



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Boca del Río
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL EN LA
REMOCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS”
TESIS**

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA

MARÍA JESICA MONTERO MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS

M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ

CO-DIRECTOR

DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO

ASESOR

DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHAVEZ

ASESOR

DRA. PAULA ZUÑIGA RUIZ

22 DE NOVIEMBRE DEL 2021

BOCA DEL RIO, VERACRUZ.



Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver.
C.P. 94290. Tel. (229) 690 5010 ext. 102
dir01_bdelrio@tecnm.mx
tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx





ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: A-01002-070120

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 10:00 horas del día 05 del mes de noviembre de 2021 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:

"EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL EN LA REMOCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS"

Que presenta el (la) alumno(a):

MARÍA JESICA MONTERO MARTÍNEZ

Aspirante al Grado de:

Maestro en Ciencias en Ingeniería 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:

M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ
Director

DRA FABIOLA LANGO REYNOSO
Co-Director

DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHAVEZ
Asesor

DRA. PAULA ZUÑIGA RUIZ
Asesor





Instituto Tecnológico de Boca del Río
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

Boca del Río, Ver., **25/OCTUBRE/2021**
Asunto: **CONSTANCIA DE
NO INCONVENIENCIA**

LIC. ANA OLIVIA AVENDAÑO CHINCOYA
JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
Presente.

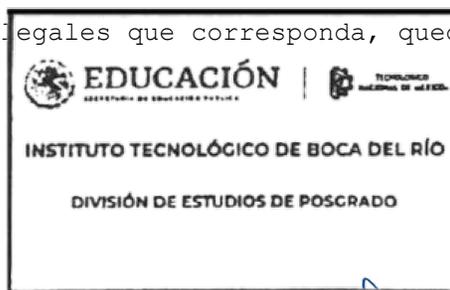
AT'N.LIC. SONIA CONCEPCIÓN SOLÍS SOLÍS
GESTOR DE TITULACIÓN
Presente.

Por medio del presente, me permito hacer constar que el(a) candidato(a) a Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental **C. MARIA JESICA MONTERO MARTINEZ**, de la generación **agosto 2019 - julio 2021** con número de control **19990505**, 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 **M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ**, y él envío del artículo derivado de su tesis de grado a una revista indexada.

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.

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos



Vo.Bo.

DR. JUAN DAVID GARAY MARIN
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ
DIRECTOR DE TESIS

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



Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver.
C.P. 94290. Tel. (229) 690 5010 ext. 102
dir01_bdelrio@tecnm.mx
tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx





Instituto Tecnológico de Boca del Río
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

Boca del Río, Ver **25/OCTUBRE/2021**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**MARÍA JESICA MONTERO MARTÍNEZ
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE**

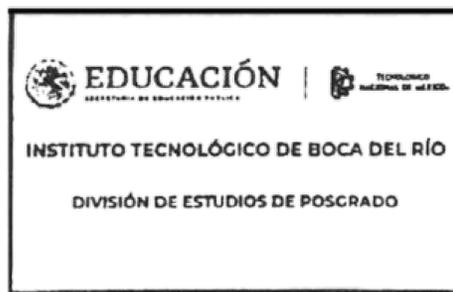
De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la **TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO**, desarrollada por usted cuyo título es:

“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL EN LA REMOCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS”

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*

**DR. JUAN DAVID GARAY MARIN
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



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



Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver.
C.P. 94290. Tel. (229) 690 5010 ext. 102
dir01_bdelrio@tecnm.mx
tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx



*“Sin el amor por la investigación, el mero conocimiento y la inteligencia no
pueden hacer un científico”*

Irène Joliot-Curie

*“El éxito no se logra solo con cualidades especiales. Es sobre todo un
trabajo de constancia, método y de organización”*

Jean-Pierre Sergent

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto, dándome la oportunidad de vivir con una buena salud para lograr mis objetivos, además de tu infinita bondad y amor.

A ti Alberto, mi compañero de vida, por el apoyo incondicional que siempre me has brindado, que me impulsa a seguir creciendo en lo personal y profesional.

A mis padres, por quererme tanto y por ser unos excelentes guías en todo momento; gracias Dani y Joksan por ser parte de este logro; a mis familiares y amigos, gracias por ser tan pacientes conmigo y por apoyarme siempre.

Y a las mascotas de la familia, gracias por acompañarme en las noches de desvelo y por darme alegría en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Boca del Río (ITBOCA), por haberme brindado la oportunidad y el respaldo para el desarrollo profesional de este posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo recibido durante todo el proceso de mi formación como Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental mediante el número de beca otorgada 999636.

Agradezco el haber tenido la oportunidad de participar en el proyecto del humedal artificial que trata las aguas residuales del ITBOCA, así también, haber aportado con los resultados de este proyecto de tesis.

Al M.C. Christian Reyes Velázquez, le agradezco su paciencia y dedicación, por guiarme en todo momento a lo largo de este camino, he aprendido mucho de usted.

A las doctoras Fabiola Lango Reynoso y Paula Zúñiga Ruíz por sus aportaciones en pro del desarrollo de este proyecto, crecimiento profesional y personal.

A la Dra. María del Refugio Castañeda Chávez por su orientación, conocimientos y por brindarme las facilidades para desarrollar mi proyecto en las instalaciones del Laboratorio de Investigación y Recursos Acuáticos.

Gracias al cuerpo académico por las enseñanzas y por permanecer al pendiente de nuestro desarrollo profesional.

Así también, agradezco a mis amigos y compañeros, por el apoyo brindado, las experiencias compartidas y aprendizajes ganados durante estos dos años.

TÍTULO

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL EN LA REMOCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS.

RESUMEN

Las aguas residuales (AR) contienen diversos contaminantes entre ellos los microorganismos patógenos, los cuales son responsables de varias de las enfermedades transmitidas por el agua. Por lo que, de acuerdo a diversos autores, los humedales artificiales han demostrado ser una alternativa viable para el tratamiento de las AR, ya que imitan los procesos físicos, químicos y biológicos de los humedales naturales, lo que permite alcanzar porcentajes óptimos de remoción de contaminantes varios y microorganismos patógenos. Es así que, el Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz trata sus AR a través de un humedal artificial subsuperficial con alimentación horizontal (HAFSSH), lo conforman siete celdas que albergan los sustratos (tezontle, concha caracol y pet) y vegetación tipo ornamental. El presente trabajo consistió en evaluar, por un periodo establecido, la eficiencia de este humedal artificial en la remoción de bacterias patógenas de acuerdo a la influencia de las temporadas climatológicas que acontecen en Boca del Río y los componentes del sistema. Para ello, se eligieron como indicadores microbiológicos a los coliformes totales (UFC/100 ml) y fecales (NMP/100 ml). Se recolectaron muestras de los sitios de afluente y efluente de cada celda en las distintas temporadas climatológicas (lluvia, norte y estiaje). Además, se midieron parámetros de campo (pH, temperatura y conductividad eléctrica) y se identificaron las bacterias patógenas presente en cada celda del HAFSSH. Los resultados en cuanto al porcentaje de remoción fueron valores por encima del 95 % para coliformes totales y fecales, y con relación al análisis estadístico, se determinó que las temporadas climatológicas y los componentes del sistema si influyen sobre la remoción de las bacterias patógenas. En cuanto a las bacterias patógenas, se identificaron especies de bacterias entéricas, no entéricas y enterococos. Se concluye que la interacción de los componentes del HAFSSH y los factores ambientales, propician una dinámica natural eficiente para la remoción de bacterias patógenas, lo que resulta en obtener concentraciones de coliformes fecales que están por debajo de lo establecido en la norma oficial mexicana para poder descargar el agua residual tratada en las inmediaciones del Río Jamapa.

Palabras claves: *Agua residual, humedal artificial, eficiencia de remoción, bacterias patógenas.*

ABSTRACT

Wastewater (RA) contains various contaminants including pathogenic microorganisms, which are responsible for several of the waterborne diseases. Therefore, according to various authors, artificial wetlands have proven to be a viable alternative for the treatment of RA, since they imitate the physical, chemical and biological processes of natural wetlands, which allows reaching optimal percentages of removal of various contaminants and pathogenic microorganisms. Thus, the Technological Institute of Boca del Río, Boca del Río, Veracruz treats its RA through a subsurface artificial wetland with horizontal feeding (HAFSSH), made up of seven cells that house the substrates (tezontle, snail shell and pet) and ornamental type vegetation. The present work consisted of evaluating, for an established period, the efficiency of this artificial wetland in the removal of pathogenic bacteria according to the influence of the weather seasons that occur in Boca del Río and the components of the system. For this, total coliforms (CFU / 100 ml) and fecal (MPN / 100 ml) were chosen as microbiological indicators. Samples were collected from the tributary and effluent sites of each cell in the different weather seasons (rain, north and low water). In addition, field parameters (pH, temperature and electric conductivity) were measured and the pathogenic bacteria present in each HAFSSH cell were identified. The results regarding the removal percentage were values above 95 % for total and fecal coliforms, and in relation to the statistical analysis, it was determined that the weather seasons and the components of the system do influence the removal of pathogenic bacteria. Regarding pathogenic bacteria, enteric, non-enteric and enterococcus bacteria species were identified. It is concluded that the interaction of the HAFSSH components and environmental factors, promote an efficient natural dynamic for the removal of pathogenic bacteria, this results in obtaining fecal coliform concentrations that are below that established in the official Mexican standard in order to discharge the treated wastewater in the vicinity of the Jamapa River.

Key words: *Residual water, artificial wetland, removal efficiency, pathogenic bacteria.*

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----|
| TÍTULO | I |
| RESUMEN | I |
| ABSTRACT | II |
| ÍNDICE GENERAL | III |
| ÍNDICE DE TABLAS | VI |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VII |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 3 |
| 2.1 Tratamiento de aguas residuales | 3 |
| 2.2 Humedales artificiales como tratamiento para las aguas residuales..... | 3 |
| III. MARCO EPISTÉMICO | 6 |
| IV. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL | 8 |
| 4.1 Agua | 8 |
| 4.2 Aguas residuales | 8 |
| 4.2.1 Aguas residuales domésticas | 8 |
| 4.2.2 Problemática de las aguas residuales domésticas | 9 |
| 4.3 Contaminación microbiológica del agua | 9 |
| 4.3.1 Bacterias | 10 |
| 4.3.2 Virus | 11 |
| 4.3.3 Parásitos | 12 |
| 4.4 Tratamiento de las aguas residuales..... | 13 |
| 4.5 Humedales artificiales | 14 |
| 4.5.1 Aplicaciones de los humedales artificiales | 15 |
| 4.5.2 Clasificación de los humedales artificiales | 15 |
| 4.5.3 Humedales de flujo superficial | 16 |
| 4.5.4 Humedales de flujo subsuperficial | 17 |
| 4.5.5 Generalidades del diseño de los humedales | 19 |
| 4.5.6 Selección de la especie vegetal | 19 |
| 4.5.7 Sustrato | 19 |
| 4.5.8 Microorganismos en el humedal artificial | 20 |
| 4.5.9 Procesos que intervienen para la remoción de contaminantes | 20 |
| 4.6 Mecanismos de remoción de bacterias patógenas en humedales artificiales..... | 21 |
| 4.6.1 Evaluación de remoción de bacterias patógenas | 23 |

| | |
|---|----|
| V. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 24 |
| 5.1 Situación problemática | 24 |
| 5.2 Planteamiento del problema de investigación | 26 |
| 5.3 Vacío del conocimiento..... | 26 |
| 5.4 Frontera del conocimiento | 26 |
| 5.5 Pregunta de investigación | 26 |
| VI. JUSTIFICACIÓN | 27 |
| VII. HIPÓTESIS | 28 |
| 7.1 General | 28 |
| 7.2 Operacionalización de la hipótesis | 28 |
| 7.2.1 Variables dependientes..... | 28 |
| 7.2.2 Variables independientes..... | 28 |
| VIII. OBJETIVOS | 29 |
| 8.1 Objetivo general..... | 29 |
| 8.2 Objetivos particulares | 29 |
| IX. MATERIALES Y MÉTODOS | 30 |
| 9.1 Área de estudio..... | 30 |
| 9.2 Descripción del humedal artificial | 31 |
| 9.3 Selección de los sitios de muestreo | 38 |
| 9.4 Monitoreo..... | 38 |
| 9.5 Toma de muestras para análisis microbiológico..... | 39 |
| 9.5.1 Muestreo para análisis cuantitativos | 39 |
| 9.5.1 Muestreo para análisis cualitativos..... | 40 |
| 9.5.3 Análisis de campo | 41 |
| 9.6 Cuantificación de la concentración de bacterias patógenas..... | 41 |
| 9.6.1 Coliformes totales..... | 41 |
| 9.6.2 Coliformes fecales | 43 |
| 9.7 Identificación de las bacterias patógenas que afectan a la salud humana y animal . | 45 |
| 9.8 Cálculo de la eficiencia del HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas..... | 47 |
| 9.9 Análisis de la influencia de las temporadas climatológicas y componentes del sistema sobre la presencia de bacterias patógenas | 47 |
| 9.10 Comparación de los resultados obtenidos de bacterias patógenas con la referencia en la NOM-001-SEMARNAT-1996 | 47 |

| | |
|---|----|
| X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 48 |
| 10.1 Análisis de campo del caudal | 48 |
| 10.1.1 Temperatura | 48 |
| 10.1.2 pH..... | 50 |
| 10.1.3 Conductividad eléctrica | 52 |
| 10.1.4 Sólidos disueltos totales | 53 |
| 10.2 Concentración de bacterias patógenas | 55 |
| 10.2.1 Coliformes totales y coliformes fecales | 55 |
| 10.3 Identificación de las bacterias patógenas en los diferentes sitios del HAFSSH..... | 59 |
| 10.4 Eficiencia del HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas | 63 |
| 10.5 Influencia de las temporadas climatológicas y componentes del sistema sobre la remoción de bacterias patógenas..... | 65 |
| 10.5.1 Prueba de análisis de varianza | 65 |
| 10.5.2 Estadística descriptiva de la variable de respuesta en UFC/100 ml con relación a los factores | 67 |
| 10.5.3 Estadística descriptiva de la variable de respuesta en NMP/100 ml con relación a los factores | 70 |
| 10.5.4 Gráficas de cajas, resultado del análisis estadístico | 71 |
| 10.6 Comparación de la concentración de coliformes fecales en el efluente con la NOM-001-SEMARNAT-1996..... | 76 |
| XI. CONCLUSIONES | 78 |
| XII. LITERATURA CITADA | 79 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabla 1. | Características epidemiológicas de los patógenos..... | 9 |
| Tabla 2. | Clasificación de las bacterias..... | 10 |
| Tabla 3. | Principales bacterias patógenas en las aguas residuales..... | 10 |
| Tabla 4. | Principales virus existentes en las aguas residuales..... | 11 |
| Tabla 5. | Principales protozoarios existentes en las aguas residuales..... | 12 |
| Tabla 6. | Clasificación de los procesos de tratamiento de aguas residuales..... | 13 |
| Tabla 7. | Procesos que contribuyen a la depuración de las aguas residuales en humedales artificiales..... | 21 |
| Tabla 8. | Distribución del sustrato como componente del HAFSSH..... | 32 |
| Tabla 9. | Caracterización fenotípica con base al medio de cultivo a emplear..... | 45 |
| Tabla 10. | Temperatura ambiente registrada durante los monitoreos..... | 48 |
| Tabla 11. | Valores puntuales de temperatura en el agua del sistema HAFSSH..... | 49 |
| Tabla 12. | Valores puntuales de pH en el agua del sistema HAFSSH..... | 50 |
| Tabla 13. | Valores promedio de conductividad en el agua del sistema HAFSSH..... | 52 |
| Tabla 14. | Valores promedio de sólidos disueltos totales en el agua del sistema HAFSSH..... | 54 |
| Tabla 15. | Bacterias patógenas investigadas e identificadas en el HAFSSH..... | 59 |
| Tabla 16. | Bacterias patógenas identificadas en el sistema HAFSSH..... | 63 |
| Tabla 17. | Eficiencia del HAFSSH en la remoción de coliformes totales y fecales | 64 |
| Tabla 18. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a los sitios del HAFSSH y las temporadas climatológicas..... | 67 |
| Tabla 19. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a las temporadas climatológicas..... | 68 |
| Tabla 20. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a los sitios del HAFSSH..... | 69 |
| Tabla 21. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a los sitios del HAFSSH y las temporadas climatológicas..... | 70 |
| Tabla 22. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a las temporadas climatológicas..... | 70 |
| Tabla 23. | Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a los sitios del HAFSSH..... | 71 |
| Tabla 24. | Comparación de concentración de coliformes fecales en el efluente con la NOM-001-SEMARNAT-1996..... | 76 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1. | Clasificación de los sistemas de HA a partir del tipo de macrófitas..... | 16 |
| Figura 2. | Humedal artificial de flujo superficial..... | 16 |
| Figura 3. | Humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal..... | 18 |
| Figura 4. | Humedal artificial de flujo subsuperficial vertical..... | 18 |
| Figura 5. | Procesos de depuración de los humedales artificiales..... | 20 |
| Figura 6. | Modelo conceptual de los mecanismos de remoción de los microorganismos patógenos..... | 22 |
| Figura 7. | Situación problemática de las aguas residuales..... | 25 |
| Figura 8. | Ubicación geográfica del proyecto de investigación: A. Macrolocalización, México, B. Estado de Veracruz, C. Municipio de Boca del Río y D. Microlocalización, ITBOCA..... | 30 |
| Figura 9. | Diseño del humedal artificial: A. Vista en planta y B. Perspectiva de vista lateral..... | 31 |
| Figura 10. | Colocación de sustratos en el sistema: A. PET, B. Concha de ostión y caracol, C y D. Tezontle..... | 33 |
| Figura 11. | Dibujo isométrico del humedal artificial..... | 34 |
| Figura 12. | Humedal artificial durante el periodo de maduración..... | 35 |
| Figura 13. | Humedal artificial durante el periodo de operación..... | 35 |
| Figura 14. | Vista lateral del humedal artificial durante el periodo de operación..... | 36 |
| Figura 15. | Esquema del proceso del proyecto de investigación..... | 37 |
| Figura 16. | Sitios de muestreo con respecto a la distribución de los componentes..... | 38 |
| Figura 17. | Periodo de monitoreo por temporadas climatológicas..... | 39 |
| Figura 18. | Toma de muestra simple para análisis cuantitativos: A. Directa del flujo y B. Mediante el uso de pipeta volumétrica..... | 40 |
| Figura 19. | Toma de muestra mediante hisopos para análisis cualitativo..... | 40 |
| Figura 20. | Esquema del método de filtración en membrana..... | 42 |
| Figura 21. | Método de filtración en membrana: A. Filtrado de la muestra, B. Siembra de la membrana celulósica en Agar m-Endo Les y C. Crecimiento de colonias..... | 43 |
| Figura 22. | Esquema del método del NMP en tubos múltiples..... | 44 |
| Figura 23. | Método del NMP en tubos múltiples: A. Resiembra en caldo EC, B. Tubos negativos y C. Tubos positivos..... | 44 |
| Figura 24. | Esquema de siembra en medios selectivos y diferenciales..... | 46 |
| Figura 25. | Esquema para la detección de Pseudomonas aeruginosa a partir de reactivo Pseudoalert..... | 46 |
| Figura 26. | Variación de los valores puntuales de temperatura en el agua del sistema HAFSSH..... | 49 |

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 27. | Variación de los valores puntuales de pH en el agua del sistema HAFSSH | 51 |
| Figura 28. | Variación de los valores promedio de conductividad en el agua del sistema HAFSSH..... | 53 |
| Figura 29. | Variación de los valores promedio de sólidos disueltos totales en el agua del sistema HAFSSH..... | 54 |
| Figura 30. | Variación de los valores promedio de coliformes totales en el agua del sistema HAFSSH..... | 56 |
| Figura 31. | Variación de los valores promedio de coliformes fecales en el agua del sistema HAFSSH..... | 57 |
| Figura 32. | Incidencia de las bacterias patógenas identificadas en los sitios del HAFSSH con respecto a las temporadas climatológicas..... | 60 |
| Figura 33. | Porcentaje de bacterias patógenas identificadas en el HAFSSH..... | 61 |
| Figura 34. | Relación de la presencia de las bacterias patógenas identificadas en el HAFSSH..... | 62 |
| Figura 35. | Curvas de la prueba de normalidad: A. Histograma de concentración de coliformes totales y B. Histograma de concentración de coliformes fecales | 66 |
| Figura 36. | Gráfica de cajas, relación de la concentración bacteriana con las temporadas climatológicas: A. Coliformes totales..... | 72 |
| Figura 37. | Gráfica de cajas, relación de la concentración bacteriana con las temporadas climatológicas: B. Coliformes fecales..... | 73 |
| Figura 38. | Gráfica de cajas, relación de concentración bacteriana con los sitios del HAFSSH: A. Coliformes totales..... | 74 |
| Figura 39. | Gráfica de cajas, relación de concentración bacteriana con los sitios del HAFSSH: B. Coliformes fecales..... | 75 |

I. INTRODUCCIÓN

El agua es un líquido vital y es el elemento que se encuentra más abundante en el planeta Tierra, así mismo es un recurso no renovable e imprescindible para la vida. El ciclo del agua permite que el planeta mantenga funciones que contribuyen en regular las condiciones idóneas para que prevalezca la vida como la conocemos. Sin embargo, el crecimiento acelerado de la población desencadena que exista una mayor demanda de este recurso para cubrir necesidades poblacionales e industriales (Rubio Arias *et al.*, 2014).

Esta demanda ha contribuido al aumento en la generación de las aguas residuales (AR), y por consiguiente al incremento de los niveles de contaminación en los cuerpos de agua por el constante vertimiento de las AR tanto de tipo domésticas como industriales. Las cuales son descargadas en cuerpos receptores de manera inadecuada al exceder los límites máximos permisibles de contaminantes por carecer de algún tipo de tratamiento previo o ineficiente, lo que provoca impactos negativos sobre el medio ambiente y en la salud de los seres vivos. Es por ello que a nivel mundial se ha trabajado por implementar técnicas para el tratamiento de las AR que incluyan procesos físicos, químicos y biológicos, con la finalidad de depurar los contaminantes contenidos en ellas y, como resultado obtener las características adecuadas que brinden la calidad apropiada para ser vertidas en cuerpos receptores sin ocasionar alteraciones en el medio (Bedoya Pérez *et al.*, 2014).

Ante tal necesidad la ingeniería ambiental se ha visto orillada a desarrollar tratamientos que sean eficientes, autosuficientes y económicamente viables, es por ello que, entre las soluciones más viables se presentan los tratamientos que imitan procesos naturales. El empleo de este tipo de tratamientos es cada vez más frecuente, debido a que se ha comprobado que pueden eliminar una gran cantidad de contaminantes con bajos costos de inversión, operación y mantenimiento, además, no requieren de personal estrictamente capacitado para su operación (Arias y Brix, 2003).

Es así que, los humedales artificiales (HA) son una alternativa para el tratamiento de las aguas residuales, ya que son sistemas diseñados y construidos para simular procesos que ocurren en los humedales naturales. Debido a que logran proporcionar un tratamiento a las AR a través de las interacciones entre la vegetación emergente, los microorganismos y el sustrato (Solís Silván *et al.*, 2016). Delgadillo *et al.* (2010), los definen como “sistemas que consisten en el desarrollo de un cultivo de macrófitas enraizadas sobre un lecho de grava impermeabilizado, en donde, la

acción de las macrófitas hace posible una serie de complejas interacciones físicas, químicas y biológicas a través de las cuales el agua residual afluyente es depurada progresiva y lentamente”.

