEET) a un material conductor. Adaptado: Jiménez. M, 2018

1.4.2 Eliminación del Nitrógeno con sistemas MET.

Los compuestos de Nitrógeno son unos de los principales contaminantes presentes en aguas residuales de piscifactoría, procedentes de la excreción de los animales. La forma más abundante en la que aparece, es en forma de amonio (NH_4^+). Su eliminación se produce en dos procesos. En primer lugar, se produce la nitrificación en la que el amonio pasa a nitrito (NO_2^-) y posteriormente nitrato (NO_3^-), este proceso requiere de oxígeno, por lo que se producirá en ambientes aerobios (figura 4).

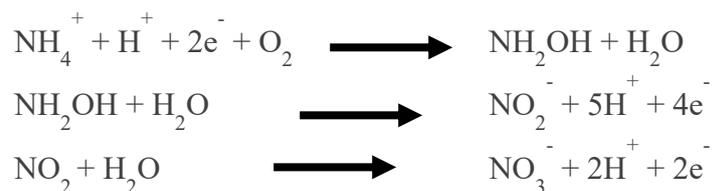


Figura 4. Reacciones durante el proceso de nitrificación.

En segundo lugar, se produce la desnitrificación donde el nitrato formado anteriormente sigue un proceso de transformaciones hasta que llega a nitrógeno molecular (N_{2g}), el cual se volatiliza y se desprende del medio. En esta ocasión este proceso se produce en condiciones anaerobias, es decir, sin presencia de oxígeno y es el nitrato el aceptor final de electrones (figura 5).



Figura 5. Reacciones durante el proceso de desnitrificación.

Uno de los principales problemas, que surgen para que se produzcan estos procesos, es que haya suficiente cantidad de oxígeno (aceptor final de electrones) para que se elimine por completo el contenido en amonio. En el caso de las aguas procedentes de piscifactorías hay que tener en cuenta que la respiración de los animales a consumido una gran proporción del oxígeno presente en el agua, por lo que éste va a ser un factor limitante a la hora de depurar sus aguas. En sistemas convencionales de tratamiento sería necesario bombear oxígeno al agua y agitarla, proceso muy costoso, para realizar un buen tratamiento. Con las MET la concentración de oxígeno en el agua no sería una limitación, ya que se sustituye este aceptor final por un material conductor que actúa como tal.

1.5 METland®, UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE PISCIFACTORIAS

Los METland® son humedales construidos (figura 6), basados en las METs, que, a diferencia de los convencionales, se ha sustituido el material de lecho habitual (grava o arena) por otros materiales conductores. De esta manera, el lecho puede actuar como aceptor o donador de electrones ante bacterias electrogénicas.

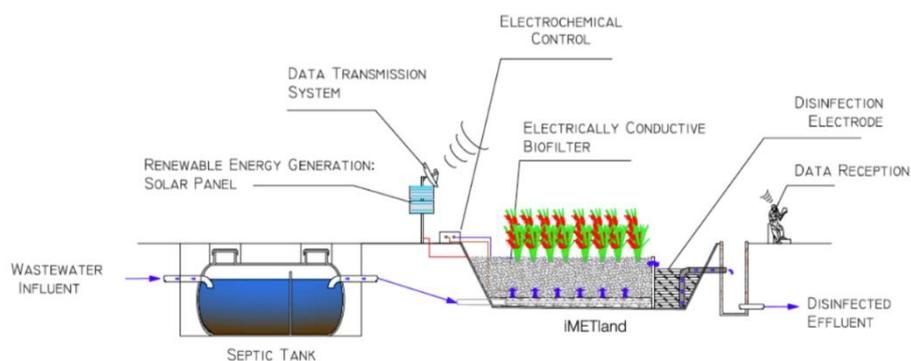


Figura 6. Esquema de un humedal artificial bioelectrogénico. Imagen tomada del Proyecto iMETland.

Esta nueva tecnología conlleva un menor gasto energético y económico, así como un menor impacto ambiental que los sistemas de tratamiento de aguas convencionales y otros humedales construidos. Si lo comparamos solo con los humedales tradicionales de grava, los humedales electrogénicos ofrecen una mayor eficiencia depuradora, permitiendo reducir el espacio para su construcción (Aguirre A et al., 2016).

En la actualidad existe el proyecto iMETland, que ya dispone de varios humedales instalados y en funcionamiento repartidos por la geografía mundial (España, Dinamarca, Argentina y México) (figura 7). Este proyecto se encuentra financiado por el Programa Europeo de Investigación e Innovación H2020 y dirigido por el Instituto Madrileño de Estudios Avanzados agua (IMDEA agua) (IMDEA, 2015).



Figura 7. Aspecto real de distintos humedales construidos bioelectrogénicos en funcionamiento. Fuente: Proyecto iMETland.

1.6 OBJETIVOS

- Comprobar la capacidad o eficiencia de depuración de un humedal bioelectrogénico usando distintos sustratos como material conductor.
- Comprobar la capacidad o eficiencia de depuración de un humedal bioelectrogénico en aguas residuales de piscifactoría.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir los objetivos del presente TFM, se diseñó un experimento en el que se simularon cuatro humedales bioelectrogénicos a escala de laboratorio. Para ello se construyeron cuatro biorreactores, en forma de columna, que representasen la vertical de un humedal. El experimento tuvo una duración aproximada de 4 meses, desde la construcción de las columnas a la toma de la última muestra. Dichas columnas estuvieron en funcionamiento un total de 112 días. Durante este tiempo el experimento puede dividirse en dos fases, en función del tipo de agua que se empleó. Al mismo tiempo con cada tipo de agua se sometió a los sistemas a dos tiempos de retención hidráulicos (TRHs) distintos, de 24 y 12 horas (h).

2.1 MATERIALES DEL LECHO DE LAS COLUMNAS.

Se construyeron cuatro columnas, cada una con un material de lecho distinto (tabla 2), la primera de grava (material tradicional empleado en humedales), la segunda de coque grafitado (material conductor) con una mayor eficiencia depuradora comprobada que la grava (Prado A. et al., 2019); las dos columnas restantes se construyeron con biochar (carbón vegetal), la diferencia entre estas columnas radica en las propiedades del biochar, pues la tercera columna la componía biochar no conductor (B. no conductor) y la cuarta biochar conductor (B. conductor).

Tabla 2. Distribución de los materiales por columnas.

COLUMNA	MATERIAL
1	 GRAVA
2	 COQUE
3	 BIOCHAR NO CONDUCTOR
4	 BIOCHAR CONDUCTOR

El biochar es un material procedente de la pirólisis de material vegetal. Que el biochar tenga propiedades conductoras dependerá de la temperatura que alcance en el proceso de pirolización. En los casos en los que el material vegetal no llega a un determinado rango de temperaturas no obtendrá propiedades conductoras.

2.2 DISEÑO DE LOS BIOFILTROS.

Los biofiltros se construyeron con PVC (policloruro de vinilo) y estaban divididas en dos secciones o cámaras, una superior o cámara aerobia y la inferior, cámara anaerobia. Para conseguir la anaerobiosis en la cámara el material se encuentra anegado con 0,5L de agua. Entre ambas cámaras se instaló una cámara intermedia, con un acceso que nos permitiría hacer modificaciones y coger muestras (figura 8).

Lo primero que se tuvo en cuenta para dimensionar las columnas, fue el caudal que se iba a depurar al día (d). Lo establecimos en 0,5L diarios. El siguiente paso fue calcular los volúmenes de los materiales empleados como lecho. Para su cálculo, se introdujo medio litro de agua en una probeta y después se comprobó el volumen que marcaba la probeta tras añadir los distintos materiales, hasta que material y agua quedaban igualados. Debido a la porosidad efectiva de cada material, estos presentaron distintos volúmenes (tabla 3).

Tabla 3. Porosidades efectivas y volúmenes necesarios de los materiales de lecho de las cámaras de las columnas.

MATERIAL	POROSIDAD EFECTIVA	VOLUMEN
GRAVA	41.6%	1.35 L
COQUE	58.14%	0.82 L
BIOCHAR	55.55%	0.82 L

Se calculó que la longitud mínima que debía de tener cada cámara era de 17,5 cm en base al volumen necesario de grava, ya que era el mayor. Esta longitud se duplicó como medida de seguridad y por si en el algún momento del experimento se decidía aumentar el volumen del lecho.

Al final de cada cámara se pegó una malla de plástico, que permitiese el paso del agua y sujetase el lecho. Igualmente, al principio de la cámara anaerobia (inferior) también se colocó una malla, que nos permitiría coger muestras de agua al paso de la primera cámara, así como añadir materia orgánica en caso de ser necesario. En la cámara aerobia se introdujo una tubería agujereada que actuaría como chimenea, asegurándonos la presencia de oxígeno en toda la cámara. Por último, se instaló una tubería de desagüe. Esta tubería tiene diversas funciones, nos permitía mantener la cámara anegada con un volumen constante (principio de Pascal) y nos permitía obtener muestras del agua tratada.

