



“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

“INFLUENCIA DE LA BACTERIA *Bacillus subtilis* EN LA EFICIENCIA DE
REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE
UN BIORREACTOR DE MEMBRANA”

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA
BIOL. ANA LILIA GARCÍA MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS
DRA. CINTHYA ALEJANDRA SOSA VILLALOBOS

BOCA DEL RÍO, VER.

8 DICIEMBRE 2020





"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: A-0803-150119

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 10:00 horas del día 04 del mes de noviembre de 2020 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

"INFLUENCIA DE LA BACTERIA *Bacillus subtilis* EN LA EFICIENCIA DE REMOCION DE MATERIA ORGANICA DE UN BIORREACTOR DE MEMBRANA"

Que presenta el (la) alumno(a):

ANA LILIA GARCIA MARTINEZ

Aspirante al Grado de:

Maestro en Ciencias en Ingenieria Ambiental

Después de escuchar las opiniones sobre el documento escrito e intercambiar puntos de vista, los miembros de la Comisión manifestaron SU APROBACIÓN, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para su defensa ante el jurado correspondiente.

LA COMISIÓN REVISORA:



DRA. CINTHYA ALEJANDRA SOSA VILLALOBOS
Director



DRA. ITZEL GALAVIZ VILLA
Co-Director



M.C. CHRISTIAN REYES VELAZQUEZ
Asesor



DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHAVEZ
Asesor





“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

Boca del Río, Ver., **4/NOVIEMBRE/2020**

Asunto: **CONSTANCIA DE
NO INCONVENIENCIA**

LIC. MAGALI DE LOURDES MARTÍNEZ CANALES
JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE.

AT´N.LIC. SONIA CONCEPCIÓN SOLÍS SOLÍS
GESTOR DE TITULACIÓN
Presente.

Por medio del presente, me permito hacer constar que el(a) candidato(a) a Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental **C. ANA LILIA GARCÍA MARTÍNEZ** de la generación AGOSTO 2018 – JULIO 2020 con número de control 18990045, cumplió con todos los requisitos para su liberación como tesista, mismos que incluyen la presentación del manuscrito final de tesis autorizado por su director de tesis **DRA. CINTHYA ALEJANDRA SOSA VILLOBOS**, y el envío del producto derivado de su tesis de grado.

Por lo anterior no tengo inconveniente en que realice los trámites correspondientes para el acto recepcional para la obtención del grado de Maestro en Ciencias, en la fecha y hora que defina el candidato con su Director de tesis.

Sin otro particular y para los fines legales que corresponda, quedo de usted.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos

Vo.Bo.

M.C. ANA LETICIA PLATAS PINOS
JEFA DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DRA. CINTHYA ALEJANDRA SOSA VILLOBOS
DIRECTORA DE TESIS

c.c.p. Coordinador de MCIAMB
c.c.p. Expediente





“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

Boca del Río, Ver **19/NOVIEMBRE/2020**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**ANA LILIA GARCÍA MARTÍNEZ
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE**

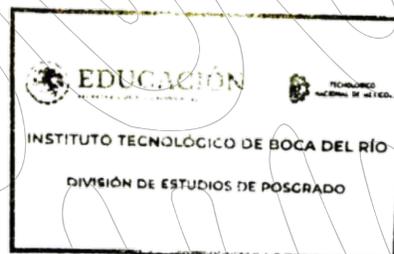
De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO, desarrollada por usted cuyo título es:

“INFLUENCIA DE LA BACTERIA *Bacillus subtilis* EN LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE UN BIORREACTOR DE MEMBRANA”

Esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede AUTORIZACIÓN para que proceda a su impresión.

ATENTAMENTE
*Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos*

M.C. ANA LETICIA PLATAS PINOS
JEFA DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



c.c.p. Coordinación del Programa MCIAMB
c.c.p. Expediente



La Maestría en Ciencias En Ingeniería Ambiental del Instituto Tecnológico de Boca del Río está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) de CONACyT con la referencia 005071.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a la vida. Gracias a ella, he podido conocer personas buenas, nobles y maravillosas, que siempre están dispuestas a acompañarme en este arduo camino. No cambiaría nada en ella, todo lo imperfecta que mi vida ha sido, la hace perfecta para mí. Mis aciertos, errores, las metas que puse para ser hija, esposa y madre, nada de eso lo cambiaría porque, esas decisiones son las que me permitieron estar hoy aquí, en el lugar donde debo estar.

Ana Lilia García Martínez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Dra. Cinthya Alejandra Sosa Villalobos no solo por ser mi directora y mentora, por ser un apoyo incondicional para mi, por sus palabras de aliento, sus atenciones y sobre todo por la confianza que depositó en mí.

A mi codirector la Dra. Itzel Galaviz Villa por el tiempo y la paciencia inagotable que siempre me brindó.

A mis asesores el M.C. Christian Reyes Velázquez y la Dra. María del Refugio Castañeda Chávez por el conocimiento compartido y el apoyo brindado.

Al núcleo académico de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental, por darme la oportunidad de formar parte de este programa de posgrado.

Al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Boca del Río, por ser mi casa de estudios y por la gran labor de forjar el futuro de nuestro país.

A CONACYT por el apoyo económico recibido durante mi formación profesional.

A mis compañeros; Areli, Minerva, Clever, Miguel A., Perlita, Marimar, Suguey, Salvador, y especialmente a Brenda Yazmín, son familia por elección.

A los de siempre. Karina, Gerardo y Karen, un amigo es mucho, dos son demasiado y tres son imposible pero, ellos lo hacen posible cada día. Gracias por su cariño y amistad.

A mis padres: María y Juan, les agradezco infinitamente, sin ellos esto no sería posible. Ellos me enseñaron la formación más importante que puedo tener, el sentido de los valores y la importancia de siempre hacer lo correcto.

A mis hermanos, Eloy, Susi, José, David, Patricia y Carla, no hay medios hermanos, solo cariño completo.

A mis hijos: Vanessa y Eduardo por todo el valioso tiempo que me prestaron para alcanzar mis metas y por ser la fuerza que impulsa el motor de mi vida.

Y a mi esposo Cuauhtémoc por estar tras bambalinas, siempre apoyando el camino que decidí recorrer, espero que siempre podamos compartir estos pequeños pero gratos logros juntos.

RESUMEN

La falta de una buena gestión de las aguas residuales, ha tenido un impacto negativo sobre la salud y el medio ambiente. La contaminación de los cuerpos de agua receptores es evidente. Las investigaciones se han enfocado en la obtención de nuevas tecnologías que permitan elevar los rendimientos de depuración, como el biorreactor de membrana (BRM). Esta, es una tecnología híbrida que cuenta con un proceso biológico y uno físico. La aplicación de este biorreactor, se debe a la operación efectiva en áreas reducidas y con mínimos costos de mantenimiento. El objetivo de este estudio, fue evaluar la influencia de la bacteria *Bacillus subtilis* en la eficiencia de remoción de materia orgánica de un biorreactor de membrana. Se utilizó un dispositivo de acrílico, con volumen útil de 0.0035 m³, una configuración de membrana sumergida y tamaño de poro de 0.4 μm. Se inoculó el lodo y el agua residual municipal, ambos en condiciones estériles con la bacteria *Bacillus subtilis*. El modo de operación del biorreactor de membrana sumergida (BRM_s), fue en flujo continuo. Se aplicaron 16 Carga Volumetrica Aplicada (Cva), aumentandolas gradualmente en un rango de 0.067 a 0.1 gDQO/L·d. El tiempo de retención hidráulica (TRH), se estableció en carga media, misma que fue disminuyendo de 8 a 4.9 hrs. Se determinaron los siguientes análisis; Temperatura, pH, Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) en el efluente como en el licor de mezcla (LM). La temperatura ambiente en el BRM_s se mantuvo entre 28-32°C con un flujo inicial de 0.000438 m³/h. El pH registrado fue de 6-7 para el LM en el módulo biológico. Los resultados en la eficiencia de remoción de DQO del BRM_s, indicaron valores promedio, mínimo y máximo de 94, 85 y 100% respectivamente. Los SST y SSV en el efluente presentan porcentajes de remoción del 100%. Los SST y SSV en el licor de mezcla señalan valores iniciales y finales de 84.2-143.8 y 16.6-102.6 mg/L respectivamente. La estructura de los flóculos desarrollados en el BRM_s fue compacta y bien definida alcanzando tamaños de 1000 μm. Como se mencionó anteriormente, los BRM son ampliamente reconocidos como una tecnología que permite obtener un efluente tratado de excelente calidad.

ABSTRACT

The lack of good wastewater management has had a negative impact on health and the environment. Contamination of receiving water bodies is evident. Research has focused on obtaining new technologies that allow increasing purification yields, such as the membrane bioreactor (BRM). This is a hybrid technology that has a biological and a physical process. The application of this bioreactor is due to the fact that they operate effectively in reduced areas and with minimal maintenance costs. The objective of this study was to evaluate the influence of the bacterium *Bacillus subtilis* on the efficiency of removal of organic matter from a membrane bioreactor. An acrylic device was used, with a useful volume of 0.0035 m³, with a submerged membrane configuration and a pore size of 0.4 μm. The sludge and municipal wastewater, both under sterile conditions, were inoculated with *Bacillus subtilis* bacteria. The submerged membrane bioreactor (BRMS) mode of operation was continuous flow. 16 CVa were applied, which increased in a range of 0.067 to 0.1 gDQO / L · d. The hydraulic retention time (HRT) was established at medium load, which decreased from 8 to 4.9 hrs. The following analyzes were determined; Temperature, pH, Chemical Oxygen Demand (COD), Total Suspended Solids (SST) and Suspended Volatile Solids (SSV) in the effluent as in the mixed liquor (LM). The ambient temperature in the BRMS was kept between 28-32°C with an initial flow of 0.000438 m³ / h. The pH recorded for the LM in the biological module was kept between 6-7. The results in the COD removal efficiency of the BRMS, indicated average, minimum and maximum values of 94, 85 and 100% respectively. SST and SSV in the effluent present removal percentages of 100%. The SST and SSV in the mixed liquor indicate initial and final values of 84.2-143.8 and 16.6-102.6 mg / L respectively. The structure of the flocs developed in the BRMS was compact and well defined, reaching sizes of 1000 μm. As mentioned above, BRMs are widely recognized as a technology that allows obtaining a treated effluent of excellent quality.

ÍNDICE

Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Resumen	VI
Abstract	VII
1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES	15
2.1 Características y usos del agua	15
2.1.1 Degradación del agua	15
2.2 Aguas residuales	16
2.2.1 Impacto de las aguas residuales a nivel mundial	16
2.2.2 Tratamiento de las Aguas residuales en México	17
2.2.3 Tratamiento de las Aguas residuales en Veracruz	18
2.2.4 Clasificación de las Aguas Residuales	19
2.2.4.1 Aguas residuales domésticas o municipales	20
2.2.5 Tratamientos convencionales	21
2.2.6 Etapas de tratamientos para aguas residuales	23
2.2.6.1 Operaciones de pretratamiento	23
2.2.6.2 Tratamiento Primario	23
2.2.6.3 Tratamiento Secundario	24
2.2.6.4 Desinfección	25
2.2.7 Tecnologías aplicadas a tratamientos de agua residual	25
2.3 Biorreactores de membrana	26
2.3.1 Diseño de Biorreactores de Membrana	28
2.3.2 Configuraciones de Biorreactores de Membrana	29
2.3.2.1 Integrada o Sumergida	30
2.3.2.2 Externo o con recirculación	30
2.3.3 Proceso de filtración con Membranas	30
2.3.3.1 Ensuciamiento	31
2.3.3.2 Mantenimiento	32
2.4 Microorganismos	33
2.4.1 Bacterias degradadoras de materia orgánica	33
2.4.2 Licor de mezcla	34
2.4.2.1 Flóculación	35
2.4.3 Biomasa microbiana	36
2.4.3.1 Bacillus spp.	36
3. JUSTIFICACIÓN	38
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	39
5. HIPÓTESIS	39
6. OBJETIVOS	39
6.1 GENERAL	39

6.1.1 ESPECÍFICOS	39
7. MATERIALES Y MÉTODOS	40
7.1 Caracterización del agua residual e inoculación bacteriana	40
7.1.1 Caracterización del agua residual	40
7.1.2 Morfología e identificación bacteriana	41
7.1.2.1 Aislamiento	41
7.1.2.2 Tinción Gram	42
7.1.2.3 Pruebas presuntivas y bioquímicas	42
7.1.3 Inóculo	42
7.1.4 Caracterización de lodos inoculados	43
7.2 Parámetros de operación del BRMs	43
7.2.1 Diseño y configuración del BRMs	44
7.2.1.1 Módulo biológico	44
7.2.1.2 Módulo de filtración	44
7.2.2 Pruebas preliminares, arranque y puesta en marcha del BRMs	45
7.2.2.1 Pruebas de fuga	45
7.2.2.2 Pruebas de los canales de aireación	45
7.2.2.3 Calibración de bombas	45
7.2.3 Aclimatación del inóculo en el BRMs	45
7.3 Eficiencia de remoción del BRMs	46
8. RESULTADOS	47
8.1 Caracterización del agua residual e inoculación bacteriana	47
8.1.1 Caracterización del agua residual	47
8.1.2 Morfología e identificación de la bacteria	48
8.1.2.1 Aislamiento de colonias	48
8.1.2.2 Tinción Gram	49
8.1.2.3 Pruebas presuntivas y bioquímicas	49
8.1.3 Inóculo de <i>Bacillus subtilis</i>	50
8.1.4 Caracterización del inóculo	51
8.2 Condiciones de operación del BRMs	51
8.2.1 Aclimatación del inóculo en el Biorreactor de membrana sumergida	52
8.3 Eficiencia de remoción en el BRMs	53
8.3.1 Evolución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)	53
8.3.1.1 Evaluación de la temperatura en el BRMs	54
8.3.1.2 Evaluación del pH en el BRMs	55
8.3.1.3 Porcentaje de remoción de la Demanda Química de Oxígeno	56
8.3.1.4 Sólidos Suspendidos Volátiles	58
8.3.2 Evaluación de la biomasa del BRMs	59
8.3.2.1 Evaluación de los ST, STV en Licor de Mezcla	59
8.3.2.2 SST y SSV en el Licor de Mezcla	61
8.3.3 Observación microscópica de los flóculos	63
9. CONCLUSIONES	65
10. REFERENCIAS	66
11. ANEXOS	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Capacidades de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales e industriales en la región Hidrográfico-administrativa, Golfo Centro.	18
Cuadro 2	Caracterización de las aguas residuales municipales descritas por diversos autores.	22
Cuadro 3	Comparativa de tratamiento; lodos activados con un BRM.	27
Cuadro 4	Metodología de caracterización inicial del efluente residual municipal.	39
Cuadro 5	Condiciones de operación del BRMs.	41
Cuadro 6	Resultados obtenidos de la caracterización del agua residual municipal.	45
Cuadro 7	Descripción de tinción Gram, pruebas presuntivas y pruebas bioquímicas.	48
Cuadro 8	Caracterización de lodo antes y después de inocular con la bacteria <i>Bacillus subtilis</i> .	49
Cuadro 9	Parámetros de operación del BRMs.	50
Cuadro 10	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos en la temperatura en el BRMs.	53
Cuadro 11	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para el pH en el BRMs.	54
Cuadro 12	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para % de remoción de DQO del efluente.	56
Cuadro 13	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para el % de remoción de SSV en el efluente tratado.	57
Cuadro 14	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para ST y STV del LM.	58
Cuadro 15	Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para SST y SSV del LM.	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Dimensiones del sistema de tratamiento lodos activados (a), y BRM (b).	26
Figura 2	Esquema genérico de la separación mediante membranas.	28
Figura 3	Ubicación de Laboratorio de Investigación y Recursos Acuáticos (ITBoca).	38
Figura 4	Esquema ilustrativo del diseño y configuración del BRMS.	42
Figura 5	Formación de colonias de <i>Bacillus</i> en agar MRS.	46
Figura 6	Tinción Gram de <i>Bacillus</i> observada en microscopio óptico (100x)	47
Figura 7	a) Biomasa en caldo MRS; b) Comparación de biomasa en caldo MRS (izq.) y estándar de McFarland (der.).	48
Figura 8	Lodo inoculado y sembrado en BRM _s .	50
Figura 9	DQO durante el tratamiento de aguas residuales municipales con <i>B. subtilis</i> en el tratamiento biológico.	51
Figura 10	Seguimiento de las fluctuaciones de temperatura con respecto al tiempo en el BRM _s durante el tratamiento de aguas residuales municipales.	52
Figura 11	Seguimiento de pH con respecto al tiempo en el BRM _s durante el tratamiento de aguas residuales municipales.	53
Figura 12	Evolución de la remoción de DQO con respecto al tiempo en el BRM _s durante el tratamiento de aguas residuales municipales.	54
Figura 13	Evaluación de SSV con respecto al tiempo en el BRM _s durante el tratamiento de aguas residuales municipales.	56
Figura 14	ST y STV con respecto a la CVa en el licor de mezcla del agua residual municipal.	57
Figura 15	SST y SSV con respecto a la CVa en el licor de mezcla de las aguas residuales municipales.	59
Figura 16	Flóculo de tamaño 1000 μm observado en microscopio óptico (5x).	60
Figura 17	Flóculo poroso y disperso observado en microscopio óptico (5x).	61

ABREVIATURAS

A/M	Alimento/Microorganismo
A.R.M	Agua Residual
BRM	Biorreactor de Membrana
BRM _s	Biorreactor de Membrana Sumergida
C _m	Carga Másica
CV _a	Carga Volumétrica Aplicada
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
GyA	Grasas y Aceites
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
MF	Microfiltración
MRS	Agar Man, Rogosa y Sharpe
PHAs.	Polihidroxicanoatos
PT	Fósforo Total
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
Q	Caudal
SPEs	Sustancias Poliméricas Extracelulares
S _{sed}	Sólidos Sedimentables
ST	Sólidos Totales
STV	Sólidos Totales Volátiles
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles
LM	Licor de Mezcla
STML	Sólidos Totales en Licor de Mezcla
STVLM	Sólidos Totales Volátiles en Licor de Mezcla
SSLM	Sólidos Suspendidos en Licor de Mezcla
SSVLM	Sólidos Suspendidos Volátiles en Licor de Mezcla
TRH	Tiempo de Retención Hidráulica
NTK	Nitrógeno Total Kjeldhal
UF	Ultrafiltración
V	Volumen

1. INTRODUCCIÓN

Una de las grandes problemáticas que enfrentan las poblaciones urbanas es el crecimiento acelerado, esto repercute en el aumento del consumo de agua. La falta de tratamiento de las aguas residuales generadas, ha traído consigo problemas de déficit en el abasto de agua, generando un sin número de afectaciones severas de la salud humana, y al medio ambiente. Por lo anterior, el tratamiento de aguas residuales ha cobrado gran relevancia en las últimas décadas. Aunque, los avances en el área de tratamiento de aguas residuales han sido sustanciales, aún carecen de métodos eficientes que generen aguas tratadas de alta calidad.

La depuración de lodos activados es una de las alternativa más empleadas para el tratamiento biológico de aguas residuales; consiste básicamente en la combinación de un proceso biológico con un sedimentador, en el primero se produce la transformación de la materia orgánica contaminante por medio de microorganismos, y en el segundo se lleva a cabo la clarificación del efluente y la recirculación de la biomasa a la primera etapa (Ojeda, 2013). La mayoría de los problemas operacionales que pueden afectar a un sistema de lodos activados están relacionados con el mal funcionamiento del sedimentador. Esto genera como consecuencia un alto contenido de sólidos biológicos en el efluente tratado (Metcalf y Eddy, 2003). Actualmente, existen diversas tecnologías que se están empleando para tratar las aguas residuales con excelentes resultados. Una de las modificaciones en el proceso de tratamiento biológico convencional es el reemplazo del sedimentador secundario por unidades de membranas, el cual se conoce como biorreactor con membranas (BRM). Los BRM son sistemas muy compactos y eficientes en la separación de materia en suspensión y coloidal, que permiten obtener aguas regeneradas de elevada calidad físico-química y microbiológica (Granados, 2019). Esto ha favorecido su rápida implantación sustituyendo el esquema clásico de las depuradoras tradicionales de lodos activos y hoy en día están ampliamente distribuidos por todo el mundo (Judd, 2010). El módulo biológico del BRM aprovecha la capacidad de determinados microorganismos (entre los que destacan las bacterias) de asimilar la materia orgánica y los nutrientes disueltos en

el agua residual a tratar para su propio crecimiento. La materia orgánica es asimilada por los microorganismos como fuente de carbono (Ponce, 2019). Una bacteria de gran relevancia es el *Bacillus subtilis* el cual, es un bacilo ampliamente distribuido; favorece su crecimiento en presencia de oxígeno a un de pH de 4 a 7 y temperatura de 15° a 45° (Zúñiga, 2010). Esta bacteria representa gran importancia industrial debido al uso comercial y agrícola de algunos de sus productos extracelulares utilizados para la producción de enzimas, antibióticos y productos químicos (Ponce, 2019). Los BRM están emergiendo como una tecnología con ventajas considerables sobre los métodos de tratamiento convencionales (Lee *et al.*, 2001).