Por otra parte, los microorganismos patógenos forman parte de los componentes de las AR domésticas, ellos son responsables de más del 90 % de las intoxicaciones y enfermedades transmitidas por el agua (Robert, 2014). Por consiguiente, para poder conocer la concentración de microorganismos patógenos es necesario el uso de bioindicadores de contaminación microbiológica. Cabe mencionar que, en México y de acuerdo a la normativa ambiental vigente en tema de aguas residuales, la determinación de contaminantes patógenos y parasitarios se determina mediante el análisis de coliformes fecales y huevos de helminto, los primeros están asociados con la presencia de contaminación fecal (Barrera-Escorcía *et al.*, 2013). Sin embargo, la normativa ambiental mexicana, no considera otros bioindicadores de contaminación que podrían proporcionar un mejor diagnóstico sobre la calidad microbiológica del agua residual tratada, tales como: virus, bacterias y parásitos específicos (Ríos-Tobón *et al.*, 2017).

Es así que, el objetivo del presente fue evaluar la eficiencia de un humedal artificial subsuperficial con alimentación horizontal (HAFSSH) en la remoción de bacterias patógenas de acuerdo a la influencia de las temporadas climatológicas y los componentes del sistema, así mismo, identificar las principales bacterias patógenas que representan riesgo a la salud humana y animal. El sistema se ubicó en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz. Se emplearon como bioindicadores de contaminación microbiológica: la concentración de coliformes totales y fecales.

II. ANTECEDENTES

2.1 Tratamiento de aguas residuales

Una planta de tratamiento es importante debido a que hay muchos contaminantes en las aguas residuales (AR), y el agua es el principal elemento para los seres vivos (Bermúdez *et al.*, 2016). Es por ello que en México se necesita impulsar más proyectos de investigación para desarrollar tecnologías innovadoras que puedan ser adaptadas a las diferentes condiciones geográficas, culturales, sociales y políticas del país, que involucren las herramientas y asistencia necesaria para que a nivel local los municipios puedan recuperar y reutilizar las aguas residuales tratadas (De Anda, 2017).

Bernal *et al.* (2003) identificaron los principales factores que influyen en el proceso de selección de la tecnología del sistema de tratamiento de aguas residuales, específicamente aquellos que imitan procesos naturales, tales como: “demográficos y socioculturales, características del agua residual, climáticos, características del terreno, objetivos de tratamiento, aspectos tecnológicos, disponibilidad de recursos, costos, capacidad y disponibilidad a pagar”. Además, determinaron los siguientes puntos importantes: la disponibilidad de terreno, las características del terreno y las condiciones climáticas. Es así que, concluyen que la disponibilidad de área es una variable limitante.

Por otro lado, con la finalidad de tener un mejor resultado de la calidad microbiológica del agua se deben considerar como bioindicadores de contaminación, además de bacterias y protozoos, algunos agentes microbianos no considerados en la normativa ambiental, como virus, bacterias y parásitos específicos (Ríos-Tobón *et al.*, 2017).

Zurita Martínez *et al.* (2015) confirmó que las bacterias coliformes totales no son el organismo indicador mejor recomendado para evaluar el grado de desinfección en los sistemas con procesos naturales de tratamiento, ya que tienen la capacidad de reproducirse cuando las condiciones son adecuadas, por ende, confirma que la *Escherichia coli* es un organismo indicador más recomendable.

2.2 Humedales artificiales como tratamiento para las aguas residuales

Solís Silván *et al.* (2016) comprobaron la eficiencia de remoción de contaminantes del agua residual, a partir de la implementación de humedales artificiales de flujo superficial operados con

Typha domingensis y *Eichhornia crassipes*, y humedales de flujo subsuperficial con *Paspalum paniculatum* y *Cyperus articulatus* L.; ambos emplearon grava como medio de soporte.

Los parámetros analizados en el proyecto fueron turbidez, color, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, nitrógeno total, fósforo total y sólidos suspendidos totales, en donde los resultados obtenidos corresponden a 97.1, 83.4, 97.8, 97.5, 97.2, 91.1 y 97.7 %, respectivamente. Los humedales de flujo subsuperficial que emplearon *Paspalum paniculatum*, obtuvieron remociones de 94.8, 71.5, 94.7, 94.8, 92.7, 52.2 y 93.0 %, respectivamente. Sin embargo, con base a los resultados, el humedal que mostró mayor eficiencia de remoción fue el de flujo superficial con *Typha domingensis*. En conclusión, los autores enuncian que este tipo de tecnología es viable para la depuración de aguas residuales en cumplimiento con las normas ambientales vigentes en México.

A continuación, se presentan algunos casos que demuestran la eficiencia de los HA para la remoción de microorganismos patógenos de las AR:

Egoavil (2018) implementó un humedal artificial de flujo subsuperficial, en el campamento del proyecto Don Javier 79 en Lima, Perú, como tratamiento secundario para las AR domésticas y como tratamiento primario se consideraron biodigestores. El propósito del proyecto es cumplir con los compromisos del plan de manejo ambiental, proteger el paisaje, mantener la salud de los trabajadores y evitar multas. El sustrato empleado fue arena fina, arena gruesa, grava fina, grava media y roca gruesa; con respecto a la vegetación, emplearon *Cortadeira sp.*, *Arundo donax* y *Typha domingensis*. En cuanto a la concentración de coliformes fecales, fue evaluada durante ocho meses y donde los resultados de remoción obtenidos fueron de hasta 99 %.

Otro ejemplo es el de Sandoval y colaboradores (2016), ya que diseñaron un humedal artificial para la remoción de contaminantes en aguas residuales de tipo doméstico en la localidad de Pastorías, Municipio de Actopan, Veracruz, México. Para ello evaluaron los componentes a emplear con respecto a su abundancia en el sitio, luego se analizó el sitio para la construcción, se realizó el diseño y finalmente se eligieron los materiales de construcción (mezcla de estiércol de vaca con baba de nopal para la base del humedal). De acuerdo a la bibliografía consultada, llegaron a la conclusión de que la remoción de coliformes fecales sería del 95 al 99 %, esto a partir del empleo de grava como medio de soporte y plantas ornamentales, elegidas como policultivos porque han demostrado una mayor eficiencia de remoción.

En el siguiente caso, se analizan los procesos de remoción de contaminantes en las aguas pluviales, las cuales fueron tratadas en un humedal artificial (HA) horizontal de flujo subsuperficial en combinación con un sedimentador, ubicado en la Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. El objetivo fue evaluar la eficiencia de remoción de patógenos, para poder reusar el agua tratada dentro de la universidad. Los resultados indicaron que este tipo de sistema si efectuó una remoción de coliformes. La concentración disminuyó conforme el afluente atravesaba por el sedimentador, sin embargo, los autores indicaron que hubo una mayor remoción en la entrada y a un tercio del humedal. Se concluye que el sustrato influye positivamente en la remoción de patógenos, porque promueve el ambiente idóneo para que se llevan a cabo procesos biológicos que contribuyen en reducir la cantidad de patógenos presentes en el afluente (Corrales, Rodríguez y Lara-Borrero, 2014).

En este otro caso, los autores evaluaron tres sistemas híbridos de humedales artificiales a escala piloto con el objetivo de comparar sus eficiencias para la remoción de microorganismos patógenos, los indicadores que eligieron medir fueron los coliformes totales y la *Escherichia coli*. Con respecto a los sistemas, los primeros integraban un HA de flujo subsuperficial horizontal, además de lagunas de estabilización y un HA de flujo subsuperficial vertical, respectivamente. El último, consistió en un HA de flujo subsuperficial vertical acompañado de HA de flujo subsuperficial horizontal. Se usó vegetación ornamental, *Zantedeschia aethiopica* en los HA de flujo subsuperficial horizontal y *Strelitzia reginae* en los de tipo vertical.

El estudio se llevó a cabo en el Centro Universitario de la Ciénega, estado de Jalisco, México. Los resultados obtenidos demostraron un porcentaje de remoción por encima del 90 % para coliformes fecales (Zurita Martínez *et al.* 2015).

Por último, a través de su trabajo los autores del Instituto Mexicano de Tecnología de Agua (IMTA), determinaron la influencia que tiene una tubería de aireación en la remoción de coliformes fecales de un agua residual doméstica por medio de un HA de flujo subsuperficial vertical a escala piloto, con alimentación intermitente. Este sistema consiste en dos celdas, con un área superficial de tratamiento de 5 m² y un tiempo de retención hidráulico de siete días. El medio de soporte consta de tres capas de material rocoso con alturas de 30, 20 y 20 cm (ascendente), con diámetros de 2, 5 y 20 mm, respectivamente. Las plantas empleadas fueron del género *Scirpus ssp.* Con respecto a los resultados, se concluyó que los coliformes fecales se eliminan eficientemente en estos tipos de sistemas, se alcanzaron remociones del 99.99 % (Hurtado, Segura y Vásquez, 2016).

III. MARCO EPISTÉMICO

El entorno es el medio en el que el ser humano se desarrolla a partir su existencia, y desde entonces mantiene el interés por comprender todo lo que lo rodea. Lo anterior lo ha llevado a la búsqueda de respuestas que contesten a diversas interrogantes filosóficas, una de ellas es: ¿cómo conocemos?

La acción de conocer se basa en la interacción que se crea entre un sujeto y un objeto. Por consiguiente, al conocer un objeto lo primero es percibirlo mediante los sentidos, con la finalidad de que el sujeto establezca un vínculo cognitivo, enseguida la imaginación se hace presente y posteriormente, la memoria del sujeto almacena la información necesaria que le permita asociar al objeto como lo que ha percibido y finalmente, poder alcanzar una comprensión del objeto que mentalmente ahora posee, lo que da como resultado un nuevo conocimiento.

Se distinguen dos fuentes mediante cual los humanos originan el conocimiento, una de forma inconsciente y la otra consciente. La primera, el empirismo, aquí el sujeto obtiene conocimientos gracias a las experiencias vividas, es decir, de forma empírica con base a la percepción cognitiva; y la segunda, el racionalismo, el cual se caracteriza porque los conocimientos son obtenidos por la razón, en esta el sujeto es capaz de analizar al objeto a partir de su raciocinio, por encima de su percepción cognitiva (Nava Bedolla, 2017).

Por lo tanto, un trabajo de investigación estará mejor fundamentado si antes de comenzar a desarrollarlo, se establece el marco epistémico sobre el cual estará basado. Lo anterior direcciona a que como investigadores se cuestione el modo de generar conocimientos científicos. Es por ello, que establecer el marco epistémico permite definir el ambiente cognoscente en el que se desenvolverá el desarrollo de la investigación (García, 2001).

Cabe aclarar, que la cantidad de conocimientos que es capaz de adquirir el ser humano es infinita, y resultaría complicado estudiar de forma general los conocimientos que se pueden adquirir, tomando en cuenta de que dichos conocimientos corresponden a maneras distintas de percepción y comprensión. Así es que, para poder crear conocimientos científicos, es fundamental que se establezca el objeto de estudio y posteriormente la relación sujeto-objeto.

Para fines del presente trabajo, la idea central del tema es en tratamientos de aguas residuales, sin embargo, el objeto de estudio son los microorganismos patógenos que se encuentran en las

descargas de agua residual antes y después de atravesar por un humedal artificial como tratamiento biológico. Por lo tanto, por tratarse de un tema de ingeniería ambiental, dicha investigación es completamente idealista, porque de acuerdo a Cruz Bautista *et al.* (2017), se trata de dar respuesta a como se dan fenómenos que propician una acción, de forma objetiva y racional. Por lo tanto, después de analizar esta propuesta de investigación con respecto a las generalidades de las diferentes corrientes filosóficas existentes, se concluye que el proyecto a desarrollar está situado en la línea galileana.

De manera que, se determina que la postura epistémica principal del presente trabajo es el racionalismo, porque se fundamenta en aplicar el uso de la razón como principal característica. Los resultados que se obtendrán serán tanto cuantitativos como cualitativos y los métodos que se emplearán para la obtención de estos resultados, darán respuestas verdaderas sobre lo que se está investigando. Además, esta postura se basa en cuatro aspectos matemáticos: la evidencia, el análisis, la deducción y la comprobación, los cuales se aplicarán por completo en el desarrollo de esta investigación (CGJordán, s.f.).

Así mismo, la investigación estará fundamentada en otras dos posturas epistémicas, el positivismo y el funcional-estructuralismo. La primera, porque en el proyecto se analizarán los hechos que sean resultado de la aplicación del método científico y porque se demostrará algo que existe. Por lo que se refiere al funcional-estructuralismo, es porque esta postura tiene como principal característica la importancia del funcionamiento del sistema por encima de su estructura, por lo que en la investigación se analizarán los procesos que se llevan a cabo en el humedal artificial (sistema) los cuales constituyen su funcionamiento para remover contaminantes del agua residual.

Por último, conocer las posturas epistemológicas de todo trabajo de investigación resulta enriquecedor, porque brinda un panorama sobre los medios por los que se está adquiriendo el aprendizaje para poder hacer ciencia.

IV. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

4.1 Agua

El agua es una sustancia formada por dos moléculas de hidrógeno y una de oxígeno, es abundante en el planeta ya que este está conformado por tres cuartas partes de agua. En el cual, el 95.5 % corresponde a agua salada y solo el 2.5 % es agua dulce, sin embargo, de este último porcentaje, solo el 1 % está disponible para consumo, a través de ríos, manantiales y aguas subterráneas, la diferencia se encuentra en estado sólido (Nuñez Pungaña, 2015).

En los cuerpos de agua superficiales se añaden de forma natural diversos elementos, como compuestos químicos, sales, minerales, entre otros, además de estar presentes variedad de microorganismos. Por lo que, de manera natural se llevan a cabo procesos físicos, químicos y biológicos que proporcionan las condiciones idóneas para que exista una dinámica de equilibrio natural. Sin embargo, las descargas de aguas residuales sin previo tratamiento pueden llegar a modificar la composición química natural de los cuerpos de agua, lo que conlleva a que se vea alterado su dinámica natural, y como resultado una disminución en la disponibilidad de agua potable (SEMARNAT, 2015).

4.2 Aguas residuales

Las aguas residuales (AR) son aquellos líquidos provenientes de las diversas actividades humanas, tales como: domésticas, industriales, agrícolas, entre otras. Suelen tener una coloración oscura acompañada de olor desagradable, esto es ocasionado por la presencia de diversos contaminantes químicos, físicos y biológicos, que afectan la composición natural del recurso hídrico y, por consiguiente, disminuye la disponibilidad para el consumo del mismo. Por eso es importante aplicarle tratamientos a las AR con el objetivo de depurar los contaminantes presentes, para que cuando el AR tratada sea descargada no cause alteraciones al cuerpo de agua receptor y sus alrededores (Nuñez Pungaña, 2015).

4.2.1 Aguas residuales domésticas

Las AR domésticas son aquellas que resultan de las actividades domésticas cotidianas. Estos desechos presentan una composición variada, pero contienen principalmente materia orgánica, grasa, detergentes y microorganismos patógenos, las escuelas generan AR con estas características (Egoavil, 2018; Nuñez Pungaña, 2015).

4.2.2 Problemática de las aguas residuales domésticas

El aumento en el consumo del agua potable para cubrir las necesidades diarias, ocasiona que exista también un incremento en la generación de las AR. Por tanto, cuando son vertidas sin previo tratamiento, repercuten en la calidad del cuerpo receptor, lo que provoca efectos negativos en los ecosistemas y representan un riesgo a la salud de la población que utiliza el agua para consumo o uso.

En México, con relación a la identificación del grado de contaminación y con el objetivo de determinar el tipo de tratamiento más apropiado que permita obtener un AR tratada con la calidad apropiada para su descarga o reutilización, se utilizan varios parámetros químicos, físicos y biológicos, los cuales se encuentran expresadas principalmente en la siguiente normatividad mexicana oficial vigente: NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997 (Castañeda Villanueva y Flores López, 2013).

4.3 Contaminación microbiológica del agua

El agua puede transmitir enfermedades entéricas ocasionadas por agentes patógenos. Los patógenos son microorganismos que provienen de las heces de los humanos y animales. Por lo que estos patógenos se podrían ingerir a través del agua o alimentos contaminados por heces, lo que ocasionaría enfermedades intestinales (Mondaca y Campos, 2014). Los principales microorganismos patógenos transmitidos a través de las AR incluyen bacterias, virus, protozoos y helmintos (Pullés, 2014), en la Tabla 1 se muestran las principales características epidemiológicas de los patógenos.

Tabla 1

Características epidemiológicas de los patógenos.

| Microorganismos | Tamaño (mm) | Persistencia en el medio ambiente (20-30 °C) | Resistencia a la desinfección con cloro | Multiplicación fuera del huésped humano |
|-------------------|------------------|--|---|---|
| Bacterias | 0.001 - 0.005 | 1 – 3 meses | No | No |
| Protozoos | 0.005 - 0.01 | < 30 días | Si | No |
| Virus | 0.00001 – 0.0003 | Meses | Si | No |
| Helmintos* | - | - | - | Si |

Nota. *Pueden llegar a sobrevivir en agua o suelo durante varios meses. (Delgadillo *et al.*, 2010).

4.3.1 Bacterias

Las bacterias son organismos unicelulares de diversas formas (cocos, bacilos y espirilos), y su tamaño y forma de vida depende de la especie y del medio en el que habitan. Las bacterias entéricas son las más abundantes en las AR, debido a que provienen de la materia fecal. Estas bacterias provienen del tracto intestinal por lo que, al entrar en contacto con el agua sus condiciones para reproducirse y sobrevivir se ven reducidos (Delgadillo et al., 2010). En la Tabla 2 se describe la clasificación de las bacterias con base a su forma de nutrición y características de su medio y en la Tabla 3 se presentan las principales bacterias patógenas transmitidas a través del agua residual.

Tabla 2

Clasificación de las bacterias.

| Clasificación | Tipo | Características |
|--|--------------|---|
| Según su forma de nutrición | Parásitas | Eligen como huésped al hombre o animales, son patógenas y producen enfermedades. Ejemplos: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonellas sp</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , etc. |
| | Saprófitas | Se alimentan de sólidos orgánicos residuales. Ejemplos: nitrobacter, nitrosomas, sulfato-reductoras, etc. |
| Según las características del medio donde habitan | Aerobias | Necesitan oxígeno originario del agua para alimentación y respiración; esta agua carece de mal olor. |
| | Anaerobias | Consumen el oxígeno originario de los sólidos orgánicos e inorgánicos. |
| | Facultativas | Bacterias aerobias y anaerobias que pueden adaptarse al medio opuesto. |
| | Autótrofas | Pueden alimentarse a partir de sustancias minerales como CO ₂ , SO ₄ ⁻² , PO ₄ ⁻² , etc., a partir de la luz toman la energía necesaria para sus procesos. |

Nota. Delgadillo *et al.*, 2010.

Tabla 3

Principales bacterias patógenas en las aguas residuales.

| Bacterias | Fuente de las heces | Periodo de incubación | Enfermedad |
|-----------------------------|---------------------|-----------------------|--|
| <i>Escherichia Coli</i> | Hombre | 1 – 6 d | Diarrea, vómito, dolor abdominal |
| <i>Salmonella spp.</i> | Hombre, animales | 8 – 48 h | Diarrea acuosa |
| <i>Salmonella typhi</i> | Hombre, animales | 7 – 28 d | Fiebre tifoidea, tos, náusea, dolor de cabeza, vómito, diarrea |
| <i>Salmonella paratyphi</i> | Hombre | 7 – 28 d | Fiebre paratifoidea |
| Otras salmonellas | Hombre | - | Intoxicación |

Nota. Adaptado de Delgadillo *et al.*, 2010; Mondaca y Campos, 2014; OMS, 2008; OMS, 2014.

Tabla 3

Principales bacterias patógenas en las aguas residuales.

| Bacterias | Fuente de las heces | Periodo de incubación | Enfermedad |
|--------------------------------------|---------------------|-----------------------|---|
| <i>Shigella spp.</i> | Hombre | 1 – 7 d | Disentería bacilar, fiebre alta, síntomas tóxicos |
| <i>Vibrio cholerae</i> | Hombre | 9 – 72 h | Cólera |
| Otros vibrios | Hombre | - | Diarrea |
| <i>Campylobacter spp.</i> | Hombre, animales | 2 – 5 d | Diarrea y septicemia |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Hombre, animales | 1 – 5 d | - |
| <i>Aeromonas spp.</i> | Hombre | 1 – 7 d | Diarrea, dolor abdominal, náuseas, dolor de cabeza, colitis |
| <i>Leptospira icterohamorrhagiae</i> | Ratas | - | Leptopirosis |

Nota. Adaptado de Delgadillo *et al.*, 2010; Mondaca y Campos, 2014; OMS, 2008; OMS, 2014.

4.3.2 Virus

En los ambientes acuáticos se suelen encontrar variedad de virus, por lo que no suelen emplearse como indicadores de contaminación. No obstante, se han clasificado en tres grupos: enterovirus, virus de hepatitis y virus de gastroenteritis (Delgadillo *et al.*, 2010), en la Tabla 4 se describen los principales.

Tabla 4

Principales virus existentes en las aguas residuales.

| Grupo | Virus | Fuente de las heces | Periodo de incubación | Enfermedad | Forma de transmisión |
|-----------------|-------------------------------------|---------------------|-----------------------|---|-------------------------------|
| Enterovirus | Poliovirus | Hombre | 3 – 14 d | Diarrea, fiebre, | Vía oral-fecal y respiratoria |
| | Echovirus | Hombre | 3 – 14 d | poliomielitis, meningitis, | |
| | Coxsackie | Hombre, animales | 3 – 14 d | enfermedades respiratorias, | |
| | Nuevos virus entericos (adenovirus) | - | - | infección de ojos. | |
| Virus hepatitis | Hepatitis A | Hombre | 15 – 30 d | Cansancio, debilidad muscular, diarrea, vómito e ictericia. | Vía digestiva-fecal |
| | Hepatitis E | Hombre | 16 – 65 d | Hepatitis infecciosa | |

Nota. Adaptado de Delgadillo *et al.*, 2010; Mondaca y Campos, 2014.

Tabla 4

Principales virus existentes en las aguas residuales.

| Grupo | Virus | Fuente de las heces | Periodo de incubación | Enfermedad | Forma de transmisión |
|-----------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------------|--|----------------------|
| Asociados a gastroenteritis | Rotavirus A y B | | 2 – 3 d | | |
| | Astrovirus | Probablemente el hombre | 1 – 4 d | Gastroenteritis aguda, diarrea y vómito. | Vía digestiva-fecal |
| | Calicivirus | | 1 – 3 d | | |
| | Norwalk-like | | 1 – 2 d | | |

Nota. Adaptado de Delgadillo *et al.*, 2010; Mondaca y Campos, 2014.

4.3.3 Parásitos

Los parásitos considerados microorganismos patógenos para el hombre se clasifican en: protozoos y helmintos.

- **Protozoos**

Los protozoarios son organismos unicelulares en forma de quiste, son resistentes a los tratamientos convencionales de AR, por lo que es común encontrarlos en los lodos en las plantas de tratamiento (Delgadillo *et al.*, 2010). En la Tabla 5 se enuncian los principales existentes en las aguas residuales.