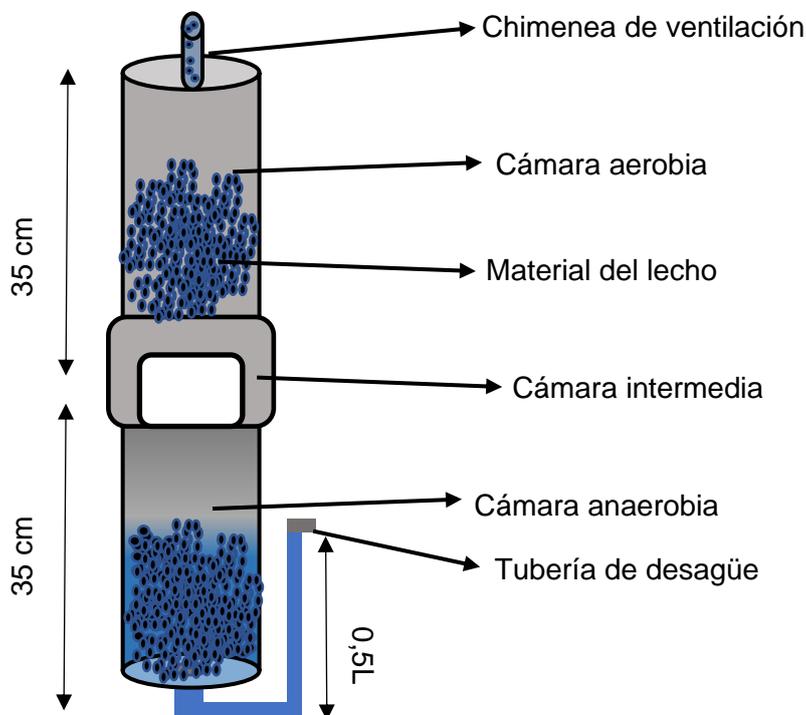


Figura 8. Esquema de las partes que forman el biorreactor.

2.3 FUNCIONAMIENTO DE LAS COLUMNAS.

Las columnas (figura 9) están diseñadas para que simulen un humedal de tipo “*down flow*”, de forma que el flujo de agua va de arriba abajo. El agua es bombeada desde una garrafa a las columnas mediante una bomba peristáltica. El agua llega al sistema mediante goteo continuo pasando en primer lugar por la cámara aerobia, donde se descompone la mayor parte de la materia orgánica y se produce la nitrificación. A continuación, el agua llega a la

cámara anaerobia donde el tiempo que pasa depende del TRH que programemos, durante este proceso sucede la desnitrificación. Finalmente, el agua abandona el sistema por la tubería de desagüe.



Figura 9. Aspecto real de las columnas. De izquierda a derecha, columna de grava, coque, biochar no conductor y biochar conductor.

El TRH se calculó con el volumen eficaz que contenía cada columna, es decir 0,5L, por lo que si hacemos pasar por la columna ese mismo volumen el TRH sería de 24h. Esto implica que desde que entraba el agua en el sistema hasta que salía pasaban 24h. Durante el experimento también se analizó la eficiencia con un TRH de 12h.

2.4 TIPOS DE AGUA.

Agua residual convencional: esta agua procedía del centro IMDEA agua, en su mayoría compuesta por agua residual urbana y el agua residual procedente de los laboratorios de investigación. El instituto de investigación IMDEA agua dispone de un METland® y de un sistema basado en filtros verdes para realizar el tratamiento de sus propias aguas residuales. Antes de que el agua llegue a los sistemas de tratamiento, se le da un pretratamiento y un tratamiento primario en un tanque Imhoff, donde mediante precipitación se elimina gran parte de la materia orgánica (figura 10). En este caso en concreto el cono esta

sobredimensionado respecto al volumen que genera el centro, esto hace que la materia orgánica que llega a los humedales sea la más difícil de descomponer, debido al alto TRH al que ha sido sometido. Después de pasar un tiempo en el cono el agua llegaba a una arqueta antes de pasar a los humedales; de esta arqueta es, de la que nosotros tomábamos el agua para llevarla a nuestras columnas del laboratorio. Así pues, nuestros sistemas se centraban en el tratamiento secundario de las aguas.

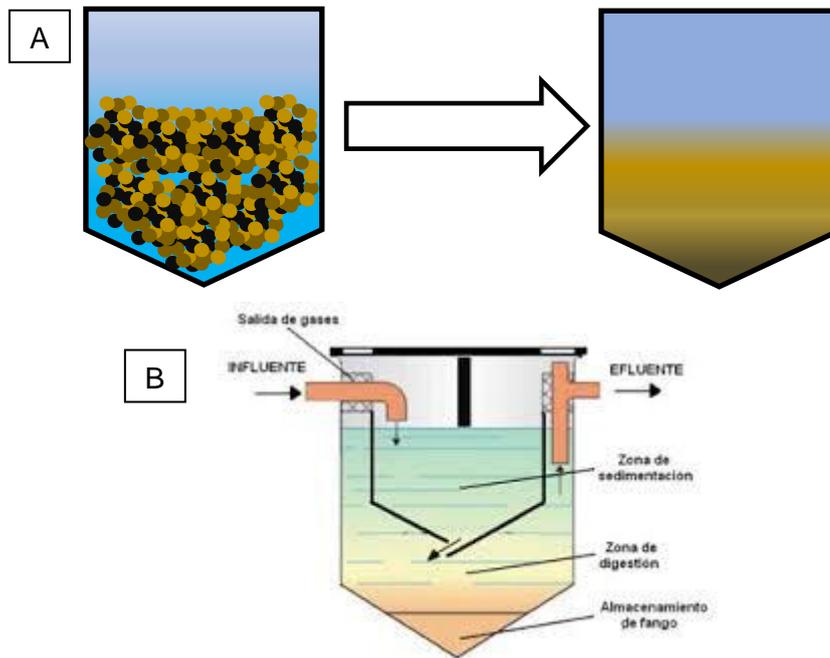


Figura 10. A) Esquema del proceso de precipitación que se produce en un tanque Imhoff. B) Diseño real de un tanque Imhoff con las distintas zonas, entradas y salidas señaladas. Fuente: Mancomunitatea, 2016.

Agua sintética de piscifactoría: a falta de agua real con la que realizar el experimento, se procedió a recrear un agua en base a bibliografía. En la figura 11, se pueden ver los valores modelo del efluente de una piscifactoría.

Parámetros	C _{Efluente}	STD	Vertido
	mg/l		
Sólidos disueltos totales	714	62.5	857
Demanda química de oxígeno (DQO)	200	89.0	239
Amonio -N (TAN)	18.7	5.84	22.4
Nitrógeno orgánico	11.6	11.8	13.9
Total N	29.7	11.4	35.6
Ortofosfato P	1.37	1.07	1.64
Total P	2.90	0.92	3.48
Sólidos suspendidos volátiles	114	57.6	137

Figura 11. Tabla de contenido más representativo del efluente de una piscifactoría. Marcados en rojo los parámetros y valores que nos interesaron para reproducir el agua. Modificada de SustainAqua, 2009.

Como en el experimento nos centramos en el tratamiento secundario de las aguas, a la hora de reproducir el agua, no se tuvo en cuenta los valores de los sólidos. En la tabla 4 se puede ver la composición que se siguió para reproducir el efluente. Se pudo observar que dadas las dificultades de mantener estériles los medios por los que transcurre el agua, había que aumentar las concentraciones principalmente de materia orgánica para que el agua que entrase al sistema tuviera los valores establecidos y no se hubiera degradado demasiado. Por ello, se realizaron pruebas con dos tipos diferentes de agua sintéticas. Finalmente, se optó por triplicar la cantidad de extracto de levadura, compuesto que nos aportaba la DQO, además de nitrógeno. Al triplicar la carga de este compuesto se vio que no era necesario usar el cloruro amónico, pues la levadura aportaba la suficiente cantidad de nitrógeno (tanto orgánico como inorgánico) que indica la bibliografía. Por lo tanto, el experimento se realizó con el “AGUA 2”.

Tabla 4. Composición de las aguas sintéticas de piscifactoría utilizadas.

Compuesto	AGUA 1 (20L)		AGUA 2 (20L)	
	Cantidad (mg)	Aporte	Cantidad (mg)	Aporte
Extracto de levadura	3867	232 mg/l DQO	11600	696 mg/l DQO
		9,86 mg/l N-NH ₄		29.58 mg/l N-NH ₄
		11,6 mg/l N-org		34.8 mg/l N-org
Cloruro amónico (NH ₄ Cl)	525,5	8,84 mg/l N-NH ₄	No necesario	No necesario
Fosfato potásico (KH ₂ PO ₄)	39,26	1,37 mg/l ortofosfato P	39,26	1,37 mg/l ortofosfato P
Bicarbonato sódico (NaHCO ₃)	6,2	No necesario	6,2	No necesario
Hierro citrato (50mM) (FeC ₆ H ₆ O ₇)	60 ml	No necesario	60 ml	No necesario
Cloruro de magnesio (MgCl ₂ •6H ₂ O)	1000	No necesario	1000	No necesario
Cloruro de calcio (CaCl ₂ •2H ₂ O)	1480	No necesario	1480	No necesario
Sulfato de zinc (ZnSO ₄ •7H ₂ O)	8	No necesario	8	No necesario

2.5 PARÁMETROS ANALIZADOS Y MUESTREO.

Los parámetros que medimos para comprobar la eficiencia de depuración fueron:

- Demanda química de oxígeno (DQO): es un parámetro que determina la cantidad de materia orgánica (disuelta o en suspensión) en una muestra líquida, capaz de ser oxidada por un compuesto químico. Muy útil para el seguimiento de la contaminación de aguas residuales. La analítica se realiza mediante la oxidación forzada de la materia orgánica. El grado de oxidación y por tanto la cantidad de materia orgánica se mide mediante un espectrofotómetro. Para su determinación se siguió el método 5220 “*Chemical oxygen demand*” (COD), aprobado en 1997 por *Standard Methods Commitee*.
- Aniones y Cationes (NH₄, NO₂, NO₃): el análisis de aniones y cationes se realizó mediante un cromatógrafo iónico (930 Compact Flex). En función de si determinamos aniones o cationes, es necesario preparar un eluyente que se introduce en la columna del cromatógrafo. El procedimiento que se siguió para la determinación iónica fue el método estandarizado 4110 B “*Ion Chromatography with Chemical Suppression of Eluent Conductivity*”.