2. ANTECEDENTES

2.1 Características y usos del agua

El agua es un compuesto simple, sin embargo, cuenta con características tan excepcionales y únicas que sin ella sería imposible la vida. Estructuralmente, el agua es una molécula sencilla formada por átomos pequeños (dos de hidrógeno y uno de oxígeno), unidos por enlaces covalentes muy fuertes que hacen a la molécula muy estable por su elevada cohesión molecular. El agua es imprescindible para mantener el volumen celular y un requisito importante para la vida (Carbajal, 2012). En el siglo XX la población mundial se triplicó llegando a más de seis billones. Por consecuencia las extracciones de agua aumentaron seis veces, lo que se ha traducido en un incremento en el grado de presión sobre los recursos hídricos del mundo. El agua es empleada de diversas formas en todas las actividades humanas, ya sea para subsistir o producir e intercambiar bienes y servicios (CONAGUA, 2018).

2.1.1 Degradación del agua

La degradación de las aguas es una problemática antigua que se ha extendido en este siglo, afectando de manera alarmante ríos y mares de todo el mundo (Echarri, 1998). A nivel global, el principal problema relacionado con la calidad del agua lo constituye la eutrofización. Esto tiene como resultado un aumento en los niveles de nutrientes (fósforo y nitrógeno), afectando directamente los usos del agua. La mayor fuente de nutrientes, proviene de la escorrentía agrícola y de las aguas residuales domésticas, industriales y las emisiones a la atmósfera procedentes de combustibles fósiles e incendios forestales. El deterioro de la calidad del agua se ha convertido en motivo de preocupación a nivel mundial, debido a las alteraciones en el ciclo hidrológico, originadas por; el crecimiento poblacional, la expansión de la actividad industrial y agrícola, y el cambio climático (ONU, 2015).

La contaminación de las aguas residuales no se mide a partir de la concentración de los distintos constituyentes de un agua residual que son considerados

contaminantes, sino determinando parámetros globales como la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO) entre otros (Menéndez y Pérez, 2007).

2.2 Aguas residuales

Las aguas residuales son aquellas cuya calidad ha sido afectada negativamente por la actividad humana, las cuales provienen de; viviendas, poblaciones y áreas industriales. Estas aguas representan un peligro y deben ser desechadas debido a que contienen gran cantidad de sustancias y/o microorganismos (Cruz, 2017). La generación de aguas residuales es una consecuencia inevitable de las actividades humanas. En 1849, Snow demostró la relación entre la transmisión del cólera y el consumo de agua contaminada por aguas residuales procedentes de domicilios habitados por personas que padecían la enfermedad. A partir de estos descubrimientos, se empezó a tomar conciencia del riesgo de las aguas residuales en la transmisión de enfermedades de naturaleza fecohídrica. La composición de las aguas residuales puede ser variable, debido a que depende de varios factores, como por ejemplo; la materia orgánica (de naturaleza reductora) procedente principalmente de aguas domésticas consume el oxígeno y se encuentra de forma coloidal o disuelta (Gálvez *et al.*, 2003). Las aguas residuales contienen patógenos, además de otras sustancias contaminantes. Definir de manera exacta lo que es un agua residual es complejo, ya que está en función de las características de cada población o industria y del sistema de recolección que se emplee. La cantidad de agua residual depende directamente de la densidad poblacional, por ello es muy típico hacer una determinación del caudal del agua residual en función de la población equivalente. El caudal del agua residual es variable a lo largo del día y también a lo largo del año (Metcalf y Eddy, 1995).

2.2.1 Impacto de las aguas residuales a nivel mundial

Desde el momento en que aparecieron las primeras poblaciones estables, la eliminación de los residuos ha constituido un problema primordial para las sociedades humanas; debido a la necesidad de eliminar desechos como las

excretas y restos alimenticios. Durante las últimas décadas, se han analizado diversas opciones para resolver la problemática relacionada con la disposición de los residuos líquidos procedentes del uso doméstico, agrícola e industrial. Las masas receptoras, es decir; ríos y corrientes subterráneas, lagos, estuarios y el mar, especialmente en las zonas más densamente pobladas y desarrolladas, han sido incapaces de absorber y neutralizar la carga contaminante que tales residuos generan. De esta forma, han perdido condiciones naturales de apariencia física y la capacidad para sustentar una vida acuática adecuada. Como consecuencia, se pierden las condiciones mínimas requeridas para su racional y adecuado aprovechamiento como fuentes de abastecimiento de agua, vías de transporte o fuentes de energía (Espigares, 1985).

2.2.2 Tratamiento de las Aguas residuales en México

En México, alrededor de 12 millones de personas no tienen acceso al agua potable y 24 millones carecen de servicios de saneamiento como alcantarillado. Además, hay una gran cantidad de cuerpos de agua, superficiales y subterráneos, clasificados con un nivel de contaminación alto. El 26% de los ríos, lagos y embalses que monitorea la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) son de buena calidad, en tanto el 74% restante tiene diferentes grados de contaminación. Los resultados de la evaluación de la calidad del agua en el país muestran que las cuencas de ríos con mayor grado de contaminación son: Lerma, Alto Balsas, Río Colorado y Alto Pánuco. En contraste, las cuencas con menor grado de contaminación son las del Grijalva, el Usumacinta, el Medio y Bajo Pánuco, el Tehuantepec, el Soto la Marina, el Sonora y el Yaqui (CONAGUA, 2018). A pesar de que la Ley de Aguas Nacionales obliga a los usuarios a dar tratamiento al agua que se utilice, esto no se lleva a cabo. Únicamente, el municipio de Monterrey tiene la capacidad para tratar el 100% del agua que se utiliza. En la ciudad de México sólo se trata aproximadamente 20% del agua residual? (CONAGUA, 2010).

2.2.3 Tratamiento de las Aguas residuales en Veracruz

El estado de Veracruz se caracteriza por disponer de una gran cantidad de recursos hídricos en comparación con otras entidades de la república (Torres, 2013). Cualquiera que sea el uso del agua, público o industrial, antes de reintroducir nuevamente el agua al ciclo hidrológico, se requiere descontaminar. Los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales se establecen en la NOM-001-SEMARNAT-1996; y los límites máximos de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal en la NOM-002-SEMARNAT-1996. Sin embargo, existen solo algunas plantas de tratamiento registradas a lo largo del estado de Veracruz (Cuadro 1). Para el año 2002, con base en los registros de la CONAGUA, en Veracruz había un total de 71 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), las cuales representan un flujo total de 2.88 m³/s. Sin embargo, el caudal tratado se reduce a 1.02 m³/s, es decir, poco más del 30% del flujo total de las aguas residuales urbanas, con una eficiencia promedio de remoción de la DBO₅ del 19% (CONAGUA, 2004).

Al considerar los 212 municipios de Veracruz, el número de PTAR existentes es insuficiente y solo permite tratar un volumen reducido de las aguas residuales urbanas. Además, si bien es cierto que existen estas PTAR, en general su eficiencia de depuración es bastante baja y atienden únicamente parámetros como sólidos, carbono y coliformes. Con base en estas consideraciones, se deduce el elevado impacto de las actividades humanas sobre los cuerpos receptores (Houbron, 2010).

Cuadro 1. Capacidades de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales e industriales en la región Hidrográfico- administrativa, Golfo Centro.

	NÚM.	EN OPERACIÓN	CAPACIDAD INSTALADA (m ³ /s)	CAUDAL TRATADO (m ³ /s)
Plantas de tratamiento	108	74	7.01	4.7

Fuente: CONAGUA 2019.

El tratamiento de las aguas residuales es una cuestión prioritaria ya que es importante disponer de agua de calidad y en cantidad suficiente, lo que permitirá una mejora del ambiente, la salud y la calidad de vida. En México, debido a la insuficiente infraestructura, los altos costos, la falta de mantenimiento y de personal capacitado, sólo 36 % de las aguas residuales municipales generadas reciben tratamiento, lo cual crea la necesidad de desarrollar tecnologías para su depuración (Romero, 2009).

2.2.4 Clasificación de las Aguas Residuales

Espigares (1985), define a las aguas residuales como aquellas que, por uso del hombre, representan un peligro y deben ser desechadas, ya que contienen gran cantidad de sustancias y/o microorganismos. Y clasifica las aguas residuales de acuerdo con sus orígenes:

- **Aguas residuales domésticas o municipales:** proceden de las heces y orina humanas, del aseo personal y de la cocina y de la limpieza de la casa.
- **Aguas residuales blancas:** pueden ser de procedencia atmosférica (lluvia, nieve o hielo) o del riego y limpieza de calles, parques y lugares públicos.
- **Aguas residuales industriales:** proceden de los procesamientos realizados en fábricas y establecimientos industriales y contienen aceites, detergentes, antibióticos, ácidos y grasas y otros productos y subproductos de origen mineral, químico, vegetal o animal.
- **Aguas residuales agrícolas:** procedentes de las labores agrícolas en las zonas rurales.

Por su parte SEMARNAT (2018), indica que las aguas residuales se dividen en dos grupos según su procedencia:

Aguas residuales municipales: proceden de comercios, escuelas y hogares de localidades urbanas y rurales, y se colectan en sistemas de alcantarillado sanitario municipal.

Aguas residuales industriales: son aquellas generadas en los procesos industriales.

El tratamiento de estas aguas residuales es fundamental para evitar la contaminación de las masas de agua. Estos tratamientos se realizan de forma individualizada para ambos tipos de aguas residuales, aplicando las tecnologías necesarias para cada uno de los tipos de aguas, confiriendo así las características necesarias para poder ser vertidas a las masas de agua (SEMARNAT, 2018).

2.2.4.1 Aguas residuales domésticas o municipales

Las aguas residuales municipales cuentan con una composición variada, en ellas se encuentran sustancias que pueden ser causa y vehículo de contaminación, en aquellos lugares donde son evacuadas sin un tratamiento previo (Epigares, 1985). En el cuadro 2 se puede observar la caracterización de aguas residuales municipales efectuadas por diversos autores; donde se identifican valores en la demanda química de oxígeno (DQO) para estos efluentes de hasta 1000 mg/L (SEMARNAT, 2016). Por otro lado, en la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) se obtuvieron valores de 110 a 550 mg/L (Rodríguez Miranda *et al.*, 2015). Otros autores encuentran valores de 300 y 275 mg/L en sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV), respectivamente (Martínez *et al.*, 2013). Como también, se encuentran valores altos en grasas y aceites, fósforo total y coliformes fecales de 150 mg/L, 15 mg/L y 5.06 NMP/100ml respectivamente. Debido al análisis realizado a diferentes caracterizaciones de agua residual municipal, es complejo establecer una caracterización específica. La composición del agua residual está en función de su uso, por tal motivo el valor de sus parámetros dependerá de diversos factores, tales como: tipo de uso de las aguas abastecidas, desechos industriales, aumento de temperatura, deforestación, y tiempo de descomposición. Las aguas residuales municipales, se caracterizan por su alta concentración de partículas en suspensión, materia orgánica, nutrientes, compuestos antropogénicos y patógenos que pueden causar eutrofización, daños a la vida acuática y a la calidad de las fuentes hídricas (Salazar, 2018).

2.2.5 Tratamientos convencionales

En las últimas décadas, se han desarrollado una gran variedad de procesos físicos, químicos y biológicos para el tratamiento de aguas residuales. Cada uno de estos se caracteriza por una serie de limitaciones relativas a su grado de aplicabilidad, eficiencia y costos económicos (Arnáiz *et al.*, 2000).

Los tratamientos físicos como la precipitación, adsorción o el arrastre por corriente de gas, entre otros, transfieren los contaminantes del agua a una segunda fase, pero sin eliminarlos, por lo tanto, son procesos no destructivos. Los tratamientos químicos como la oxidación húmeda, ozonización, radiación UV, o empleo de agentes químicos oxidantes (cloro, permanganato potásico, peróxido de hidrógeno, etc.) actúan sobre aquellas moléculas susceptibles de oxidación, indicando que son procesos no selectivos, lo que eleva considerablemente los costes (Scott y Ollis, 1995). Los tratamientos biológicos son ampliamente usados debido a que generan mayores rendimientos con menores costos económicos de explotación y mantenimiento; destruyen completamente los contaminantes, transformándolos en sustancias inocuas como el dióxido de carbono, el metano, el nitrógeno molecular y el agua. La mineralización de compuestos contaminantes mediante microorganismos es un proceso destructivo completo (Daphne, 1994)

Cuadro 2. Caracterización de las aguas residuales municipales descritas por diversos autores.

Autor	Año	pH	ST mg/L	STV mg/L	SST mg/L	SSV mg/L	G y A mg/L	DBO mg/L	DQO mg/L	NTk mgN/L	P mg/L	Coliformes Totales NMP/100ml
Li <i>et al.</i> (E. U.)	2009	6.4-8.1			7-505			50-300	100-633	3.6-19.4	0.11- >48.8	0- 3.4x105
Crespi <i>et al.</i> (Argentina)	2010	7.82	842	544	252			112.57	265	108.5	8.1	
Ortiz (Colombia)	2012	7.2-0.2	409	232	169.2	108.6		424- 168.5	235- 90.2			5.06
Cortés- Lorenzo (España)	2012	6.92-7.81			139	65		57	135			
Martínez <i>et al.</i> (Colombia)	2013	6.9			350	275		400	1000	85	15	
Rodríguez Miranda <i>et al.</i> (México)	2015				15-150			110 - 550	140-550	1.7-100	6-100	1
Ramos- Chalen (Ecuador)	2015		800		240			200		35	10	
SEMARNA T (México)	2016	6.0-7-9	1200		350	275	150	400	1000	85	15	1
Ramon- Vilanova (España)	2017				35			25	125	15	1	
Moyano- Arévalo (Ecuador)	2018		447		300		87	208	320			

2.2.6 Etapas de tratamientos para aguas residuales

Las plantas de tratamiento son utilizadas para efectuar la remoción de contaminantes presentes en el agua residual cruda y deben responder a una alta variabilidad temporal del flujo o caudal de entrada, así como a la variabilidad de las concentraciones o componentes propios de estas aguas residuales (Rodríguez *et al.*, 2015). Wiki, (2007) hace referencia a las siguientes etapas en el tratamiento de las aguas residuales:

2.2.6.1 Operaciones de pretratamiento

Las operaciones de pretratamiento incluidas en una PTAR dependen de:

- La procedencia del agua residual (doméstica, industrial, etc).
- La calidad del agua bruta a tratar (mayor o menor cantidad de grasas, arenas sólidos, etc.)
- Del tipo de tratamiento posterior de la PTAR
- De la importancia de la instalación, etc.

Las operaciones son:

- Separación de grandes sólidos (Pozo de Gruesos)
- Desbaste
- Tamizado
- Dilaceración
- Desarenado
- Desaceitado-desengrasado
- Preaireación

En esta etapa, se retiran los sólidos como; madera, papel, trapos y plástico; se lavan, se secan y se llevan para eliminarlos a un botadero de basura autorizado. El cascajo y la arena que puedan dañar las bombas también se eliminan de manera similar (Díaz-Cuenca, 2012).

2.2.6.2 Tratamiento Primario

Existen múltiples procesos que se pueden considerar incluidos dentro del tratamiento primario (filtración, tamizado, ciertos lagunajes, fosas sépticas, tanques Imhoff, etc.), los principales procesos se pueden clasificar según:

Procesos de separación sólido-líquido:

- Sedimentación (también llamada decantación primaria)
- Flotación
- Proceso mixto (decantación-flotación)
-

Procesos complementarios de mejora:

- Floculación
- Coagulación (proceso físico-químico)

En esta etapa, se decantan los sólidos (lodos) y pueden ser utilizados en la agricultura después de pasar por un nuevo tratamiento, llamado “tratamiento de lodos” (Díaz-Cuenca, 2012).

2.2.6.3 Tratamiento Secundario

La materia orgánica que queda disuelta y en suspensión así como el resto de las partículas sólidas que no se han eliminado en los tratamientos anteriores, son eliminadas mediante los denominados “Procesos Biológicos de Depuración Aerobia”, que en la línea de aguas constituyen los tratamientos secundarios.

Podemos definir los “Procesos Biológicos de Depuración Aerobia”, como aquellos realizados por determinado grupo de microorganismos (principalmente bacterias y protozoos) que en presencia de Oxígeno, actúan sobre la materia orgánica e inorgánica disuelta, suspendida y coloidal existente en el agua residual, transformándola en gases y materia celular, que puede separarse fácilmente mediante sedimentación. La unión de materia orgánica, bacterias y sustancias minerales forma los flóculos y el conjunto de flóculos es lo que todos conocemos como fango biológico (Wiki, 2007).

Es un proceso biológico basado en microorganismos que existen naturalmente y que descomponen la materia orgánica y purifican el líquido. Después de cualquier tratamiento secundario, el agua residual se decanta en estanques para separar el lodo biológico del agua residual purificada. A veces es necesario un tratamiento adicional para darle un “pulimento” al agua residual, el cual se conoce como tratamiento terciario y en el que se usan varios métodos como filtros de arena, lechos de caña o lotes de pasto. Básicamente, existen dos tipos de tratamientos biológicos aerobios; Procesos de Cultivo en Suspensión (Fangos Activados) y Procesos de Cultivo Fijo (Lechos Bacterianos) (Díaz-Cuenca, 2012).

2.2.6.4 Desinfección

La desinfección del agua significa la extracción, desactivación o eliminación de los microorganismos patógenos que existen en el agua. La destrucción y/o desactivación de los microorganismos supone el final de la reproducción y crecimiento. Si estos microorganismos no son eliminados el agua no es potable, porque al beberla puede causar enfermedades (Díaz-Cuenca, 2012).

La utilización del cloro como desinfectante es el método de desinfección más común, la cloración juega un papel muy importante en todo el mundo para evitar infecciones. Se están utilizando numerosos derivados clorados para llevar a cabo estas desinfecciones, como pueden ser cloro gas, hipoclorito o dióxido de cloro; el ácido hipocloroso es el que efectúa una función germicida, pudiendo el resto de compuesto transformarse en él previa reacción con el agua (Osorio Robles, 2012).

En la década de los 70 el descubrimiento de los trihalometanos (THM) en el agua debido a procesos de cloración hizo que se desarrollaran distintas líneas de investigación para evitar la formación de estos productos. Estas investigaciones llevaron a la utilización del ozono como agente oxidante para la desinfección de aguas potables. La aplicación de la ozonización es un método de desinfección de aguas potables que se está aplicando ya en la actualidad pero no es un método solamente aplicable a aguas potables si no que también se puede aplicar como desinfección de aguas residuales (Beltrán, 2004).

Además del uso de químicos u ozonificación en la desinfección del agua, existen otros tipos de desinfectantes más avanzados, como los utilizados en las plantas nucleares, cuyos equipos y técnicas son de elevados costos (Díaz-Cuenca, 2012).

2.2.7 Tecnologías aplicadas a tratamientos de agua residual

El deterioro ambiental, se agudiza como consecuencia del desarrollo de actividades humanas sin cuidado por el medio ambiente. Lo anterior conlleva retos importantes en áreas de la ciencia como la ingeniería ambiental. Uno de estos es la depuración de las aguas residuales (Eriksson *et al.*, 2003). Entre la variedad de sustancias contaminantes descargadas, es posible relacionar desde metales pesados (mercurio, cadmio, cromo, arsénico, plomo, etc.), contaminantes emergentes (compuestos orgánicos persistentes, disruptores endocrinos, antibióticos, etc.), hidrocarburos, materia orgánica, hasta

compuestos que producen coloración de los efluentes (colorantes y pigmentos) (Deblonde *et al.*, 2007).

Las tecnologías especializadas en la recuperación de agua y su posterior reutilización, pueden ofrecer opciones apropiadas para asegurar que las ciudades sean resistentes a las sequías y desafíos de la creciente escasez de agua. Se han desarrollado un gran número de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales en las últimas décadas. El biorreactor de membrana juega un papel importante en la recuperación y reutilización del agua como una alternativa para las zonas urbanas.

La tecnología BRM combina un proceso de separación biológica (uso de microorganismos) y física (principalmente el uso de micro y ultrafiltración membranas - MF y UF). Se ha convertido en una alternativa fiable y eficiente para ser aplicado en las aguas residuales urbanas como tratamiento para la reutilización del agua (Subtil *et al.*, 2014).

2.3 Biorreactores de membrana

En México, el sistema de tratamiento de aguas residuales más empleado es el de lodos activados. Este sistema no es eficiente, requiere mucho espacio y genera lodos que deben ser tratados para su uso o disposición final. El agua tratada obtenida se puede usar en algunas actividades como riego de parques. De implementar tecnologías avanzadas como el biorreactor de membranas, el uso del agua tratada sería amplio, además de reducir el impacto ambiental en los cuerpos receptores. Esta tecnología requiere menos espacio y el sistema de filtrado puede usar membranas de distintos materiales y tamaños de poro disponibles en el mercado (Granados, *et al.*, 2019).