Tabla 5

Principales protozoarios existentes en las aguas residuales.

| Parásito | Fuente | Periodo de incubación | Enfermedad |
|-------------------------------|----------------------|-----------------------|--|
| <i>Giardia lamblia</i> | Hombre, animales | 5 – 25 d | Giardiasis |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | Hombre | 2 – 4 sem | Amebiasis |
| <i>Balantidium coli</i> | Hombre, animales | Desconocido | Balantidiasis |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> | Hombre, animales | 1 – 2 sem | Criptosporidiasis |
| <i>Naegleria fowleri</i> | Aguas dulces, suelos | 3 – 7 d | Meningoencefalitis, dolor de cabeza, anorexia, fiebre y vómitos. |
| <i>Acanthamoeba</i> | Agua | - | Abscesos subcutáneo y conjuntivitis. |
| <i>Dracunculus medinensis</i> | Larva | 8 – 14 meses | El parásito surge de la piel, hay presencia de fiebre, náuseas y vómito. |

Nota. Adaptado de Delgadillo *et al.* (2010) y Mondaca y Campos (2014).

- **Helmintos**

Los helmintos son organismos considerados como patógenos entéricos, con la capacidad de permanecer durante mucho tiempo en el suelo y en el medio ambiente. Los nemátodos, tremátodos y cestodos forman parte de este tipo. El contacto con agua contaminada con ellos, puede ocasionar infecciones importantes a la salud (Delgadillo *et al.*, 2010).

4.4 Tratamiento de las aguas residuales

De acuerdo a Semarnat (2015), en México el tratamiento de las aguas residuales (AR) se lleva a cabo mediante procesos físicos, químicos y biológicos, con la finalidad de quitar los principales contaminantes. Posteriormente, la calidad obtenida debe ser la adecuada para que el agua tratada al ser vertida a los cuerpos naturales de agua no cause alteraciones en el medio.

El grado de trata tratamiento requerido para un agua residual depende fundamentalmente de los límites de vertido para el efluente (Ramalho, 2003). En la Tabla 6 se presenta la clasificación de los procesos de tratamiento para las AR.

El alcance del tratamiento para las AR depende de los límites permisibles de vertido en los cuerpos receptores (Ramalho, 2003). De modo que, la finalidad de someter el AR a algún tratamiento es para eliminar: materia en suspensión, microorganismos patógenos, nutrientes como fósforo y nitrógeno, compuestos tóxicos o recalcitrantes y compuestos orgánicos biodegradables. En la Tabla 6 se aprecia la clasificación de los principales procesos de tratamiento de AR.

Tabla 6

Clasificación de los procesos de tratamiento de aguas residuales.

| Tratamiento | Descripción | Tipo de proceso |
|-------------------------------|--|-----------------------------|
| Pretratamiento | Eliminación de sólidos de gran tamaño. | Físico |
| Tratamiento primario | Eliminación de sólidos en suspensión y materia flotante. | Físico-Químico |
| Tratamiento secundario | Eliminación de materia orgánica biodegradable y microorganismos patógenos. | Biológico |
| Tratamiento terciario | Tratamiento específico de acuerdo al uso posterior del agua. | Físico, Químico y Biológico |

Nota. Ramahlo, 2003.

De manera que, las AR domésticas se pueden tratar mediante tratamientos que imiten los procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren de forma natural en el ambiente; así es que este tipo de tratamientos se consideran una mejor opción tecnológica sustentable para comunidades pequeñas, puesto que han demostrado alta eficiencia y sus costos de operación, mantenimiento y construcción son más bajos (Bernal *et al.*, 2003). Razón por la cual, los humedales artificiales (HA), también son llamados como humedales construidos, ha demostrado ser una tecnología alternativa alineada a la sustentabilidad ambiental (Carvajal *et al.*, 2018).

4.5 Humedales artificiales

Los humedales naturales tienen cualidades y funciones beneficiosas para el medio ambiente, especialmente para la sociedad y animales. La función física de estos sistemas se halla en la regulación del ciclo del agua; su función química contribuye a la regulación del ciclo de nutrientes y descomposición de la biomasa; mientras que la función ecológica-biológica de estos sistemas tiene como objetivo estabilizar el ecosistema y retener óxidos de carbono (Rivera Vergara, 2015).

Por otro lado, los humedales artificiales (HA) son sistemas basados en las funciones de los humedales naturales. Los HA son canales que albergan un lecho de sustrato y plantas, el agua fluye a través de ellos y durante esta interacción, se llevan a cabo procesos físicos, químicos y biológicos donde se remueven contaminantes presentes en el agua (Alarcón, 2016).

Son tres los componentes básicos en los que se basa el funcionamiento de los HA:

- 1. Microorganismos**, debido a las actividades bioquímicas de estos.
- 2. Vegetación**, por la liberación de oxígeno a través de sus raíces.
- 3. Sustrato**, es el medio de soporte donde se enraíza la vegetación y al ser granular, funciona como medio filtrante.

Estos componentes en conjunto, permiten que exista una remoción de los contaminantes del agua en el HA. Ya que se elimina materia disuelta y suspendida, y se biodegrada materia orgánica hasta mineralizarse (Delgadillo *et al.*, 2010).

Algunas particularidades de los HA es que son construidos mecánicamente e impermeabilizados para evitar pérdidas de agua, y la elección del tipo de sustrato contribuirá a que se logre un apropiado enraizamiento de la vegetación seleccionada (Carvajal *et al.*, 2018).

Los HA en comparación con otros tipos de tratamientos, son mucho más económicos, requieren poco mantenimiento y son fáciles de operar; por lo que, se sugiere su instalación en comunidades rurales para que puedan tratar sus AR. Se pueden considerar diversos sustratos, en general porosos, y en conjunto con la vegetación remueven contaminantes (Sandoval *et al.*, 2016). Estos sistemas incluso se convierten en un hábitat para la vida silvestre, por lo que son tratamientos que cumplen con la sustentabilidad ambiental (Carvajal *et al.*, 2018).

4.5.1 Aplicaciones de los humedales artificiales

De acuerdo a Mena Sanz *et al.* (2009), las ventajas que impulsan la aplicación de esta tecnología son:

- Tecnología eficaz para eliminar varios contaminantes en el AR: materia orgánica, nutrientes, microorganismos patógenos, metales pesados, por mencionar algunos.
- Los costos de construcción, operación y mantenimiento, son significativamente más bajos en comparación con los sistemas de tratamiento convencionales.
- Podrían funcionar como un tratamiento secundario y/o terciario para la obtención de un agua tratada para reuso.
- Aportan oxígeno de forma natural.
- Tienen la capacidad de soportar fluctuaciones en el caudal y carga de contaminantes.
- Promueve temas de educación ambiental y concientización, debido a que se convierten en un hábitat para fauna silvestre.

A pesar de todos los beneficios antes mencionados, se han identificado algunas desventajas:

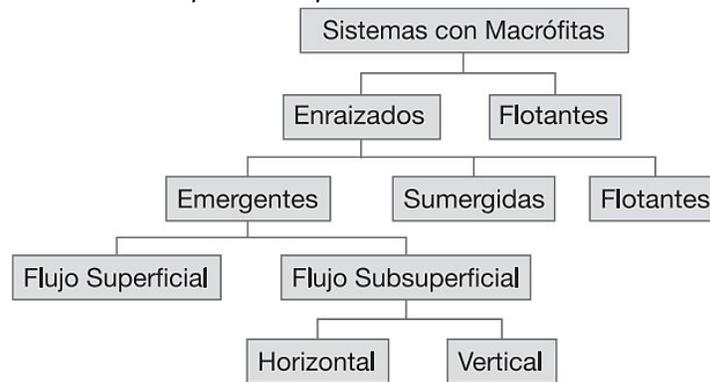
- En los lugares con climas con bajas temperaturas disminuye la eficiencia de remoción, principalmente para remover nitrógeno.
- Se logra solo una poca eliminación de fósforo.
- Su instalación requiere terrenos amplios.
- Cuando el AR tiene cargas orgánicas y de sólidos suspendidos altas, se requiere un pretratamiento.

4.5.2 Clasificación de los humedales artificiales

De acuerdo a Delgadillo *et al.* (2010), los HA se pueden clasificar a partir de la sujeción de la vegetación en el sistema, enraizadas al sustrato o flotantes. Se denominan macrófitas por tratarse de especies que estarán siempre en contacto con agua. En la Figura 1 se describe esta clasificación:

Figura 1

Clasificación de los sistemas de HA a partir del tipo de macrófitas.



Nota. Delgadillo *et al.*, 2010.

Es así que, los HA diseñados para macrófitas enraizadas emergentes se clasifican en dos tipos, esto con base a la circulación del agua:

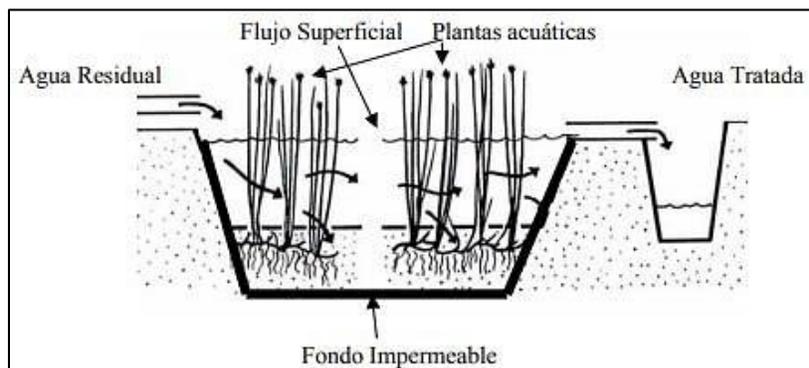
- a. **Humedales de flujo superficial**, cuando el agua transcurre de manera superficial entre los tallos de la vegetación.
- b. **Humedales de flujo subsuperficial**, cuando el agua transita por debajo de la superficie del sustrato del HA. A su vez, este tipo de HA, pueden ser de tipo horizontal o vertical, de acuerdo a la dirección del agua.

4.5.3 Humedales de flujo superficial

En los sistemas de humedales de flujo superficial el agua pasa a través de los tallos de las macrófitas, el fluido está expuesto a la atmósfera y suelen alimentarse con AR tratada en forma continua (Delgadillo *et al.*, 2010; Lara Borrero, 1999). En la Figura 2 se muestra un ejemplo de este tipo de sistema.

Figura 2

Humedal artificial de flujo superficial.



Nota. Mena Sanz *et al.*, 2009.

Por otro lado, se pueden diseñar con la finalidad de funcionar como hábitats para la fauna y flora, principalmente es un espacio para las aves acuáticas, ya que se asemejan a los humedales naturales (Lara Borrero, 1999). A pesar de que suelen diseñarse para vegetación emergente, también pueden sembrarse plantas sumergidas o flotantes (Alarcón, 2016).

4.5.4 Humedales de flujo subsuperficial

Con respecto a los sistemas de humedales de flujo subsuperficial el agua transita a través del medio granular. Aquí, las macrófitas se plantan en el sustrato, por lo que los rizomas y raíces de las plantas están siempre en contacto con el agua (Delgadillo *et al.*, 2010). Esta situación permite que se produzcan zonas aerobias, anóxicas y anaerobias. Las áreas aerobias se encuentran en las zonas más superficiales, ya que existe un mayor contacto con la atmósfera, y alrededor de las raíces y rizomas de la vegetación.

En cuanto a los microorganismos, aquellos que degradan la materia orgánica, van formando una biopelícula alrededor del medio granular y las raíces de las plantas, es así que, entre mayor sea la superficie del área del sustrato, habrá mayor probabilidad de que la densidad microbiana se alta y, por consiguiente, un sistema más eficiente (Mena Sanz *et al.*, 2009).

Cabe resaltar que, este tipo de humedales se suelen diseñar para aplicarse como un tratamiento secundario o avanzado a las AR. Además, una ventaja de este tipo de sistemas es que no propicia la presencia de plagas de insectos, ni olores desagradables, además, son más aptos para climas fríos (Lara Borrero, 1999; Mena Sanz *et al.*, 2009).

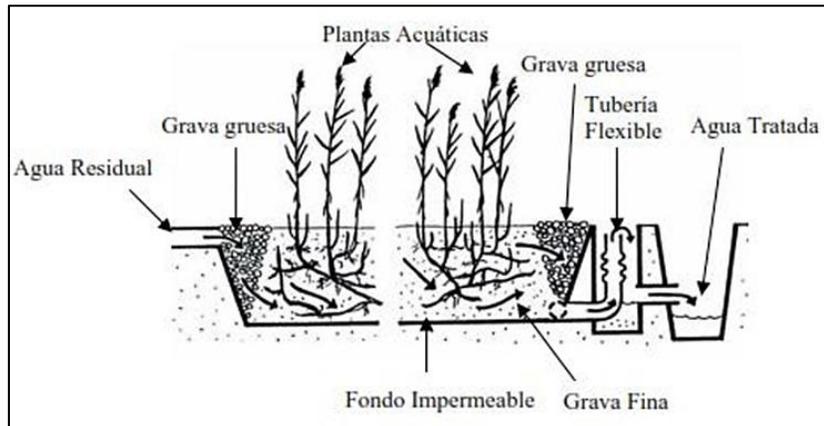
Los humedales de flujo subsuperficial de acuerdo a la alimentación del afluente, pueden ser de dos tipos:

1. Humedal de flujo subsuperficial horizontal

En este tipo de alimentación el agua ingresa por la parte superior de forma continua, luego circula a través del sustrato hasta ser colectada por la tubería hidráulica ubicada en la parte posterior inferior (Delgadillo *et al.*, 2010), en la Figura 3 se ejemplifica lo antes mencionado.

Figura 3

Humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal.



Nota. Mena Sanz *et al.*, 2009.

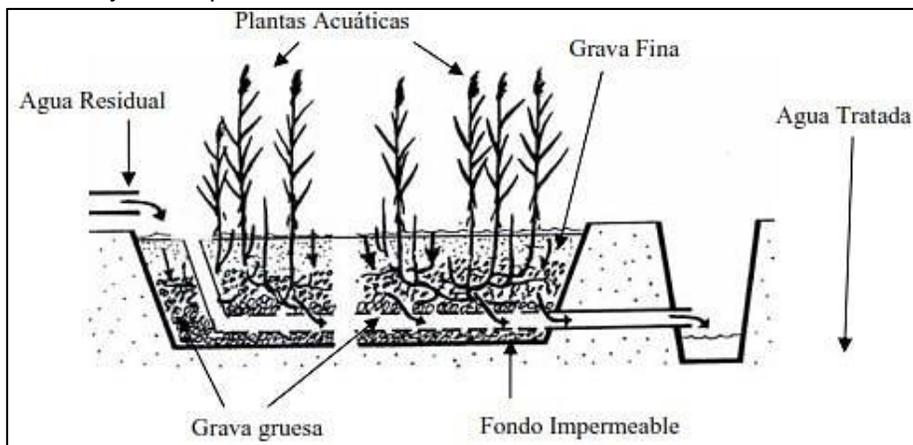
2. Humedal de flujo subsuperficial vertical

Estos sistemas se caracterizan porque el afluente ingresa de arriba hacia abajo, mediante el uso de tuberías, es así que el agua entra de forma vertical al sistema y se infiltra a través del medio granular, al igual que el sistema anterior, el efluente se colecta en la tubería hidráulica situada en el fondo de la parte posterior. Suelen ser alimentados de forma intermitente para promover condiciones aerobias, ver Figura 4.

A diferencia del anterior, en este tipo de humedales la cama de sustrato se constituye en capas y se recomienda emplear variedad de material pétreo, y es así que de arriba hacia abajo se deben de ubicar de mayor a menor diámetro (Delgadillo *et al.*, 2010).

Figura 4

Humedal artificial de flujo subsuperficial vertical.



Nota. Mena Sanz *et al.*, 2009.

Una particularidad de los humedales de flujo subsuperficial es que son sistemas menos costosos, de bajo consumo energético y mantenimiento (Mena Sanz *et al.*, 2009).

4.5.5 Generalidades del diseño de los humedales

El diseño de los humedales artificiales está en función de algunos factores como: el tipo de vegetación a seleccionar, las condiciones climáticas del sitio, las características de la calidad del afluente y efluente, los límites normativos máximos permisibles para descarga o reúso del AR tratada del sitio, entre otros. De manera que, para poder obtener una eficiencia alta en la remoción de contaminantes presentes en el AR a tratar, el diseño del humedal debe considerar los aspectos antes mencionados (Arias y Brix, 2003).

4.5.6 Selección de la especie vegetal

Las plantas deben seleccionarse en función de su adaptabilidad al clima local, su capacidad de transportar oxígeno de las hojas a las raíces, su tolerancia a concentraciones altas de contaminantes, resistencia a insectos de la zona y enfermedades, y también que sean fáciles de manipular (Fernández y Curt, 2000).

Es así que en los HA se han empleado distintas especies de plantas, ya que son un componente fundamental en la depuración de contaminantes, debido a que degradan, absorben y asimilan en sus tejidos materia orgánica y nutrientes, además, proveen la superficie para la formación de biopelículas bacterianas, mantienen las áreas oxigenadas y su presencia controla el crecimiento de algas al limitar el paso de la luz solar (García, López y Torres, 2019; Carvajal *et al.*, 2018).

Cabe resaltar que en países como China, Portugal, Tailandia, Italia y México se ha utilizado esta tecnología para producir plantas ornamentales, ya que el clima tropical o subtropical es favorable para cosecharlas. Son dos los tipos de vegetación ornamental de interés comercial las que se usan en los HA: las plantas hidrófitas y terrestres. Estas últimas con la característica de poder adaptarse a condiciones de inundación. En muchas partes se ha optado por emplear macrófitas ornamentales, porque aparte de depurar el AR le brinda una vista estética y atractiva a estos sistemas (Alarcón, 2016).

4.5.7 Sustrato

La finalidad del sustrato es ser un soporte para la vegetación y un medio para que la población microbiana crezca y forme biopelículas; además, funciona como medio filtrante porque facilita la retención de los sólidos en suspensión (Rowan *et al.*, 2018; García, López y Torres, 2019). La

principal característica del sustrato es que debe ser lo suficientemente permeable para permitir que el agua pase a través de él. Por lo cual se suelen emplear materiales de tipo granular. Finalmente, es importante seleccionar adecuadamente el tamaño de medio granular, ya que puede afectar directamente al flujo hidráulico y, por consiguiente, el caudal de agua a tratar (Delgadillo *et al.*, 2010).

4.5.8 Microorganismos en el humedal artificial

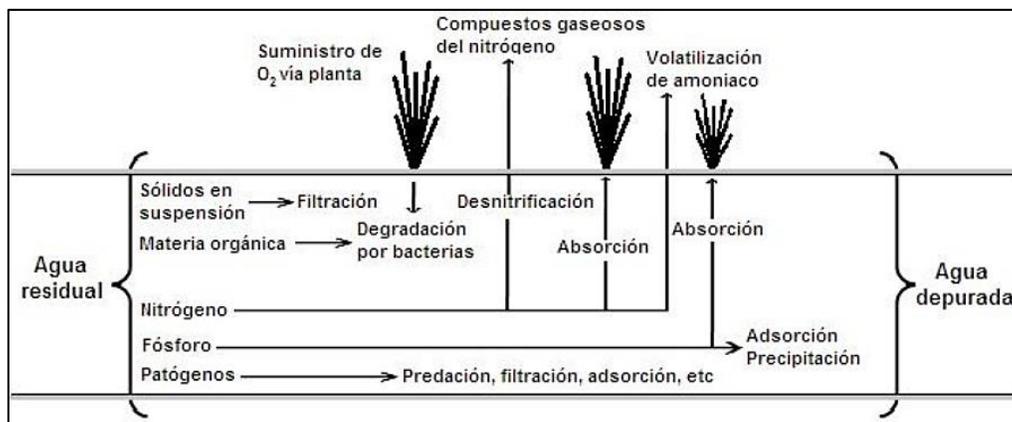
Los microorganismos son los responsables de llevar a cabo el tratamiento biológico, sus principales procesos consisten en degradar la materia orgánica, eliminar nutrientes y elementos trazas y desinfectar el agua. Como se mencionó anteriormente, los microorganismos forman biopelículas alrededor del sustrato, raíces y rizomas de las plantas. En la biopelícula de los HA se encuentran bacterias, hongos y levaduras; está biomasa microbiana tiene la función de transformar un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas e insolubles. Razón por la cual, muchos de los contaminantes se convierten en gases que son liberados a la atmósfera (Delgadillo *et al.*, 2010).

4.5.9 Procesos que intervienen para la remoción de contaminantes

Para que sea posible la remoción de contaminantes y microorganismos patógenos en los HA, deben llevarse a cabo una serie de procesos entre los principales componentes del sistema (vegetación, sustrato y microorganismos), tales como: sedimentación, filtración, adsorción, degradación biológica, fotosíntesis, fotooxidación y asimilación por parte de la vegetación, ver Figura 5 (Hurtado *et al.*, 2016; Lara Borrero, 1999).

Figura 5

Procesos de depuración de los humedales artificiales.



Nota. Adaptado de Lara Borrero, 1999.

En la Tabla 7, Arias y Brix (2003) presentan una comparación de los principales procesos que contribuyen a la degradación de los contaminantes presentes en las AR.

Tabla 7

Procesos que contribuyen a la depuración de las aguas residuales en humedales artificiales.

| Contaminante | Humedal de flujo superficial | Humedal de flujo subsuperficial |
|--|--|--|
| Materia orgánica | Reducción de la DBO soluble por conversión biológica por efecto de bacterias aerobias, facultativas y anaerobias que crecen en la superficie de las plantas y sobre los detritos. La DBO particulada se elimina por absorción, filtración y sedimentación. | Reducción por conversión biológica por intervención de bacterias facultativas y anaeróbicas adheridas a las superficies de las plantas y los detritos del medio de sustrato del humedal. |
| Materia en suspensión | Filtración y sedimentación. | Filtración y sedimentación. |
| Nitrógeno | Procesos de nitrificación / desnitrificación, asimilación por las plantas y volatilización. | Nitrificación / desnitrificación, asimilación por las plantas y volatilización. |
| Fósforo | Reducción por sedimentación y por asimilación por medio de las plantas y microorganismos. | Por filtración, sedimentación, adsorción, por asimilación por parte de las plantas y microorganismos. |
| Metales pesados | Absorción a las plantas, superficie de detritos y por sedimentación. | Absorción a las raíces de las plantas y los detritos, sedimentación. |
| Trazas de contaminantes orgánicos | Volatilización, absorción, biodegradación. | Absorción, biodegradación. |
| Patógenos | Muerte natural, depredación, radiación UV, sedimentación, secreción de antibióticos de las raíces de las plantas. | Por muerte natural, por depredación, sedimentación, secreción de antibiótico desde las raíces de las plantas. |

Nota. Arias y Brix, 2003.

Los HA han demostrado ser efectivos en la remoción de microorganismos patógenos presentes en las AR domésticas y para lograrlo, se involucran distintos mecanismos de remoción (Zurita Martínez *et al.* 2015).