Se empezó tomando muestras de tres puntos distintos de cada columna. El primero de los puntos era la entrada al sistema (E), el segundo en la cámara media (M); este punto era clave para conocer el funcionamiento interno de las columnas, pues nos indicaba como estaba funcionando la cámara aerobia, y el tercero se encontraba en la salida del sistema (S) (figura 12). Con esta distribución de puntos de muestreo podíamos saber la eficiencia de depuración de cada una de las cámaras y de la columna al completo.

Mientras trabajamos con el agua de IMDEA, observamos que tal vez se podría mejorar el proceso de desnitrificación en la cámara anaerobia si en la cámara media añadiésemos materia orgánica (fuente donadora de electrones), por eso procedimos añadir 20 gramos (g) de materia orgánica vegetal en forma de pellets de pino y coco. Por ello, se añadió otro punto de muestreo (C) situado justo en la superficie de la zona anegada de la cámara anaerobia.

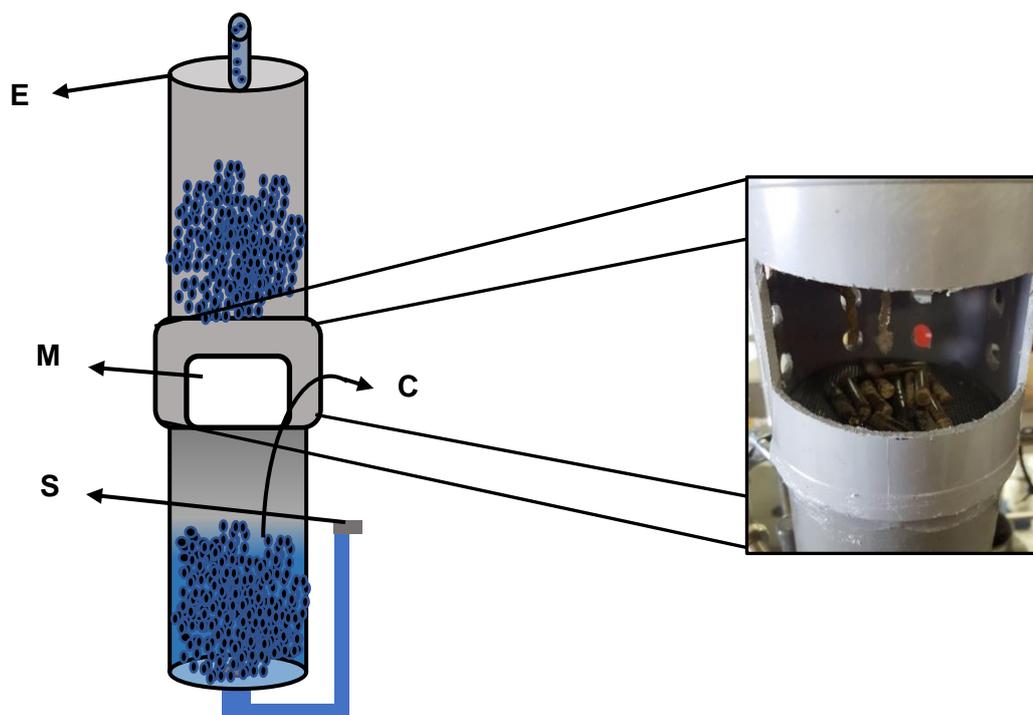


Figura 12. A la izquierda, un esquema de los distintos puntos de muestreo, entrada (E), cámara media (M), salida (S) y zona anegada (C). A la derecha, imagen real de la cámara media con los pellets de pino y coco añadidos.

Para el agua de piscifactoría, se emplearon solo los tres primeros puntos de muestreo, ya que no hizo falta añadir m.o debido a la alta DQO que ya proporcionaba la propia agua. Cada muestra que se recogió fue de 5 ml. Se cogieron entre 3 y 4 muestras de cada condición experimental. Cada vez que se cambiaba alguna condición experimental (como el TRH), se dejaba un mínimo de 4 días de aclimatación del sistema a las nuevas condiciones, en el caso del cambio de tipo de agua, se dejaron circular por el sistema 20l antes de comenzar a tomar muestras.

2.6 INSTRUMENTAL UTILIZADO.

Materiales para la fabricación de las columnas:

- Tuberías PVC 9cmØ.
- Tuberías silicona.
- Lima.
- Sierra de mano.
- Epoxi.
- Tuberías PVC 1cmØ.
- Malla de plástico.
- Lija.
- Taladro.
- Silicona.

Materiales para la toma de muestras:

- Guantes de látex.
- Jeringuillas.
- Eppendorf 5ml.
- Filtros 20 μ m.
- Pesa sustancias.
- Agujas.
- Pipeta Pasteur.

Materiales para el análisis de las muestras:

- Guantes de látex.
- Bata.
- Tubos de vidrio para DQO.
- Tubos de plástico para análisis iónico.
- Reactor de digestión.
- Agua destilada.
- Micropipetas.
- Puntas de pipeta.
- Cromatógrafo iónico (930 Compact Flex).
- Pesa sustancias.

3. RESULTADOS

A continuación, se van a poder observar los distintos resultados obtenidos durante el experimento. Para determinar la eficiencia de los materiales a la hora de la depuración se han empleado dos fórmulas distintas:

- “*Removal efficiency*” o porcentaje de eliminación (figura 13): expresado en tanto por cien, nos indicará la cantidad respecto al total del elemento eliminado entre dos puntos del sistema. Mediante la diferencia entre influente y efluente calculamos dicho porcentaje, se puede calcular de forma individual para cada una de las cámaras o para el sistema completo.

$$\text{Removal efficiency (\%)} = \frac{(\text{influyente} - \text{efluente}) * 100}{\text{efluente}}$$

Figura 13. Fórmula empleada para el cálculo del porcentaje de eliminación o *Removal efficiency*.

- “*Removal rate*” o tasa de eliminación (figura 14): se expresa en gramos eliminados por cada metro cúbico de lecho y día. Nos indica la cantidad de contaminante que elimina el sistema. Al igual que en el caso anterior podemos calcularlo de forma individual en cada cámara o para el sistema entero.

$$\text{Removal rate (g eliminados)/(m}^3 \text{ * d)} = \frac{(\text{influyente} - \text{efluente}) * 100}{\text{efluente}}$$

Figura 14. Fórmula empleada para el cálculo de la tasa de eliminación o *Removal rate*.

Como se ha dicho anteriormente, el experimento se realizó con dos tipos de agua, agua residual convencional y agua sintética de piscifactoría, del mismo modo, con cada agua se trabajó con diferentes condiciones.

3.1 Experimento con agua residual convencional procedente del Instituto de investigación IMDEA agua.

Con esta agua se experimentó en tres condiciones, en primer lugar, con un TRH de 24 h y sin añadir materia orgánica, después, se mantuvo el TRH, pero se añadieron 20 g de materia orgánica en la cámara media, y, por último, se redujo el TRH a 12 h, aumentando el caudal de depuración a 1L y con presencia de materia orgánica añadida en la cámara media.

Lo primero que se debe indicar respecto a los resultados que se van a presentar en las tablas es, que tanto los porcentajes de eliminación como la tasa de eliminación calculados tanto para DQO y Nt (Nitrógeno total) corresponden a la eliminación de todo el sistema o columna, por el contrario, en el caso del NH₄ solo hace referencia a la cámara aerobia, donde se da lugar la nitrificación. Es conveniente explicar a qué se refiere el término nitrógeno total, pues no se ha tenido en cuenta todo el nitrógeno presente en el agua. Cuando se habla de Nt, se refiere al Nitrógeno molecular correspondiente al amonio, nitratos y nitritos (N:NH₄, N:NO₃⁻, N:NO₂⁻), ya que son los compuestos que se han podido identificar con el instrumental utilizado.

3.1.1 Agua residual convencional, con TRH 24h sin adición de MO.

En la tabla 5 se puede ver, bajo esta condición, que el mayor porcentaje de eliminación de DQO corresponde al Coque, seguido por el Biochar conductor y por último la Grava, del mismo modo, el Coque elimina 15,65 gDQO/m³*d frente a los 8.70 g que elimina la Grava.

Tabla 5. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 24h y sin adición de materia orgánica.

<i>Removal efficiency</i>	DQO (%)	<i>Removal rate</i>	gDQOeli/m³lecho*d
Grava	88%	Grava	8,70
Coque	99%	Coque	15,65
B. no conductor	80%	B. no conductor	12,40
B. conductor	90%	B. conductor	14,13

En la figura 15, se muestran los resultados obtenidos referentes a la eficiencia de nitrificación, es decir transformación del amonio en la cámara aerobia. En el eje de las abscisas se encuentran los distintos materiales empleados. En el eje de ordenadas de la izquierda se representa la tasa de eliminación (*Removal rate*), representado en forma de barras. En el eje de la derecha se muestra el porcentaje de eliminación (*Removal efficiency*), representado en el grafico mediante triángulos. Se puede apreciar que los mayores porcentajes de eliminación de amonio corresponden a los materiales conductores, Biochar conductor y Coque, oxidando el 100 y 94% presente en el influente, frente al 89% del Biochar no conductor y la Grava con un 69%.

La tasa de eliminación ha seguido el mismo patrón, siendo el B. conductor (rojo) el más eficiente con una tasa de 10,23 g/m³d. Seguido, el Coque, en tonos verdes, presentó una tasa de 8,85 g/m³d. Por último, los materiales no conductores, el B. no conductor y la Grava (gris y amarillo) con unas tasas de 7,83 y 5,53 g/m³d respectivamente. La tasa de eliminación máxima que se espera en los biofiltros se indica mediante una línea discontinua y se calcula suponiendo, en este caso, la oxidación total del amonio. En este caso la tasa máxima se corresponde con la tasa presentada por el B. conductor.