La tecnología BRM comprende la combinación del sistema convencional de lodos activados con la filtración mediante membranas (Metcalf y Eddy, 1995). En la actualidad existen dos configuraciones de biorreactores con membranas: los de membrana sumergida y los de membranas externas. En los biorreactores con membrana sumergida o integrada, la filtración se realiza sumergida en el biorreactor. De esta manera, los lodos quedan dentro del reactor y el efluente es retirado. En los biorreactores con membrana externa el licor de mezcla es recirculado a la unidad de filtración con el apoyo de una bomba y se regresan los lodos (Merlo *et al.* 2004).

En comparación con el proceso de lodos activados, el biorreactor con membrana sumergida tiene las ventajas de excelente calidad de efluente, retención de todos los sólidos suspendidos y microorganismos, control absoluto de la biomasa y del tiempo de retención hidráulico, entre otras (Massé et al. 2006). Varios estudios han demostrado que este sistema es efectivo para la eliminación de nitrógeno y el rendimiento en general es mejor que el del proceso de tratamiento convencional (Laera et al. 2005). La utilización de los BRM se ha incrementado, sobre todo en los tratamientos donde se requiere una alta calidad del agua tratada para reutilización y particularmente donde el espacio es limitado (Aslam *et al.*, 2017).

La tecnología está en constante estudio debido al gran interés en proporcionar mejoras, las investigaciones son diversas y están enfocadas principalmente en la saturación de las membranas (Marín, 2017). La idea de sustituir el decantador de un proceso biológico de lodos o fangos activados por una membrana de ultrafiltración fue de Smith (1969). La primera compañía interesada por la tecnología fue Dorr-Oliver Inc., fue en la década de los 60, quienes desarrollaron el sistema “Membrane Sewage Treatment” (MST).

En los años 70 se estableció un acuerdo entre Dorr-Oliver Inc. y Sanki Engineering Co. Ltd, para potenciar la implantación de los BRM en Japón. El resultado fue la construcción de más de 39 biorreactores con membranas externas, principalmente para el tratamiento de aguas sanitarias. Posteriormente, las investigaciones se orientaron hacia las aguas residuales industriales. Al mismo tiempo Thetford Systems, actualmente Zenon Environment, lanzó su versión de BRM externo llamado “Cycle-Let”, también para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Finalmente, en el año 1982 la empresa Zenón patentó su sistema ZenoGem® basado en membranas de fibra hueca sumergidas en el biorreactor (Crespi *et al.*, 2005).

2.3.1 Diseño de Biorreactores de Membrana

El BRM, es un sistema de tratamiento muy compacto por su gran eficiencia de hasta un 95% y por sus reducidas dimensiones es ideal para sectores en donde el terreno tiene un precio considerable o en donde una planta de tratamiento de mayores dimensiones puede desvalorizar la propiedad. Al comparar este sistema con el tratamiento de lodos activados (Figura 1), es considerable el ahorro de espacio al utilizar un BRM (Corado, 2010).

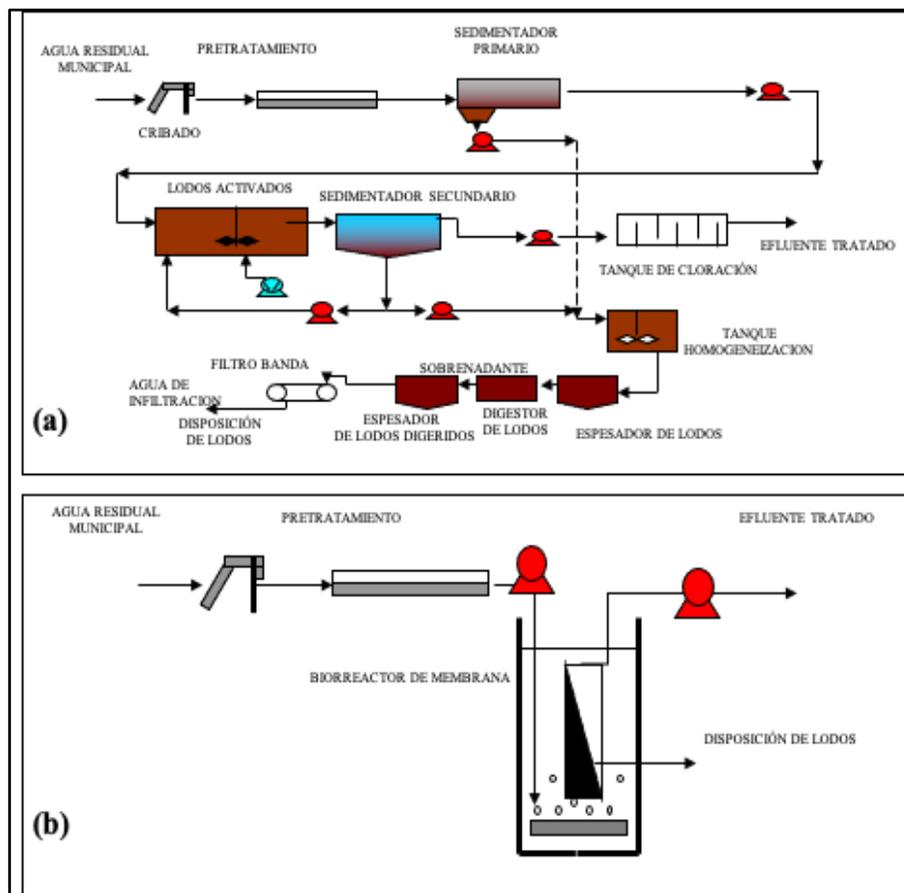


Figura 1. Dimensiones del sistema de tratamiento lodos activados (a), y BRM (b) (Fuente: IMTA, 2017).

Además de la reducción considerable de dimensiones de este sistema de tratamiento, su eficiencia en comparación con las aguas producidas por un sistema convencional de lodos activados es significativamente superior (Corado, 2010). En el cuadro 3, se presenta una comparación de las características entre un proceso convencional de lodos activados y un BRM.

Cuadro 3. Comparativa de tratamiento; lodos activados con un BRM.

CARACTERÍSTICAS	LODOS ACTIVADOS	BRM
Separación sólido-líquido	Sedimentador secundario	Membranas de MF/UF
Tamaño de la planta	Grande	Compacta
Producción de lodos	0.6 kg biomasa kg DBO	0-0.3 kg biomasa/kg DBO
Concentración de biomasa	2,000-3,000 mg SSV/L	3,000-20,000 mg SSV/L
Tiempo de retención hidráulico (TRH)	4-8 h	2-24 h
Tiempo de retención medio celular (TRMC)	3-15 d	20-60 d
Volumen de reactor	Grande	Pequeño
Tamaño de los flóculos	~60 µm	< 40 µm
Necesidades de oxígeno	Menos requerimientos de O ₂	Más requerimientos de O ₂ (nitrificación y control ensuciamiento de las membranas)
Calidad del efluente	Tratamiento secundario	Tratamiento terciario
DBO (mg/L)	15	< 4
DQO (mg/L)	75	15
SST (mg/L)	40	< 1
PT (mg/L)	7.9	2.2
NTK (mg/L)	30.2	3.4
NH ₄ (mg/L)	20	< 1
Turbiedad (NTU)	20	< 1

Fuente: IMTA, 2018.

2.3.2 Configuraciones de Biorreactores de Membrana

Los biorreactores de membrana están compuestos por dos partes principales; el módulo biológico responsable de la degradación de los compuestos presentes en el agua residual, y el módulo de la membrana encargado de llevar a cabo la separación física del licor de mezcla. Se distinguen dos tipos principales de biorreactores de membrana con base a su configuración; el BRM integrada o sumergida y BRM externo o con recirculación. Vázquez (2015), describe cada una de ellas:

2.3.2.1 Integrada o Sumergida

La unidad de membrana que realiza la separación física está inmersa en el tanque biológico. La fuerza impulsora a través de la membrana es alcanzada creando presión negativa en el lado permeado de la membrana.

2.3.2.2 Externo o con recirculación

Esta configuración implica que el licor de mezcla es recirculado desde el biorreactor hasta la unidad de membrana, que se dispone externamente a la unidad biológica. La fuerza impulsora, es la presión creada por la alta velocidad del flujo a través de la superficie de la membrana.

2.3.3 Proceso de filtración con Membranas

Las membranas son barreras físicas semipermeables que se disponen entre dos fases separándolas e impidiendo su contacto, pero permiten el movimiento de las moléculas a través de ellas de forma selectiva. Son semipermeables, dado que permiten el paso de algunos componentes presentes en la corriente de entrada (alimento) y dificulta o impide el paso de otros a la corriente de salida (permeado). Como consecuencia de esta operación, se obtiene una corriente de permeado con baja concentración o libre de ciertos componentes, y una corriente de rechazo donde esos componentes se encuentran concentrados (Vázquez, 2015). En la figura 2 se muestra un esquema de su funcionamiento.

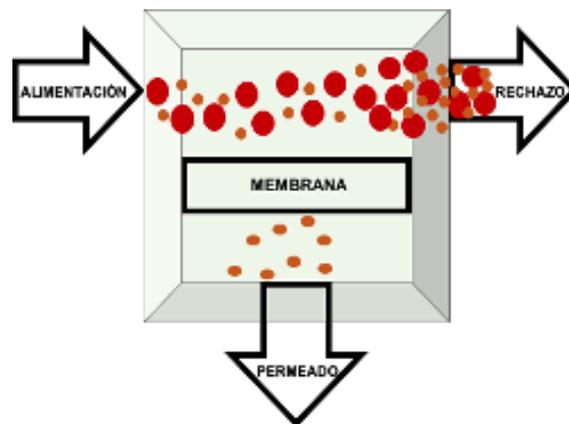


Figura 2. Esquema genérico de la separación mediante membranas (Fuente: Prats, 2015).

La microfiltración (MF) y la ultrafiltración (UF) se pueden considerar procesos de membrana a baja presión. La MF separa partículas con un tamaño comprendido entre 0.05 y 10 μm , a presiones entre los 0.5 y 3 bar. Usualmente se usa para retener sólidos en suspensión, por lo tanto; se emplea como etapa de limpieza, concentración o como pretratamiento para la nanofiltración y/o la ósmosis inversa (Ibañez, 2007). La UF concentra grandes moléculas y macromoléculas de peso molecular entre 1000 y 200,000 Da, por lo cual; la membrana tiene un diámetro aproximado de poro de 0,01 μm , y se realiza a valores de presión inferiores 1000 kPa (Rosenberg, 1995).

Los sistemas de separación por membranas tienen diferentes modos de funcionamiento dependiendo de las características deseadas del producto final y del sistema, tales como; la cantidad de membrana disponible, el volumen de alimentación, el factor de concentración requerido, el tiempo deseado de residencia del producto y el equipo auxiliar disponible. Los sistemas de separación pueden operar en modo discontinuo o continuo (Smith, 2013).

2.3.3.1 *Ensuciamiento*

La naturaleza y el grado del ensuciamiento de la membrana está relacionado con las condiciones hidrodinámicas de la superficie de la membrana, el tipo de membrana y las características fisicoquímicas de las especies presentes en la alimentación (Lehman y Liu, 2009). Al mismo tiempo, las interacciones dinámicas que se dan entre las especies y la membrana pueden afectar la selectividad de la misma y a su tendencia al ensuciamiento (Majewska-Nowa *et al.*, 2008). Generalmente, la materia orgánica presente en el efluente secundario se suele considerar como la principal responsable del ensuciamiento de la membrana. Esta fracción está compuesta por polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos orgánicos, sustancias húmicas y componentes de las células (Barker *et al.*, 2000). De todos ellos, los biopolímeros (polisacáridos y proteínas) tienen un mayor efecto sobre el ensuciamiento (Ayache *et al.*, 2013). Estudios previos han encontrado una reducción importante de estos compuestos mediante diversos pretratamientos de la alimentación, como; coagulación, ozonización, adsorción sobre carbón activo o aplicación de resinas de intercambio (Nguyen y Roddick, 2013). La utilización de estos pretratamientos genera un costo adicional, además de que la reducción de los compuestos nunca es completa. Una alternativa es optimizar las condiciones de operación para disminuir el ensuciamiento. La

selección de estas condiciones están en función de criterios generales o en la información suministrada por los distribuidores comerciales. Debido a lo anterior, la tecnología de las membranas se ha visto limitada debido al tiempo empleado para su limpieza y a los químicos requeridos para la misma (Drews, 2010).

Existen tres tipos de ensuciamiento, reversible, irreversible e irrecuperable. El ensuciamiento reversible ocurre por depósito de material (torta de filtración) y puede ser removido durante periodos de pausa de la filtración o por medio de métodos como ciclos de retrolavado o relajación (Jeison y Van Lier, 2006). El ensuciamiento irreversible, se atribuye al bloqueo de los poros y puede ser removido sólo mediante procesos químicos, mientras que el irrecuperable no puede ser removido por ningún método de limpieza y ocurre tras un largo periodo de operación (Drews, 2010). No se puede evitar el ensuciamiento; sin embargo, se puede controlar cuando se conocen los mecanismos y las sustancias que lo causan (Ocampo, 2013).

2.3.3.2 Mantenimiento

El ensuciamiento de las membranas es un fenómeno que condiciona la operación y el mantenimiento de los sistemas de filtración, ya que limitan la vida útil de las membranas. La limpieza de recuperación es necesaria para restablecer la permeabilidad de la membrana una vez que la membrana está sucia. Las concentraciones de limpieza química que se utilizan habitualmente para remojar las membranas son de 1000 mg/L de hipoclorito sódico (NaOCl) para la eliminación de los contaminantes orgánicos, y de 2000 mg/L de ácido cítrico para la eliminación de los contaminantes inorgánicos. Se recomienda realizarlo dos veces al año (Galvis, 2014).

La limpieza física es más sencilla que la química y al no introducir sustancias químicas la membrana no se daña. Sin embargo, este tipo de limpieza física es menos eficaz, ya que sólo actúan sobre el ensuciamiento reversible, mientras la limpieza química también elimina el ensuciamiento irreversible (Vázquez, 2015). Las técnicas para minimizar el ensuciamiento también tratan de optimizar las propiedades de la membrana, las condiciones de la operación y las características de la biomasa. Por ello, dar respuesta al control del ensuciamiento es un aspecto vital en el diseño y la utilización de los biorreactores de

membrana. Algunas acciones, son necesarias para mantener controlada la velocidad del ensuciamiento, (Condorchem, 2018).

- Realizar limpiezas periódicas de la membrana.
- Modificar las características de la biomasa.
- Optimizar los parámetros de operación

Generalmente se coloca un difusor de aire justo debajo del módulo de la membrana para suministrar el aire necesario para homogeneizar el contenido del tanque, para el proceso biológico y para la propia limpieza de la membrana (Vázquez, 2015).

2.4 Microorganismos

La mayoría de los productos naturales y gran número de compuestos sintéticos son degradados por microorganismos. Independientemente de su peso molecular o complejidad estructural, se han convertido en un factor clave en la biorremediación (Bitton, 2005). Estos microorganismos desempeñan un papel importante en los procesos biológicos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Llagas y Gómez, 2006). Los procesos biológicos aerobios tienen lugar debido a la presencia de microorganismos, principalmente bacterias. Las cuales en presencia de oxígeno son capaces de asimilar la materia orgánica presente en el agua residual, con el fin de incorporarla a su metabolismo celular y obtener energía para sus funciones vitales. Esta energía será utilizada a su vez para la síntesis de nuevas células (Faner, 2017). La degradación biológica de los desechos acuosos, es actualmente el medio más económico y eficiente para eliminar los contaminantes (Jou y Huang, 2003). Las bacterias tienden a unirse formando flóculos, es decir, agregados que contienen partículas orgánicas e inorgánicas, así como un consorcio microbiano (bacterias formadoras de flóculo y bacterias filamentosas) unido mediante una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (Faner, 2017).

2.4.1 Bacterias degradadoras de materia orgánica

Madigan *et al.*, (2003), indican que el material orgánico biodegradable es oxidado químicamente por bacterias heterotróficas bajo condiciones aerobias, resultando en la producción de dióxido de carbono, agua, amonio y nueva biomasa. Acuña (2006), menciona

que, para que un proceso biológico sea eficiente, la actividad de los microorganismos debe ser la adecuada y por lo tanto es necesario que sean previamente aclimatados. Por tanto, se requieren de ciertas condiciones favorables para su metabolismo, esto les permitirá degradar el nuevo sustrato que se les está proporcionando.

Souza *et al.*, (2004), afirman que, dependiendo de la forma de aglomeración microbiana utilizada, los procesos biológicos se pueden clasificar en dos tipos: sistemas de biomasa en suspensión y sistema de biomasa adherida (biopelículas). En los reactores con biomasa en suspensión los microorganismos se asocian en flóculos, los cuales están suspendidos en el líquido gracias al mezclado. Por otro lado, en los reactores con biomasa adherida (biopelículas) los microorganismos crecen adheridos a un material inerte.

2.4.2 Licor de mezcla

Mendez *et al.*, (2004), mencionan que una planta de lodos activados es un sistema de mezcla completa. Su nombre proviene de la producción de una masa activada de microorganismos capaz de estabilizar un residuo en medio aerobio. Este método está provisto de un sistema de recirculación y eliminación de lodos. Al cabo de un periodo determinado de tiempo, la mezcla de las nuevas células con las antiguas se conduce hasta un tanque de sedimentación para ser separadas del agua residual tratada. Una parte de las células sedimentadas se recirculan para mantener en el reactor la concentración de células deseadas, mientras que la otra parte se purga del sistema. La fracción purgada corresponde al crecimiento del tejido celular. El lodo biológico medido como Sólidos Suspendidos Volátiles en el Licor de Mezcla (SSVLM), se mantiene en un estado de mezcla completa debido a la agitación proporcionada por el aire inyectado en el sistema. El ambiente aerobio en el reactor se consigue mediante el uso de aereadores mecánicos.

Nava (2014) estudió la concentración de sólidos suspendidos totales en dos reactores (biomasa suspendida y biomasa adherida). El reactor de biomasa suspendida registró aproximadamente 2200 mg SST/L, mientras que en el reactor de biomasa adherida registró entre 450 y 560 mg SST/L. La relación SSV/SST se mantuvo en ambos reactores entre 0.9 y 1, indicando la capacidad de los microorganismos para degradar el sustrato. La remoción máxima de DQO se presentó durante la primera hora de reacción, alcanzando un 98% de

remoción de materia orgánica. Por su parte Moya (2016), realizó durante 83 días determinaciones analíticas del licor de mezcla de un BRM aerobio con capacidad de 12 L. Al incrementar la carga másica de 0.33 hasta 0.89 de entrada a este sistema (BRM), se produjo en consecuencia un aumento de los sólidos suspendidos en el licor mezcla, favoreciendo así los rendimientos de eliminación de DQO en el BRM mismos que superar el 95%. De igual manera Diaz (2015), operó un BRM durante cuatro meses en flujo continuo; con una concentración de SSLM moderada, y se mantuvo prácticamente estable entorno a los 5.6 g/L. El biorreactor fue operado con un tiempo de retención hidráulica de 8.8 h. Lo anterior, provocó que el BRM se mantuviera en fase endógena. Así que hubo un crecimiento nulo de la biomasa durante todo el periodo experimental, obteniendo una concentración prácticamente constante en los SSLM.

Mendez y *et al.*, (2004), trabajó con mini reactores aerobios. El sistema se alimentó con dos sustratos. Las concentraciones de la DBO₅ de los sustratos 1 y 2 fueron de 100 y 146 mg/L respectivamente. Como resultado, alcanzaron un buen equilibrio en la biomasa en cada uno de los mini reactores con valor de SSVLM de 2,400 mg/L.

2.4.2.1 Flóculación

En la floculación las bacterias y otras partículas en suspensión se agrupan en grandes masas llamadas "flóculos" (Graham y Smith, 2004). Los flóculos presentan un área superficial alta que permite una buena penetración de nutrientes y oxígeno (Martins *et al.*, 2004). El crecimiento de microorganismos en una planta de tratamiento de lodos activados es indicador de un proceso de tratamiento deficiente. Su control dependerá de la calidad del influente, condiciones de operación, diseño de la planta de tratamiento, de las variaciones estacionales y sobre todo del tipo de microorganismo (Pacheco *et al.*, 2000).

Andreu (2014), puso en marcha un sistema híbrido UASB+BRM para tratar aguas residuales, a partir del día 20 de operación, el sistema tuvo un aumento paulatino en la concentración de SSLM de hasta 3 g·L⁻¹. Esto favoreció a la floculación y el ensuciamiento reversible de las membranas. En este trabajo, las concentraciones de SS superan los 2 g·L⁻¹. RM Wu (2002), menciona que el modelo estructural de los flóculos se representa como formación primaria (partículas primarias) y flóculos completos (definidos). Cicek *et al.*,

(1997), estudió la población microbiológica en un BRM, encontró formaciones diversas en los flóculos y tamaños de hasta 3.5 μm . El tamaño de los flóculos puede ser variable comprendiendo desde 1 a 1000 μm (Moeller, 2004).