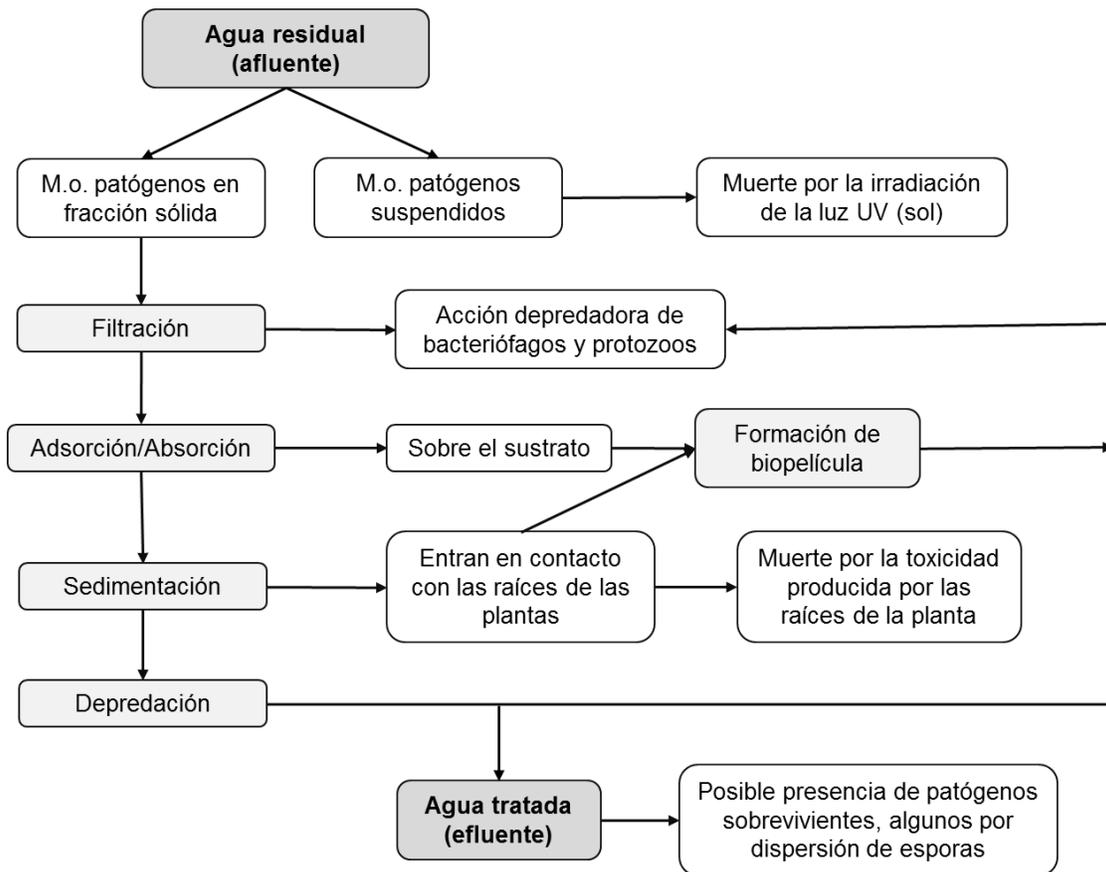
4.6 Mecanismos de remoción de bacterias patógenas en humedales artificiales

Con respecto a las bacterias patógenas, éstas pueden encontrarse en las partículas o en suspensión en el afluente. Cuando están en la fracción de sólidos, estos microorganismos se

separan del agua mediante procesos de sedimentación, intercepción y adsorción/absorción. Posteriormente, las bacterias patógenas una vez separadas pueden quedar retenidas en las biopelículas, sustrato o podrían incorporarse al flujo. En cualquier caso, para sobrevivir deben competir con otros organismos no patógenos y soportar las condiciones ambientales de los humedales. Estas condiciones no resultan ser las adecuadas para ellas, ya que necesitan sustratos abundantes y altas temperaturas por tratarse de microorganismos intestinales. En la Figura 6 se describe un modelo conceptual de los mecanismos de remoción.

Figura 6

Modelo conceptual de los mecanismos de remoción de los microorganismos patógenos.



En conclusión, la mayoría de los microorganismos patógenos no sobrevive por falta de adaptación al medio. Ya que algunos son depredados por otros microorganismos y aquellos cercanos a la superficie, son eliminados por la radiación ultravioleta. Sin embargo, con base a la calidad deseada del efluente, es necesario evaluar si se requiere realizar algún tratamiento de desinfección previo a su descarga o reúso (Fernández y Curt, 2000).

Por otra parte, con la finalidad de conocer la remoción de patógenos en el sistema del HA, se debe de obtener una muestra líquida del afluente y efluente mediante un muestreo microbiológico, luego realizar los análisis microbiológicos de interés a cada una y comparar ambos resultados (Rivera Vergara, 2015).

4.6.1 Evaluación de remoción de bacterias patógenas

Ante la necesidad de conocer la calidad del agua en temas de contaminación microbiológica, se efectúa mediante evaluaciones de indicadores de contaminación fecal aprobados por los estándares internacionales y nacionales, ya que son análisis más sencillos, rápidos, económicos y fiables (Rock y Rivera, 2014). Los microorganismos indicadores más comúnmente utilizados son los coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* (Zurita Martínez *et al.* 2015; Manjarrez *et al.*, 2019).

Los coliformes fecales son microorganismos con una estructura muy similar a la bacteria *Escherichia coli*. La *Escherichia coli* no sobrevive mucho tiempo en agua de mar, pero otros coliformes sí, por lo que suelen reportarse en conjunto y ambos forman un indicador de la contaminación microbiológica de los ríos y las playas. Cuando los niveles de coliformes fecales es baja, indican ausencia de microorganismos patógenos, este análisis es directo y simple de realizar, pero, su presencia en sistemas acuáticos indican contaminación de origen fecal (Mora y Calvo, 2011).

V. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

5.1 Situación problemática

De acuerdo a Anda Sánchez (2017) a nivel global, 2 400 millones de personas carecen de acceso a servicios básicos de saneamiento. Por lo que se estima que a nivel mundial entre 85 y 95 % del agua residual (AR) se descarga directamente a los ríos, lagos y océanos sin recibir tratamiento previo. Lo cual ocasiona un deterioro continuo en ecosistemas acuáticos (Tomasini, Bravo, Sánchez y Moeller, 2016).

Tan solo en México los indicadores de calidad del agua muestran que el 73% de los cuerpos de agua del país presentan algún tipo de contaminación (SEMARNAT, 2012), debido a que sólo entre el 30-40 % de las aguas residuales municipales recibe algún tipo de tratamiento. Lo que significa que entre 60 y 70% de las AR domésticas son vertidas en cuerpos receptores sin ningún tratamiento previo (sobre todo en los países en vías de desarrollo), causando problemas graves de contaminación en los cuerpos de agua (Alarcón, 2016). Como resultado de su contaminación, muchos ecosistemas acuáticos muestran signos evidentes de degradación, lo cual provoca una reducción en cantidad y calidad de sus servicios ambientales e incluso se han visto pérdidas irremediables de su biodiversidad (SEMARNAT, 2015).

Por lo tanto, la falta de garantías en la calidad microbiológica del recurso hídrico hace que la comunidad quede expuesta al riesgo de intoxicarse o contraer enfermedades gastrointestinales de bajo grado y crónicas, así como también enfermedades más agudas como el cólera y la tifoidea (Ríos-Tobón *et al.*, 2017; Zurita Martínez *et al.*, 2015).

Los principales microorganismos que se transmiten a través del AR engloban a las bacterias, virus, protozoos y helmintos. El control de la calidad microbiológica del agua requiere del análisis de microorganismos patógenos (Pullés, 2014). Debido a que el consumo de agua contaminada con material fecal origina consecuencias que pueden ser graves para la salud de los seres vivos (Rock y Rivera, 2014).

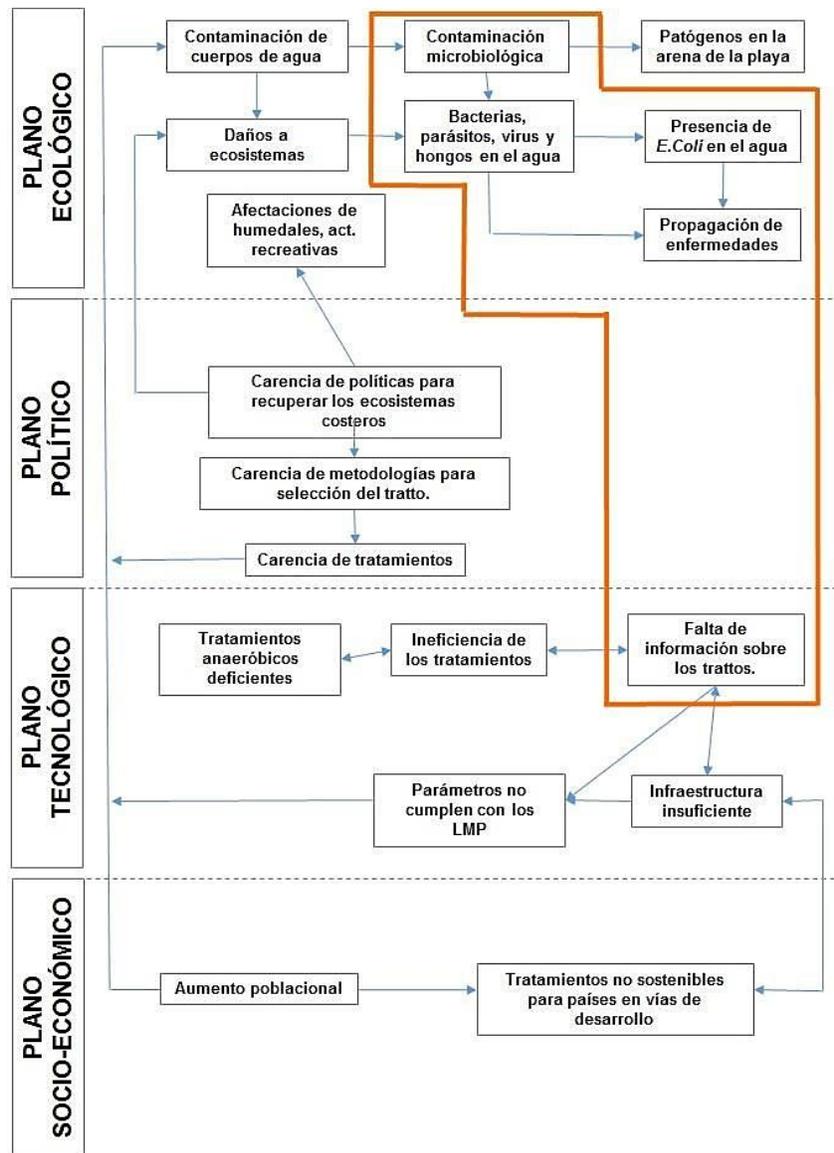
En lo que respecta al saneamiento de las AR de tipo doméstico, México presenta las siguientes deficiencias: falta de infraestructura e información sobre el funcionamiento, operación y mantenimiento de las tecnologías; altos costos de instalación, operación y mantenimiento; la mala adaptación al medio; baja capacidad local de sostenimiento; y la falta de personal capacitado. De ahí que no más del 40 % de las AR domésticas generadas reciban algún tipo de tratamiento, lo

que conlleva a comprometer la calidad y disponibilidad del agua (Castañeda Villanueva y Flores López, 2013; Bernal *et al.*, 2003).

Por esto es necesario desarrollar tecnologías alternas para el tratamiento de aguas residuales domésticas, con eficiencia en la eliminación de contaminantes, a costos accesibles, de fácil instalación, operación y mantenimiento (Castañeda Villanueva y Flores López, 2013). En la Figura 7 se presentan las problemáticas correspondientes a distintos enfoques: socio-económico, tecnológico, político y ecológico. Cabe mencionar que los conceptos dentro del área naranja corresponden a las problemáticas relacionadas con este proyecto de investigación.

Figura 7

Situación problemática de las aguas residuales.



5.2 Planteamiento del problema de investigación

A partir del análisis de la Figura 7, se logra determinar que los planos en los que estuvo situado el desarrollo del proyecto son principalmente en el ecológico y tecnológico. Debido a que, de acuerdo al objetivo general de este proyecto de investigación se planteó un tema relacionado con la contaminación microbiológica en los cuerpos receptores de agua residual.

Debido a que las descargas de aguas residuales sin el tratamiento adecuado representan una fuente de contaminación microbiológica importante, por la alta cantidad de microorganismos patógenos que contienen. Los cuales representan un riesgo sanitario que puede atentar contra la salud pública y del ambiente. Ya que entran en contacto con la biota a través de los cuerpos de agua como ríos, mares, lagos, entre otros y el suelo.

5.3 Vacío del conocimiento

Con base a los resultados reportados por diversos autores, los humedales artificiales han demostrado ser eficientes en la depuración de las aguas residuales domésticas, además, por sus características son una opción viable. Sin embargo, la falta de conocimiento acerca de su funcionamiento, operación, mantenimiento, campo de aplicación y ventajas, limita el aprovechamiento máximo de esta tecnología ambiental.

Por otro lado, los elementos de los componentes que se emplean comúnmente en esta tecnología, podrían sustituirse por materiales alternativos abundantes en las zonas de influencia, con la finalidad de evaluar la eficiencia de depuración de las AR.

5.4 Frontera del conocimiento

Los HA son una alternativa económicamente viable porque sus componentes, sustrato y vegetación, pueden ser variados; esto permite que exista una adaptación acorde a los recursos disponibles. Así es que, esta ecotecnología se presenta como una opción para el tratamiento de las aguas universitarias, las cuales son de tipo doméstico. Es por ello que este sistema de tratamiento fue instalado en el Instituto Tecnológico de Boca del Río, donde se eligieron componentes alternativos como características únicas de diseño.

5.5 Pregunta de investigación

¿Cuál es la eficiencia de un humedal artificial para remover bacterias patógenas de las aguas residuales generadas en el Instituto Tecnológico de Boca del Río durante un periodo de monitoreo establecido?

VI. JUSTIFICACIÓN

En el Instituto Tecnológico de Boca del Río, a través de la implementación de un humedal artificial de flujo subsuperficial con alimentación horizontal (HAFSSH) se tratan las aguas residuales que se generan de las actividades propias de la institución. Este sistema de tratamiento se apega a la cultura de sustentabilidad que promueve el tecnológico, porque su diseño contempla enfoques que abarcan *aspectos ambientales*, al tratarse de una ecotecnia; *sociales*, porque promueve la educación ambiental; y *financieros*, porque los humedales artificiales son considerados una tecnología económicamente viable. Además, los componentes que integran el diseño del humedal son materiales alternativos aunado a los comúnmente reportados en las fuentes bibliográficas. Es por ello que a través del presente proyecto de investigación se evaluó la eficiencia de un HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas, se identificaron los tipos de bacterias patógenas, con la finalidad de determinar si el sistema es eficiente con base a la influencia de sus componentes y condiciones climatológicas del sitio. Al comprobar lo anterior, se mejoraría la calidad microbiológica del efluente del instituto, lo que podría brindar cumplimiento normativo ambiental, en descarga o reúso del efluente. Además, serviría como un modelo experimental que podría ser adaptado para tratar las aguas residuales en otras instituciones.

VII. HIPÓTESIS

7.1 General

La eficiencia de un humedal artificial en la remoción de bacterias patógenas estará en función del diferencial de entrada y salida, de los componentes del sistema y de la influencia de las temporadas climatológicas.

7.2 Operacionalización de la hipótesis

$$E.R = f [(CBP_A - CBP_E) + CC + C_{HA}]$$

7.2.1 Variables dependientes

E.R. = Eficiencia de remoción.

Para el análisis de esta variable, la eficiencia de remoción de bacterias patógenas será el indicador que proporcione los resultados a partir de la determinación de coliformes totales y fecales.

7.2.2 Variables independientes

CBP_A = Concentración de bacterias patógenas en el afluente

CBP_E = Concentración de bacterias patógenas en el efluente

CC = Condiciones climatológicas

C_{HA} = Componentes del humedal artificial

Los indicadores que proporcionarán la información correspondiente para el análisis de las variables son: el índice de remoción de bacterias y tipo de patógenos.

Además, se realizará la determinación de otros parámetros con la finalidad de poder comprender los resultados antes mencionados, tales como: temperatura del agua y ambiente, pH, conductividad eléctrica, coliformes totales, coliformes fecales y la caracterización fenotípica de las bacterias.

VIII. OBJETIVOS

8.1 Objetivo general

Evaluar la eficiencia de un humedal artificial en la remoción de bacterias patógenas de acuerdo a la influencia de las temporadas climatológicas y los componentes del sistema.

8.2 Objetivos particulares

1. Determinar la concentración e identificar las bacterias patógenas en los diferentes sitios del sistema.
2. Estimar la eficiencia del humedal artificial en la remoción de las bacterias patógenas.
3. Analizar la influencia de las temporadas climatológicas y componentes del sistema sobre la presencia de bacterias patógenas.
4. Comparar los resultados obtenidos en la remoción de bacterias patógenas con la referencia establecida en los límites máximos permisibles en la NOM-001-SEMARNAT-1996.

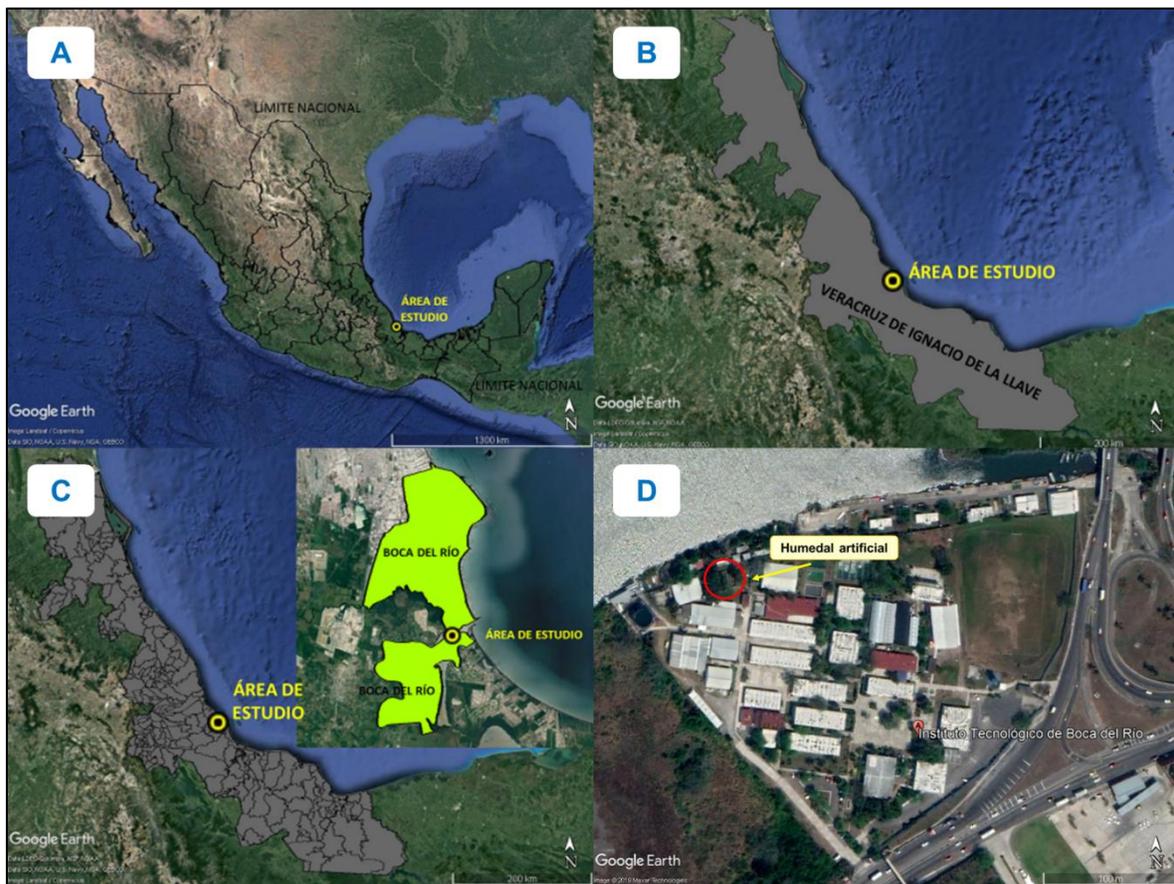
IX. MATERIALES Y MÉTODOS

9.1 Área de estudio

El proyecto se desarrolló dentro de las instalaciones del Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Boca del Río (ITBOCA), ubicado en la Carretera Veracruz-Córdoba Km 12, C.P. 94290, municipio de Boca del Río, estado de Veracruz. El municipio de Boca de Río está situado en la costa del Golfo de México en la desembocadura del Río Jamapa, cuenta con un clima cálido-regular con una temperatura promedio de 25 °C y precipitación pluvial media anual es de 1,694 mm (Gobierno del Estado de Veracruz, 2021), ver Figura 8.

Figura 8

Ubicación geográfica del proyecto de investigación: A. Macrolocalización, México, B. Estado de Veracruz, C. Municipio de Boca del Río y D. Microlocalización, ITBOCA.



Nota. ArcGis y Google Earth Pro, 2020.

9.2 Descripción del humedal artificial

El humedal artificial (HA) se construyó como un sistema de flujo subsuperficial con alimentación tipo horizontal (HAFSSH), en un área de construcción de 157 m², con un área superficial de 139 m² y una pendiente de 1.5 %. Consta de siete celdas como tren de tratamiento que albergan el sustrato y la vegetación respectiva a las características del diseño arquitectónico y de funcionamiento (Amaya, 2019), ver Figura 9. Se diseñó para tratar un volumen de 60 m³ de agua residual, lo que corresponde a 31.5 m³/d de caudal de tratamiento, con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de tres a cuatro días.

Figura 9

Diseño del humedal artificial: A. Vista en planta y B. Perspectiva de vista lateral.



Nota. Amaya, 2019.

En cada celda se colocaron 0.6 m de altura de sustrato y se sembró vegetación de tipo ornamental. Los primeros se seleccionaron con base a las características físicas, químicas, disponibilidad e innovación; y los segundos, acorde a su eficiencia, adaptación, estética, disponibilidad y valor comercial (Amaya, 2019; Lara, 2020). En la Tabla 8 y Figura 10 se muestra los detalles de lo mencionado.

Tabla 8

Distribución del sustrato como componente del HAFSSH.

| Celda | Sustrato (de arriba hacia arriba) | Altura del sustrato | Vegetación ornamental | | |
|-------|--|---------------------------|--|--|------------------------|
| | | | Nombre común | Nombre científico | Tipo de macrófitas |
| 1 | Tezontle Caracol | 40 cm 20 cm | Cañas de India | <i>Canna indica</i> | Enraizada emergente |
| 2 | Tezontle Concha de ostión Caracol | 30 cm 10 cm 20 cm | Hawaiana | <i>Alpinia purpurata</i> | Enraizada emergente |
| 3 | Tezontle Pet Tezontle | 15 cm 30 cm 15 cm | Hoja elegante Avecilla | <i>Xanthosoma robustum</i> <i>Heliconia psittacorum</i> | Enraizada emergente |
| 4 | Tezontle | 60 cm | Papiro Cola de caballo | <i>Cyperus papyrus</i> <i>Equisetum arvense</i> | Enraizada emergente |
| 5 | Tezontle | 40 cm | Lechuga de agua | <i>Pistia stratiotes</i> | Flotante |
| 6 | Tezontle | 60 cm | Iris germaica Cuna de moisés Pasto peninsetum Crossandra Ruellia | <i>Iris germanica</i> <i>Spathiphyllum wallisii</i> <i>Pennisetum purpureum</i> <i>Crossandra</i> <i>Ruellia brittoniana</i> | Enraizada emergente |
| 7 | Tezontle | 60 cm | Papiro Ruellia Pasto peninsetum Amaranto | <i>Cyperus papyrus</i> <i>Ruellia brittoniana</i> <i>Pennisetum purpureum</i> <i>Amaranthus</i> | Enraizada emergente |

Nota. Volumen del sustrato = 67.15 m³ Tezontle + 7.00 m³ Pet + 7.00 m³ Caracol + 2.25 m³ Concha de ostión = 83.40 m³ Total

Figura 10

Colocación de sustratos en el sistema: A. PET, B. Concha de ostión y caracol, C y D. Tezontle.