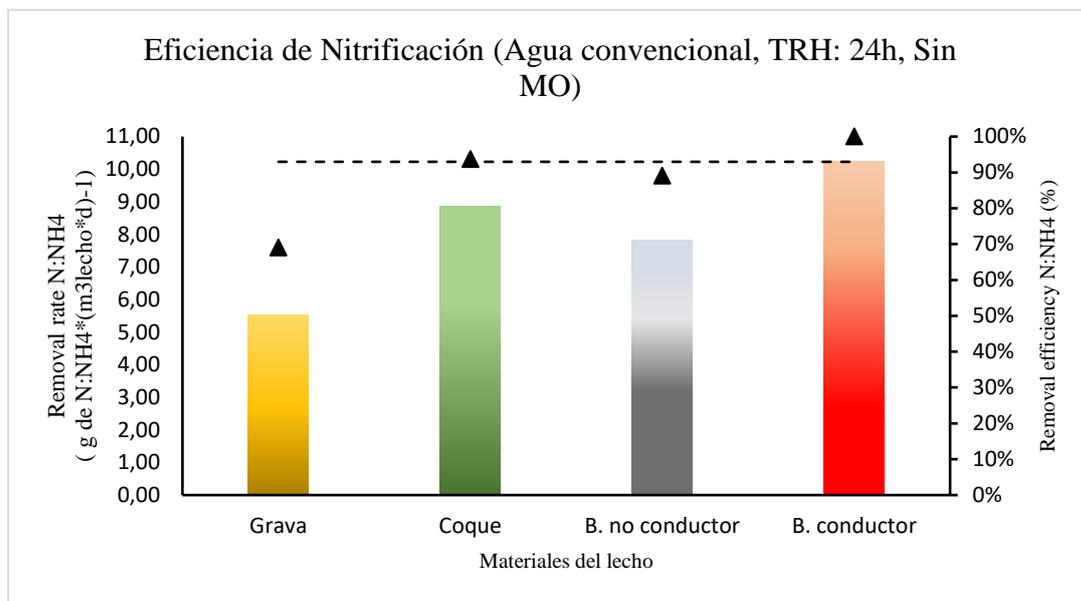


Figura 15. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos referentes a la eficiencia de desnitrificación (figura 16), es decir, eliminación del nitrógeno del agua a su paso por el sistema completo. La distribución de los ejes, así como la gama de colores empleada es la misma que la citada anteriormente. En este caso, el porcentaje y la tasa de eliminación se refieren al Nitrógeno total, en vez de al amonio. Al igual que en la oxidación del amonio, los mayores porcentajes de eliminación los presentan el Coque y el B. conductor, ambos con un 48% seguidos de un 33% de la Grava y un 21% del B. no conductor. Respecto a la tasa de eliminación tanto el B. conductor y el Coque llegan a duplicarla (8,57 y 7,77 g/m³d respectivamente) comparada con la Grava (3,47 g /m³d). La máxima tasa de desnitrificación que se podía esperar en los sistemas era de 16,74 g/m³d.

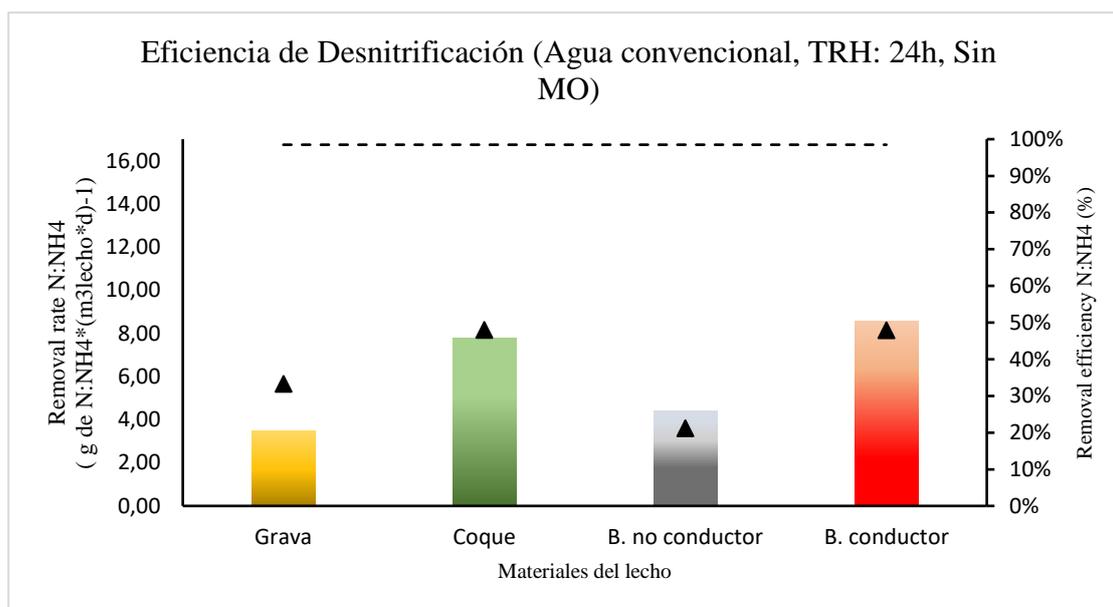


Figura 16. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

3.1.2 Agua residual convencional, con TRH 24h y 20 g de MO

En la tabla 6 se pueden ver los resultados obtenidos en esta segunda condición. El Biochar conductor fue el material que mostro mayor porcentaje de eliminación, 43%, en lo que a DQO se refiere seguido por el B. no conductor y la Grava. Siguiendo el mismo esquema, el B.conductor presentó la mayor tasa de eliminación 56,10 g/m³d seguida de 45,27 g eliminados por el B. no conductor y 19,63 g de la Grava. Los resultados obtenidos de DQO en el biofiltro compuesto por Coque fue de 0 mg O₂/L, tanto en la entrada como en la salida, posiblemente debido a un error humano a la hora de preparar la muestra para su medición. En la tabla se indica como s.d (sin dato).

Tabla 6. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 24h y adición de 20 g de materia orgánica.

<i>Removal efficiency</i>	DQO (%)	<i>Removal rate</i>	gDQOeli/m³lecho*d
Grava	26%	Grava	19,63
Coque	s.d	Coque	s.d
B. no conductor	38%	B. no conductor	45,27
B. conductor	43%	B. conductor	56,10

La figura 17 muestra los resultados obtenidos referentes a la eficiencia de nitrificación. Al igual que en la primera condición, la distribución de los ejes y colores empleados es la misma. De la misma forma que ocurría en la condición anterior el B. conductor (representado en tonos rojos), convirtió el 100% del amonio presente en el influente. Le siguió con un 87%, la Grava (tono amarillo), el 83% del Coque (escala de verdes) y por último el B. no conductor (tonos grises) con un 80%. Al comprobar la tasa de eliminación, se observa que la mayor tasa corresponde al B. conductor eliminando $10,80 \text{ g/m}^3\text{lecho}\cdot\text{d}$ llegando a duplicar la tasa de la Grava ($5,39 \text{ g/m}^3\text{lecho}\cdot\text{d}$). Las tasas del Coque y el B. no conductor fueron similares ($8,33$ y $8,42 \text{ g/m}^3\text{lecho}\cdot\text{d}$ respectivamente). Del mismo modo que ha ocurrido sin añadir materia orgánica al sistema, el B. conductor ha alcanzado la máxima eficiencia de nitrificación.

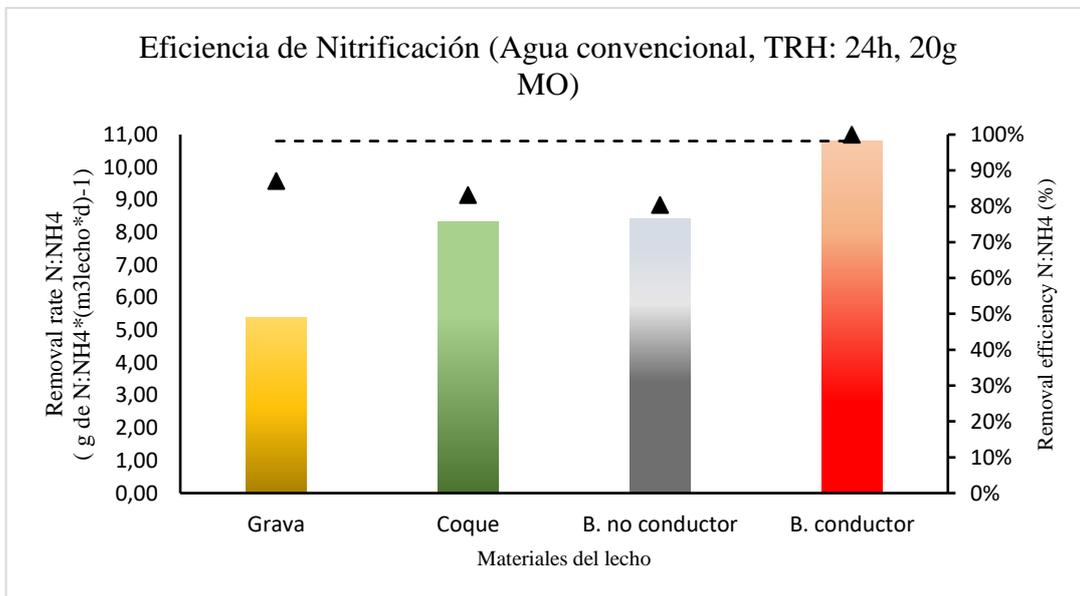


Figura 17. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y añadiendo 20 g de materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

En la figura 18, se pueden ver los resultados obtenidos para el proceso de desnitrificación, eliminación del nitrógeno presente en el agua durante su paso por ambas columnas. Los mayores porcentajes de eliminación los presentan el B. conductor y no conductor, con un 58 y un 48% respectivamente seguidos de un 45% del Coque y un 42% de la Grava. La mayor tasa de eliminación de nitrógeno la ofrece el B. conductor ($9,01 \text{ g/m}^3\text{d}$), el B. no conductor elimina $8,26 \text{ g}$, el Coque $6,94 \text{ g}$ y por último la grava con $3,91 \text{ g}$ gramos. La máxima tasa de desnitrificación que cabía esperar, en estas condiciones, era de $15,62 \text{ g/m}^3\text{d}$.