Otros autores mencionan que los procesos de floculación en los BRM funcionan con concentraciones de SSVLM de 15,000-20,000 mg/l y valores de carga másica de 0.04-0.2 kg DBO₅/kg SSVLM, esto dependerá del volumen del reactor (Wagner y Rosenwinkel, 2000). Cuando las partículas del flóculo se desarrollan tienden a ser pequeñas y esféricas, en gran parte debido a que los lodos jóvenes no poseen cantidades significativas de organismos filamentosos. La producción de polímero extracelular pegajoso aumenta el tamaño del flóculo y la forma de éste se torna cada vez más regular (Evans y Furlong, 2003).

2.4.3 Biomasa microbiana

En los sistemas biológicos las acciones combinadas de organismos tratan el efluente. Las bacterias constituyen alrededor del 95% de la biomasa microbiana presente en este tipo de sistema, inicialmente se observa un crecimiento libre y posteriormente el proceso de floculación (Evans y Furlong, 2003). Además, son responsables de la oxidación de la materia orgánica y transformación de nutrientes, producen polisacáridos y otros materiales poliméricos que ayudan a la floculación. Los principales géneros encontrados son *Zooglea*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Comamonas*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, así como microorganismos filamentosos (Britton, 2005).

2.4.3.1 Bacillus spp.

El género *Bacillus* se compone de bacterias endosporas formadoras de varillas que son miembros del filo *Firmicutes*. Este género posee especies de vida libre fijadoras de nitrógeno, portadoras del sistema enzimático de la nitrogenasa. En suelo se ubica desde las capas más superficiales hasta las más profundas y se encuentra colonizando la rizosfera de las plantas. Estas bacterias alcanzan alrededor de un 24% del total de bacterias, esto confirma la amplia diversidad microbiana dentro de las comunidades bacterianas del suelo (Orberá Ratón, 2005). Se ha caracterizado ampliamente este género como

microorganismos antagonistas para el control biológico de microorganismos fitopatógenos en cultivo de alimentos (Méndez-Úbeda, 2017). De igual forma, se ha descrito al género como bacterias endófitas que mejoran la biomasa vegetal y síntesis de pigmentos fotosintéticos (Abd_Alla, 2014).

Por otra parte, *Bacillus* ha sido de gran interés en la producción de biopolímeros extracelulares como tratamiento en lodos activados y en la remoción de contaminantes en aguas residuales con remociones en DQO y DBO₅ de 95 y 93%, respectivamente (Mau Incháustegui, 2015). De igual forma se identificó una bacteria para la producción de polihidroxicanoatos (PHAs) y remoción de materia orgánica como tratamiento en aguas residuales. Como resultado se obtuvo hasta 5.24 gL⁻¹ de polihidroxibutirato en un medio sin optimizar, con glucosa como fuente de carbono (Otero, 2012). La gran mayoría de las especies de *Bacillus* no son patógenas, debido a esto muchas han sido explotadas con fines biotecnológicos y aplicaciones industriales (Rooney *et al.*, 2007). Mediante un análisis de la secuencia parcial del gen 16S rRNA de una cepa bacteriana aislada, tuvo un 96% de identidad con *Bacillus subtilis*, indicando que es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en el medio ambiente (Cohn, 1872).

3. JUSTIFICACIÓN

Considerando la escasa disponibilidad de agua dulce, el crecimiento acelerado de la población y la contaminación de los recursos hídricos, es necesario buscar alternativas para aprovechar los recursos salobres y el agua de los océanos (Grueso-Dominguez, 2019). Varios países carecen de seguridad hídrica y ésta se encuentra cada vez más amenazada (Martínez Austria, 2019). En México, la falta de tratamiento de las aguas residuales es un obstáculo que limita el goce con plenitud del derecho humano al agua (Núñez, 2017).

La necesidad de protección de las aguas superficiales y subterráneas, nos lleva a adoptar tecnologías para tratar las aguas residuales, en especial las domésticas, siendo estas las de mayor generación. Esto, debido a que gran parte de la población no cuenta con sistemas de saneamiento completo (Torres, 2019). Durante los últimos veinte años, el conocimiento y comprensión del tratamiento de aguas residuales ha avanzado y se ha alejado de los enfoques empíricos para adoptar un enfoque basado en los principios de la química, microbiología, ingeniería física y de bioprocesos; que a menudo involucra trabajo y técnicas de laboratorio experimentales (Hernandez-García, 2017). Los Biorreactores de Membrana son una combinación de procesos que está emergiendo como una tecnología con ventajas considerables sobre los métodos de tratamiento convencionales (Lee *et al.*, 2001). En comparación con otras tecnologías y procesos, el biorreactor con membrana sumergida tiene la ventaja de generar excelente calidad de efluente, retención de todos los sólidos suspendidos y microorganismos, control absoluto de la biomasa y del tiempo de retención hidráulico, entre otras (Massé *et al.*, 2006). Varios estudios han demostrado que este sistema es efectivo en la eliminación de la carga contaminante y el rendimiento, el cual es significativamente mayor en comparación con los procesos de tratamiento convencionales (Laera *et al.*, 2005). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de *Bacillus subtilis* en la eficiencia de remoción de materia orgánica de un biorreactor de membrana en el tratamiento de aguas residuales municipales.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo influye *Bacillus subtilis* en la eficiencia de remoción de materia orgánica de un biorreactor de membrana para el tratamiento de aguas residuales municipales?

5. HIPÓTESIS

La presencia de la bacteria *Bacillus subtilis* influye positivamente en la eficiencia de remoción de materia orgánica de un biorreactor de membrana para el tratamiento de aguas residuales municipales.

6. OBJETIVOS

6.1 GENERAL

Evaluar la influencia de *Bacillus subtilis* en la eficiencia de remoción de materia orgánica de un biorreactor de membrana en el tratamiento de aguas residuales municipales.

6.1.1 ESPECÍFICOS

1. Caracterizar el sustrato e inocular la bacteria *Bacillus subtilis* en un biorreactor de membrana en el tratamiento de aguas residuales municipales.
2. Establecer los parámetros de operación del biorreactor de membrana en presencia de *Bacillus subtilis* en el tratamiento de aguas residuales municipales.
3. Evaluar la eficiencia de remoción de materia orgánica del biorreactor de membrana en presencia de *Bacillus subtilis* en el tratamiento de aguas residuales municipales.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos (LIRA) del Instituto Tecnológico de Boca del Río (ITBoca), en la ciudad de Boca del Río, Veracruz, México (Figura 3).



Figura 3. Ubicación de Laboratorio de Investigación y Recursos Acuáticos (ITBoca)
Fuente: Google Maps).

7.1 Caracterización del agua residual e inoculación bacteriana

7.1.1 Caracterización del agua residual

Las muestras de agua residual fueron tomadas de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales municipales (PTAR) ubicada en la ciudad y puerto de Veracruz. *In situ* se registraron los parámetros de pH y temperatura, las muestras se colocaron en contenedores de polipropileno con capacidad de 20 L, y posteriormente se trasladaron a LIRA para su respectivo análisis (Anexos 1). La caracterización del agua residual (Cuadro 4), se realizó de acuerdo a los criterios establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996 y métodos (APHA, 1995) estandarizados, mismos que se describen en el siguiente cuadro:

Cuadro 4. Metodología de caracterización inicial del efluente residual municipal.

Parámetro	Método	Equipo
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	NMX-AA-030/1-SCFI-2012	Digestor Hach Espectrofotómetro Hach
Sólidos Totales (ST)		Estufa marca Memmert
Sólidos Totales Volátiles (STV)		Estufa marca Memmert
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	NMX-AA-034-SCFI-2015	Estufa marca Memmert y mufla marca Thermo Scientific
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)		Estufa marca Memmert y mufla marca Thermo Scientific
Sólidos Sedimentables (SSed.)	NMX-AA-004-SCFI-2013	Cono Imhoff
Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)	NMX-AA-026-SCFI-2010	Bloque digestor marca Trade Raypa, Destilador microkjeldahl
Fósforo Total (PT)	NMX-AA-029-SCFI-2001	Espectrofotómetro marca
Grasas y Aceites (GyA)	NMX-AA-029-SCFI-2001	
pH	NMX-AA-008-SCFI-2000	Indicador de prueba MColorpHast

7.1.2 Morfología e identificación bacteriana

Los microorganismos empleados para este estudio fueron seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios: productividad metabólica y distribución. La cepa de *Bacillus subtilis* se aisló a partir de una muestra de lodos activados, provenientes de una PTAR.

7.1.2.1 Aislamiento

El aislamiento de la bacteria se realizó mediante una dilución primaria de 1 ml de muestra en 5 ml de agua destilada estéril. Se agitó vigorosamente por 20 segundos y se colocó 1 ml de dilución resultante en 3 tubos de ensayo con 9 ml de medio selectivo caldo MRS previamente preparado. Se colocaron en incubación a una temperatura de 35 °C durante un lapso de 48 h, esto con la finalidad de obtener crecimiento únicamente de microorganismos del género *Bacillus*. Posteriormente, se observó el crecimiento bacteriano en cada los tubos con una lupa manual. Fue seleccionado el tubo con mayor presencia de biomasa en suspensión. Para la purificación del cultivo se realizó una siembra en 6 cajas petri con medio agar MRS por el método por agotamiento en estrías. Las cajas sembradas, se llevaron

nuevamente a incubación a 35 °C por un periodo de 48 a 72 h hasta obtener colonias bien definidas. Posteriormente, se realizó inspección de crecimiento mediante microscopio estereoscópico, para identificar morfología y abundancia de crecimiento de las colonias (Tejera-Hernández, 2011).

7.1.2.2 Tinción Gram

Fue seleccionada la colonia más definida y uniforme para realizar tinción Gram, la cual permitió observar si las bacterias pertenecen al grupo Gram positivas o Gram negativas. Se utilizó violeta de genciana, lugol, alcohol acetona y safranina (Valenzuela, 2003). Los microorganismos se observaron en microscopio óptico a 100x con aceite de inmersión.

7.1.2.3 Pruebas presuntivas y bioquímicas

Se realizaron las pruebas presuntivas catalasa y oxidasa, además se aplicaron pruebas las bioquímicas Citrato, Triple Sugar Iron (TSI), Lisina Hierro Agar (LIA), Oxígeno Fermentativa (O/F), Rojo de Metilo-Voges Proskauer (MR-VP) y Arginina; para confirmar las características de género y especie de *Bacillus subtilis*, presente en el medio de cultivo.

7.1.3 Inóculo

Se realizó la siembra de *Bacillus subtilis* en tubos de ensayo de 25 ml. Se utilizó un asa estéril y se tomó una muestra de la colonia y se procedió a sembrar en los tubos con 10 ml de caldo MRS. Se llevó a incubación durante 48 h; y transcurrido este tiempo los tubos sembrados se sometieron a un método de recuento estimado por medio de un patrón de turbidez con escala de McFarland; la cual, consta de 10 unidades (0,5 a 10) y una turbidez comparable con una suspensión bacteriana de densidad determinada (Anexo 2). Las cepas obtenidas fueron preservadas por el método de criogenización con solución de glicerol en agua destilada al 20% (p/v), de acuerdo al método establecido por Perera (2002).

Posteriormente, a temperatura ambiente, se realizó la siembra del cultivo en una muestra de lodo previamente esterilizado en autoclave. El inóculo se llevó a incubación por 48 h más y transcurrido este tiempo el inóculo obtenido se traspasó a botellas plásticas de 1 L con

aireación continua y se comenzó a alimentar con agua residual previamente esterilizada (Anexo 3).

7.1.4 Caracterización de lodos inoculados

Los lodos utilizados para el biorreactor de membrana sumergida (BRM_S), se obtuvieron de una PTAR ubicada en la ciudad y puerto de Veracruz. Se tomaron parámetros de pH y temperatura *in situ*, las muestras recolectadas fueron trasladados al LIRA. Se realizó limpieza de hojas y material sólido existente. Los análisis de caracterización, fueron; ST, STV, SST, SSV y SSed antes y después del inóculo con la bacteria, de acuerdo a la normatividad vigente. Se determinó el Índice Volumétrico de Lodo (IVL) (mg/g), del inóculo mediante la siguiente ecuación:

$$IVL (mg / g) = \frac{SSed \text{ a los } 30 \text{ min}}{SSLM} \times 1000$$

Ecuación (1)

7.2 Parámetros de operación del BRM_S

Con base en la literatura, la caracterización del agua residual y de los lodos inoculados, se determinaron las condiciones de operación del BRM_S (Cuadro 5).

Cuadro 5. Parámetros de operación del BRM_S.

Parámetro	Fórmula
Carga Volumétrica Aplicada (CVa) (Kg DQO/m ³ · h)	$CVa = \frac{SQ}{Vr}$
Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) (h)	$TRH = \frac{V}{Q}$
Carga Másica (Cm) (kg DBO5 - kg MS-1 · d-1)	$Cm = \frac{So * Q}{(SSV ML) (Vr)}$
Alimento/Microorganismo (A/M) (kg DBO/kg SSV h)	$A/M = \frac{S}{(TRH) (SSV ML)}$

7.2.1 Diseño y configuración del BRMs

El BRMs (Figura 4) fue construido en acrílico transparente de 4 mm de espesor, con las siguientes dimensiones 12 x 21 x 21 cm, de alto, ancho y profundidad, respectivamente. El volumen total del reactor es de 4 L, con un volumen útil de 0.0035 m³. Está integrado por dos módulos (A y B), divididos al centro por una pared de acrílico con una altura de 9 cm. El módulo A, fue denominado como módulo biológico donde se lleva a cabo la degradación de materia orgánica; y el módulo B, de filtración por membranas. El agua tratada en la zona A, desborda por medio de gravedad a la zona B, donde se lleva a cabo la microfiltración.

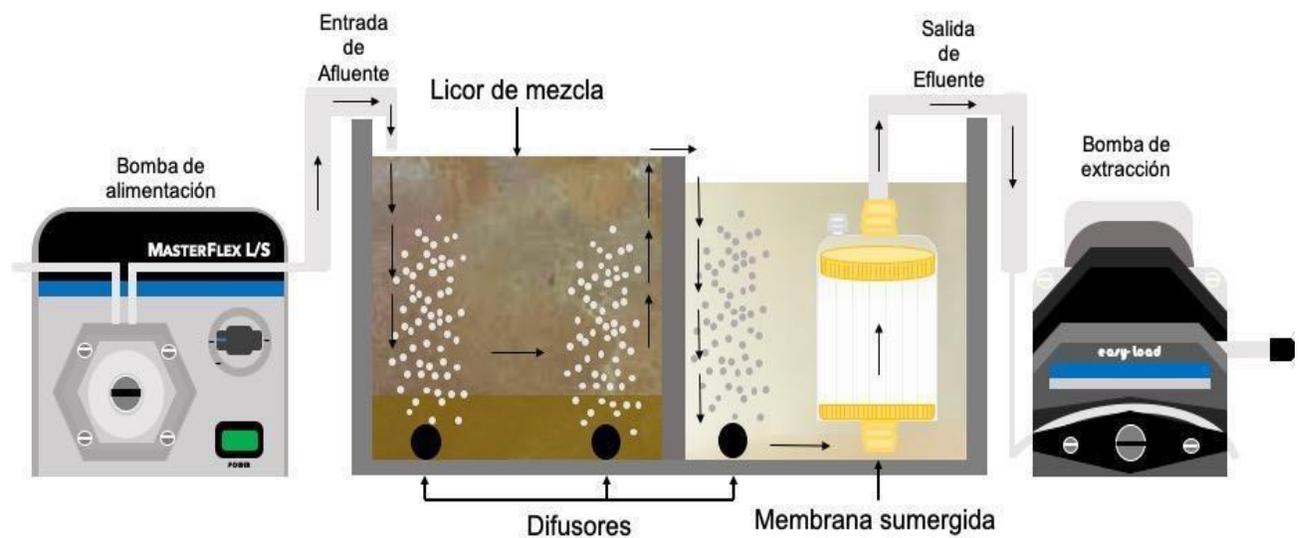


Figura 4. Esquema ilustrativo del diseño y configuración del BRMs.

7.2.1.1 Módulo biológico

El módulo biológico tiene dos entradas de aireación de burbuja fina originadas por difusores, que sirven para proveer el flujo de oxígeno de manera constante a los microorganismos que se encuentran en suspensión en el reactor.

7.2.1.2 Módulo de filtración

El módulo de filtración incluye un filtro pre-ensamblado de la marca PALL modelo 12122. El tamaño de poro es de 0.4µm, la membrana es de polisulfona con poliacrilamida en cuerpo

de plástico con 500 cm² de superficie filtrante y flujo de trabajo de 2 L/min. Este módulo contiene una entrada de aireación de burbuja fina para airear la membrana y disminuir la mala sedimentación de los flóculos del fango activo (bulking).

7.2.2 Pruebas preliminares, arranque y puesta en marcha del BRM_s

Para la puesta en marcha del BRM_s se realizaron las siguientes pruebas de arranque para verificar el correcto funcionamiento del biorreactor (Anexo 4).

7.2.2.1 Pruebas de fuga

Se llenó el BRM_s con agua potable, sobre una superficie plana y seca, se activaron las bombas y difusores, y fue monitoreado durante 24 h para identificar la presencia de fugas en alguno de los módulos o mangueras.

7.2.2.2 Pruebas de los canales de aireación

Se realizaron las pruebas de funcionamiento de los difusores dentro del BRM_s y se observó la homogeneidad de la aireación a través del difusor y se comprobó que cada uno de ellos presentaba la correcta salida de aire con un tamaño de burbuja homogénea.

7.2.2.3 Calibración de bombas

Se utilizó una bomba peristáltica Master Flex Cole-Parmer l/s modelo 77200-5 para la extracción del efluente tratado en el módulo de filtración del BRM_s. Así como también una bomba Cole-Parmer™ 07554-95 empleada en el flujo de alimentación del módulo biológico. Ambas bombas fueron calibradas de acuerdo a los cálculos de caudal (Q) con respecto a las diversas cargas volumétricas aplicadas (CVa) del estudio.

7.2.3 Aclimatación del inóculo en el BRM_s

Se utilizaron 250 ml de inóculo (licor de mezcla), los cuales se depositaron en el módulo biológico con aireación constante de burbuja fina del BRM_s. El módulo (B) fue llenado con agua potable para realizar un prelavado de la membrana. La aclimatación del inóculo a las condiciones de operación del reactor es una parte fundamental durante el proceso de adaptación de la biomasa, con la finalidad de que estas alcancen su máxima actividad y

mejoren su eficiencia en la degradación del sustrato, asimilación de nutrientes y contaminantes (Navecha, 2014).

7.3 Eficiencia de remoción del BRMs

Fueron monitoreados los siguientes parámetros en el efluente: DQO, temperatura, pH, SST, y SSV. Se realizó un seguimiento de la biomasa en el licor de mezcla (LM) de acuerdo con los siguientes parámetros: temperatura, pH, ST, STV, SST, SSV, y observación microscópica de los flóculos (Anexo 5).

Con los resultados obtenidos en la etapa experimental, se realizó un análisis estadístico (ANOVA), para determinar diferencias significativas con un nivel de confianza del 95%, mediante el paquete estadístico MINITAB.

8. RESULTADOS

8.1 Caracterización del agua residual e inoculación bacteriana

8.1.1 Caracterización del agua residual

En la caracterización inicial del agua residual municipal (Cuadro 6), se pueden observar valores de la DQO de 534.5 mg/L. Algunos estudios reportados por Li *et al.*, (2007) y Miranda *et al.*, (2015), indican valores similares de 633 y 550 mg/L de DQO, respectivamente. Metcalf y Eddy (1995), afirman que los rangos típicos en este tipo de aguas residuales oscilan entre los 300 y 600 mg/L.

Cuadro 6. Resultados obtenidos de la caracterización del agua residual municipal.

Parámetro	Valor
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	534.5
Sólidos Totales (mg/L)	92
Sólidos Totales Volátiles (mg/L)	88
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	48
Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L)	24
Sólidos Sedimentables (mg/L)	2.2
Fósforo Total (mg/L)	8.3
Grasas y Aceites (mg/L)	65.9
pH (UpH)	7.2
Temperatura (°C)	30

De acuerdo con los resultados de la determinación de grasas y aceites, y fósforo total, los valores obtenidos fueron 65.0 y 8.3 mg/L respectivamente. Los cuales concuerdan con los reportados por Moyano (2018), quien obtuvo 85 mg/L para grasas y aceites; y Crespi *et al.*, (2018), quienes reportaron 8.3 mg/L de fósforo total para este mismo tipo de aguas.