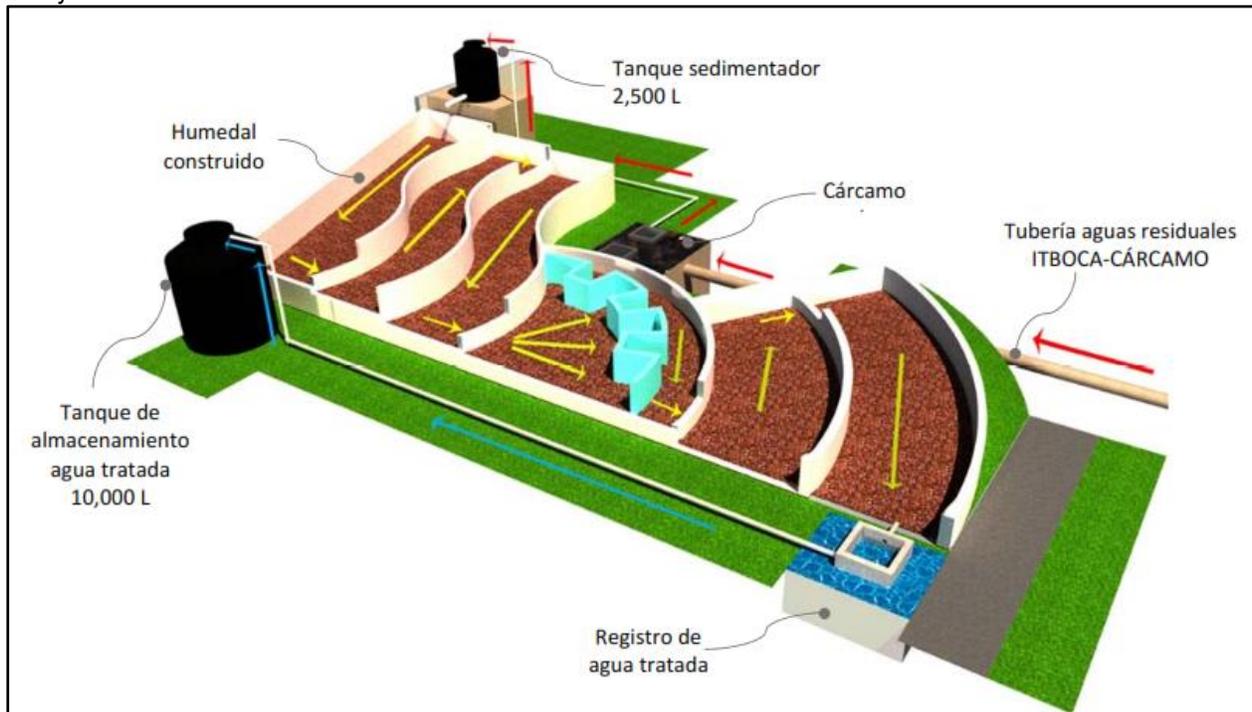
Nota. Amaya, 2019.

Lo que respecta a la alimentación del HAFSSH, se colocó un tanque de 2 500 L de capacidad a un costado del mismo, allí se bombean y almacenan las aguas residuales (AR) originadas en el instituto, cómo se mencionó anteriormente, son AR de tipo doméstico generadas en las diversas actividades de la institución, como: sanitarios, oficinas, cafetería, laboratorios y pluviales. Cabe mencionar que, en este recipiente se lleva a cabo un pretratamiento del AR, debido a que funciona como un sedimentador para las partículas de mayor peso; además, cuenta con una malla que permite atrapar los sólidos de mayor tamaño, como plásticos, hojas, entre otros.

La trayectoria del AR dentro del HAFSSH corresponde a 80 m lineales, este recorrido se logra gracias a la fuerza de gravedad. En cuanto al efluente final, se almacena en un tanque de capacidad de 1 100 L para ser bombeada a un tanque de almacenamiento con capacidad de 10 000 L. Actualmente, el agua tratada es descargada en las inmediaciones del Río Jamapa, sin embargo, no se descarta la posibilidad de reutilizarla más adelante en sanitarios y riego ver Figura 11.

Figura 11

Dibujo isométrico del humedal artificial.



Nota. Amaya, 2019.

El HAFSSH, comenzó a funcionar el 17 de diciembre de 2019 y se consideraron tres meses como periodo de maduración, los cuales estuvieron monitoreados por Lara (2020). Transcurrido este tiempo, se dio inicio a la etapa de operación. En las Figuras 12, 13 y 14 se puede apreciar el crecimiento y adaptación de la vegetación ornamental a las condiciones de operación del sistema.

Figura 12

Humedal artificial durante el periodo de maduración.



Figura 13

Humedal artificial durante el periodo de operación.



Figura 14

Vista lateral del humedal artificial durante el periodo de operación.

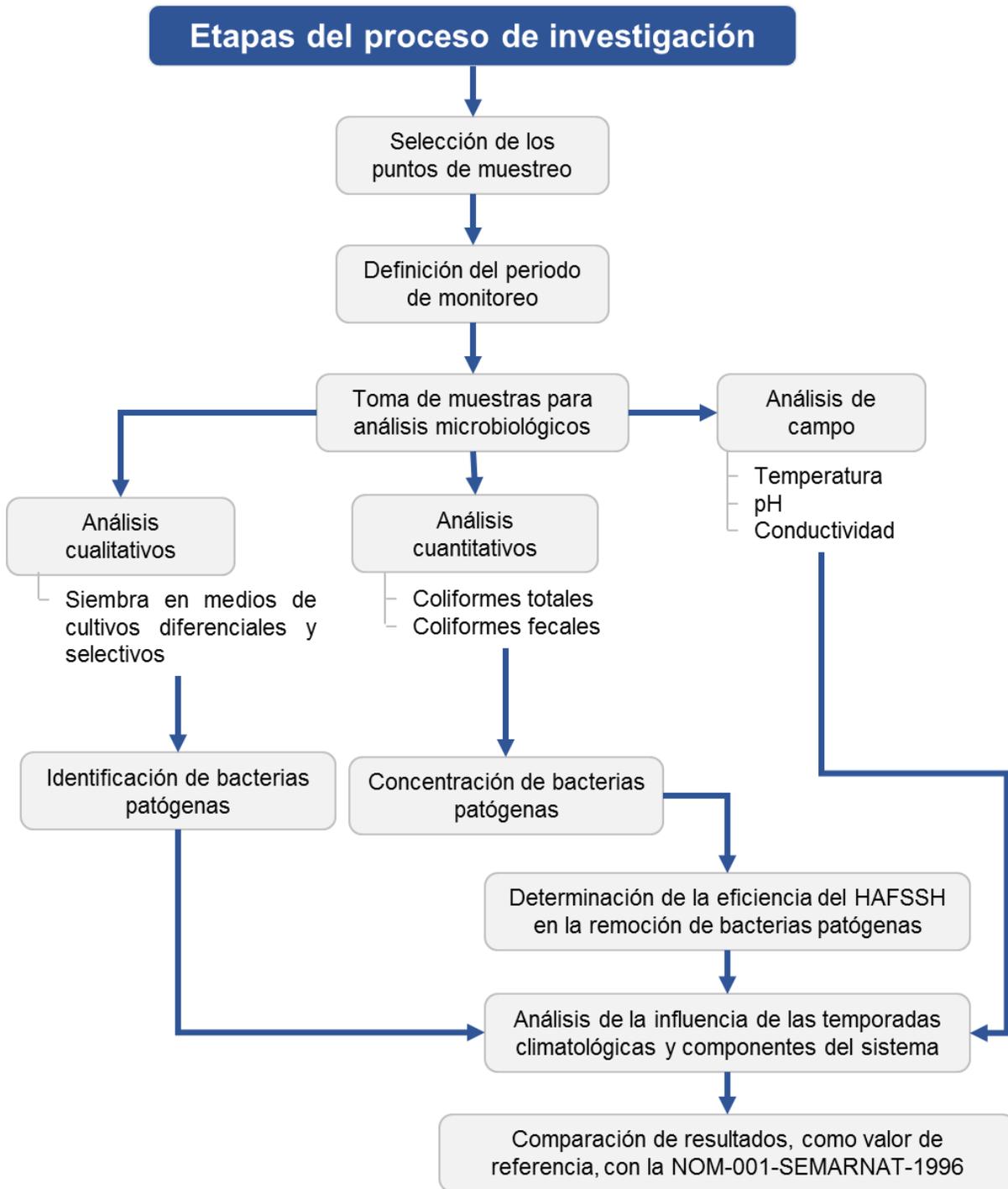


Con la finalidad de dar cumplimiento a los objetivos del presente proyecto de investigación, se evaluó la calidad microbiológica del afluente y del efluente con respecto a la concentración e identificación de las principales bacterias patógenas en los diferentes sitios del HAFSSH. Además, se tomó lectura de otros parámetros que podrían influir en las concentraciones de estos microorganismos. Lo anterior se determinó mediante análisis cuantitativos y cualitativos durante las tres temporadas climatológicas que acontecen en Boca de Río, Veracruz: estiaje, lluvia y norte.

En la siguiente figura, Figura 15, se muestran las etapas del proceso de este proyecto de investigación, la cual será descrita a lo largo de este apartado:

Figura 15

Esquema del proceso del proyecto de investigación.

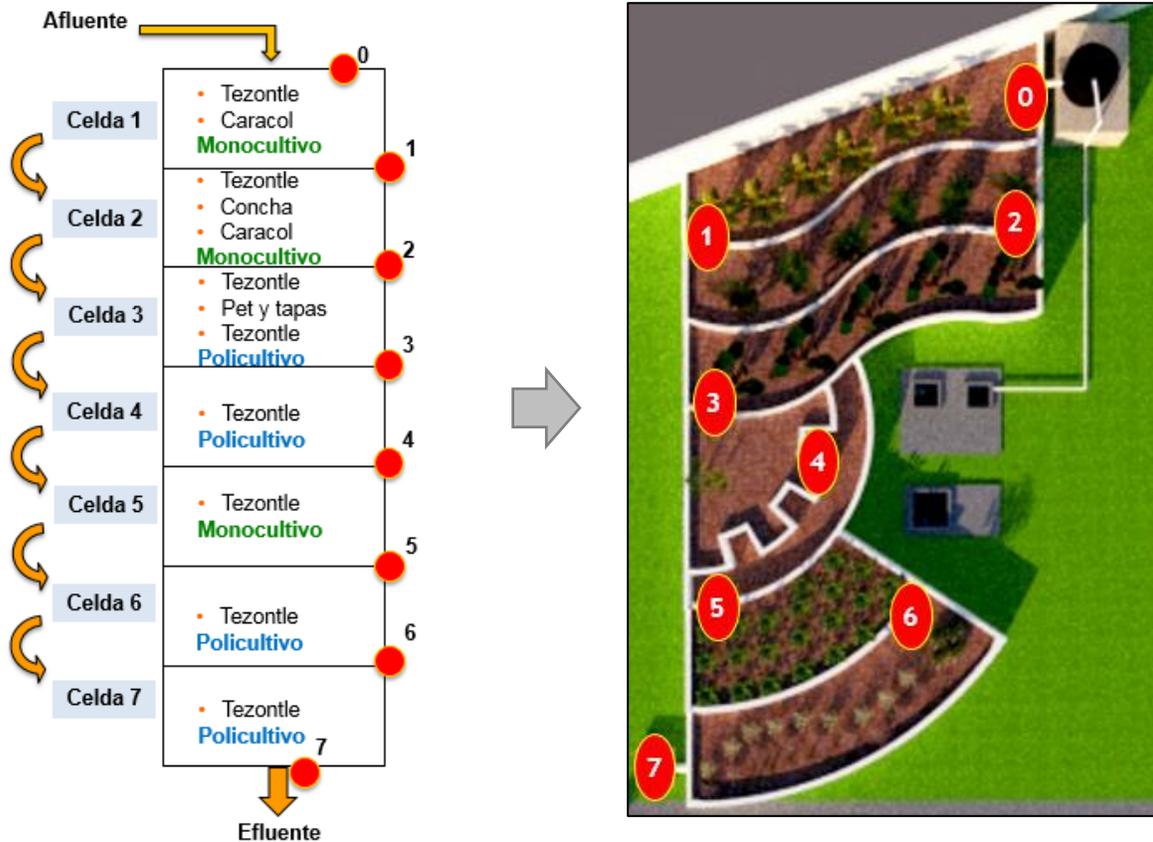


9.3 Selección de los sitios de muestreo

Con respecto a los sitios de muestreo del humedal artificial de flujo subsuperficial con alimentación horizontal (HAFSSH), se determinó como criterio principal la distribución de los componentes, por lo que se eligieron las entradas y salidas de flujo como sitios de monitoreo, lo que dio un total de ocho sitios de muestreo, ver Figura 16.

Figura 16

Sitios de muestreo con respecto a la distribución de los componentes.



Nota. Adaptado de Amaya, 2019.

Por lo tanto, los sitios fueron: **0**. Afluyente de alimentación, **1**. Salida de la celda uno, **2**. Salida de la celda dos, **3**. Salida de la celda tres, **4**. Salida de la celda cuatro, **5**. Salida de la celda cinco, **6**. Salida de la celda seis y **7**. Efluente del sistema.

9.4 Monitoreo

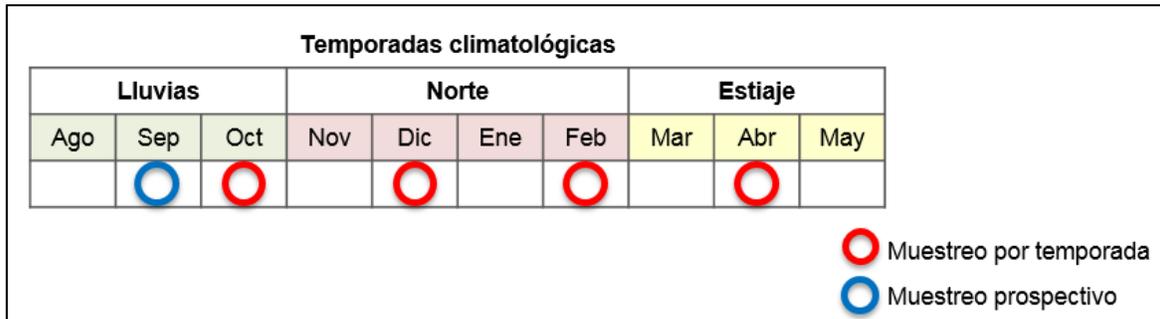
Se determinó que el componente ambiental era de tipo temporal, ya que el monitoreo se llevó a cabo al considerar las temporadas climatológicas que acontecen en Boca de Río: lluvia, norte y estiaje. Inicialmente se había considerado realizar los muestreos dentro de un periodo que

incluyera el inicio de la etapa de operación (marzo 2019), sin embargo, derivado de la emergencia sanitaria por COVID-19, el periodo de monitoreo se estableció de agosto 2019 a mayo 2020.

En total se realizaron cuatro muestreos con frecuencia de dos meses, lo que dio lugar a la obtención de 72 muestras para análisis cuantitativos y 64 para cualitativos, ver Figura 17. Dentro de este periodo, se llevó a cabo un muestreo prospectivo con la finalidad de tener una perspectiva del comportamiento de los parámetros en el sistema.

Figura 17

Periodo de monitoreo por temporadas climatológicas.



9.5 Toma de muestras para análisis microbiológico

Las muestras se manejaron con base al tipo de análisis a determinar, cuantitativo o cualitativo. Es así que para la recolección, almacenamiento y transporte de las muestras se siguieron los principios descritos en el Libro de Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales de APHA-AWWA-WPCF (1992) y en la NMX-AA-042-SCFI-2015.

De manera general, se usaron guantes, cubrebocas y cubrecalzados para evitar alguna posible contaminación de las muestras. Además, los recipientes donde se colectaron las muestras no se destaparon hasta el momento en que cada una fue recolectada, esto con la finalidad de mantener un correcto manejo de las muestras.

9.5.1 Muestreo para análisis cuantitativos

Se recolectaron muestras simples de 100 ml en bolsas estériles previamente etiquetadas, los sitios de muestreo 0 y 7 del sistema se obtuvieron de forma directa, sin embargo, el resto de las muestras se recolectaron mediante el empleo de pipetas volumétricas esterilizadas, debido a la poca profundidad del flujo, ver Figura 18.

Las muestras se transportaron en una hielera al Laboratorio de Investigación y Recursos Acuáticos (LIRA) para su recepción en el área de siembra para su pronto procesamiento, por lo que no requirieron someterse a refrigeración.

Figura 18

Toma de muestra simple para análisis cuantitativos: **A.** Directa del flujo y **B.** Mediante el uso de pipeta volumétrica.



9.5.1 Muestreo para análisis cualitativos

Por otro lado, para la toma de muestras para análisis cualitativos se realizó mediante la impregnación dos hisopos con el flujo de agua que manaba por cada uno de los sitios de muestreo. Por aproximadamente de 3 a 5 minutos se abarcó todo el espacio de la celda donde había presencia de caudal, sin tocar la superficie, ver Figura 19. Cada hisopo se colectó en un tubo de ensayo que contenía agua purificada estéril y agua peptonada alcalina (APA), respectivamente para enriquecimiento bacteriano.

Figura 19

Toma de muestra mediante hisopos para análisis cualitativo.



Posteriormente estas muestras se trasladaron en una hielera a LIRA y se incubaron por 24 h a 35-37 °C.

9.5.3 Análisis de campo

Durante los muestreos se tomaron lectura de la temperatura y pH del flujo en cada sitio del sistema, y en LIRA se obtuvo el valor de conductividad y sólidos disueltos totales de las muestras. Para lo anterior, se consideraron las siguientes normas mexicanas:

- NMX-AA-007-SCFI-2013, para la medición de la temperatura, la cual se realizó con un termómetro.
- NMX-AA-008-SCFI-2016, para la medición del pH, esta se determinó mediante tiras reactivas y un pH-metro.
- NMX-AA-093-SCFI-2018, para la determinación de conductividad eléctrica y sólidos disueltos totales se utilizó un medidor de conductividad.

9.6 Cuantificación de la concentración de bacterias patógenas

Para dar cumplimiento a la primera parte del Objetivo 1, la cuantificación de la concentración de bacterias patógenas se realizó mediante el análisis de coliformes totales y fecales. Para ello, se consideró lo descrito en el Libro de Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales de APHA-AWWA-WPCF (1992) y las normas mexicanas respectivas.

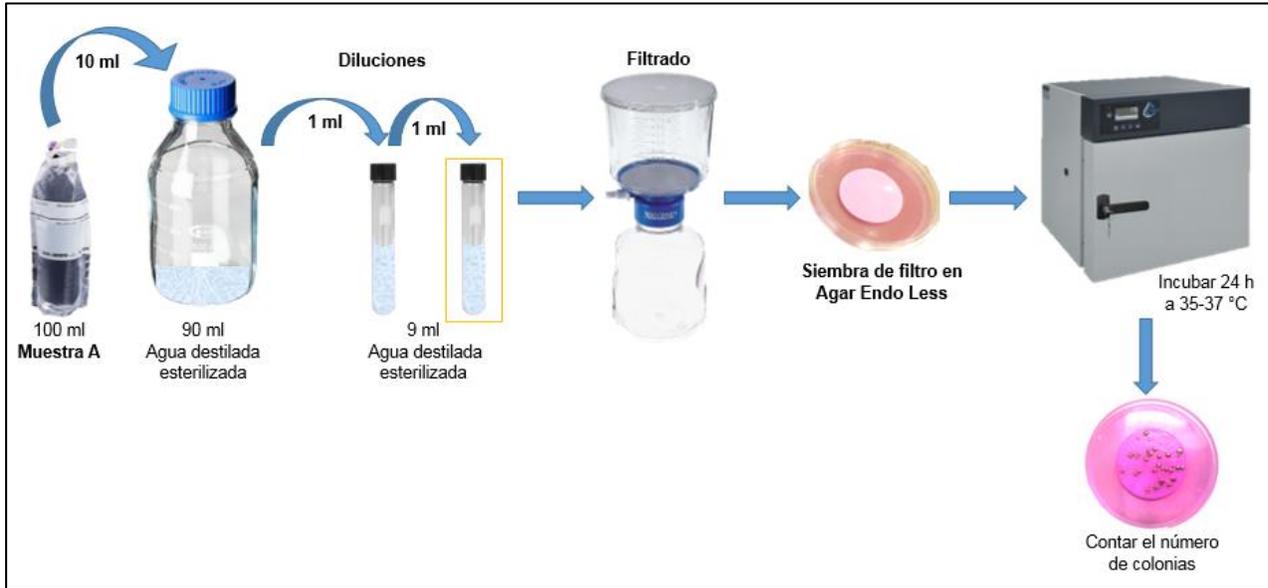
9.6.1 Coliformes totales

Para la obtención de la concentración de coliformes totales la norma mexicana de referencia empleada fue la NMX-AA-102-SCFI-2006, la cual describe un método para la detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*, (*E. coli*) mediante una filtración a través de una membrana celulósica, un subsecuente cultivo en un medio diferencial lactosado y el cálculo de a partir de números de colonias.

En la Figura 20, se ejemplifica el método de filtrado de membrana llevado a cabo, en donde primero se realizaron las diluciones necesarias, para posteriormente filtrar 10 ml de volumen a través de una membrana de celulosa de 0.45 μm , con la función de retener a los microorganismos. Esta membrana se colocó en Agar m-Endo Les y posteriormente se incubó por 24 h a 35-37 °C.

Figura 20

Esquema del método de filtración en membrana.