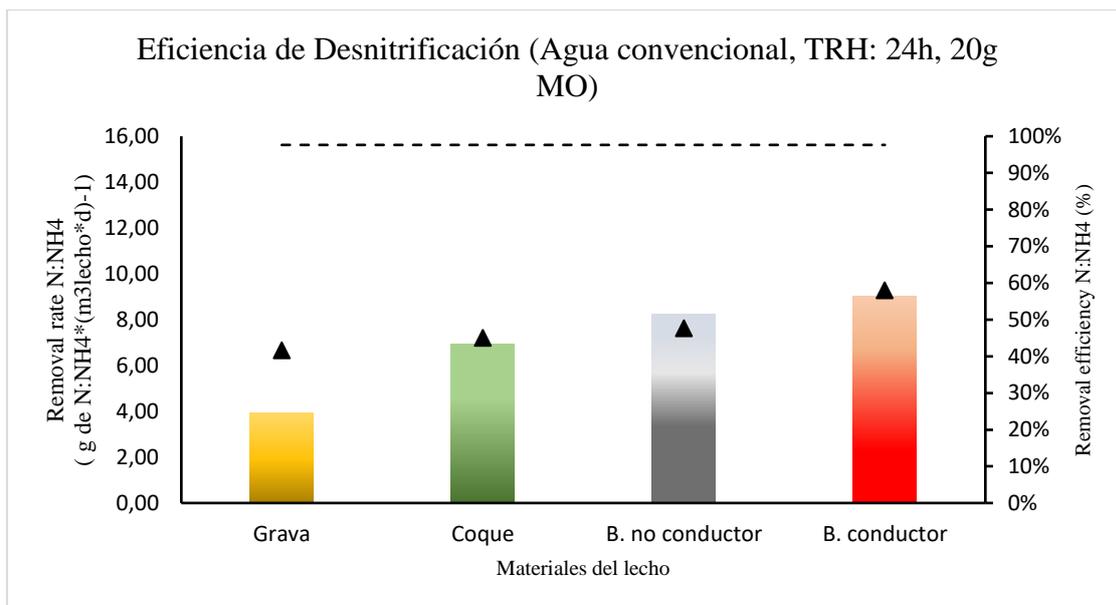


Figura 18. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 24h y añadiendo 20 g de materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

3.1.3 Agua residual convencional, con TRH 12h y 20 g de MO

La tabla 7 muestra los resultados obtenidos en esta nueva condición. Todos los materiales muestran el mismo porcentaje de eliminación para la DQO, el 67%. Esto se debe a que los valores de entrada de DQO fueron muy bajos y similares entre ellos. Los materiales conductores y el B. no conductor presentaron unas tasas de eliminación muy similares (entre 3,46 y 4 g/m³d) mientras que la tasa de la Grava fue de 1,11 g/m³d.

Tabla 7. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua convencional, bajo las condiciones de TRH 12h y adición de 20 g de materia orgánica.

<i>Removal efficiency</i>	DQO (%)	<i>Removal rate</i>	gDQOeli/m³lecho*d
Grava	67%	Grava	1,11
Coque	67%	Coque	3,46
B. no conductor	67%	B. no conductor	4,27
B. conductor	67%	B. conductor	4,00

El siguiente gráfico (figura 19), muestra los resultados obtenidos referentes a la eficiencia de nitrificación. Se mantiene la misma metodología para su representación que anteriormente. Al igual que en la primera condición los mayores porcentajes de eliminación lo presentan los materiales conductores, B. conductor y Coque (62 y 60% respectivamente) seguido de la Grava con un 28% y el B. no conductor con un 12%. La tasa de eliminación sigue más o menos, el mismo patrón que el porcentaje de eliminación siendo los materiales conductores los que presentan las mayores tasas de eliminación, el Coque convierte 11,82 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$ y el B. conductor 10,55 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$. La tasa de eliminación del B. no conductor no llegó a 8 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$ y la Grava fue el material en el que menor tasa se observó siendo de 4 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$. Como se ve la eficiencia de depuración del Coque es casi 3 veces mejor que la de la Grava. La tasa máxima de oxidación del amonio que se podía esperar era de 21,09 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$.

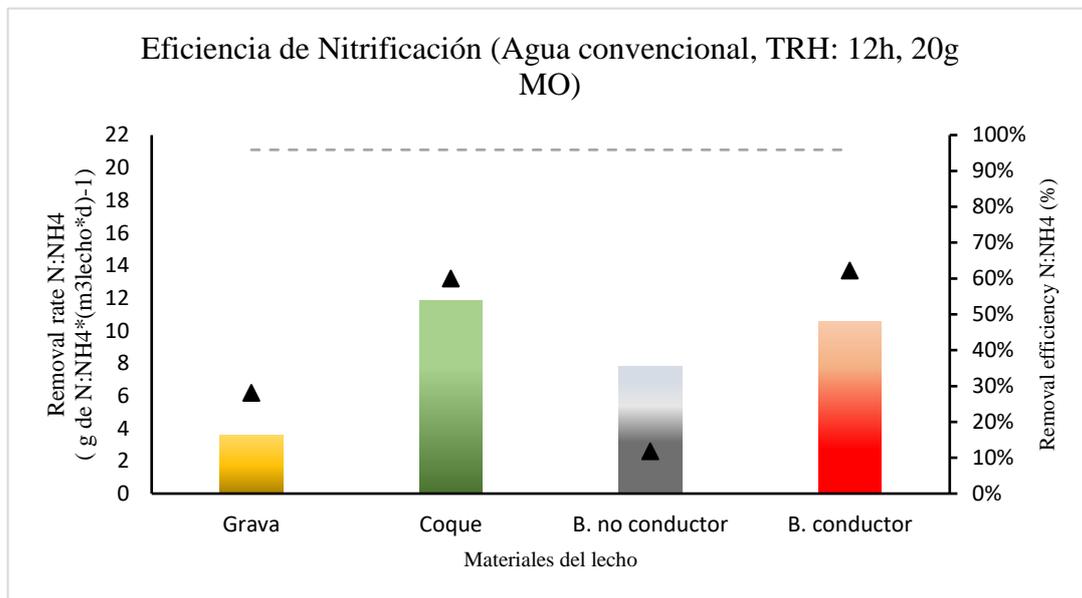


Figura 19. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua convencional con un TRH de 12h y añadiendo 20 g de materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

En la figura 20, se pueden ver los resultados obtenidos para el proceso de desnitrificación, eliminación del nitrógeno presente en el agua cuando pasa por toda la columna. El B. conductor y el Coque muestran los mayores porcentajes de eliminación, llegando al 61 y 62% respectivamente. La Grava llegó a un 49% y el B. no conductor a un 41%. Las tasas de eliminación de nitrógeno del Coque (12,87 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$), B. no conductor (13,34 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$) y el B. conductor (10,67 $\text{g}/\text{m}^3\text{d}$) fueron muy similares. La Grava, por el contrario, presentó la peor

tasa de eliminación de $6 \text{ g/m}^3\text{d}$. El máximo valor de desnitrificación que cabía obtener en esta condición era de $21,34 \text{ g/m}^3\text{d}$.

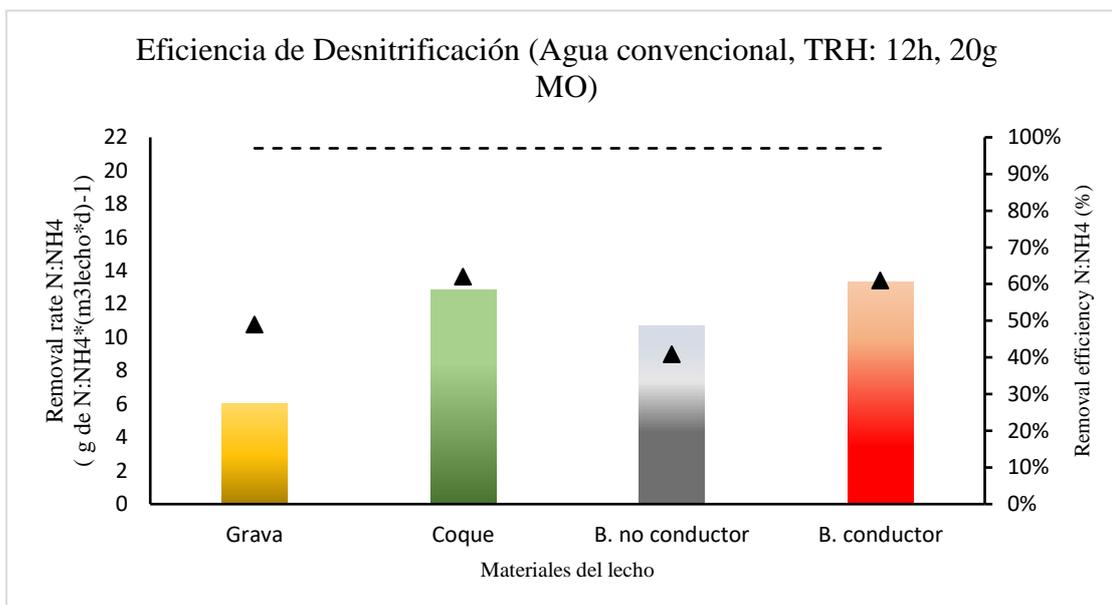


Figura 20. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua convencional con un TRH de 12h y añadiendo 20 g de materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

3.2 Experimento con agua sintética de piscifactoría.

A diferencia del agua convencional, con el agua sintética únicamente se trabajó con dos condiciones. La diferencia entre las condiciones la daba el TRH empleado, en primer lugar, se comenzó con un TRH 24h y posteriormente se redujo a 12h. En ninguno de los casos se añadió materia orgánica.