Autores como Martínez *et al.*, (2013) reportaron valores de 300 y 275 mg/L de SST y SSV respectivamente; y Cortés (2012) registró 139 y 65 mg/L, respectivamente, para estos mismos parámetros. Estos valores, se encuentran muy por encima del resultado obtenido en este estudio (48 mg/L de SST y 24 mg/L de SSV). Esto se atribuye a que los efluentes

residuales pueden registrar fluctuaciones importantes en su composición ya que su concentración está determinada por diversos factores como el uso de las aguas abastecidas, desechos industriales, aumento de temperatura, deforestación, tiempo de descomposición entre otros (Metcalf y Eddy 1995). Con base en estos resultados obtenidos, se puede confirmar que el agua residual municipal analizada, tiene características similares a las reportadas por otros autores (Cuadro 2).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la caracterización inicial del agua residual municipal, los valores reportados exceden los límites máximos permisibles establecidos de la NOM-001-SEMARNAT-1996. Cuya composición se considera viable para el tratamiento biológico de la misma.

8.1.2 Morfología e identificación de la bacteria

8.1.2.1 Aislamiento de colonias

Los microorganismos aislados en agar MRS (Figura 5) presentaron colonias irregulares bien definidas con un tamaño aproximado de 1 a 2 mm de diámetro, con una consistencia cremosa en un tono beige, sin presencia de otro tipo de pigmentación.



Figura 5. Formación de colonias de *Bacillus* en agar MRS.

En un estudio realizado por Calvo (2010), se describe la morfología de las cepas de este género con colonias de formas irregulares, color crema con bordes aserrados, lobulados, digitiformes y ondulados, con una consistencia seca, y/o cremosas y ligosas. Por su parte Wakita *et al.*, (2001), menciona que el tamaño es variable y de apariencia opaca. De Mesa

et al., (2006), aislaron 10 cepas bacterianas directamente de suelo contaminado; de las cuales dos pertenecían al género *Bacillus*, el cual reportan como ampliamente distribuido. De acuerdo con lo anterior, las colonias obtenidas presentaron estructura y morfología similar a las descritas para el género *Bacillus*.

8.1.2.2 Tinción Gram

De la tinción realizada se observaron bacterias Gram positivas (Figura 6) en forma de cadenas libres. Villarreal-Delgado (2018), realizaron aislamiento de bacterias del género *Bacillus* al igual que en este estudio, obtuvieron respuesta positiva a la tinción de Gram y formas bacilares en cadenas libres. Estos resultados concuerdan con lo descrito por Corrales *et al.* (2014), quienes observaron a nivel microscópico bacilos Gram positivos.



Figura 6. Tinción Gram de *Bacillus* observada en microscopio óptico (100x)

8.1.2.3 Pruebas presuntivas y bioquímicas

Las pruebas bioquímicas realizadas (Cuadro 7), indican que la bacteria aislada corresponde a las características reportadas para *Bacillus subtilis*. Las pruebas presuntivas (catalasa y oxidasa) arrojan un resultado positivo similar al presentado por Astorga-Quirós *et al.*, (2013), quien caracterizó y evaluó el potencial de bacteria.

Cuadro 7 Descripción de tinción Gram, pruebas presuntivas y pruebas bioquímicas.

Pruebas presuntivas	Resultado
Catalasa	+
Oxidasa	+
Pruebas bioquímicas	
Citrato	+
TSI	A/A
LIA	N
O/F	F
MRVP	+
Arginina	-

Méndez-Úbeda *et al.*, (2017), realizaron una caracterización mediante pruebas bioquímicas de 14 aislados bacterianos y confirmando la presencia sobresaliente de *Bacillus subtilis*.

8.1.3 Inóculo de *Bacillus subtilis*

Los valores establecidos en la escala de McFarland (1970), (Figura 7) testifican un volumen de células para siembra en el inóculo de $18 \cdot 10^8$. Vargas *et al.*, (2001), realizaron inoculación de volúmenes similares, afirmando que estas concentraciones son factibles para inóculos.

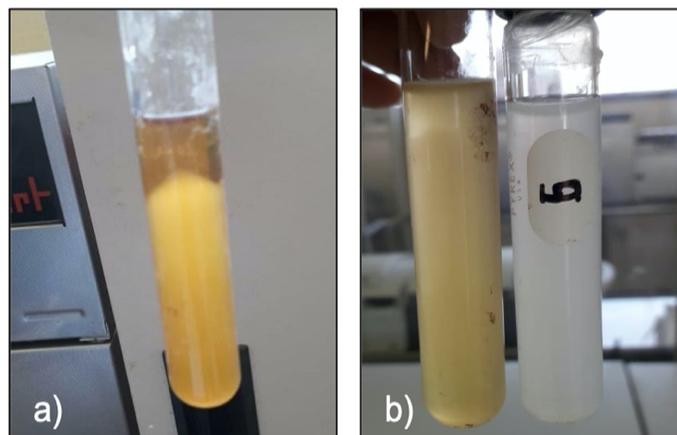


Figura 7. a) Biomasa en caldo MRS; b) Comparación de biomasa en caldo MRS (izq.) y estándar de McFarland (der.).

8.1.4 Caracterización del inóculo

La caracterización del inóculo integrado por lodo, agua residual y la bacteria aislada en condiciones estériles, se muestran en el cuadro 8.

Cuadro 8. Caracterización de lodo antes y después de inocular con la bacteria *Bacillus subtilis*.

Parámetro	Concentración	
	Lodos sin inocular	Lodos inoculados con <i>Bacillus subtilis</i>
Índice Volumétrico de Lodo (IVL) (mg/g)	31.78	32.91
Sólidos Totales (mg/L)	1125.932	1024.16
Sólidos Totales Volátiles (mg/L)	124.016	98.78
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	27.69	24.61
Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L)	7.5	5.6
Sólidos Sedimentables (mg/L)	880	810
pH (UpH)	7	7
Temperatura (°C)	30	31

Los lodos inoculados con la bacteria *Bacillus subtilis* presentaron un IVL de 32.91 ml/g, de acuerdo con la clasificación propuesta por Von Sperling (2001), el valor promedio del IVL adecuado es de 30-100 ml/g. Este resultado nos indica que la bacteria está respondiendo de manera positiva al sustrato suministrado.

8.2 Condiciones de operación del BRMs

BRMs se operó en flujo continuo. Se aplicaron 16 CVa (Cuadro 9), las cuales aumentaron gradualmente en un rango de 0.067 a 0.1 gDQO/L·d. El BRMs inició operación con un volumen útil de 0.0035 m³. El TRH se estableció en carga media, misma que fue disminuyendo de 8 a 4.9 h. El caudal (Q) inició y finalizó en 0.000438-0.000570 m³/h respectivamente. El pH se registró en 7 y la temperatura inicial se mantuvo en 30°C sin ninguna variación.

Tabla 9. Condiciones de operación para puesta en marcha del BRMs

Parámetro	Valor
Vol. BRMs (m ³)	0.0035
TRH (hr)	8
Q (m ³ /h)	0.000438
CVa (g DQO/m ³ ·d)	0.067
Cm (kg DBO5 - kg MS-1·d-1)	0.016
pH (UpM)	7
T (°C)	30

8.2.1 Aclimatación del inóculo en el Biorreactor de membrana sumergida

El inóculo en el BRMs (Figura 8) se mantuvo con aireación constante. Para esto, se colocó un aireador adicional en el módulo de membranas para mantener una oxigenación constante y coadyuvar en la reducción del ensuciamiento de la membrana, permitiendo un flujo constante.

La aclimatación del inóculo en el BRMs se mantuvo a temperatura ambiente (30°C). Burgess y Pletschke (2008), mencionan que la temperatura del reactor es un factor ambiental importante que influye en las actividades enzimáticas de los microorganismos y en la estabilización de los lodos. Por esto, la aclimatación de los lodos es parte fundamental del proceso. El pH registrado para el licor de mezcla (LM) en el módulo biológico osciló entre 6-7; Quiroga (2008) y Vázquez (2018) consideran este rango como neutro, mismo que no registró variaciones significativas a lo largo del experimento.

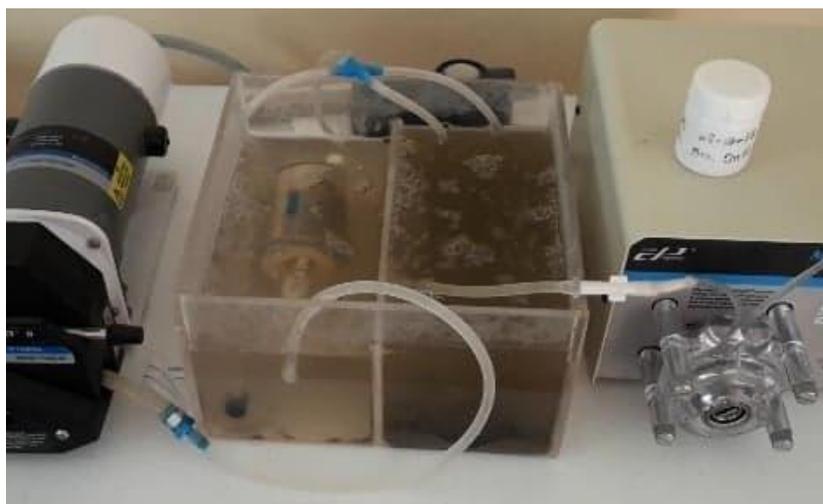


Figura 8. Lodo inoculado y sembrado en BRMs.

8.3 Eficiencia de remoción en el BRM_s

La eficiencia del tratamiento fue evaluada de acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización previa del agua residual municipal (ARM). Se determinaron los siguientes parámetros: temperatura, pH, DQO, ST, STV, SST y SSV, tanto en el efluente como en el licor de mezcla.

8.3.1 Evolución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

El BRM_s operó durante 317 horas en flujo continuo. En la figura 9 se muestran las fluctuaciones de la DQO en el influente y efluente del sistema, con respecto a las horas de operación.

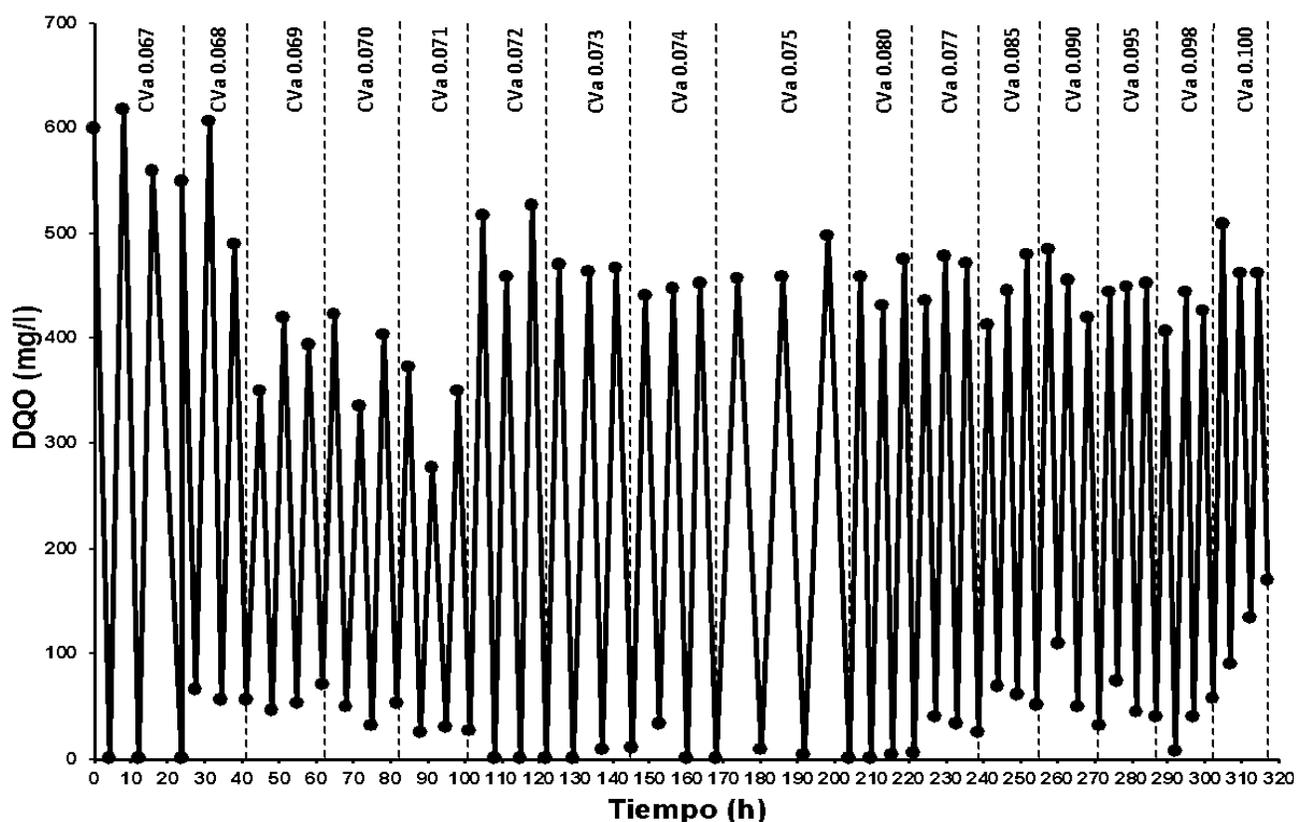


Figura 9. DQO durante el tratamiento de aguas residuales municipales con *B. subtilis* en el tratamiento biológico.

La alimentación del reactor se mantuvo estable a una temperatura ambiente constante. Los valores máximos de entrada, se presentan en las primeras 20 horas de operación y registraron concentraciones de 617 mg/L de DQO en el influente. Mientras que las

concentraciones del efluente lograron estabilizarse a partir de la hora 80 de operación, manteniendo un promedio de 5 mg/L de DQO a la salida del BRMs.

8.3.1.1 Evaluación de la temperatura en el BRMs

A lo largo del experimento no se presentó una variación significativa en los valores de temperatura (Figura 10) manteniéndose en un promedio de 30°C dentro del BRMs.

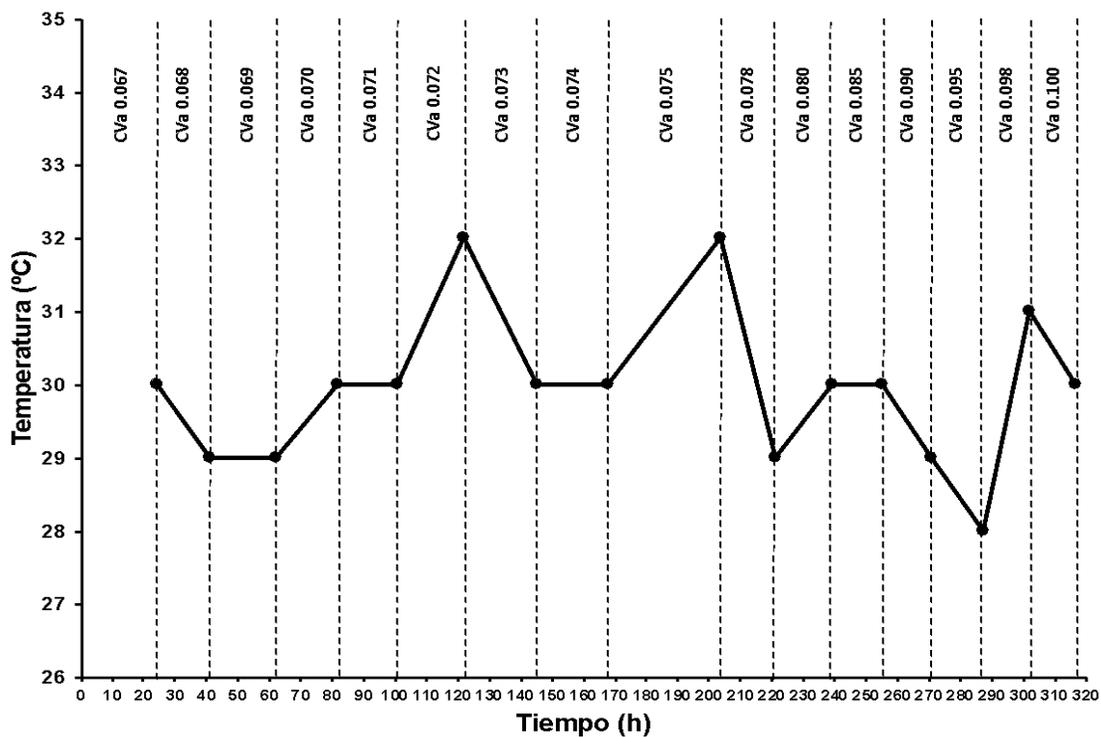


Figura 10. Seguimiento de las fluctuaciones de temperatura con respecto al tiempo en el BRMs durante el tratamiento de aguas residuales municipales.

Ugarte *et al.*, (2017), afirman que cuando la temperatura del reactor oscila entre los 27-30°C, las bacterias aumentan su eficiencia de remoción. Vásquez (2018), obtuvo eficiencias máximas de 96% de remoción en DQO para aguas residuales urbanas a temperaturas de entre 25 y 27 °C. Por lo anterior, las condiciones de temperatura a las que se mantuvo el BRMs (30°C) se consideran óptimas y dentro del rango de aceptación y asimilación de la bacteria (*B. subtilis*). Esto permitió una buena aclimatación de los microorganismos en el módulo biológico, alcanzando porcentajes de remoción de DQO superiores a los estudios

antes mencionados. Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto de del tiempo sobre la temperatura de BRMs. No se encontraron diferencias significativas en la temperatura con respecto al tiempo de operación del BRMs. $F = (15,1) = 36.60$, $p = 0.50$.

Cuadro 10. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos en la temperatura en el BRMs.

Parámetro	Promedio	Varianza	Valor Max.	Valor Min.
Temperatura	29.93	1.1	32	28

8.3.1.2 Evaluación del pH en el BRMs

El pH registrado en el BRMs (Figura 11) no presentó variaciones significativas durante la etapa experimental.

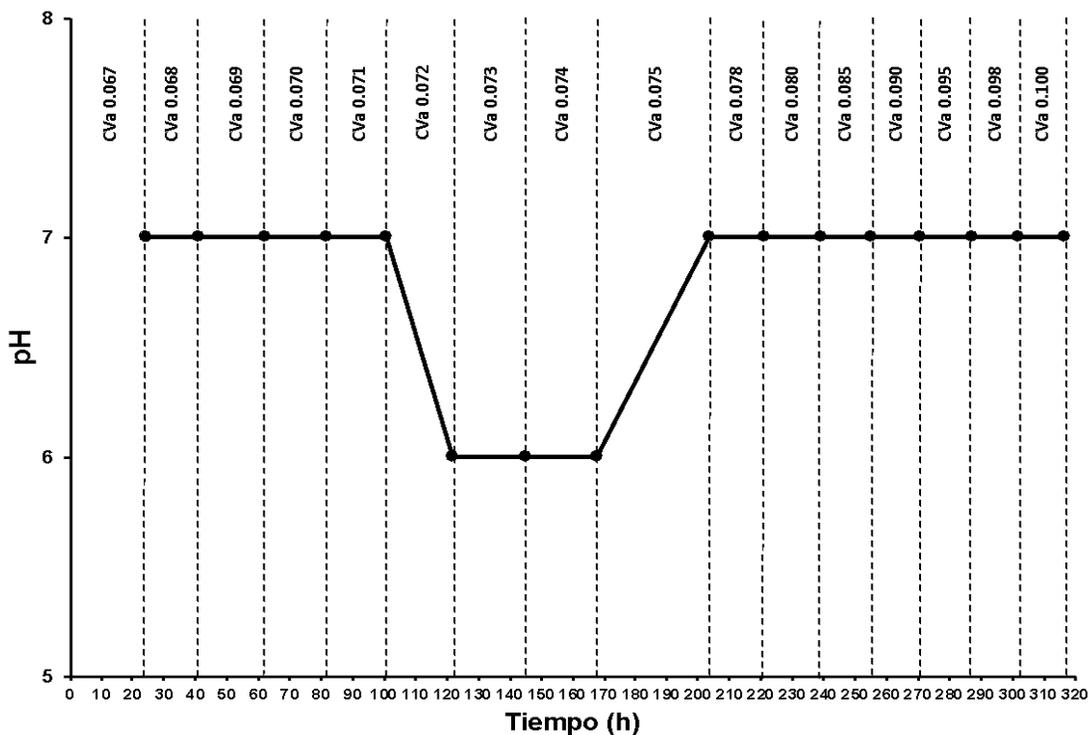


Figura 11. Seguimiento de pH con respecto al tiempo en el BRMs durante el tratamiento de aguas residuales municipales.