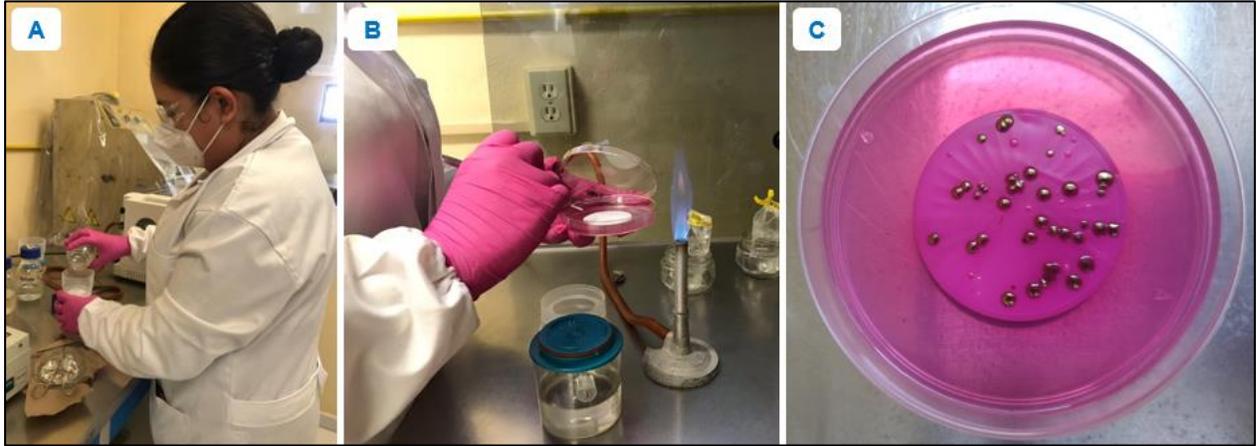
Transcurrido el tiempo, se contaron el número de colonias con apariencia dorada que crecieron en el medio de cultivo, para posteriormente poder realizar el cálculo de la densidad de coliformes totales, expresado como unidades formadoras de colonias por cada 100 ml (UFC/100 ml), ver Figura 21. De acuerdo a lo descrito en el Libro de Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas y Aguas Residuales de APHA-AWWA-WPCF (1992), la ecuación que se aplicó fue la Ec. 2, la cual es un resumen de la Ec. 1.

$$\frac{\text{Colonias de coliformes (totales)}}{100 \text{ ml}} = \frac{\text{Colonias de coliformes contadas} \times \text{volumen de referencia}}{\text{ml de muestra filtrada}} \quad \text{(Ec.1)}$$

$$\text{UFC}/100 \text{ ml} = \frac{\text{Colonias de coliformes contadas} \times 100}{\text{ml de muestra filtrada}} \quad \text{(Ec.2)}$$

Figura 21

Método de filtración en membrana: **A.** Filtrado de la muestra, **B.** Siembra de la membrana celulósica en Agar m-Endo Les y **C.** Crecimiento de colonias.



9.6.2 Coliformes fecales

Para la obtención de la concentración de coliformes fecales se utilizó la NMX-AA-042-SCFI-2015 como referencia, la cual especifica el método de enumeración en agua de organismos coliformes, organismos coliformes fecales (termotolerantes) y *E. coli* mediante cultivo en un medio líquido contenido en tubos múltiples y cálculo de su número más probable en muestras de aguas residuales y residuales tratadas.

En la Figura 22 se ejemplifica como se llevó a cabo este análisis. Primero se realizaron las diluciones de muestra correspondientes, para posteriormente inocular 1 ml en una serie de tubos de ensayo con medio de caldo lauril sulfato de sodio, estos tubos se incubaron 24 y 48 h a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Transcurrido este tiempo, los tubos que presentaron turbidez y producción de gas se resembraron en un medio confirmativo más selectivo, caldo EC, y posteriormente se incubaron por 24 h a $44.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Cumplidas las 24 h de siembra en caldo EC, se procedió a examinar los tubos y aquellos que mostraban turbidez y producción de gas se registraron como positivos con presencia de microorganismos termotolerantes y *E. coli*, ver Figura 23.

Figura 22

Esquema del método del NMP en tubos múltiples.

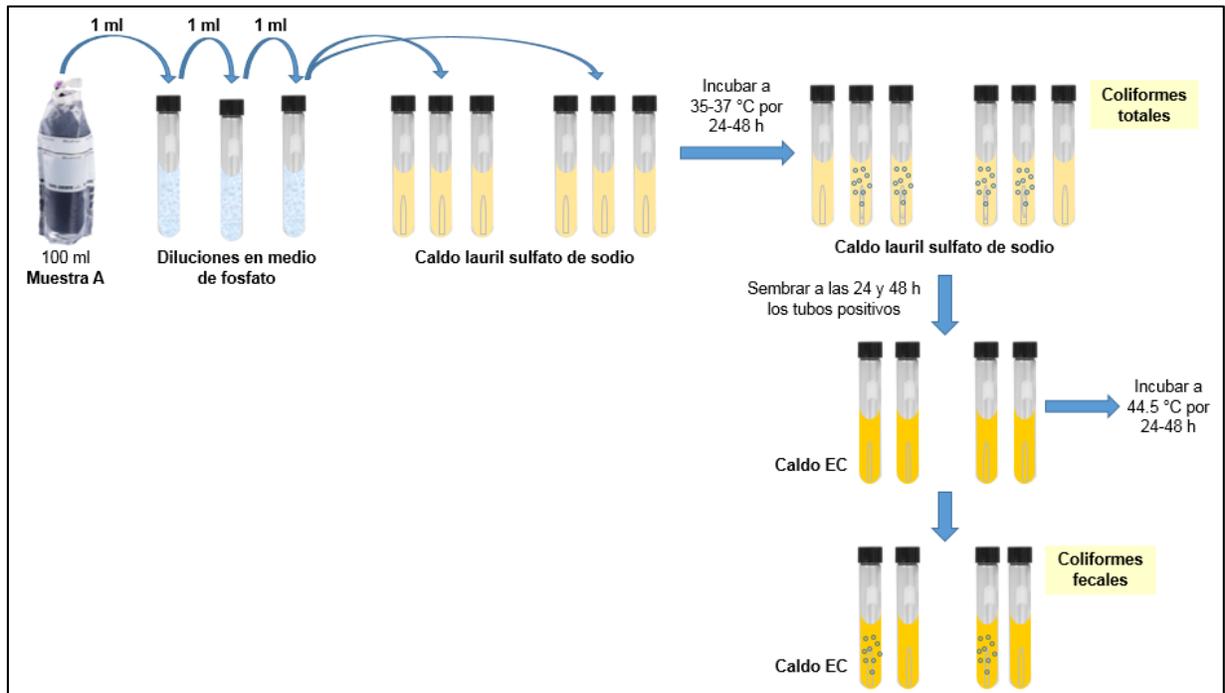
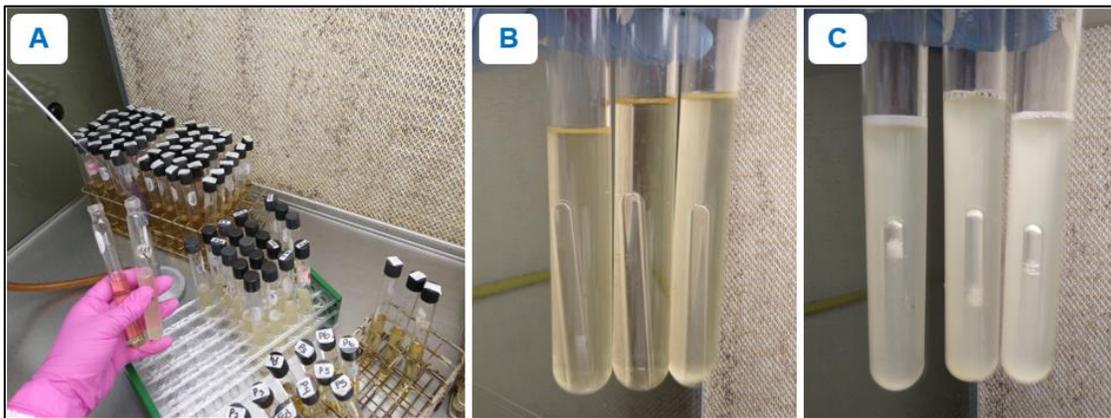


Figura 23

Método del NMP en tubos múltiples: **A.** Resiembra en caldo EC, **B.** Tubos negativos y **C.** Tubos positivos.



Para el cálculo del Número Más Probable (NMP) de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *E. coli* expresadas como contenidas en 100 ml de la muestra a partir del número de tubos positivos en los resultados confirmativos, se obtuvo a partir de la ecuación Ec. 3.

$$\text{NMP}/100 \text{ ml} = \frac{\text{No. de tubos positivos} \times 100}{\sqrt{\text{ml de muestra en tubos negativos} \times \text{ml de muestra en todos los tubos}}} \quad (\text{Ec.3})$$

9.7 Identificación de las bacterias patógenas que afectan a la salud humana y animal

Para dar cumplimiento a la segunda parte del Objetivo 1, se realizó una caracterización fenotípica declarada en ausencia o presencia de los microorganismos de interés, esto a partir de la siembra de las muestras en medios de cultivos selectivos y diferenciales.

Los microorganismos a detectar fueron los siguientes: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin*, *Salmonella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter/Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Enterococcus faecalis*. En la Tabla 9 se muestran los medios de cultivos que se emplearon.

Tabla 9

Caracterización fenotípica con base al medio de cultivo a emplear.

| Medio de cultivo | Microorganismos | Características | Desarrollo |
|---|---------------------------------|--|------------------|
| Agar SS (Salmonella-Shigella) | <i>Escherichia coli</i> | Rojo o rosa | Leve |
| | <i>Enterobacter/Klebsiella</i> | Rosa con mucosa | Leve |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | Incoloro, centros blancos | Bueno |
| | <i>Salmonella spp.</i> | Incoloro, centro negro | Bueno |
| | <i>Shigella spp.</i> | Incoloro, rosa claro | Bueno |
| | <i>Pseudomonas spp.</i> | - | Leve e irregular |
| | <i>Bacterias gram positivas</i> | - | Ausencia |
| Agar MacConkey | <i>Escherichia coli</i> | Rojo, larga | Satisfactorio |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> | Incoloro a amarillenta | Satisfactorio |
| | <i>Salmonella dublin</i> | Incoloro a amarillenta | Satisfactorio |
| | <i>Salmonella sonnei</i> | Incoloro a amarillenta | Satisfactorio |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | Incoloro a amarillenta | Satisfactorio |
| | <i>Enterobacter/Klebsiella</i> | Rosa, larga, mucosa | Satisfactorio |
| Pseudomonas P | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Verde o verde azulado | Satisfactorio |
| | <i>Burkholderia cepacia</i> | No pigmenta | Satisfactorio |
| | <i>Escherichia coli</i> | No pigmenta | Satisfactorio |
| Agar Billis esculina | <i>Enterococcus faecalis</i> | Oscurecimiento de la mitad o más del medio | Satisfactorio |
| | <i>Streptococcus pyogenes</i> | Ausencia de oscurecimiento | Inhibición |
| Agar TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa) | <i>Vibrio cholerae</i> | Amarillas | Bueno |
| | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | Verdes/azules | Bueno |
| | <i>Vibrio vulnificus</i> | Amarillas/transparentes | Regular a bueno |
| | <i>Escherichia coli</i> | Transparente | Escaso a pobre |
| | <i>Proteus mirabilis</i> | Amarillas y pequeñas | Escaso a pobre |
| Reactivo Pseudalert | <i>Enterococcus faecalis</i> | Amarillas y pequeñas | Escaso a pobre |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Luminiscencia | Satisfactorio |

Nota. Información obtenida de las fichas técnicas y CULTIMED, s.f.

Con respecto al desarrollo del análisis, las muestras que se incubaron en agua purificada estéril fueron sembradas mediante la técnica de estría en los medios SS, MacConkey, Pseudomonas P y Bilis esculina, mientras que las muestras incubadas en agar peptonada alcalina (APA) en el medio de TCBS, ver Figura 24. El reactivo Pseudalert se añadió a 40 ml de las muestras recolectadas para análisis cuantitativos, ver Figura 25.

Figura 24

Esquema de siembra en medios selectivos y diferenciales.

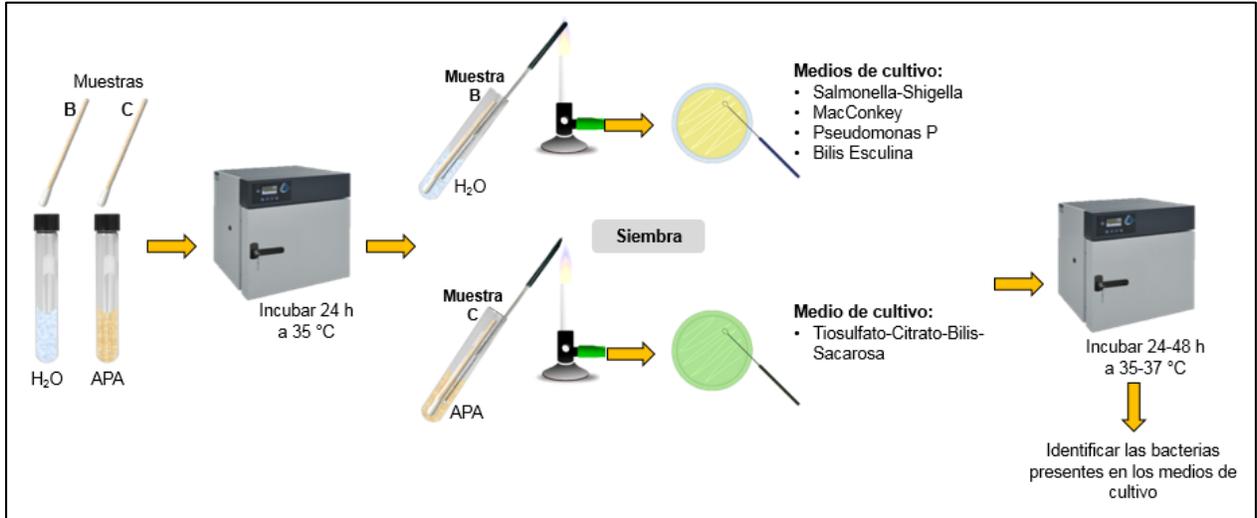
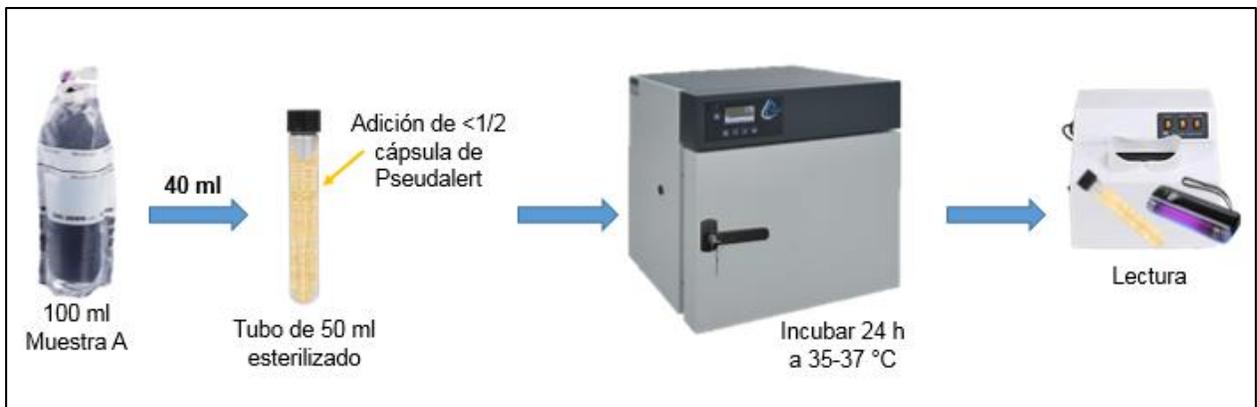


Figura 25

Esquema para la detección de Pseudomonas aeruginosa a partir de reactivo Pseudoalert.



Finalmente, las siembras se incubaron a 35 °C por 24 y 48 h de acuerdo a las especificaciones descritas en cada ficha técnica correspondiente, transcurrido el tiempo se examinaron y se determinó la presencia/ausencia de las bacterias patógenas en cada medio de cultivo.

9.8 Cálculo de la eficiencia del HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas

Para dar cumplimiento al Objetivo 2, la eficiencia del HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas se determinó a partir de la ecuación Ec. 4 (García, López y Torres, 2019). Los valores que se sustituyeron corresponden a la concentración de coliformes totales y fecales del efluente final y del efluente de la Celda 3.

$$ERP = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100 \quad (\text{Ec.4})$$

Dónde:

ERP = Eficiencia de remoción de patógenos en el sistema en %

C_e = Concentración bacteriana en el efluente

C_0 = Concentración bacteriana en el afluente

9.9 Análisis de la influencia de las temporadas climatológicas y componentes del sistema sobre la presencia de bacterias patógenas

Para dar cumplimiento al Objetivo 3, se realizó un análisis de varianza de dos factores con un 95% de confiabilidad, donde se compararon los componentes del humedal y la influencia de las temporadas climatológicas. Las variables de respuesta correspondieron a la concentración de microorganismos patógenos medidos como coliformes totales y fecales; y los factores a las temporadas climatológicas y sitios del sistema. Para este análisis se empleó el software StatSoft Statistica.

9.10 Comparación de los resultados obtenidos de bacterias patógenas con la referencia en la NOM-001-SEMARNAT-1996

La concentración de bacterias patógenas en el efluente, determinada como coliformes fecales, se empleó como valor de referencia para compararse con lo establecido en la NOM-001-SEMARNAT-1996, la cual establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Debido a que el agua residual tratada se descarga en las inmediaciones del Río Jamapa, Veracruz.

Cabe mencionar, que los resultados también se compararon con lo establecido en la NOM-001-SEMARNAT-2021, la cual establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la Nación, ya que norma anterior fue actualizada recientemente.

X. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1 Análisis de campo del caudal

Durante el periodo de monitoreo se analizaron parámetros de campo al afluente y efluente de cada una de las celdas del humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal (HAFSSH), los cuales fueron: temperatura, pH, conductividad eléctrica y sólidos disueltos totales, además, se midió la temperatura ambiente. A continuación se describen los resultados obtenidos.

10.1.1 Temperatura

La temperatura ambiente al ser un parámetro climático es capaz de influir sobre las temperaturas del flujo del HAFSSH, es así que, el valor más alto se registró durante la temporada de lluvia y estiaje con 32 °C, mientras que el más bajo fue en temporada de norte con un valor de 25 °C, ver Tabla 10. La temperatura obtenida en la temporada de norte, corresponde a la temperatura promedio del municipio de Boca del Río, además, durante este periodo de monitoreo se confirmó el clima cálido-regular que acontece principalmente en este municipio (Gobierno del Estado de Veracruz, 2021).

Tabla 10

Temperatura ambiente registrada durante los monitoreos.

| Temporadas climatológicas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|---------------------------|--------|-------|---------|
| Temperatura ambiente | 32 °C | 25 °C | 32 °C |

Lo que respecta a la temperatura del flujo en el HAFSSH, este parámetro fue importante determinarlo debido a que la temperatura ejerce un significativo efecto sobre las operaciones y procesos de tratamiento de las aguas residuales (AR) (Romero Rojas, 2004). Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 11.

La temperatura más alta registrada fue de 31.0 °C y corresponde al afluente en la temporada de lluvia y la más baja de 21.8 °C en la Celda 6 durante la temporada de norte. Durante la temporada de lluvia, la temperatura promedio del flujo en el sistema fue de 29.3 °C, con valores máximo y mínimo de 31.0 y 28.0 °C, respectivamente. En el periodo de norte, los valores máximo y mínimo fueron de 26.0 y 21.8 °C, con un promedio de 23.3 °C. Mientras que el tiempo de estiaje, la temperatura máxima y mínima registradas fueron de 30.0 y 27.0 °C, respectivamente, con 28.4 °C como valor promedio.

Tabla 11

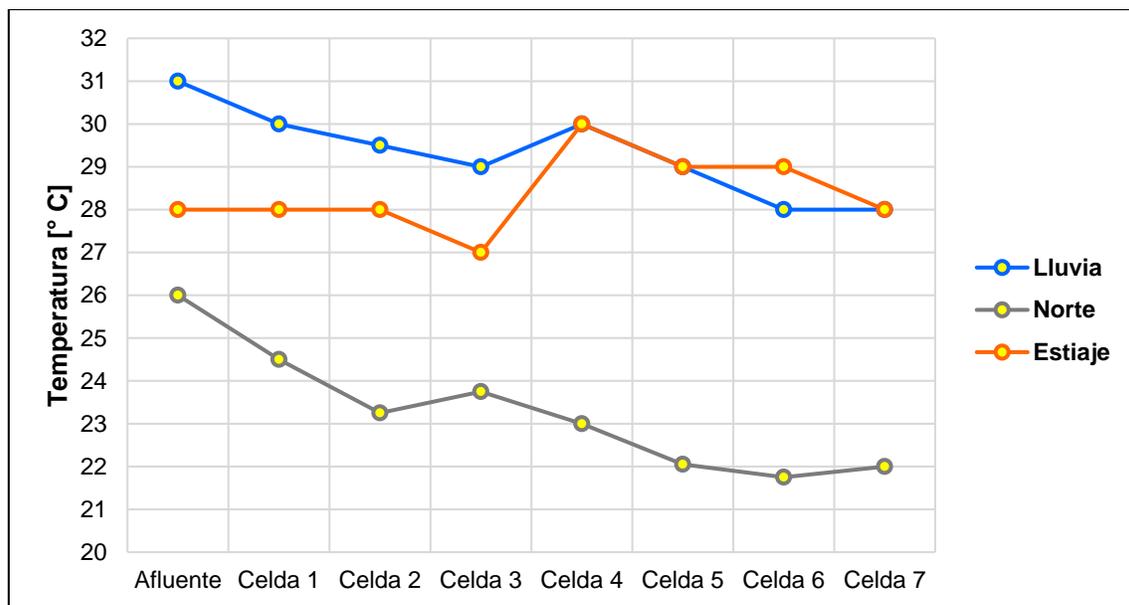
Valores puntuales de temperatura en el agua del sistema HAFSSH.

| Sitios | Temporadas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|-----------------|------------|--------|-------|---------|
| | | | [° C] | |
| Afluente | | 31.0 | 26.0 | 28.0 |
| Celda 1 | | 30.0 | 24.5 | 28.0 |
| Celda 2 | | 29.5 | 23.3 | 28.0 |
| Celda 3 | | 29.0 | 23.8 | 27.0 |
| Celda 4 | | 30.0 | 23.0 | 30.0 |
| Celda 5 | | 29.0 | 22.1 | 29.0 |
| Celda 6 | | 28.0 | 21.8 | 29.0 |
| Celda 7 | | 28.0 | 22.0 | 28.0 |
| Promedio | | 29.3 | 23.3 | 28.4 |

En la Figura 26 se aprecia el comportamiento de este parámetro en el HAFSSH y se puede constatar la influencia de la temperatura ambiente sobre la temperatura del caudal del sistema, ya que en las tres temporadas se aprecia una notable fluctuación en el comportamiento de este parámetro en la Celda 4, y es que este sitio corresponde a la zona de mayor exposición a la intemperie debido a que hay una menor presencia de vegetación.

Figura 26

Variación de los valores puntuales de temperatura en el agua del sistema HAFSSH.



Así mismo, la temperatura en el sistema osciló entre el rango de 21.8 y 31.0 °C, la cual se encuentra dentro del rango de la temperatura óptima para la actividad bacteriana que promueve la biodegradación de contaminantes, la cual va de 25 a 35 °C; adicional, la presencia de temperaturas cálidas promueve la tasa de sedimentación de sólidos en el agua (Romero Rojas, 2004).

Y debido a que el AR tratada se descarga en las inmediaciones del Río Jamapa, es importante mencionar que la temperatura del efluente (Celda 7) se encuentra dentro del límite máximo permisible de descarga en ríos, que de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-2021, está debe estar por debajo de los 35 °C para poder garantizar la protección de la vida acuática.

10.1.2 pH

Al igual que el parámetro anterior, los valores de potencial de hidrógeno (pH) determinan la eficiencia de los procesos biológicos en los sistemas de tratamientos de aguas residuales. Y es que valores inferiores de 6.0 favorecen el crecimiento de hongos sobre las bacterias, mientras que valores óptimos se encuentran en el rango de 6.5 a 8.5 unidades de pH, ya que promueven las condiciones idóneas de la vida biológica (Romero Rojas, 2014). En la Tabla 12 se muestran los valores puntuales de pH del agua en el HAFSSH.