3.2.1 Agua sintética de piscifactoría, con TRH 24h sin adición de MO

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos con TRH 24h en agua sintética. El porcentaje de eliminación de DQO fue del 100% para todos los materiales, posiblemente debido al hecho de ser un agua sintética con una degradación más sencilla. Donde sí, se han visto diferencias en las tasas de eliminación de DQO, la mayor tasa de eliminación la presentó el B.conductor, seguido por el Coque con $77,74$ y $58 \text{ g/m}^3\text{d}$ respectivamente. El B. no conductor eliminó hasta $45,96 \text{ g/m}^3\text{d}$ y la tasa más baja fue la correspondiente a la Grava, eliminando $29,72 \text{ g/m}^3\text{d}$.

Tabla 8. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua sintética de piscifactoría, bajo las condiciones de TRH 24h y sin añadir materia orgánica.

<i>Removal efficiency</i>	DQO (%)	<i>Removal rate</i>	gDQOeli/m³lecho*d
Grava	100%	Grava	29,72
Coque	100%	Coque	58,00
B. no conductor	100%	B. no conductor	45,96
B. conductor	100%	B. conductor	77,74

En la figura 21, se muestran los resultados obtenidos para el proceso de nitrificación, en agua sintética de piscifactoría. Se puede observar que el material con mayor porcentaje de oxidación de amonio es el B. conductor, transformando hasta un 92%, seguido se encuentra el Coque con un 84%. En cambio, los materiales no conductores, la Grava y el B. no conductor, presentan el mismo porcentaje de eliminación (64%) y menor al de los materiales conductores. La tasa de eliminación sigue un patrón muy similar, la mayor tasa de eliminación la presenta el B. conductor alcanzando los 21.85 g/m³d, muy cerca del máximo esperable de 26,20 g/m³d, al igual que el Coque con una tasa de 21,68g. Seguido del B. no conductor que su tasa fue de 15,8 g/m³d y fue la grava quién presentó la menor tasa de eliminación (9,34 g/m³d).

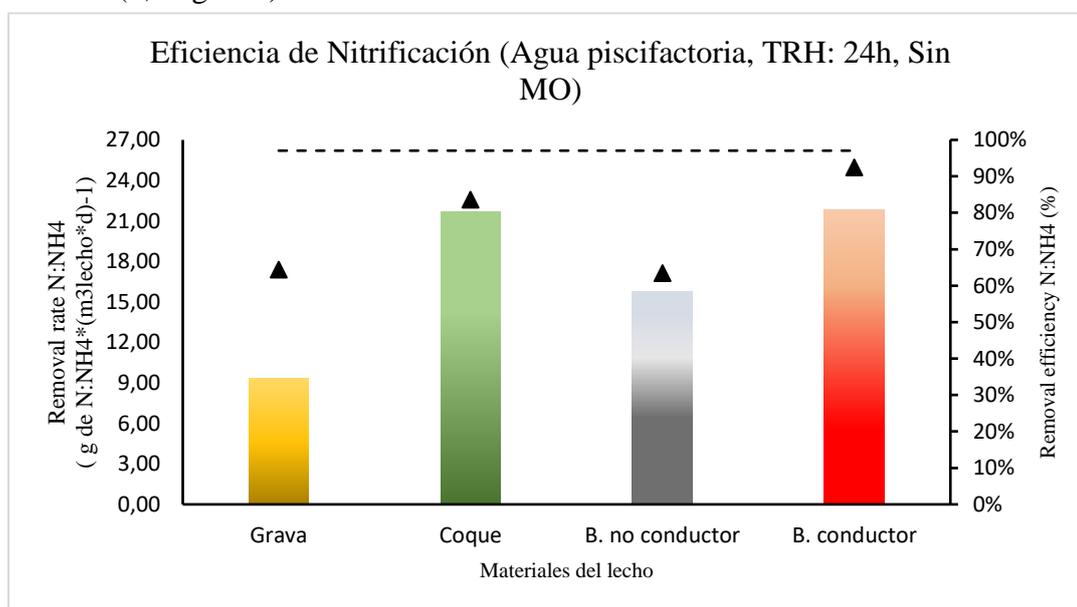


Figura 21. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

A continuación, en la figura 22, se pueden ver los resultados que se obtuvieron para el proceso de desnitrificación. Como se viene mostrando hasta ahora el gráfico presenta la misma disposición de ejes y se emplean la misma selección cromática para los materiales. Al igual que en el proceso de nitrificación anterior, los porcentajes más elevados de eliminación, en este caso de nitrógeno total, corresponden a los materiales conductores, Coque y B. conductor, ambos con un 25% de eliminación. Del mismo modo, también presentan las mayores tasas de eliminación, el Coque $3,49 \text{ g/m}^3\text{d}$ y el B. conductor $2,87 \text{ g/m}^3\text{d}$. El B. no conductor presenta el porcentaje de eliminación más bajo (16%) y una tasa de eliminación de $2,32 \text{ g/m}^3\text{d}$ y la Grava presenta la menor tasa de eliminación ($1 \text{ g/m}^3\text{d}$) y un porcentaje de eliminación del 17%. La tasa máxima de desnitrificación que se podía obtener en esta condición fue de $12,98 \text{ g/m}^3\text{d}$.

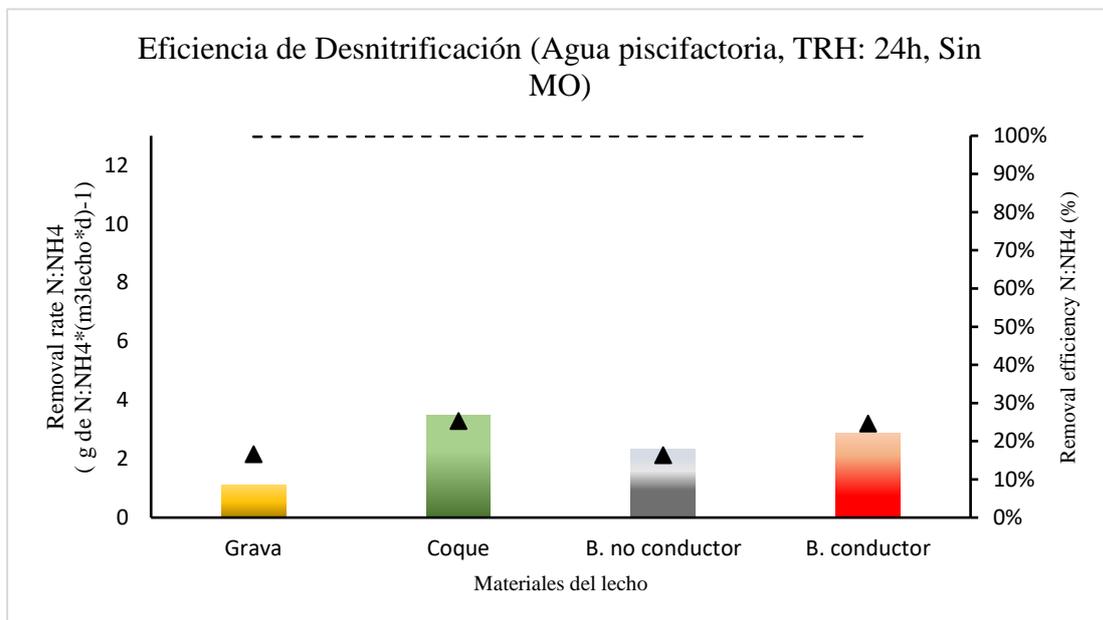


Figura 22. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 24h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

3.2.2 Agua sintética de piscifactoría, con TRH 12h sin adición de MO

La tabla 9 muestra los resultados obtenidos con TRH 12h en agua sintética de piscifactoría. El porcentaje de eliminación de DQO fue del 100% para el Coque y el B. no conductor y del 99% para la Grava y el B. conductor. Al igual que en el caso anterior, es en la tasa de eliminación donde encontramos diferencias entre los materiales, la mayor tasa de eliminación igual a $264,79 \text{ g/m}^3\text{d}$ corresponde al Coque, seguido del B. conductor con una

tasa de 230,18g. El B. no conductor alcanzó los 214,02 g/m³d y fue la Grava el material que presentó la menor tasa de eliminación (123,43 g/m³d).

Tabla 9. Resultados de los porcentajes y eficiencias de eliminación obtenidos para los distintos materiales empleados en agua sintética de piscifactoría, bajo las condiciones de TRH 12h y sin añadir materia orgánica.

<i>Removal efficiency</i>	DQO (%)	<i>Removal rate</i>	gDQOeli/m³lecho*d
Grava	99%	Grava	123,43
Coque	100%	Coque	264,79
B. no conductor	100%	B. no conductor	214,02
B. conductor	99%	B. conductor	230,18

Como se puede observar en el siguiente gráfico (figura 23) los resultados obtenidos para el proceso de nitrificación en agua sintética con un TRH de 12h es muy similar a los resultados obtenidos hasta ahora. El porcentaje de oxidación del amonio por parte del Coque destaca con un 90% y una tasa de eliminación de 55,93 g/m³d. El B. conductor sigue al coque en eficiencia de nitrificación, tanto en el porcentaje como en la tasa de nitrificación (71% y 34,08 g/m³d). Los materiales no conductores tuvieron los peores resultados en la oxidación del amonio, sus porcentajes fueron del 65% por parte del B. no conductor y del 32% para la Grava. Sus tasas también fueron las más bajas, de 23.13 y 11,99 g/m³d respectivamente. Siendo la tasa máxima de nitrificación esperada de 63,22 g/m³d.