En las cargas volumétricas aplicadas (CVas) 0.072, 0.073 y 0.074 g DQO/L d, se presentó una disminución en el pH, de 7 a 6, esto se puede atribuir al cambio de concentración del sustrato suministrado. Posteriormente, se estabilizó mostrando una tendencia constante. Amaya (2004) consideró que el control del pH a la entrada de un sistema biológico puede

optimizar el comportamiento floculante y oxidante de los microorganismos. De igual forma Ruíz (2012), indicó que los valores de pH más adecuados para trabajar con aguas residuales oscilan entre 5 y 7. Es por lo anterior que los valores registrados en este trabajo son considerados neutros y dentro del rango de aceptación en el licor de mezcla (LM) del módulo biológico del BRM_S. Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto de del tiempo sobre el pH de BRM_S. No se encontraron diferencias significativas en el pH con respecto al tiempo de operación del BRM_S.

$F(15,1)= 49.06, p= 4.24$.

Cuadro 11. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para el pH en el BRM_S.

Parámetro	Promedio	Varianza	Valor Max.	Valor Min.
pH	6.8	0.16	7	6

8.3.1.3 Porcentaje de remoción de la Demanda Química de Oxígeno

La eficiencia de remoción de DQO del BRM_S para las 16 CVa (Figura 12) indicaron valores promedio, máximo y mínimo de 94, 100 y 72%, respectivamente.

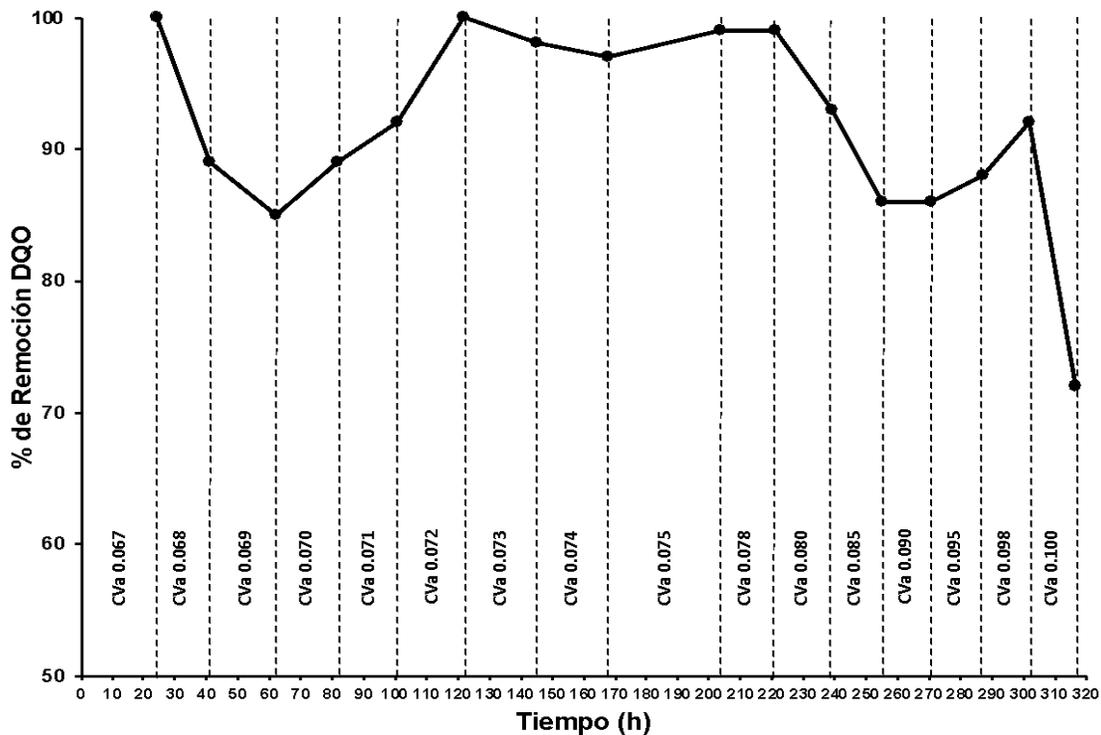


Figura 12. Evolución de la remoción de DQO con respecto al tiempo en el BRM_S durante el tratamiento de aguas residuales municipales.

En el TRH inicial (8 h) del BRM_S, se reportaron porcentajes de remoción en la DQO de 100%; estos porcentajes son mayores a los reportados por otros autores como Estrada (2013), quien reporta eficiencias de remoción de DQO del 87-98% en un BRM con una configuración sumergida y TRH inicial de 7 h.

Posteriormente, los TRH disminuyeron en el BRM_S presentando porcentajes de remoción en promedio eficientes. Martínez-Romero (2019), indica que en un estudio con características similares se obtuvieron porcentajes promedio de remoción de DQO de 94% para tratamiento de aguas residuales municipales. Estos porcentajes obtenidos son similares a los alcanzados por el BRM_S de este estudio. El comportamiento estable del BRM_S indica que su eficiencia fue óptima y los microorganismos presentes en el módulo biológico lograron adaptarse y degradar adecuadamente el sustrato suministrado.

Después de mantener una trayectoria estable, el BRM_S disminuyó su eficiencia de remoción hasta un 72% en la CVa 0.1 gDQO/L d., y también se presentó saturación en la membrana de filtración. Un factor que puede contribuir directamente con la saturación de la membrana es el fenómeno de bulking. Metcalf *et al.*, (2003) atribuyen este fenómeno a la presencia de organismos filamentosos; los cuales generan una morfología flocular voluminosa y poco consistente dentro del licor de mezcla, por lo tanto; es susceptible a arrastrar grandes cantidades de sólidos al módulo de filtración.

Barker *et al.*, (1999), afirma que otro factor importante en el ensuciamiento de la membrana en los sistemas BRM son las Sustancias Poliméricas Extracelulares (SPEs) en forma unida o soluble. Las SPEs enlazados consisten en proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, lípidos, ácidos húmicos, etc; que se encuentran dentro o fuera de la superficie celular, sus compuestos orgánicos se liberan a partir de metabolizar el sustrato. Con base en estos planteamientos se puede afirmar que, al realizar el incremento gradual de las CVa, aumentar el caudal y disminuir los TRH del BRM_S; los microorganismos produjeron (SPEs) de una forma más acelerada, provocando una acumulación en la membrana que generó resistencia a la filtración y por lo tanto una disminución de la eficiencia de remoción.

Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto de del tiempo sobre el porcentaje de remoción de DQO en el efluente. Se encontraron

diferencias significativas con respecto al tiempo de operación del BRM_S. $F(15,1) = 11.68$, $p = 0.003$.

Cuadro 12. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para % de remoción de DQO del efluente.

Parámetro	Promedio	Varianza	Valor Max.	Valor Min.
% de remoción DQO	91.5	55.99	100	72

8.3.1.4 Sólidos Suspendidos Volátiles

Se presentan porcentajes de remoción de SSV en el efluente de 71, 100 y 97%, como mínimo, máximo y promedio, respectivamente (Figura 13).

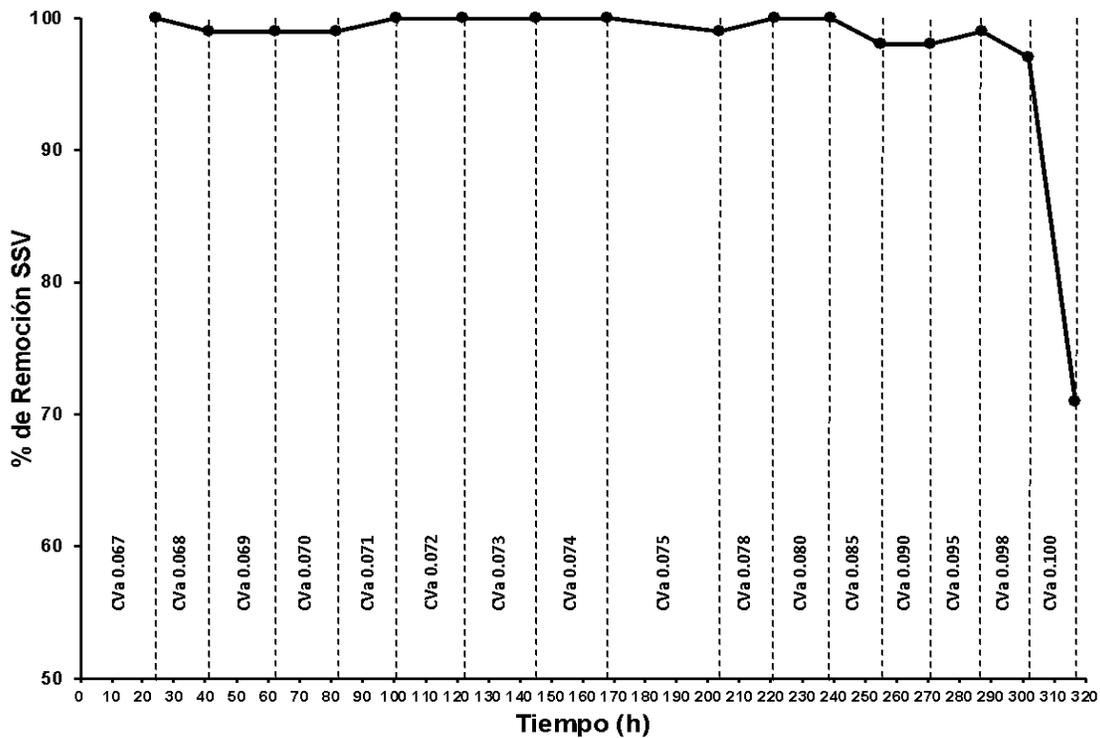


Figura 13. Evaluación de SSV con respecto al tiempo en el BRM_S durante el tratamiento de aguas residuales municipales.

Los valores máximos de remoción de los SSV obtenidos en el efluente tratado del BRM_S, coinciden con los reportados por Van der Roest *et al.*, (2002), quienes al igual que en este estudio utilizaron un BRM con membranas sumergidas para el tratamiento y reutilización de efluentes domésticos. Obteniendo un efluente de alta calidad al remover 99.9% de los SSV.

Varó *et al.*, (2014) emplearon un BRM con una membrana plana de micro filtración, para aguas residuales municipales y reportaron valores similares del 99% de remoción para SSV. A partir de la CVa 0.098 kgDQO/m³ d se presentó el fenómeno de bulking en la membrana de filtración, observando saturación de sólidos, lo que afectó directamente la disminución de la eficiencia de remoción en la CVa de 0.1 098 kgDQO/m³ d.

Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto del tiempo sobre el % de remoción de los SSV del efluente tratado. Se encontraron diferencias significativas en los % de remoción con respecto al tiempo de operación del BRM_s. F(15,1) =10.09, p = 0.006.

Cuadro 13. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para el % de remoción de SSV en el efluente tratado.

<i>Parámetro</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>	<i>Valor Max.</i>	<i>Valor Min.</i>
% de remoción de SSV	97.43	50.52	100	71

8.3.2 Evaluación de la biomasa del BRM_s

Se realizó la medición de ST, STV, SST Y SSV del licor de mezcla (LM) con el fin de realizar un seguimiento de la biomasa dentro del BRM_s.

8.3.2.1 Evaluación de los ST, STV en Licor de Mezcla

En la figura 14 se muestra el comportamiento de los de ST y STV mismos que presentaron valores mínimos y máximos de 851.6-1,225 y 26.9-113.3 mg/L respectivamente.

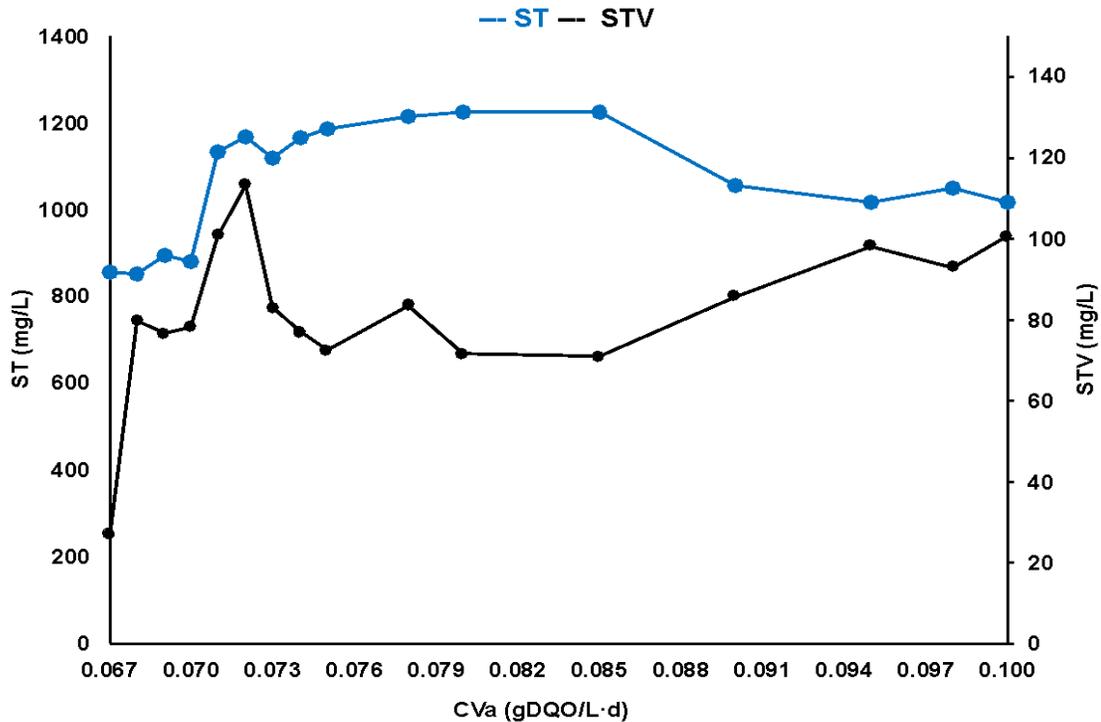


Figura 14. ST y STV con respecto a la CVA en el licor de mezcla del agua residual municipal.

Se puede observar que, a medida que aumenta la concentración de ST, también aumenta la concentración de STV en el licor de mezcla, presentando fluctuaciones a partir de la CVA 0.072 gDQO/L d, y logra estabilizarse en el CVA 0.095 gDQO/L d. La biomasa dentro del BRM_s mantuvo una tendencia de crecimiento positiva durante todas las CVA aplicadas. Moya *et al.*, (2019) señala que elevar la CVA de un BRM, favorece el crecimiento de la biomasa aerobia presente en el licor de mezcla. El incremento de la biomasa del BRM_s indica una rápida adaptación a las condiciones operativas y al sustrato suministrado que permite mejores eficiencias en la degradación del sustrato. Por otra parte, Benavides (2014), afirma que la adaptación adecuada de la biomasa a las condiciones de operación del reactor permite que los microorganismos presentes alcancen su máxima actividad. Es importante destacar que existe una amplia relación entre los resultados de STLM y STVLM, el incremento de ambos parámetros beneficia a la degradación del sustrato, mientras que; por otra parte, este aumento puede generar saturación en la membrana de filtración. Esta tendencia la describe Zuriaga Agustí (2010), quien indica que es importante mantener un

monitoreo constante de los flóculos y de sustancias poliméricas extracelulares (SPEs), esto con la finalidad de evitar el ensuciamiento de la membrana de filtración.

Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto de las CVas sobre de los ST Y STV del LM del BRMs. Se encontraron diferencias significativas en los datos analizados. $F(15,1) = 1.18$, $p = 7.6$.

Cuadro 14. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para ST y STV del LM.

<i>Parámetro</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>	<i>Valor Max.</i>	<i>Valor Min.</i>
ST	1066	18195	1225	851.6
STV	81.9	367	113.3	26.9

8.3.2.2 SST y SSV en el Licor de Mezcla

En la figura 15 se observan los valores de SST y SSV del LM en el periodo experimental, estos parámetros presentaron diferentes comportamientos a lo largo del tiempo y lograron estabilizarse a partir de la CVa 0.070 gDQO/L d; indicando valores iniciales y finales de 71.0-143.8 y 16.6- 102.6 mg/L respectivamente. En un estudio realizado por Viero (2007), se registraron valores bajos de CVa que produjeron una mayor cantidad de SSV y SST. En este trabajo se observa que a partir de la CVa 0.095 gDQO/L d; los SST y SSV mantienen una tendencia de incremento, esto se atribuye a la concentración de la biomasa presente en el módulo biológico debido a que se genera una competencia por el sustrato. La tendencia de crecimiento en la biomasa impacta de manera significativa la relación alimento-microorganismo (A/M). Los microorganismos compiten por alimento, esto genera una dispersión en la biomasa y un aumento en los SST y SSV.

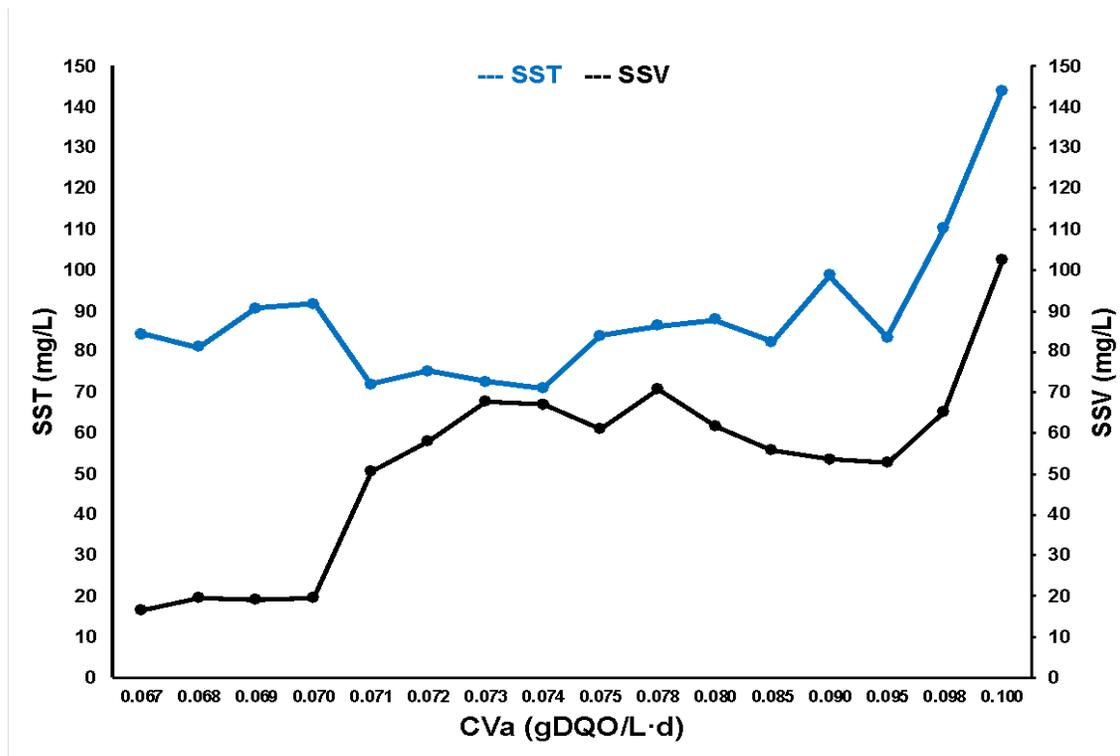


Figura 15. SST y SSV con respecto a la CVa en el licor de mezcla de las aguas residuales municipales.

Por su parte Rivera (2014), indica que al aumentar los SST y SSV hay mayor proporción de biomasa respecto a los ST. Esto sugiere que la biomasa dentro del BRM_s se mantuvo en constante crecimiento generando un aumento en las eficiencias de remoción, pero, al aumentar el volumen de los microorganismos también se elevó la producción de SPEs. Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto del tiempo sobre el % de remoción de los SSV del efluente tratado. Se realizó un ANOVA unidireccional entre los datos obtenidos para comparar el efecto de las CVas sobre de los SST Y SSV del LM del BRM_s. No se encontraron diferencias significativas en los datos analizados. $F(15,1) = 2.3$, $p = 1.3$.

Cuadro 15. Valores de estadística básica de los resultados obtenidos para SST y SSV del LM.

<i>Parámetro</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>	<i>Valor Max.</i>	<i>Valor Min.</i>
SST	88.4	321.3	143.8	71.0
SSV	52.5	547.9	102.6	16.6

8.3.3 Observación microscópica de los flóculos

La estructura y tamaño de los flóculos identificados en el BRM_S (Figura 16) sugieren una rápida adaptación de los microorganismos al sustrato y a las condiciones de operación. Permitiendo una menor cantidad de flóculos dispersos en el licor de mezcla y una biomasa estable en el BRM_S.