Tabla 12

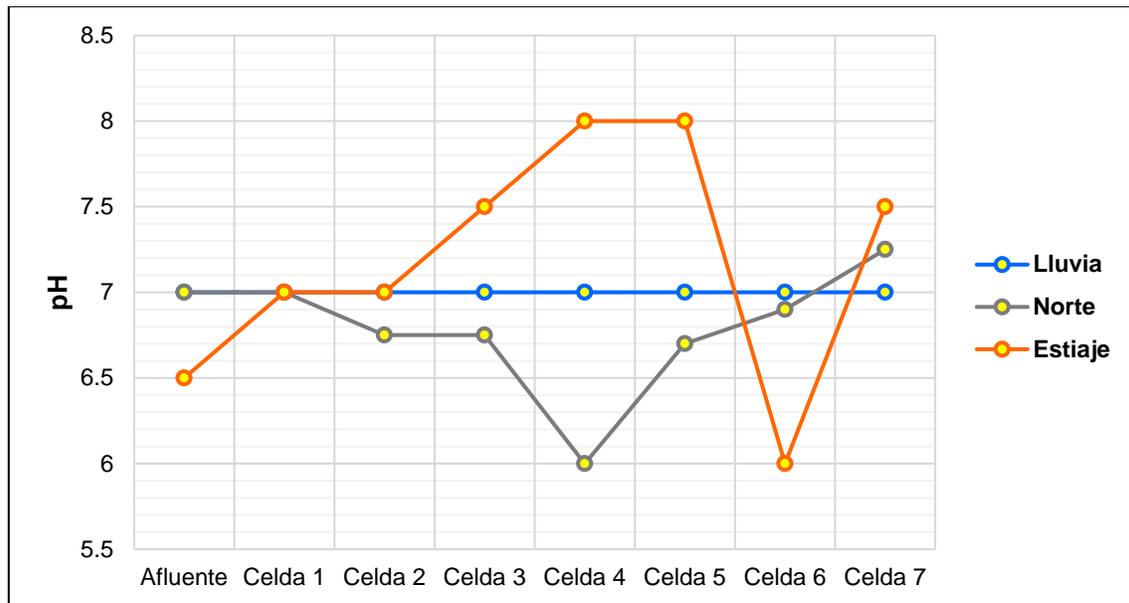
Valores puntuales de pH en el agua del sistema HAFSSH.

| Sitios | Temporadas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|-----------------|------------------|--------|-------|---------|
| | [Unidades de pH] | | | |
| Afluente | | 7.0 | 7.0 | 6.5 |
| Celda 1 | | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| Celda 2 | | 7.0 | 6.8 | 7.0 |
| Celda 3 | | 7.0 | 6.8 | 7.5 |
| Celda 4 | | 7.0 | 6.0 | 8.0 |
| Celda 5 | | 7.0 | 6.7 | 8.0 |
| Celda 6 | | 7.0 | 6.9 | 6.0 |
| Celda 7 | | 7.0 | 7.3 | 7.5 |
| Promedio | | 7.0 | 6.8 | 7.2 |

Los valores promedio de pH durante el periodo de monitoreo, fueron resultados cercanos a la neutralidad, con 7.0, 6.8 y 7.2 unidades de pH con respecto a las temporadas de lluvia, norte y estiaje. Durante el tiempo de lluvia todo el sistema mostró valores neutrales. En el caso de la época de norte, los valores máximo y mínimo fueron de 7.3 y 6.0 unidades de pH. Y en el caso de la temporada de estiaje, 8.0 y 6.5 unidades de pH fueron los valores registrados como máximo y mínimo. En la Figura 27 se presenta el comportamiento de estos datos con relación a cada una de las temporadas.

Figura 27

Variación de los valores puntuales de pH en el agua del sistema HAFSSH.



Cabe mencionar, que la variación de este parámetro en los distintos sitios del sistema podría verse influido por el valor de pH con el que ingresa la alimentación al sistema, ya que el HAFSSH es un sistema que trata las aguas residuales (AR) generadas en el instituto, por lo que estas AR tienen características de tipo doméstica por lo que pueden contener sustancias que aporten acidez o alcalinidad, como son la presencia de algunos solventes, detergentes, entre otros compuestos (Nuñez Pungaña, 2015).

Pero, la presencia de tezontle, conchas de ostión y caracoles, como medios de soporte, aportan alcalinidad en forma de iones carbonato y/o bicarbonato. Además, cuando las condiciones climáticas son más cálidas, existe una mayor segregación de estos iones (Bernal *et al.*, 2003) y esto explicaría el súbito aumento del pH durante la temporada de estiaje en las celdas de mayor exposición, ver Figura 27. Además, la mayoría de los valores de pH se encuentran cercanos a la

neutralidad, lo que favorece que se puedan llevar a cabo procesos biológicos resultado de la interacción de todos los componentes del HAFSSH.

Y para finalizar, las unidades de pH del efluente se encuentran dentro del rango establecido en la NOM-001-SEMARNAT-2021, la cual establece un rango de 6.5 - 8.5 para descarga de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

10.1.3 Conductividad eléctrica

En cuanto a la conductividad eléctrica (CE), es una característica que indica la concentración de sales disueltas en el AR, capaces de conducir corriente eléctrica (Boards, 2018).

Así es que, durante la temporada de estiaje se registró el valor más alto de 883 $\mu\text{m}/\text{cm}$ en el afluente, que de acuerdo a Metcalf y Eddy (2003) este valor se encuentra por encima de la concentración típica en las AR, sin embargo, esto podría deberse a la rápida evaporación del caudal como resultado de la alta radiación solar durante esta temporada, por lo que se ve reflejada en la concentración de este parámetro. Por otro lado, el valor más bajo de CE se obtuvo en la temporada de lluvia con 354 $\mu\text{m}/\text{cm}$ en el efluente del sistema (Celda 7), valor dentro de la concentración típica. En la Tabla 13 se muestran todos los datos obtenidos en los monitoreos.

Tabla 13

Valores promedio de conductividad en el agua del sistema HAFSSH.

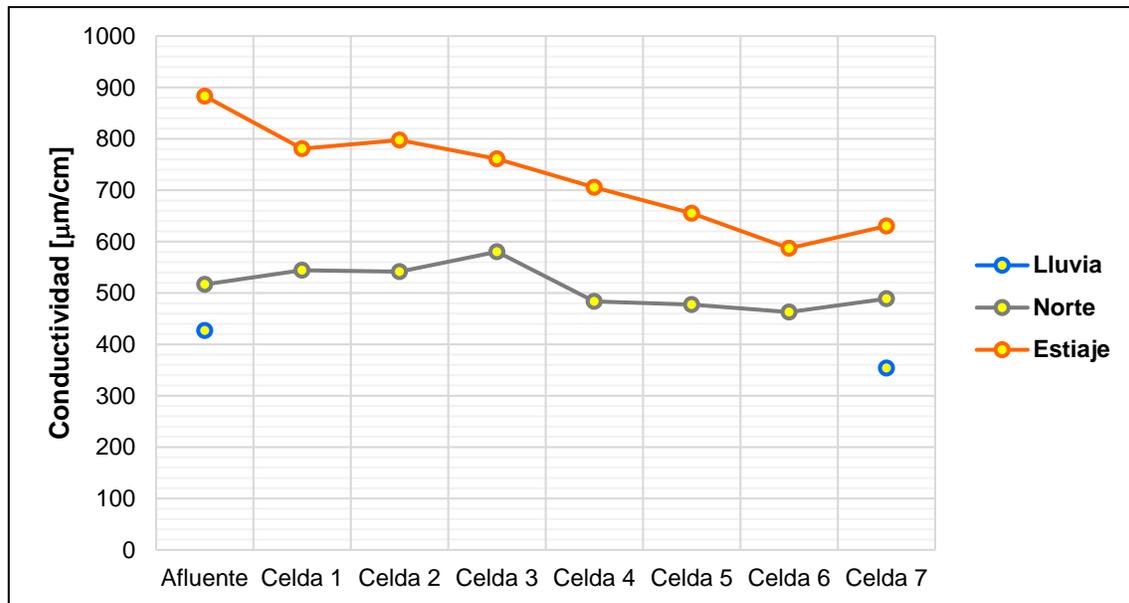
| Sitios | Temporadas | | |
|-----------------|-----------------------------|-------|---------|
| | Lluvia | Norte | Estiaje |
| | [$\mu\text{m}/\text{cm}$] | | |
| Afluente | 427.0 | 516.8 | 883.0 |
| Celda 1 | - | 544.3 | 781.0 |
| Celda 2 | - | 541.5 | 797.5 |
| Celda 3 | - | 580.3 | 761.0 |
| Celda 4 | - | 483.5 | 705.5 |
| Celda 5 | - | 477.3 | 655.0 |
| Celda 6 | - | 462.8 | 587.0 |
| Celda 7 | 354.0 | 489.0 | 630.5 |
| Promedio | 390.5 | 511.9 | 725.1 |

En el tiempo de lluvia se registró un promedio de 390.5 $\mu\text{m}/\text{cm}$, se midieron solo el Afluente y Celda 7, por lo que los valores máximo y mínimo fueron de 427 $\mu\text{m}/\text{cm}$ y 354 $\mu\text{m}/\text{cm}$, respectivamente. Con respecto a la época de norte, el promedio obtenido fue de 511.9 $\mu\text{m}/\text{cm}$,

con valores máximo y mínimo de 580.3 y 462.8 $\mu\text{m}/\text{cm}$, en los sitios de Celda 3 y Celda 6. Mientras que, en la temporada de estiaje los valores máximo y mínimo se registraron en los sitios Afluente y Celda 6, con 883 y 587 $\mu\text{m}/\text{cm}$, con un promedio total de 725.1 $\mu\text{m}/\text{cm}$. En la Figura 28 se observa el comportamiento de este parámetro en el sistema.

Figura 28

Variación de los valores promedio de conductividad en el agua del sistema HAFSSH.



Con base a la figura anterior, se observan ligeros incrementos de la CE en los sitios Celda 2 y Celda 3, durante la temporada de estiaje y lluvia, respectivamente. Esto podría atribuirse a que los sustratos liberan sales por la fricción con el caudal a medida que fluye por el sistema (Bernal F. *et al*, 2003). Pero, desde una perspectiva general es notable un decremento de la CE a lo largo de todo el HAFSSH, lo cual podría estar asociado a que como el AR contiene una concentración rica en sales disueltas, como cloruros, nitratos, sulfatos, fosfatos, sodio, magnesio y calcio, estas concentraciones disminuyen debido a que la vegetación asimila una parte de estos elementos mediante la absorción en las raíces, detritus y otros simplemente se sedimentan (Zurita Martínez *et al.*, 2015).

10.1.4 Sólidos disueltos totales

De acuerdo a Romero Rojas (2010), los sólidos disueltos totales (SDT) en general son en un 40 % orgánicos y un 60 % son inorgánicos, en forma de suspensión micro granular. En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos de las mediciones de los SDT en el HAFSSH, puede

apreciarse que durante la temporada de estiaje se obtuvo el valor más alto de 437.5 mg/l y el más bajo en el tiempo de lluvia de 178 mg/l.

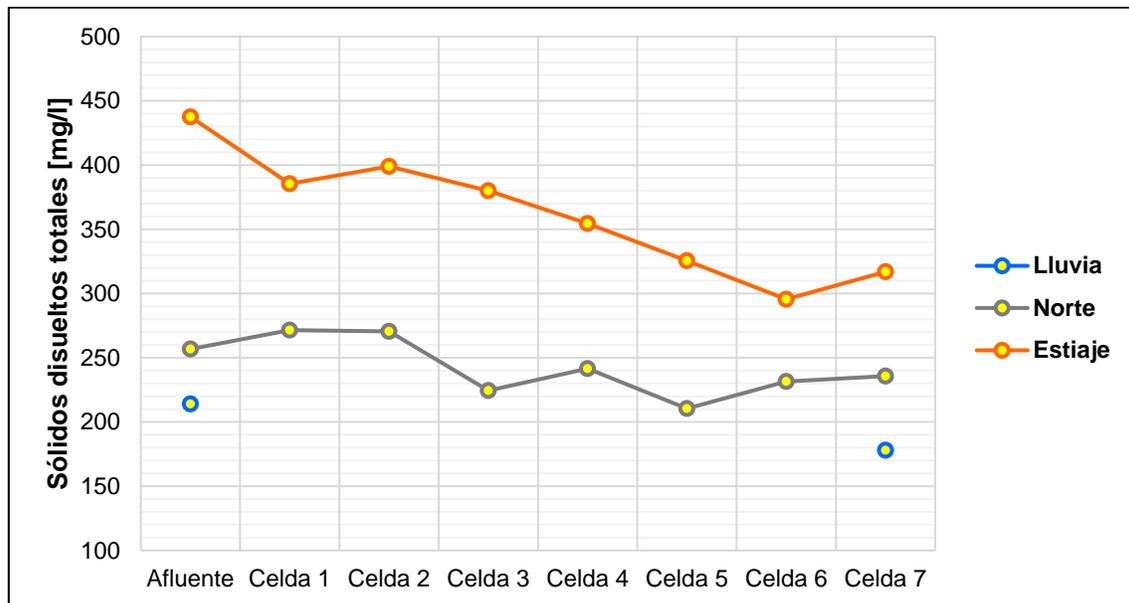
Tabla 14

Valores promedio de sólidos disueltos totales en el agua del sistema HAFSSH.

| Sitios | Temporadas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|-----------------|------------|--------|-------|---------|
| | | [mg/l] | | |
| Afluente | | 214.0 | 256.8 | 437.5 |
| Celda 1 | | - | 271.5 | 385.5 |
| Celda 2 | | - | 270.5 | 399.0 |
| Celda 3 | | - | 224.5 | 380.0 |
| Celda 4 | | - | 241.5 | 354.5 |
| Celda 5 | | - | 210.5 | 325.5 |
| Celda 6 | | - | 231.5 | 295.5 |
| Celda 7 | | 178.0 | 235.8 | 317.0 |
| Promedio | | 196.0 | 242.8 | 361.8 |

Figura 29

Variación de los valores promedio de sólidos disueltos totales en el agua del sistema HAFSSH.



En la Figura 29 se muestra el comportamiento de este parámetro, durante la temporada de lluvia los valores máximo y mínimo fueron de 214 y 178 mg/l, en el Afluente y Celda 7, cabe aclarar que solo se midieron estos dos sitios, lo que dio un promedio de 196 mg/l. En cuanto al monitoreo en

tiempo de norte, el valor promedio fue de 242.8 mg/l, con datos máximo y mínimo registrados de 270.5 y 210.5 mg/l. Finalmente, en la temporada de estiaje los valores máximo y mínimo fueron de 437.5 y 295.5 mg/l, en el Afluente y Celda 7, con un promedio total de 361.8 mg/l.

El comportamiento de este parámetro presenta un comportamiento similar a los valores de conductividad eléctrica (CE), con excepción en el sitio Celda 3 durante la temporada de norte. Ya que mientras la CE aumenta, los SDT disminuyen en este sitio; esto podría deberse a existió una mayor asimilación de las partículas por parte de la vegetación en la transición del caudal de la Celda 2 a la Celda 3.

10.2 Concentración de bacterias patógenas

Con la finalidad de determinar la calidad microbiológica del agua residual de manera cuantitativa se emplearon como indicadores a los coliformes totales y fecales, que de acuerdo a Rojas-Badía *et al.* (2013), estos microorganismos indicadores tienen un comportamiento similar a la concentración de los patógenos varios en las aguas, en donde los primeros indicarían el nivel de contaminación en el agua y los segundos son un indicador de contaminación fecal. La presencia de este tipo de microorganismos está principalmente relacionada a que el agua residual a tratar contiene efluentes sanitarios.

10.2.1 Coliformes totales y coliformes fecales

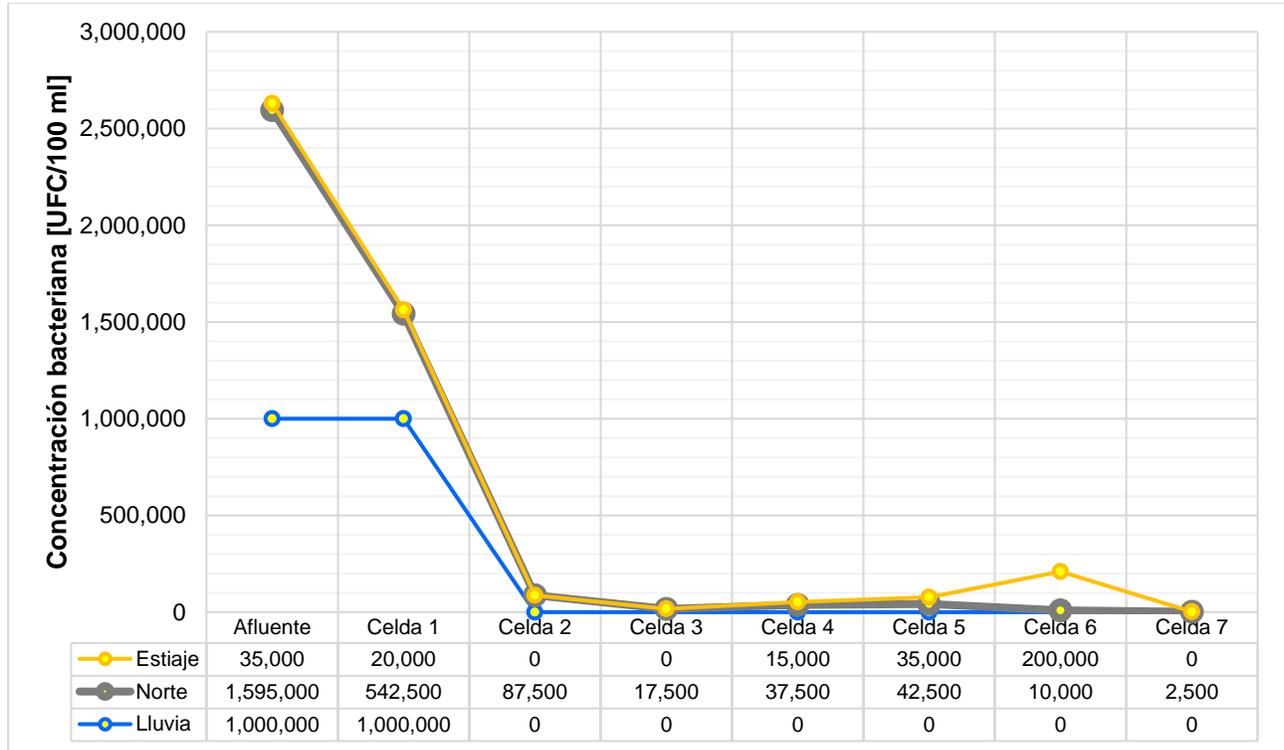
De acuerdo a Pullés (2014), los coliformes totales pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* sin embargo, no todos los coliformes totales son de origen fecal, ya que estos microorganismos también se encuentran de manera natural en el ambiente, este grupo está contemplado por los géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Serratia*. Entonces, con respecto a los resultados de la concentración bacteriana en las diferentes temporadas, el valor más alto registrado, medido como coliformes totales, fue en la temporada de norte en el Afluente con 1,595,000 UFC/100 ml. Lo que respecta a la concentración más baja obtenida fue de 0 UFC/100 ml tanto en el tiempo de lluvia y estiaje. En la Figura 30 se muestran los resultados obtenidos y el comportamiento de este parámetro dentro del HAFSSH.

En cuanto a las concentraciones máxima y mínima obtenidas en el tiempo de lluvia, fueron de 1,000,000 y 0 UFC/100 ml, respectivamente, con un promedio total de 250,000 UFC/100 ml para esta temporada. Por otro lado, en la época de norte el promedio de concentración bacteriana fue de 291,875 UFC/100 ml, con valores máximos y mínimos de 1,595,000 y 2,500 UFC/100 ml en el Afluente y Celda 6. Finalmente, en la temporada de estiaje los valores máximo y mínimo fueron

de 200,000 UFC/100 ml en la Celda 6 y 0 UFC/100 ml en las Celda 2, Celda 3 y Celda 7; el promedio total en esta temporada fue de 38,125 UFC/100 ml.

Figura 30

Variación de los valores promedio de coliformes totales en el agua del sistema HAFSSH.



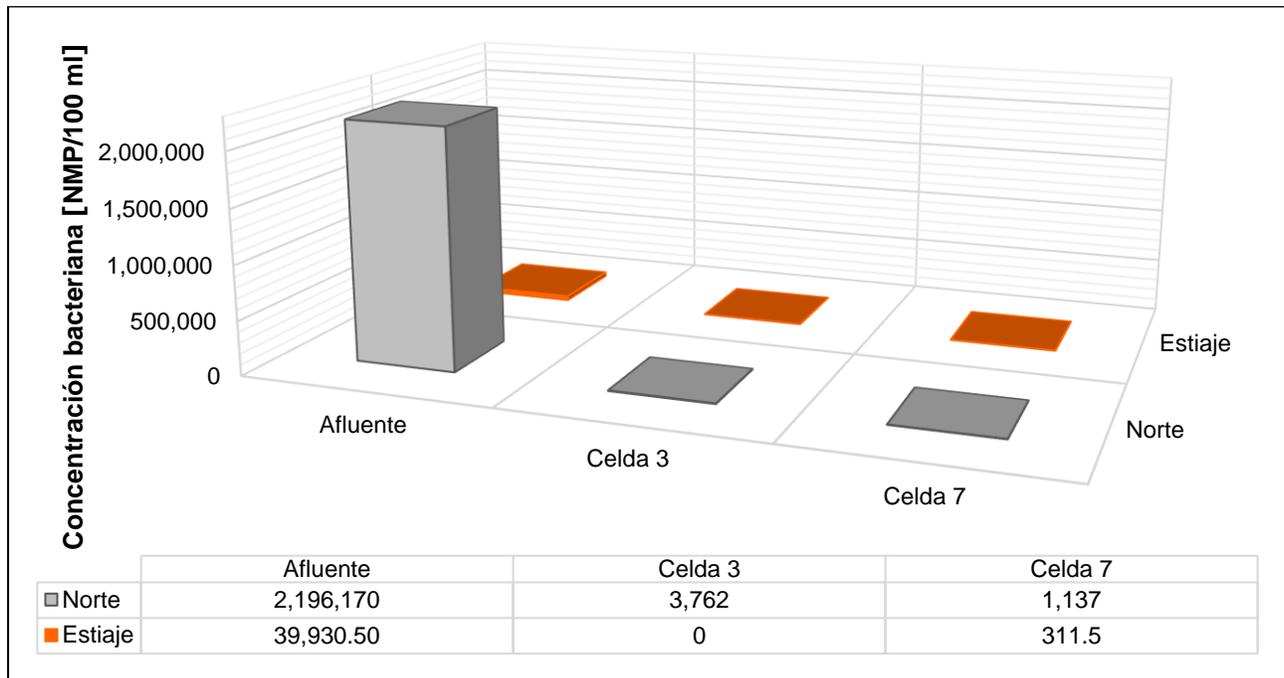
Por su parte, los coliformes fecales son una fracción de los coliformes totales, este tipo de microorganismos se ubica en los intestinos de los animales de sangre caliente y humanos, por lo que posteriormente son excretados a través de las heces y su presencia en el agua indican un grado de contaminación fecal. La mayor especie presente en este grupo es la *Escherichia coli* y en menor grado algunos tipos de bacterias de los géneros *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter*, los coliformes fecales tienen la característica de ser termotolerantes (Mora y Calvo, 2010; Pullés, 2014).