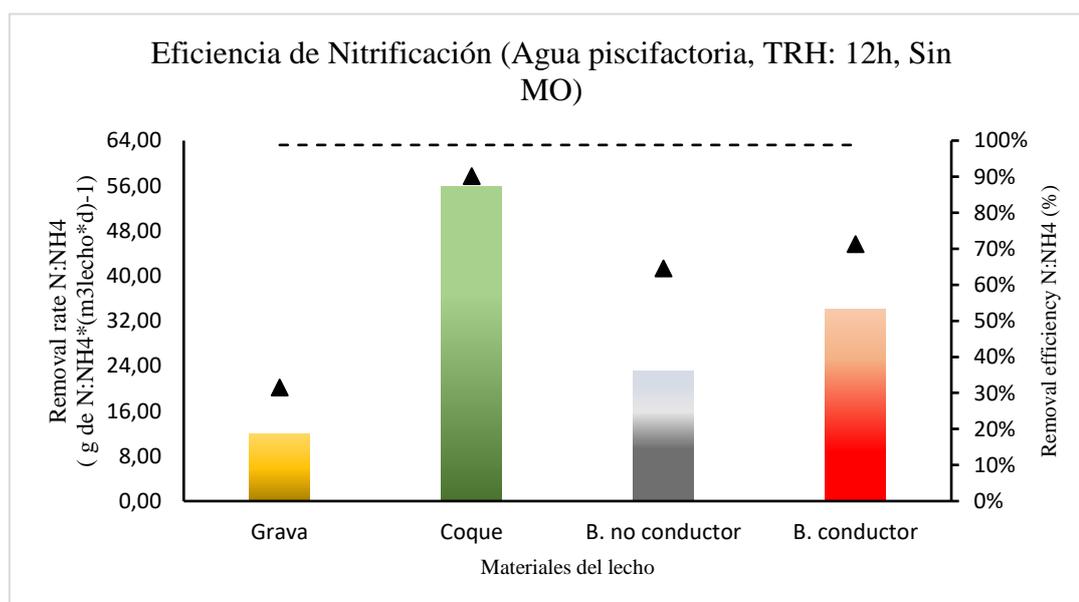


Figura 23. Gráfica de eficiencia de nitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 12h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

En el proceso de desnitrificación en agua de piscifactoría con un TRH de 12h, se puede ver que el mayor porcentaje de eliminación se encuentra en el B. no conductor (62%), de la misma forma también es este material el que presentó la mayor tasa de eliminación, alcanzando los 14,25 g/m³d. El B. conductor presentó el segundo mayor porcentaje y tasa de eliminación, estos fueron de un 44% y 10,54 g/m³d respectivamente. El Coque presentó una tasa de eliminación muy similar al B. conductor, siendo de 10,34 g/m³d, mientras que el porcentaje de eliminación fue del 31%. Por último, la Grava con un 21% de porcentaje de eliminación y una tasa de 4,42 g/m³d; siendo de 31,78 g/m³d la tasa de desnitrificación máxima esperada.

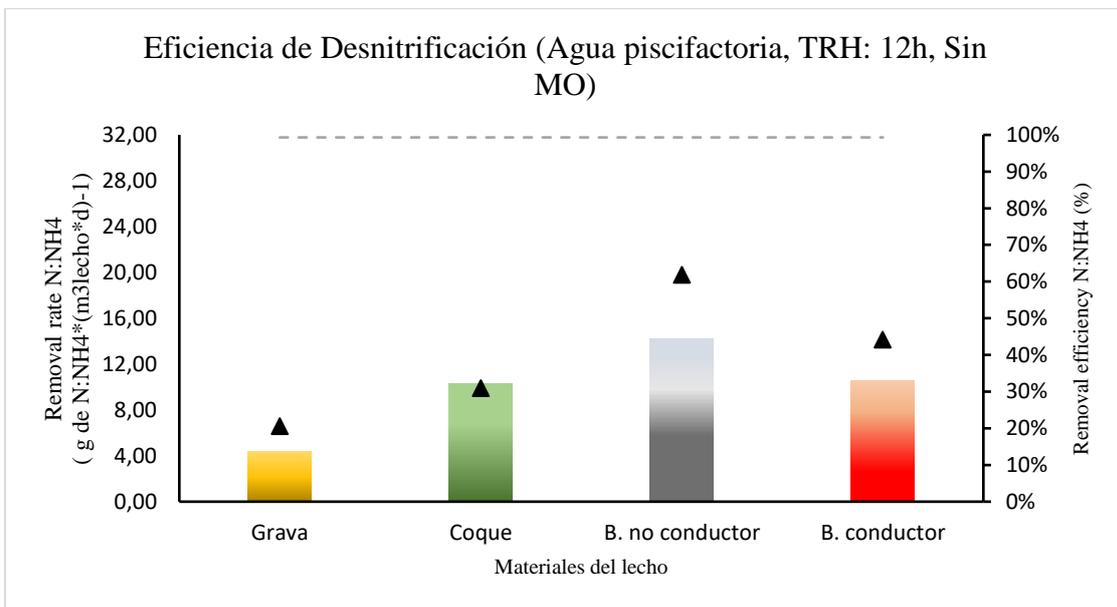


Figura 24. Gráfica de eficiencia de desnitrificación en agua sintética de piscifactoría con un TRH de 12h y sin añadir materia orgánica. En el eje X se encuentran los materiales empleados como lecho de las columnas. En el eje Y izquierdo se encuentra la tasa de eliminación, representada mediante barras, y en el derecho el porcentaje de eliminación, representado con triángulos. En amarillo se representa la Grava, en verde el Coque, Gris el Biochar no conductor y en rojo el Biochar conductor.

4. DISCUSIÓN

El objetivo de demostrar que los materiales con propiedades conductoras de la electricidad tienen una mayor eficiencia de depuración que materiales inertes como la Grava o el Biochar no conductor, ha quedado patente en todos y cada uno de los experimentos realizados.

En el primer experimento, con agua convencional y TRH 24h, en lo que a capacidad nitrificante se refiere, se observó que las columnas compuestas con un lecho de material conductor, Coque y Biochar conductor, fueron más eficaces que las compuestas por Grava y Biochar no conductor (figura 15). Comparando la eficiencia nitrificante de los materiales conductores con la Grava como típico material de lecho empleado en los humedales construidos, se pudo ver que esta se mejoraba hasta en un 31%, y casi duplicando la tasa de oxidación del amonio. Al comprobar, bajo las mismas condiciones, la capacidad desnitrificante de los sistemas (figura 16), la diferencia no fue tan elevada como en el proceso de nitrificación, 15%, posiblemente debido a que la mayor parte de la materia orgánica, fuente donadora de electrones necesaria para los procesos de desnitrificación, se descompuso en la cámara aerobia. A pesar de esto se apreció la alta eficiencia de depuración proporcionada por los materiales conductores frente a los inertes, tal y como comprobó Prado A. (2019) en un estudio relacionado.

En un segundo experimento, se trató solventar el problema de la demanda de una fuente donadora de electrones al sistema anaerobio mediante la adición de pellets vegetales (20 g) en la cámara media (figura 12), el TRH se mantuvo en 24h. Posiblemente, debido a los problemas de obstrucción que hubo en las tuberías de abastecimiento a los sistemas, se observaron unos resultados anómalos. Los porcentajes de eficiencia fueron muy similares entre todos los sistemas, de hecho, la Grava tuvo un porcentaje de oxidación del amonio superior al porcentaje del Coque. Por el contrario, la tasa de oxidación del Coque fue superior a la de la Grava. El Biochar conductor destacó con un 100% de oxidación del amonio (figura 17) y su tasa duplicó a la tasa de la Grava. Tras añadir la materia orgánica en la cámara media, tanto las tasas como los porcentajes de desnitrificación se incrementaron en todos los materiales a excepción del Coque, que pese a los problemas citados anteriormente mantuvo una eficiencia similar a la del experimento anterior (figura 18). El B. conductor se mantuvo como el material más eficiente tanto en la nitrificación, como en la desnitrificación.

Tras realizar estos dos experimentos y ver los resultados obtenidos, se decidió forzar los sistemas duplicando el volumen de depuración, paso de 0,5L a 1L, disminuyendo el TRH a 12h y se mantuvo la carga orgánica añadida en la cámara media. Pese a que la carga orgánica del agua durante estos días del experimento fue realmente baja (DQO del influente entre 0 y 18mg/L), debido a las lluvias y a que estas diluyeron el agua residual del Instituto, se puede observar la clara ventaja de usar materiales conductores en este tipo de humedales. Las tasas de nitrificación que presentan los materiales conductores fueron de entre un 200 y 300% superiores a las observadas en los materiales no conductores (figura 19). En el caso de la eficiencia desnitrificante, no se observó tal ventaja depuradora, pero siguieron siendo más eficientes las columnas compuestas por lechos conductores que las compuestas por lechos no conductores (figura 20) demostrando la teoría de que un lecho conductor supone una ventaja depuradora en presencia de microorganismos electrogénicos.

A la vista de los resultados obtenidos en estos 3 experimentos, en los que se ha puesto a prueba la eficiencia de los materiales como lechos de depuración bioelectrogénica en distintas situaciones, se puede afirmar la ventaja de emplear materiales conductores como lecho frente a materiales no conductores, como la Grava; disminuyendo el espacio necesario para la construcción del humedal, abaratando costes y reduciendo el impacto ambiental, como también afirmaron Aguirre. A, 2016 o Jiménez. M, 2018 en estudios anteriores.