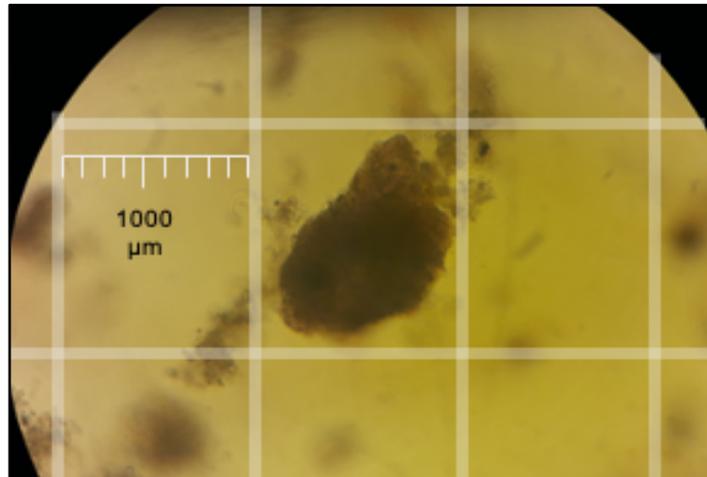


Figura 16. Flóculo de tamaño 1000 µm observado en microscopio óptico (5x).

RM Wu (2002) menciona que el modelo estructural de los flóculos se representa como formación primaria (partículas primarias) y flóculos completos (definidos). De igual forma Cicek *et al.*, (1997), estudió la población microbiológica en un BRM y encontró formaciones diversas en los flóculos y tamaños de hasta 3.5 µm. Los flóculos identificados en el BRM_S (Figura 16) se consideran completos, debido a que la estructura fue bien definida y compacta, de un tamaño de hasta 1000 µm. Este tamaño coincide con lo reportado por Moeller (2004), quien indica que el tamaño de los flóculos puede ser variable desde 1 a 1000 µm. El tamaño obtenido en este trabajo confirma que *Bacillus subtilis* logró una buena metabolización del sustrato y una adaptación rápida. Cabe destacar que en la CVa 0.098 gDQO/L d, los flóculos comenzaron a presentar una dispersión más constante. Su estructura poco definida y porosidad (Figura 17), permite que el flóculo pierda su forma compacta y presente rompimiento del mismo. Al presentarse este fenómeno en el BRM_S disminuyó su

eficiencia de remoción ya que la biomasa se acumuló en el módulo de filtración y saturó la membrana de filtración.

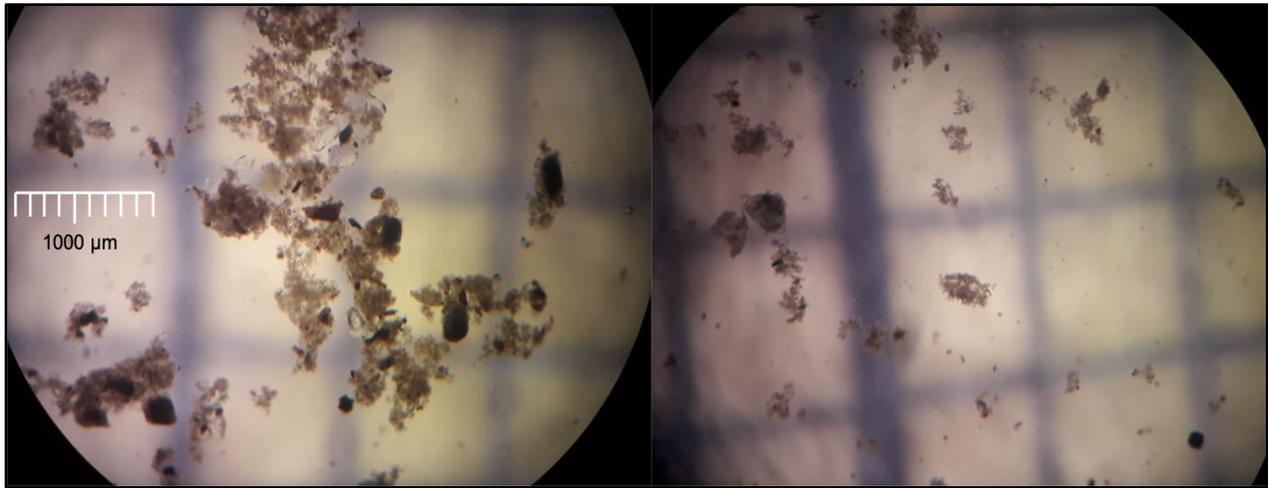


Figura 17. Flóculo poroso y disperso observado en microscopio óptico (5x).

9. CONCLUSIONES

La caracterización inicial del sustrato indicó que el efluente tratado excede los límites máximos permisibles establecidos por la normatividad vigente.

La bacteria aislada e identificada para el BRM_S fue *Bacillus subtilis*. Al ser inoculada en condiciones estériles el IVL obtenido indica que el metabolismo de la bacteria logró adaptarse rápidamente al sustrato suministrado.

Los parámetros de operación establecidos (DQO, Temperatura, pH, ST, STV, SST, SSV) para el BRM_S permitieron obtener resultados confiables para la evaluación del sistema. A lo largo de la etapa experimental la biomasa dentro del BRM_S presentó una tendencia de crecimiento favorable para la degradación del sustrato. Los flóculos obtenidos presentaron una morfología regular, estructura compacta y tamaño de hasta 1000 μm , considerados adecuados para el proceso.

La disminución en la eficiencia de remoción del BRM_S se atribuye a la generación de SPEs. Estas sustancias juegan un papel importante en el ensuciamiento de las membranas y contribuyen directamente al rechazo de filtración.

La evaluación de la eficiencia de remoción en el BRM_S en presencia de *Bacillus subtilis* a una concentración inicial de $18 \cdot 10^8$, indican que la bacteria generó una influencia positiva en el BRM_S, coadyuvando a elevar los porcentajes de remoción de materia orgánica en las aguas residuales municipales tratadas. El BRM_S evaluado demostró ser una opción viable y efectiva frente a los tratamientos convencionales. Estas tecnologías se indican para tratamientos con altos requerimientos de depuración, baja producción de lodos y áreas de operación reducidas.

10. REFERENCIAS

Abd-Alla, M. H., El-Enany, A. W. E., Nafady, N. A., Khalaf, D. M., & Morsy, F. M. (2014). Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil. *Microbiological Research*, 169(1), 49-58.

Acuña, O., Peña, W., Serrano, E., Pocasangre, L., Rosales, F., Delgado, E., ... Ferrera-Cerrato y Pérez-Moreno, J. (2006). La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. *XVII Reunião Internacional da Associação para a Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical, Santa Catarina, Brasil*, 222-233.

Amaya, W. F., Cañón, Óscar A., Avilés, Óscar F. (2004). Control de pH para planta de tratamiento de aguas residuales. *Ciencia E Ingeniería Neogranadina*, 14, 86-95. <https://doi.org/10.18359/rcin.1271>

Andreu, P. J. S., Mifsut, C. L., Chabalina, L. D., Rico, D. P., López, V. C., Álvarez, G. P., ... Llacer, C. L. (2014). Puesta en marcha de un sistema híbrido UASB+ MBR para el tratamiento de las aguas residuales. *Tecnoaqua*, (10), 44-49.

Apha, A. (1995). WEF, 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20.

Astorga-Quirós, K., Meneses-Montero, K., Zúñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J. A., & Rivera-Méndez, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(2), ág-82.

Arnáiz Franco, C., Isac Oria, L., Lebrato Martínez, J. (2000). Determinación de la biomasa en procesos biológicos. I Métodos directos e indirectos. *Tecnología del agua*, 20 (205), 45-52.

Aslam, Muhammad (2017). Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment: A Review of Mechanical Cleaning by Scouring Agents to Control Membrane Fouling. *Chemical Engineering Journal*, 1/1, vol. 307, pp. 897-913. ISSN 1385-8947.

Ayache, C., Pidou, M., Croue, J., Labanowski, J., Poussade, Y., Tazi-Pain, A., (2013). Impact of effluent organic matter on low-pressure membrane fouling in tertiary treatment. *Water Research*, 47, 2633-2642.

BARKER, D.J. and STUCKEY, D.C. (1999). A review of soluble microbial products (smp) in wastewater treatment systems, 33.

Barker, D., Salvi, S., Langenhoff, A. & Stuckey, D. (2000). Soluble microbial products in ABR treating lowstrength wastewater. *Journal of Environmental Engineering*, 126 (3), 239-249.

Beltrán, I.; Gantzer, C.; Chesnot, T. y Schwartzbrod, J. (2004). Improved specificity for Giardia lamblia cyst quantification in wastewater by development of a real-time PCR method. *Journal of Microbiological Method*; 57:41-53.

Benavides, G. R. M. Evaluación de la Estabilidad de un sistema de Lodos Activados mediante Indicadores Físicoquímicos y Biológicos.

Britton, G. (2005). *Microbiología de aguas residuales* . John Wiley & Sons

Burgess, J. E., & Pletschke, B. I. (2008). Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: a mini-review. *Water Sa*, 34(3), 343-350.

Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de Bacillus spp. aisladas de la rizósfera de papa (Solanum tuberosum). *Ecología aplicada*, 9(1), 31-39.

Carbajal, Á., & González, M. (2012). Propiedades y funciones biológicas del agua. *Universidad Complutense de Madrid. España*.

Cicek, N.; Winnen, H.; Suidan, M.T.; Wrenn, B.E.; Urbain, V. and Manem, J. (1998) Effectiveness of the membrane bioreactor in the biodegradation of high molecular weight compounds, *Wat. Res.*, 32 1553-1563.

Cohn F. Untersuchungen über Bacterien. Beitrage zur Biologie der Pflanzen Heft 2 1872;1:127–224.

Comisión Nacional del Agua. (2004). Estadísticas del Agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Edición 2004, 10-143.

Comisión Nacional del Agua. (2010). Estadísticas del Agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Edición 2010, 56-258.

Comisión Nacional del Agua. (2018). Estadísticas del Agua en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Edición 2018, 45-306.

Condorchem Envitech. (2018). Soluciones y tecnologías para el tratamiento de aguas. 04/05/2020, de Sociedad Nuclear Española Sitio web: <https://condorchem.com/es/soluciones-y-tecnologias-tratamiento-aguas/>

Corado, H. (2010) Diseño de un biorreactor de membrana para la regeneración de las aguas residuales en un establecimiento hotelero. Guatemala.

Corrales Ramírez, MSc, L. C., Sánchez Leal, MSc, L. C., Arévalo Galvez, Z. Y., Moreno Burbano, V. E. (2014). Bacillus: género bacteriano que demuestra ser un importante solubilizador de fosfato. *Nova*, 12(22), 165-177. <https://doi.org/10.22490/24629448.1041>

Cortés Salcedo, J., Rivero Hernández, J., García Tello, O. E. (2012). Diseño de un Programa de Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS) para la empresa Arismendy Andrade SaS.

Crespi R. Plevich O. et al. (2005). Manejo de aguas residuales urbanas.

Crespi, R., Soler, C., Soler, E., & Pugliese, M. (2018). Evaluación de humedales artificiales de flujo libre superficial con macrófitas acuáticas flotantes. *Ingeniería del agua*, 22(2), 69-78.

Cruz J. (2017). Más de 60% de municipios en México no tienen tratamiento de aguas residuales: Inegi, proceso: <https://www.proceso.com.mx/478579/60-municipios-en-méxico-tratamiento-aguas-residuales-inegi>.

Daphne, L.S. (1994). Hazardous organic waste amenable to biological treatment. En *Biotechnology for the Treatment of Hazardous Waste*, 1-26. D.L: Stoner, Ed. Chelsea, MI. Lewis Publishers.

Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., Hartemann, P., 2011. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214, 442-448.

De Mesa, J. B. L., Quintero, G., Vizcaíno, A. L. G., Cáceres, D. C. J., Riaño, S. M. G., García, J. M. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 82-90.

Díaz-Cuenca, E., Alavarado-Granados, A. R., Camacho-Calzada, K. E. (2012). El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*, 14(1), 78-97.

Díaz López, O. (2015). La operación por presión de consigna como modo de operación de un biorreactor de membrana sumergida para tratamiento terciario de aguas depuradas.

Drews, A. (2010). Ensuciamiento de membranas en biorreactores de membranas: caracterización, contradicciones, causas y curaciones. *Revista de ciencia de membranas*, 363 (1-2), 1-28.

Echarri Prim, L. (1998). *Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente*. Teide.

Eriksson, E.; Auffarth, K.; Eilersen, A.M.; Henze, M.; Ledin, A. (2003). Household chemicals and personal care products as sources for xenobiotic organic compounds in grey wastewater. *Water*, núm. 29(2), págs. 135-146.

Espigares, M., & Pérez, J. (1985). Aspectos sanitarios del estudio de las aguas. *Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada*, 13-89.

Estrada-Arriaga, E. B., Mijaylova-Nacheva, P., Moeller-Chavez, G., Mantilla-Morales, G., Ramírez-Salinas, N., & Sánchez-Zarza, M. (2013). Presencia y tratamiento de compuestos disruptores endócrinos en aguas residuales de la Ciudad de México empleando un biorreactor con membranas sumergidas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 14(2), 275-284.

Evans, G. M., & Furlong, J. C. (2003). Environmental biotechnology: theory and application. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 53(11), 1418-1419.

Faner, R., Sibila, O., Agustí, A., Bernasconi, E., Chalmers, J. D., Huffnagle, G. B., ... & Ponomarenko, J. (2017). The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *European Respiratory Journal*, 49(4), 1602086.

Gálvez, J. M., Gómez, M. A., Hontoria, E., & González-López, J. (2003). Influence of hydraulic loading and air flowrate on urban wastewater nitrogen removal with a submerged fixed-film reactor. *Journal of hazardous materials*, 101(2), 219-229.

Galvis C., M.P. (2014). Estado del arte de los biorreactores de membrana. Trabajo de grado. Bogotá: Escuela Colombiana de Ingeniería Julio Garavito.

Graham, D, y Smith, V. H. (2004). Designed Ecosystem Services: Application of Ecological Principles in Waste-water Treatment Engineering. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(4), 199-206.

Granados, M. G. F., Rodríguez, G. C., Sanchez, G. G. (2019). COMPARACIÓN DE UN BIORREACTOR CON MEMBRANAS SUMERGIDAS CON UN SISTEMA CONVENCIONAL DE LODOS ACTIVADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35, 57-64.

Grueso-Dominguez, M. C., Castro-Jiménez, C. C., Correa-Ochoa, M. A., Saldarriaga-Molina, J. C. (2019). Estado del arte: desalinización mediante tecnologías de membrana como alternativa frente al problema de escasez de agua dulce. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 18(35), 69-89.

Hernández García, H., Buitrón Méndez, G., M Lopez-Vazquez, C., y J Cervantes Carrillo, F. (2017). *Tratamiento biológico de aguas residuales: principios, modelación y diseño*. IWA Publishing.

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

Houbron, E. (2010). Calidad del agua.

Ibáñez Lorente, R. (2007). Estudio de la ultrafiltración de proteínas modelo con membranas de cerámica.

Jeison, D. y Van Lier, JB (2006). Gestión de la capa de torta en línea mediante la evaluación del estado estable de la presión transmembrana en biorreactores de membrana anaeróbica para el tratamiento de aguas residuales. *Revista de ingeniería bioquímica* , 29 (3), 204-209.

Jiménez Cisneros. (2010). El agua en México: cauces y encauces. Academia Mexicana de Ciencias, Primera edición 2010, 5-702.

Jou, CJG y Huang, GC (2003). Un estudio piloto para el tratamiento de aguas residuales de refinerías de petróleo utilizando un biorreactor de película fija. *Advances in Environmental Research* , 7 (2), 463-469.

Judd, S. (2010). *El libro MBR: principios y aplicaciones de los biorreactores de membrana para el tratamiento de agua y aguas residuales* . Elsevier.

Laera G., Pollice A., Saturno D., Giordano C. y López A. (2005). Zero net growth in a membrane bioreactor with complete sludge retention. *Water Research* 39: 5241- 5249. DOI: 10.1016/j.watres.2005.10.010

Lehman, SG y Liu, L. (2009). Aplicación de membranas cerámicas con preozonización para el tratamiento de efluentes secundarios de aguas residuales. *Investigación sobre el agua* , 43 (7), 2020-2028.

Lee J., Ahn W-Y. y Lee C-H. (2001). Comparison of the filtration characteristics between attached and suspended growth microorganisms in submerged membrane bioreactor. *Water Research* 35 (10), 2435–2445.

Li, C.S., Chia, W.C., Chen, P.S., (2007). Fluorochrome and flow cytometry to monitor microorganisms in treated hospital wastewater. *J. Environ. Sci. Health* 42 (2), 195–203.

Llagas W.A. y Gómez E.G. (2006). Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG*. 15, 85–96.

McFarland, J. 1970. The nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. pp. 435-437. In: H.D. Campbell, S.J. Garvey, E.N. Cremer y H.D. Sussdorf (eds.). *Methods in immunology*. Benjamin. New York.

Madigan M.T., Martinko J.M. y Parker J. (2003). *Brock Biología de los microorganismos*. 10a ed. Prentice Hall. New Jersey. 1011pp.

Majewska-Nowak, K., Kabsch-Korbutowicz, M. & Winnicki, T. (2008). Concentration of organic contaminants by ultrafiltration. *Desalination*, 221, 358-369.

Martins, A.M.P., Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C.M., 2004. Bulking sludge in biological nutrient removal systems. *Biotechnology and Bioengineering* 86 (2), 125-135.

Marín Marín, E. (2017). Evolución de las características de la biomasa en función de las condiciones operacionales en sistemas biorreactores de membrana.

Martínez, D; Chávez, M; Díaz, A; Chacín, E; Fernández, N. 2003. Eficiencia del Cactus *Lefaria* para su uso como coagulante en la clarificación en aguas. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería*. Universidad de Zulia. 26(1): 27-33.

Martínez Romero, A. G., Méndez Contreras, J. M., & Vallejo Cantú, N. A. (2019). *Evaluación de la remoción de nitrógeno y fósforo contenidos en aguas residuales de origen porcícola por medio de Spirulina maxima y Chlorella spp* (Doctoral dissertation).

Mau Incháustegui, S. M. (2015). Estudio de la capacidad floculante de bacterias productoras de polímeros extracelulares para su potencial utilización en sistemas de tratamiento aerobio con lodos activados.

Menéndez Gutiérrez, C. y Pérez Olmo, J. M. (2007). Procesos para el tratamiento biológico aguas residuales. Editorial Félix Varela.
<https://elibro.net/es/ereader/biblioitboca/152077?page=24>

Méndez, L., Miyashiro, V., Rojas, R., Cotrado, M., Carrasco, N. (2004). Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio. *Revista del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 7(14), 74-83.

Méndez-Úbeda, J. M., Hernández, M. F., Páramo-Aguilera, L. A. (2017). Aislamiento e identificación de *Bacillus subtilis* y evaluación del antagonismo in vitro frente hongos fitopatógenos. *Nexo Revista Científica*, 30(2), 96-110.

Merlo R.P., Trussell S., Hermanowicz S.W. y Jenkins D. (2004). Physical, chemical and biological properties of submerged membrane bioreactor and conventional activated sludges. Water Environmental Federation, Alexandria, Virginia, EUA.

Mesa, J. L. B. L., Quintero, G. M., & Ortiz, O. L. O. (2006). Aislamiento e identificación de diez cepas bacterianas desnitrificantes a partir de un suelo agrícola contaminado con abonos nitrogenados proveniente de una finca productora de cebolla en la Laguna de Tota, Boyacá, Colombia. *Nova*, 4(6), 50-54.

Massé A., Spérandio M. y Cabassud C. (2006). Comparison of sludge characteristics and performance of a submerged membrane bioreactor and an activated sludge process at high solids retention time. *Water Research* 40: 2405-2415.

METCALF y EDDY INC (1995) Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. McGraw-Hill/interamericana de España S.A. 1485 pp.

Metcalf & Eddy. (2003). *Wastewater Engineering: treatment and reuse*. New York, USA: McGraw Hill, pp. 853-865

Miranda, J. P. R., Ubaque, C. A. G., Pinzón, J. P. (2015). Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales. *Tecnura*, 19(46), 149-164.

Moeller, G., Tomasini, A. (2004). Microbiología de lodos activados. *Memorias curso internacional de sistemas integrados de tratamiento de aguas residuales y su reúso para un medio ambiente sustentable [Internet]. Bogotá: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).*

Moya-Llamas, M. J., Trapote, A., & Prats, D. (2019). Eficiencia del sistema UASB-MBR en el tratamiento de aguas residuales de pequeñas aglomeraciones urbanas.

Moyano Arévalo, J. R., Naranjo Vargas, E. M., Santillán Mariño, C. J. (2018). Diseño de filtro con fibras naturales para purificación de aguas residuales de lavadora de vehículos. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*, (noviembre).

Nacheva, P., Gutiérrez Macías, T., Ramírez Vargas, L. A., Albores Morales, E. M. (2019). Desarrollo de tecnologías para tratamiento de aguas residuales y generación de bioenergía: etapa 1: evaluación de biorreactores con biomasa inmovilizada.

Nguyen, LN, Hai, FI, Yang, S., Kang, J., Leusch, FD, Roddick, F., ... y Nghiem, LD (2013). Eliminación de trazas de contaminantes orgánicos mediante un MBR que comprende un cultivo mixto de bacterias y hongos de pudrición blanca. *Tecnología de fuentes biológicas*, 148, 234-241.