Al trabajar con agua sintética de piscifactoría, se comprobó que se perdía entre el 50 y 70% de la carga orgánica en las tuberías, con las consecuentes obstrucciones de estas, por lo que el mantenimiento de los sistemas fue más laborioso que con el agua residual convencional y se aumentó la carga orgánica durante la preparación. Se debe indicar que la concentración de amonio presente en aguas residuales procedentes de piscifactoría era de casi un 100% superior a la concentración obtenida en el agua residual convencional del Instituto IMDEA agua.

La eficiencia nitrificante de los sistemas conductores, con un TRH 24h, fue claramente superior a la de los materiales no conductores (figura 21). Los porcentajes de nitrificación de los materiales conductores fueron un 28 y 20% superiores a los no conductores y las tasas de oxidación del amonio se quedaron muy cerca de alcanzar el máximo, duplicando la eficiencia presentada por la Grava.

Tanto las tasas de desnitrificación como sus porcentajes, fueron bajos (figura 22). Se debe a que la mayor parte de la materia orgánica presente en el influente se ha degradado en la cámara aerobia, creando un déficit de donadores de electrones, en la cámara anaerobia, necesario para la desnitrificación de los nitratos y nitritos. A pesar de ello, las eficiencias de los materiales conductores fueron superiores a la de los materiales inertes, quedando patente una vez más el beneficio que supone emplear materiales conductores como lecho.

Al igual que se había hecho con el agua residual convencional, se procedió a forzar el sistema disminuyendo el TRH a 12h. Se observó una especial ventaja en el uso de Coque como material de lecho frente a la Grava en lo que a eficiencia nitrificante se refiere, el otro material conductor también mostró mayor eficiencia nitrificante y las tasas de eliminación de amonio de ambos materiales conductores fueron especialmente altas comparadas con el material tradicionalmente empleado. Además, se observó un claro aumento en las tasas de eliminación de amonio a pesar de disminuir el TRH, demostrando así la superioridad del uso de materiales conductores en forma de lecho en estos sistemas de depuración (figura 23). La eficiencia desnitrificante de todos los sistemas se incrementó al disminuir el TRH, al igual que en caso anterior en el que se redujo el TRH, aunque fue el Biochar no conductor el material que presentó mayor eficiencia y tasa de eliminación. A pesar de ellos ambos materiales conductores presentaron mayores eficiencias y tasas de desnitrificación que las proporcionadas por la Grava, material tradicionalmente usado en los humedales construidos (figura 24).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para el agua sintética de piscifactoría, se podría afirmar que los humedales bioelectrogénicos construidos funcionarían como sistema de depuración para estas industrias, o al menos como método de tratamiento secundario. Claramente se ha observado el dominio de los materiales conductores en su capacidad nitrificante, aunque no tanto en la desnitrificante. Durante estos experimentos se ha trabajado con la misma cantidad de lecho para la columna aerobia como para la anaerobia, sería interesante realizar más experimentos con estos sistemas, aumentando la proporción de lecho anaerobio. En la actualidad, la industria piscícola está muy concienciada con la reutilización del agua y este sistema se lo permite. Si bien, la eliminación de nitratos y nitritos no ha sido la esperada, la presencia de estos nutrientes puede ser aprovechada para otras aplicaciones de reutilización de agua, que se aplican en estas industrias. Del mismo modo también sería de interés, lograr trabajar con agua real procedente de piscifactoría.

5. CONCLUSIONES

- I. Los materiales conductores presentan una eficiencia nitrificante superior a la de los materiales no conductores. Estos materiales pueden actuar como aceptores de electrones procedentes de la oxidación del amonio y transferir estos a un aceptor final.
- II. La eficiencia de desnitrificación en estos sistemas de depuración se ve limitada por la disponibilidad de una fuente donadora de electrones. Se logró aumentar esta eficiencia añadiendo materia orgánica antes de la cámara anaerobia, aunque no de una forma significativa. Por ello, es necesario continuar investigando como incrementar la capacidad desnitrificante de estos sistemas.
- III. Por norma general, los materiales conductores tienen una mejor respuesta a la reducción del TRH. No solo mantienen su superioridad de depuración frente a los materiales inertes, sino que también aumentan su eficiencia respecto a ellos mismos sometidos a TRHs superiores.
- IV. Los sistemas basados en las MET's, se adaptan a distintos tipos de agua con características distintas; pudiendo llegar a ser aplicables para el tratamiento de aguas residuales de piscifactoría.
- V. Los humedales construidos basados en las MET's han demostrado su ventaja frente a los humedales construidos convencionales de grava, aumentando su eficiencia de depuración. Esto permite diseñar humedales que requieran menos espacio, abaratando los costes económicos y reduciendo el impacto ambiental, lo que sería muy beneficioso para pequeños núcleos de población o industria.

6.BIBLIOGRFIA

- (2007). Guía para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura Mediterránea. Interacciones entre la Acuicultura y el Medio Ambiente. UICN, Gland, Suiza y Málaga, España. VI + 114 paginas.
- Aguirre A. (2016) “*Integrating Microbial Electrochemical Systems in Constructed Wetlands*” (Tesis Doctoral); Universidad de Alcalá de Henares; Alcalá de Henares.
- Borjas Hernández, L. (2016). *Physiological and Operation Strategies for Optimizing Geobacter-based Electrochemical Systems* (Tesis Doctoral). Universidad de Alcalá.
- Del Río Gamero, B. (2018). *Mitigación del Cambio Climático en el Ciclo Integral del Agua, Aplicación al Proceso de Tratamiento de Aguas Residuales*. Doctorado. Universidad de las Palmas de Gran Canaria.
- Departamento de Pesca de la FAO. Estado mundial de la acuicultura 2006. Documento técnico de pesca de la FAO. No. 500. Roma, FAO. 2006. 134p.
- Esteve Núñez, A. (2008). Bacterias productoras de electricidad. Del subsuelo a la pila de combustible. *Sociedad Española de Microbiología*.
- IMDEA Agua. (2015). “*IMDEA Agua coordina el proyecto europeo iMETland, que desarrollará una nueva generación de humedales electrogénicos para el tratamiento de aguas residuales*” Recuperado el 29 de 07 de 2019, de IMDEA Agua: <http://www.agua.imdea.org/noticias/2015/imdea-agua-coordina-proyecto-europeo-imetland-una-nueva-generacion-de-humedales>
- Jiménez Conde. Mario. (2018). Recuperación del Humedal “Lavajo de las Lavanderas” a través de un Biofiltro Electroconductor (Trabajo Fin de Máster). Universidad de Alcalá y Universidad Rey Juan Carlos.
- Lovley, D.R., Ueki, T., Zhang, T., Malvankar, N.S., Shrestha, P.M., Flanagan, K.A., Akujkar, M., Butler, J.E., Giloteaux, L., Rotaru, A.-E., Holmes, D.E., Franks, A.E., Orellana, R., Risso, C., Nevin, K.P. Geobacter. The Microbe Electric's Physiology,

Ecology, and Practical Applications (2011) *Advances in Microbial Physiology*, 59, pp. 1-100.

Mancomunitatea, M. (2016). Mancomunidad de Mairaga / Mairagako Mancomunitatea | Apertura de proposición económica de la obra de Tratamiento de aguas residuales de Echagüe. Recuperado el 14 de 08 de 2019, de <https://mairaga.es/apertura-de-proposicion-economica-de-la-obra-de-tratamiento-de-aguas-residuales-de-echague/>

Mariana Silveira Guerra Moura e Silva; Marcos Eliseu Losekann; Hamilton Hisano. 2013. *Aquicultura: manejo e aproveitamento de efluentes– Jaguariúna, SP : Embrapa Meio Ambiente*, 2013. 39 p. — (Documentos / Embrapa Meio Ambiente; 95).

Ministerio de Hacienda y Administraciones Públicas de España. Gobierno de España. 2013. "La Política De Saneamiento Y Depuración En El Ámbito Local, Necesidad De Su Evaluación".

Prado, A., Berenguer, R. and Esteve-Núñez, A. (2019). Electroactive biochar outperforms highly conductive carbon materials for biodegrading pollutants by enhancing microbial extracellular electron transfer. In: *Carbon*. pp.597-609.

Rotaru, A.-E., Shrestha, P.M., Liu, F., Markovaite, B., Chen, S., Nevin, K.P., Lovley, D.R., (2014). "Direct Interspecies Electron Transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*". University of Massachusetts, Massachusetts, USA. *Applied and Environmental Microbiology* p. 4599–4605.

SECRETARIA DEL ESTADO DE MEDIO AMBIENTE. DIRECCION GENERAL DEL AGUA. (2018). *INFORME DE AUTORIZACIONES DE VERTIDO a 31 de Diciembre 2017* (pp. 1-17). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion. Secretaría General Técnica, Centro de Publicaciones.

Senante, María Molinos, Francesc Hernández Sancho, and Ramón Sala Garrido. 2012. "Estado Actual Y Evolución Del Saneamiento Y La Depuración De Aguas Residuales En El Contexto Nacional E Internacional". Universidad Complutense de Madrid. 32 (1): 69-89.

SustainAqua–Integrated approach for a sustainable and healthy freshwater aquaculture”
(2009). SustainAqua handbook – A handbook for sustainable aquaculture.

Timmons M.B., Ebeling J.M., Wheaton F.W, Summerfelt S.T. y Vinci B.J.2002.Sistemas de Recirculación para la Acuicultura. Editado por Fundación Chile. Santiago Chile. pp. 207-258.

UICN (2010). Guía para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura Mediterránea 3. Acuicultura: Prácticas Responsables y Certificación. Gland, Suiza y Málaga, España: UICN. vi+78 páginas.