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-008-SCFI-2000. ANÁLISIS DE AGUA DETERMINACIÓN DEL pH - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-008-1980).

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-029-SCFI-2001. Análisis de agua. DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA029-1981).

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-026-SCFI-2010. ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA - (CANCELA A LA NMX-AA-026-SCFI-2001).

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-030/1-SCFI-2012. ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS.- MÉTODO DE PRUEBA - PARTE 1 - MÉTODO DE REFLUJO ABIERTO - (CANCELA A LA NMX-AA-030-SCFI-2001).

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-004-SCFI-2013. ANÁLISIS DE AGUA – MEDICIÓN DE SÓLIDOS SEDIMENTABLES EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-004-SCFI-2000)

Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-034-SCFI-2015. ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001).

Norma Oficial Mexicana. NOM-001-SEMARNAT-1996. ESTABLECE LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES.

Norma Oficial Mexicana . NOM-002-SEMARNAT-1996. ESTABLECE LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES A LOS SISTEMAS DE ALCANTARILLADO URBANO O MUNICIPAL.

Núñez, J. 2017. Los Derechos Humanos y el Nuevo Orden Económico Mundial. Revista AFESE, 12 (12).

Ocampo Zamora, A. L. (2013). Evaluación del estado actual de la calidad del agua de la quebrada La Jaramilla, municipio de La Tebaida, departamento del Quindío.

ONU-DAES. (2014). Calidad del agua. 20/04/2020, de Organización de las Naciones Unidas
Sitio web: <https://www.un.org/spanish/waterforlifedecade/quality.shtml>

Osorio Robles, F. (2012). Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes: aplicación de procesos industriales a la reutilización de aguas residuales. Ediciones Díaz de Santos.
<https://elibro.net/es/ereader/biblioitboca/62518?page=50>.

Otero, I. (2012). Remoción de materia orgánica de las aguas residuales vertidas al río Pasto con bacterias productoras de Polihidroxialcanoatos.

Pacheco S.V.F., Pavón S.T.B. y Jáuregui R. B. (2000). Proyecto sobre microorganismos filamentosos. Convenio General de Colaboración Reciclagua–Facultad de Química, UAEM, Toluca, pp. 1-47.

Perera, J., Tormo, A., García, J. (2002). Ingeniería Genética. Madrid, España: Ediciones Síntesis S.A.

Ponce Zambrano, A. A. (2019). Evaluación de consorcio microbiano aeróbico para la degradación de materia orgánica en aguas residuales en extractora de aceite vegetal AEXAV Quininde (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL).

Quiroga, J. A. V., & López, F. E. D. (2008). Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio. *Revista de tecnología*, 7(2).

Ratón, T. O., Portuondo, I. P., Salas, D. F., Ramos, N. C., y Giro, Z. G. (2005). Aislamiento de cepas del género bacillus sp. con potencialidades para la bioprotección y la estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Cubana de Química*, 17(1), 189-195.

Rivera Helbig, C. A. (2014). Estudio de la efectividad de una nueva configuración tecnológica de tratamiento de aguas residuales, lodos activados plus (La+): combinación de un biorreactor de membranas y ozonización, desarrollado para reducir la producción de purga de lodos y mejorar la calidad de aguas tratadas.

Rodríguez G. (2011). Environmental and economic profile of six typologies of wastewater treatment plants. *water research*, 5997–6010.

Romero-Aguilar, M., Colín-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. A. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(3), 157-167.

Rooney, AP, Price, NP, Ehrhardt, C., Swezey, JL y Bannan, JD (2009). Filogenia y taxonomía molecular del complejo de especies de *Bacillus subtilis* y descripción de *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. nov. *Revista internacional de microbiología sistemática y evolutiva* , 59 (10), 2429-2436.

ROSEMBERG, M. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. *Trends in Food Science and Technology*, v. 6, n. 1, p. 12 -16, 1995.

Ruiz, Á. A. (2012). Efectos del pH y la conductividad en la electrocoagulación de aguas residuales de la industria láctea. *Producción+ Limpia*, 7(1).

Scott, J. P., & Ollis, D. F. (1995). Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: review and recommendations. *Environmental Progress*, 14(2), 88-103.

Smith, K. "Commercial Membrane Technology," in *Membrane Processing*, ed: *Blackwell Publishing Ltd.*, 2013, pp. 52-72.

SEMARNAT. (2016). Manifestación de Impacto Ambiental. Plantas de tratamiento de aguas residuales, 5, 8-89.

Souza, A. F., & Martins, F. R. (2004). Microsite specialization and spatial distribution of *Geonoma brevispatha*, a clonal palm in south-eastern Brazil. *Ecological Research*, 19(5), 521-532.

Tejera-Hernández, B., Heydrich-Pérez, M., Rojas-Badía, M. M. (2013). Aislamiento de *Bacillus* solubilizadores de fosfatos asociados al cultivo del arroz. *Agronomía Mesoamericana*, 24(2), 357-364.

Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M. M., & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.

Torres Beristáin, B., González López, G., Rustrían Portilla, E., & Houbron, E. (2013). Enfoque de cuenca para la identificación de fuentes de contaminación y evaluación de la calidad de un río, Veracruz, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29(3), 135-146.

Torres Torres, A. G. (2020). TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUAL DOMÉSTICA MEDIANTE SISTEMAS DE DEPURACIÓN CON MACROFITAS (*Lemna minor* y *Eleocharis palustris*) EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI OCTUBRE 2018-SEPTIEMBRE 2019.

Ugarte, F., Lima, K., Bernal, M., & Moreno, A. (2018). Estudios preliminares del efecto fortificante de extractos de *Moringa oleifera* lam. en vitroplantas del clon Williams en aclimatación. *Agroecosistemas*, 6(2), 47–55. Retrieved from <http://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/index%0ARESUMEN>

Valenzuela, O., Alfredo, O. (2003). Detección de organismos espirales gástricos mediante test rápido de ureasa y tinción Gram modificada en estómago de potrillos.

Van der Roest, HF, Van Bentem, AGN y Lawrence, DP (2002). Tecnología MBR en el tratamiento de aguas residuales municipales: desafiando las tecnologías de tratamiento tradicionales. *Ciencia y tecnología del agua* , 46 (4-5), 273-280.

Vásquez-Rodríguez, E. D., Moya-Llamas, M. J., Bernal, M. Á., Trapote, A., Prats, D. (2018). Eliminación/degradación de triazinas mediante biorreactor de membrana con post-tratamiento de ozonización.

Vargas, P. D., Cerrato, R. F., Suárez, J. A., González, G. A. (2001). Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana*, 19(4), 327-335.

Varó Galvañ, P. J., Rodríguez Pastor, M., Cases López, V., & Prats, D. (2014). Tratamiento de lixiviados de residuos de origen urbano mediante MBR. *Mantenimiento Higiénico Sanitario de Instalaciones de Riesgo Frente a Legio*.

Viero, A. F., Torres, A. P. R., Sant'Anna Jr, G. L., Borges, C. P., & Santiago, V. M. (2007). USO DE BIORREACTOR COM MEMBRANAS SUBMERSAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REFINARIA. In VI Congresso Ibero-Americano em Ciências e Tecnologia de Membrana.

Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. D. L. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(1), 95-130.

Von Sperling M., (2001). Dimensionamento de lodos ativados por batelada utilizando os principios da teoria do fluxo de sólidos., *Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES*, Vol. 6, No. 3, pp.147-156.

Wagner, J. y Rosenwinkel, KH (2000). Producción de lodos en biorreactores de membrana bajo diferentes condiciones. *Ciencia y tecnología del agua* , 41 (10-11), 251-258.

Wakita J., Shimada H., Itoh H., Matsuyama T. & Matsushita M. 2001. Periodic Colony Formation by Bacterial Species *Bacillus subtilis*. *Journal of the Physical Society of Japan*. 70: 911-919.

Wiki. (2007). Ingeniería de aguas residuales. Wiki. <https://elibro.net/es/lc/bibliotboca/titulos/35813>.

Wu, RM, Lee, DJ, Waite, TD y Guan, J. (2002). Estructura multinivel de flóculos de lodos. *Revista de ciencia coloidal y de interfaz*, 252 (2), 383-392.

Zuriaga-Agusti, E., Iborra-Clar, M. I., Mendoza-Roca, J. A., Tancredi, M., Alcaina-Miranda, M. I., Iborra-Clar, A. (2010). Sequencing batch reactor technology coupled with nanofiltration for textile wastewater reclamation. *Chemical Engineering Journal*, 161(1-2), 122-128.

Zúñiga, P. C. (11 de Abril de 2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. Obtenido de *Ecología Aplicada*, Pdf: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v9n1/a04v9n1>

11. ANEXOS

Anexo 1. Caracterización del agua residual



Toma de parámetros *in situ*; a) pH, b) Temperatura.



Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO).



Determinación de Fósforo Total.



Determinación de Grasas y Aceites.

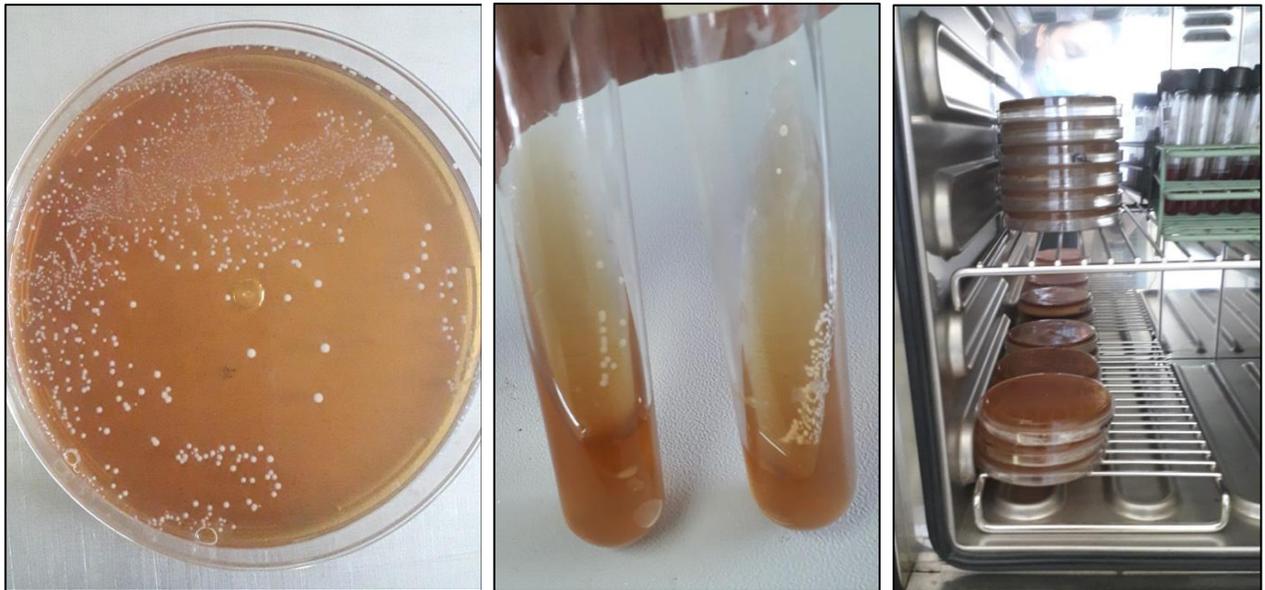


Determinación Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK).

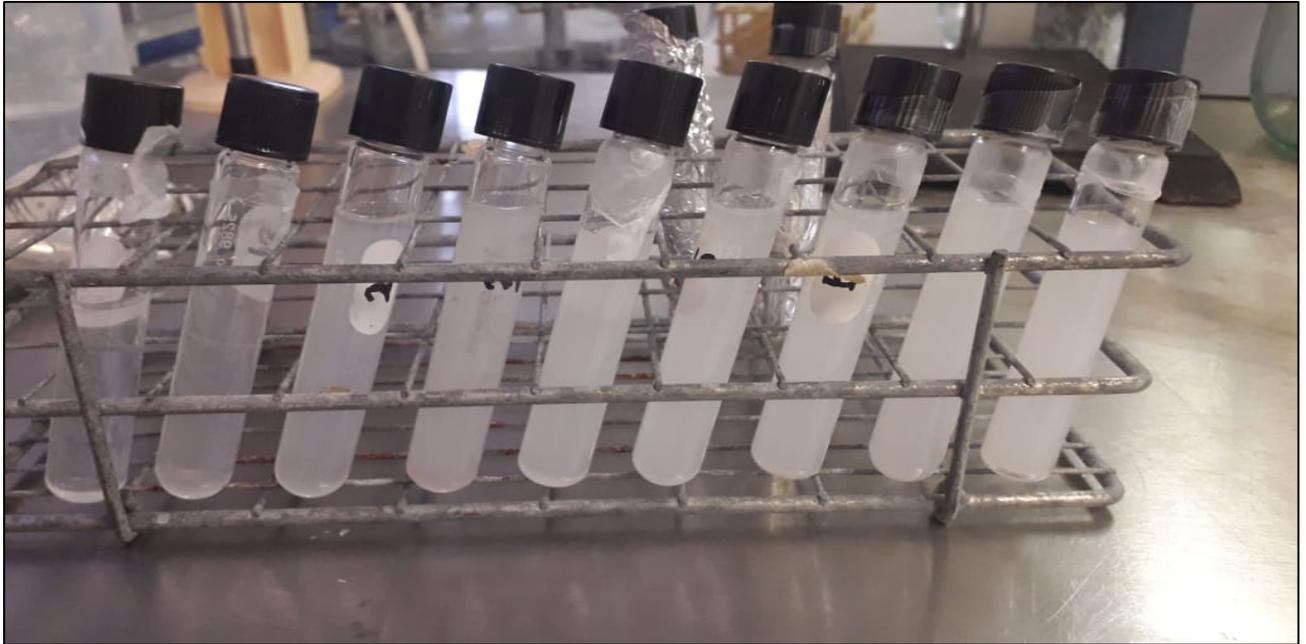


Determinación inicial de Ssed., ST, STV, SST Y SSV en el efluente.

Anexo 2. Caracterización *Bacillus subtilis*



Colonias de *Bacillus* aisladas en MRS Agar.

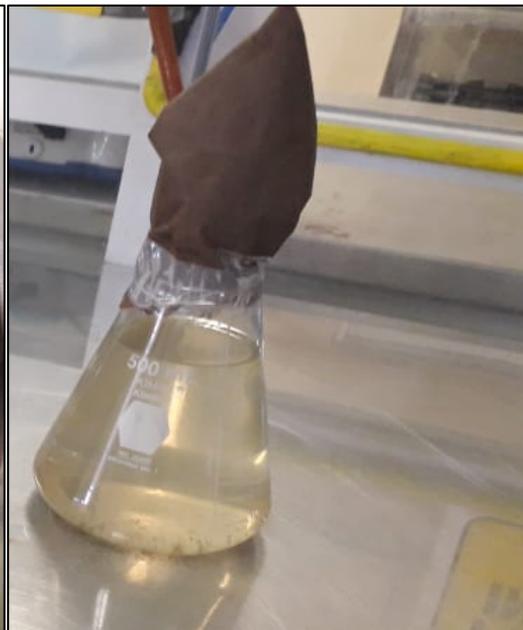


Comparación de *Bacillus subtilis* con patrón de turbidez, escala de McFarland

Anexo 3. Inóculo bacteriano



Preparación de lodos para inóculo.



Preparación de agua residual en condiciones estériles para inóculo.



Inóculo de lodo, agua residual, y *Bacillus subtilis* en aireación constante.

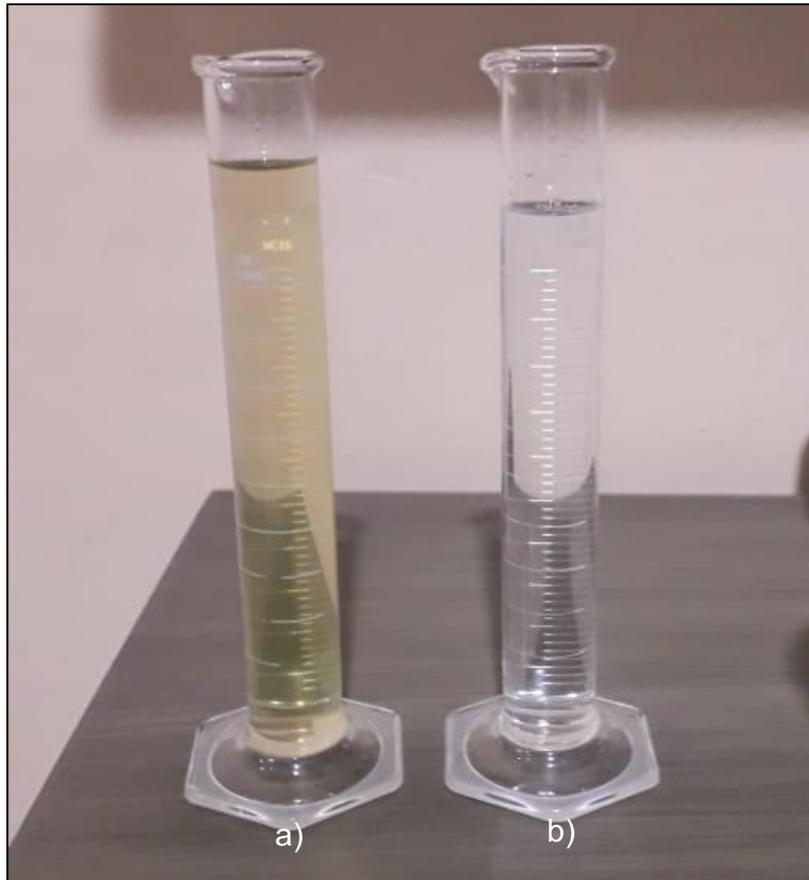
Anexo 4. Condiciones de operación y puesta en marcha del BRMs



Pruebas de aireación y de fugas en el BRMs



BRMs en operación.



A) Afluente residual, b) Efluente tratado en el BRMs

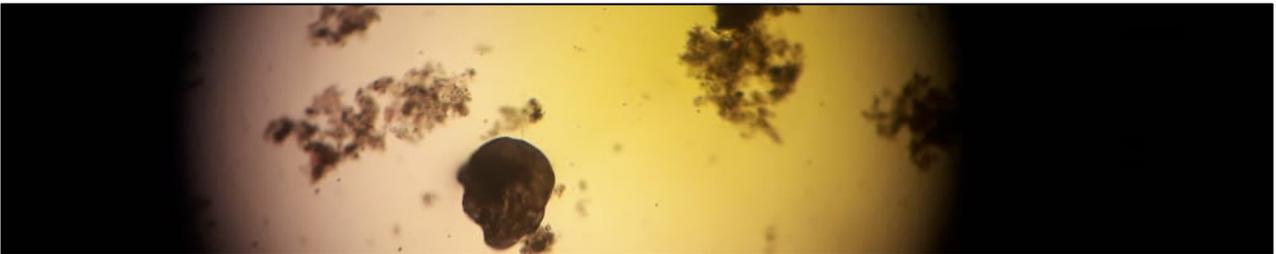
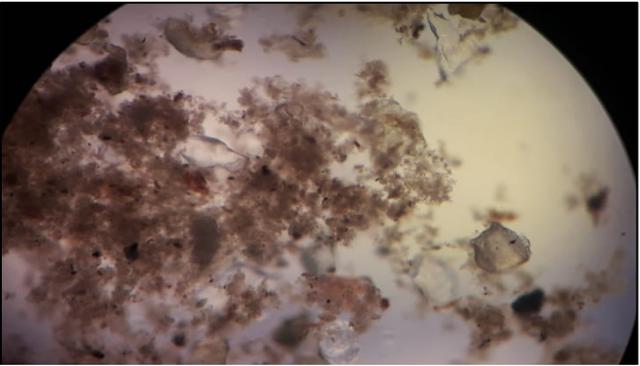
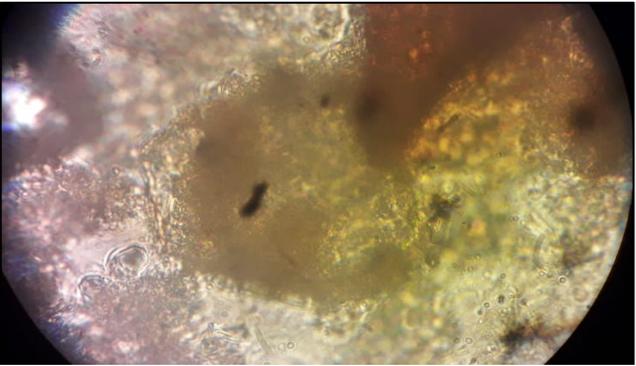
Anexo 5. Eficiencia de remoción en el BRMs



Evaluación Demanda Química de Oxígeno (DQO) en efluente tratado.



Evaluación Sólidos (ST, STV, SST, SSV) en el licor de mezcla.



Seguimiento de los flóculos en el licor de mezcla del BRMs