Esta concentración bacteriana se determinó en solo tres sitios del HAFSSH y en dos temporadas climatológicas, en donde el valor más alto fue de 2,196,170 NMP/100 ml en el Afluente durante la temporada de norte y el más bajo fue de 0 NMP/100 ml en la Celda 3 en el tiempo de estiaje. En la Figura 31 se muestra una representación de las concentraciones obtenidas de este parámetro.

En la temporada de norte el promedio total de coliformes fecales fue de 733,690 NM/100 ml, con concentraciones máxima y mínima de 2,196,170 y 1,137 NMP/100 ml en el Afluyente y Celda 7. Mientras que en la temporada de estiaje los valores máximo y mínimo fueron de 39,930.50 y 311.5 NMP/100 ml en el Afluyente y Celda 7, y con un promedio total de 13,414 NMP/100 ml.

Figura 31

Variación de los valores promedio de coliformes fecales en el agua del sistema HAFSSH.



Con base a los resultados anteriores, los coliformes totales y fecales presentaron comportamientos muy similares en el transcurso de las celdas del sistema del HAFSSH. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que el comportamiento de las bacterias tiende a ser muy variable en el ambiente, debido a que la concentración bacteriana se ve influida por diversos factores ambientales que afectan el crecimiento microbiano, como son la temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, oxígeno disuelto, entre otros (Apella y Araujo, 2005).

A pesar que la mayor concentración de coliformes se registró durante la temporada de norte en el Afluyente, este dato podría deberse a diversas causas, una de ellas podría ser que en ese periodo existió una mayor cantidad de efluentes sanitarios o bien, que las condiciones en las tuberías del desagüe propiciaron condiciones óptimas para que existiera un crecimiento microbiano, ya que como lo menciona Apella y Araujo (2005), el comportamiento bacteriano es variable en función de las condiciones ambientales.

Con relación a las figuras 30 y 31, estas muestran principalmente una notable disminución en la concentración de coliformes a lo largo del sistema, estos son resultados de una dinámica compleja entre todas las condiciones y componente del sistema. Debido a que de manera natural se llevan a cabo diferentes mecanismos de remoción para estos microorganismos.

En primera, los microorganismos patógenos son sensibles a la radiación ultravioleta, por lo que al momento de ingresar al sistema parte de ellos mueren y los que logran ingresar se pueden encontrar en el agua residual en fracción sólida o suspendida. Posteriormente, otra parte de las bacterias patógenas se logra remover mediante mecanismos de sedimentación, filtración a través de los sustratos y adsorción por parte de la biopelícula bacteriana formada sobre el sustrato. Sin embargo, gran parte tienden a morir debido a que las condiciones del HAFSSH no son idóneas para su crecimiento o supervivencia, ya que también, suelen ser depredadas por protozoos, nematodos y rotíferos (Alarcón-Herrera *et al.*, 2018; Fernández y Curt, 2000; Mora y Calvo, 2000).

Con excepción de las Celdas 4 y 5, en estos sitios se registró un aumento en la concentración de coliformes totales, siendo mayor en la Celda 5, lo cual podría deberse a que las condiciones de este sitio superficial influyeron sobre el crecimiento/reproducción de estos microorganismos. Ya que de acuerdo a Fernández y Curt (2000), la presencia de vegetación flotante brinda condiciones diferentes como el hecho de que limita la difusión de oxígeno y bloquea el paso de la radiación solar. Porque en comparación con las macrófitas del sistema, vegetación tipo ornamental, al estar exitosamente adaptadas a ambientes húmedos proporcionan condiciones ricas en oxígeno gracias a sus raíces, lo que conlleva a que exista un mayor crecimiento de otros tipos de microorganismos, como los protozoos, nematodos y rotíferos, los cuales depredan a las bacterias patógenas.

Otra causa de que exista un aumento de coliformes en estos sitios, podría deberse a que al ser las zonas de mayor de exposición a la intemperie, están son más susceptibles a alojar bacterias patógenas de origen ambiental por efectos de dispersión. Ya que como lo mencionan Mosso, Ullán y De la Rosa (2002), *la atmósfera no tiene una microbiota autóctona pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos (esporas, bacterias, virus y hongos), procedentes de otros ambientes* y esto también explicaría que durante la temporada de norte se hayan registrado las concentraciones más altas con relación a las otras temporadas.

Con lo anterior se dio cumplimiento a la primera parte del Objetivo 1.

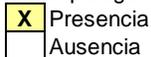
10.3 Identificación de las bacterias patógenas en los diferentes sitios del HAFSSH

El desarrollo de este apartado plasma los resultados que dieron cumplimiento a la otra parte del Objetivo 1. Es así que, con base a los resultados de los análisis cualitativos, se lograron identificar diferentes bacterias patógenas en los diferentes sitios del HAFSSH en las distintas temporadas monitoreadas. En la Tabla 15 se muestran las bacterias investigadas y los hallazgos.

Tabla 15

Bacterias patógenas investigadas e identificadas en el HAFSSH.

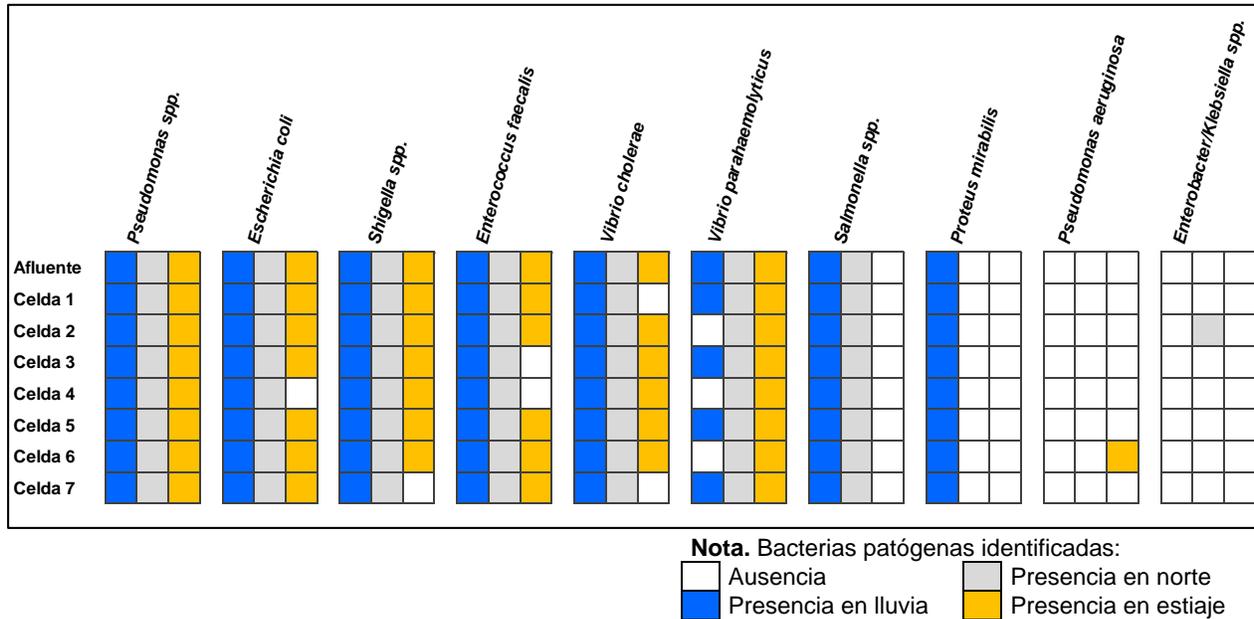
| Bacterias investigadas e identificadas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------------------|----------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|
| Temporadas climatológicas | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje | Lluvia | Norte | Estiaje |
| | Sitios del HAFSSH | Afluente | Celda 1 | | | Celda 2 | | | Celda 3 | | | Celda 4 | | | Celda 5 | | | Celda 6 | | | Celda 7 | | | |
| <i>Pseudomonas spp.</i> | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>Escherichia coli</i> | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>Shigella spp.</i> | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>Vibrio cholerae</i> | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | X | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X |
| <i>Salmonella spp.</i> | X | X | | X | X | | X | X | | X | X | | X | X | | X | X | | X | X | | X | X | |
| <i>Proteus mirabilis</i> | X | | | X | | | X | | | X | | | X | | | X | | | X | | | X | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Enterobacter/Klebsiella spp.</i> | | | | | | | | | X | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Bacterias patógenas:


Con base a lo anterior, se aprecia que hay bacterias que fueron encontradas de manera alternada a lo largo del sistema, esto podría ser consecuencia de la dinámica natural de la red trófica presente en el HAFSSH o bien, ser resultado de los mecanismos de remoción de las bacterias patógenas (Rivera Vergara, 2015; Alarcón-Herrera *et al.*, 2018). En la Figura 32 se ilustra otra representación de la incidencia de las bacterias patógenas en cada uno de los sitios del sistema con relación de las temporadas climatológicas. Lo que permite apreciar de otra forma la dinámica bacteriana con base a la ausencia o presencia de estos microorganismos.

Figura 32

Incidencia de las bacterias patógenas identificadas en los sitios del HAFSSH con respecto a las temporadas climatológicas.



De manera general, en las tres temporadas se identificaron las siguientes bacterias: *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*. Y en la temporada de lluvia y norte además se identificó *Salmonella spp.* De igual manera, en la época de lluvia se detectó adicional la presencia de *Proteus mirabilis* en todos los sitios del HAFSSH, esta bacteria es facultativa anaerobia y está asociada principalmente a infecciones urinarias (Schaffer y Pearson, 2017), por lo que su presencia estaría vinculada por completo a los efluentes sanitarios que recibe el humedal.

Por otro lado, durante la temporada de norte se identificó la bacteria de *Enterobacter/Klebsiella spp.* en la Celda 2, y de acuerdo a Mosso *et al.* (2002), este tipo de patógeno está relacionado con las bacterias que transmiten enfermedades respiratorias a través de su dispersión en el viento. Por lo que se infiere que este tipo de microorganismo se añadió al sistema gracias a los eventos de norte durante ese periodo de monitoreo. Además, desde el punto de vista ecológico, la *Klebsiella spp.* es una bacteria diazótrofa capaz de fijar nitrógeno atmosférico para formar amonio, por lo que interviene en el ciclo del nitrógeno (Moreno y Galvis, 2013).

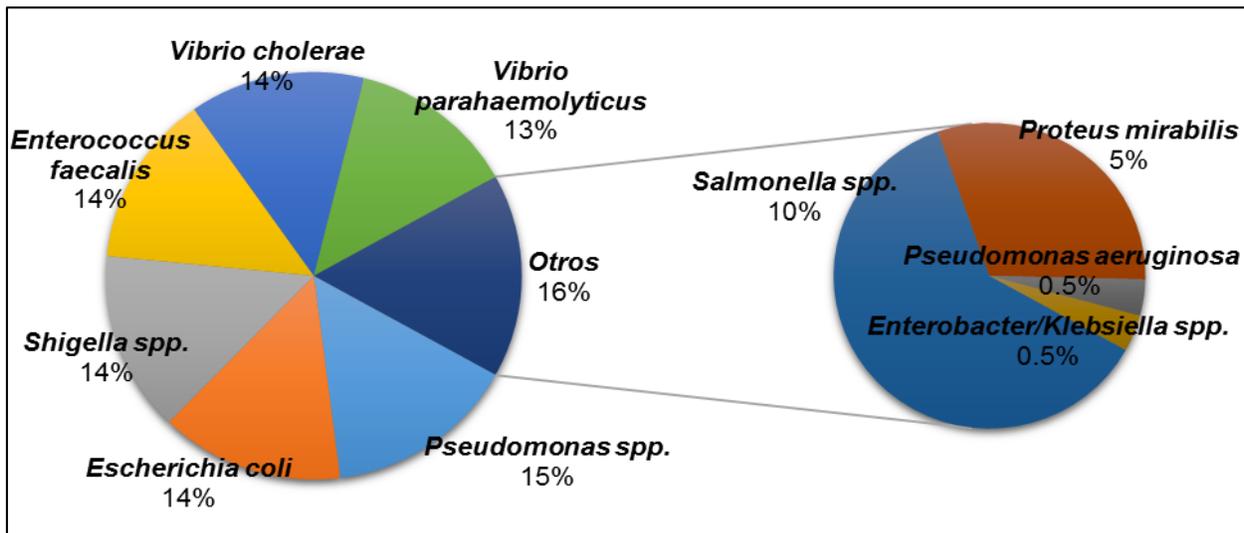
Como se mencionó anteriormente, en las tres temporadas climatológicas se identificaron *Pseudomonas spp.*, sin embargo, durante la temporada de estiaje se halló a la especie *Pseudomonas aeruginosa* en la Celda 6, y es que de acuerdo a Apela y Araujo (2005), esta especie es considerada la pseudomona de mayor relevancia sanitaria, ya que se trata de un patógeno oportunista capaz de provocar infecciones en vías urinarias, intestino, oído y heridas.

Como resultado del análisis de las figuras anteriores, se determinó que la mayor variedad de bacterias patógenas se presentó durante la temporada de lluvia, luego en norte y por último, en el tiempo de estiaje. Sin embargo, aunque durante la temporada de lluvia se identificaron la mayor variedad de bacterias patógenas, fue en la temporada de norte en donde se cuantificó la mayor concentración de este tipo de microorganismos, seguida lluvias y luego estiaje. Dicha información se puede consultar en el subtema 10.2.1.

En la Figura 33 se muestran los porcentajes que corresponden a la presencia de bacterias patógenas identificadas en el periodo de monitoreo, en donde se puede apreciar que en el HAFSSH las *Pseudomonas spp.* con un 15 % son las bacterias de mayor presencia en el sistema; seguida *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Enterococcus faecalis* y *Vibrio cholerae*, con 14 %; luego *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, *Proteus mirabilis* con 13, 10 y 5 %, respectivamente. Por último, las bacterias de menor presencia identificados fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter/Klebsiella spp.*

Figura 33

Porcentaje de bacterias patógenas identificadas en el HAFSSH.

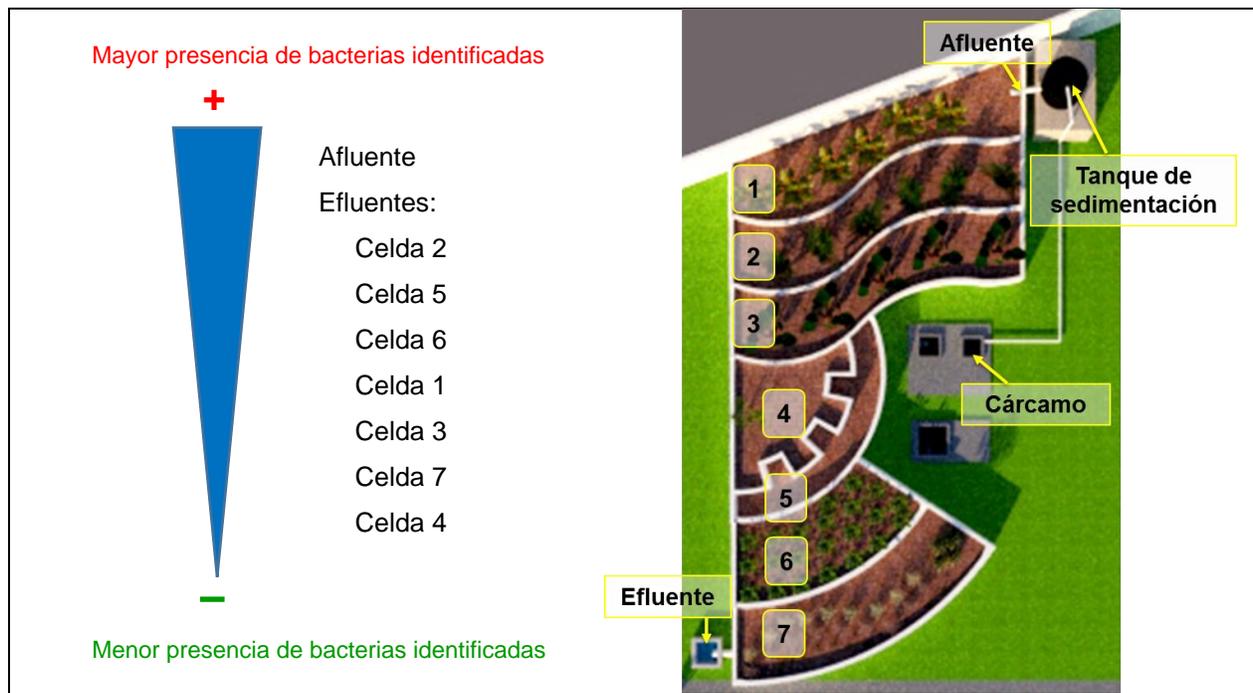


Y con base en la relación de las especies de bacterias patógenas identificadas, los sitios del HAFSSH y las temporadas climatológicas, en la Figura 34 se representan los afluentes en donde predominó la mayor variedad de estos microorganismos, lo que dio como resultado el siguiente orden descendente: Afluente, Celda 2, Celda 5, Celda 6, Celda 1, Celda 3, Celda 7 y Celda 4.

Se infiere a que en el sitio Celda 4 existió la menor variedad de especies de bacterias patógenas, debido a que este sitio resulta estar mayor expuesto a la radiación solar, por lo tanto, pudo existir muerte de varias bacterias. Y en el caso de la Celda 7, este sitio corresponde al producto de agua residual tratada, por lo que es el resultado de todos los mecanismos de remoción llevados a cabo en los sitios anteriores.

Figura 34

Relación de la presencia de las bacterias patógenas identificadas en el HAFSSH.



Para finalizar éste apartado, en la Tabla 16 se enuncian las bacterias patógenas identificadas en el HAFSSH durante el desarrollo de este proyecto, así como el orden, familia y género al que pertenecen con base a la jerarquía taxonómica.

Tabla 16*Bacterias patógenas identificadas en el sistema HAFSSH.*

| No. | Orden | Familia | Género | Especie |
|-----|-------------------------|---------------------------|---------------------|--------------------------------|
| 1 | <i>Enterobacterales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Escherichia</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| 2 | <i>Enterobacterales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Shigella</i> | <i>Shigella spp.</i> |
| 3 | <i>Enterobacterales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Salmonella</i> | <i>Salmonella spp.</i> |
| 4 | <i>Enterobacterales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Klebsiella</i> | <i>Klebsiella spp.</i> |
| 5 | <i>Enterobacterales</i> | <i>Morganellaceae</i> | <i>Proteus</i> | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 6 | <i>Vibrionales</i> | <i>Vibrionaceae</i> | <i>Vibrio</i> | <i>Vibrio cholerae</i> |
| 7 | <i>Vibrionales</i> | <i>Vibrionaceae</i> | <i>Vibrio</i> | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| 8 | <i>Pseudomonadales</i> | <i>Pseudomonadaceae</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Pseudomonas spp.</i> |
| 9 | <i>Pseudomonadales</i> | <i>Pseudomonadaceae</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 10 | <i>Lactobacillales</i> | <i>Enterococcaceae</i> | <i>Enterococcus</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |

De manera que, en total se identificaron diez especies de bacterias patógenas, propios de las familias *Enterobacteriaceae*, *Morganellaceae*, *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Enterococcaceae*. De las cuales la *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.* y *Klebsiella spp.* corresponden a bacterias patógenas entéricas; mientras que *Proteus mirabilis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Pseudomonas spp.*, son catalogadas como bacterias patógenas no entéricas.

10.4 Eficiencia del HAFSSH en la remoción de bacterias patógenas

Como respuesta al Objetivo 2, se determinó la eficiencia de remoción de bacterias patógenas tanto del efluente final del sistema como del efluente de la Celda 3. El segundo sitio se decidió evaluar debido a que las primeras tres celdas cuentan con sustratos alternativos varios, esto para poder hacer una comparación con el resultado de la eficiencia total.

En la Tabla 17 se presentan los porcentajes de eficiencia de remoción de los sitios antes mencionados con relación a la concentración de coliformes totales y fecales.

Tabla 17

Eficiencia del HAFSSH en la remoción de coliformes totales y fecales.

| Temporadas | Lluvia | | Norte | | Estiaje | |
|--|--------|----|---------|---------|---------|---------|
| | CT | CF | CT | CF | CT | CF |
| Eficiencia de remoción total | 100 % | - | 94.84 % | 99.95 % | 100 % | 99.22 % |
| Eficiencia de remoción, Celda 3 | 100 % | - | 98.90 % | 99.95 % | 100 % | 99.22 % |

Nota. CT = Coliformes totales, CF = Coliformes fecales.

Con base al indicador de coliformes totales, durante la temporada de lluvia y estiaje la eficiencia del sistema HAFSSH y el sitio Celda 3 alcanzaron porcentajes de remoción de bacterias patógenas del 100 %; mientras que, en la temporada de norte la mayor eficiencia de remoción se logró en el sitio Celda 3 con un 98.90 %.

Lo que respecta al porcentaje de remoción con relación al indicador de coliformes fecales, en las dos temporadas que fue evaluado este parámetro los porcentajes alcanzados fueron iguales en cada temporada tanto para el efluente del sistema HAFSSH como en el sitio Celda 3; se obtuvieron valores cercanos al 100 %, de 99.95 % en la temporada de norte y 99.22 % en la temporada de estiaje.

En general, los resultados de eficiencia de remoción son similares a los reportados por otros autores, ya que como se mencionó antes, la remoción de estos microorganismos depende de los mecanismos de remoción que los componentes del sistema propicien. Como es el caso de Zurita Martínez *et al.* (2015), quienes obtuvieron porcentajes por encima del 90 % al evaluar un sistema de humedales artificiales híbridos con alimentación vertical y horizontal para tratar aguas residuales provenientes de las actividades de una universidad. Estos autores emplearon vegetación tipo ornamental y tezontle como medio de sustrato.

Por otro lado, Vymazal (2005) encontró que la remoción de coliformes totales y fecales es superior en los humedales subsuperficial de alimentación flujo horizontal en relación a los de alimentación vertical; ya que los primeros suelen alcanzar remociones del 88.1 al 92.6 % y los segundos entre 65.1 y 85.6 %.

Los anterior nos permiten concluir que, gracias a la interacción de los componentes de las primeras tres celdas se logra una eficiencia de remoción optima en el efluente de la Celda 3 con relación a la concentración de bacterias patógenas. Además, el funcionamiento total en el HAFSSH brinda una depuración eficiente de estos microorganismos, lo que podría significar que la selección de los componentes que integran el sistema fue la más apropiada.

10.5 Influencia de las temporadas climatológicas y componentes del sistema sobre la remoción de bacterias patógenas

Con la finalidad de atender el Objetivo 3, se realizó un análisis estadístico para conocer la influencia de las temporadas climatológicas y los componentes del sistema sobre la concentración bacteriana en los distintos sitios del HAFSSH. Por lo que, las *variables de respuesta* fueron la concentración bacteriana y los *factores* las temporadas climatológicas y los sitios del sistema.

10.5.1 Prueba de análisis de varianza

Así es que, primero se comprobó si las variables de respuesta, medidas como coliformes totales (CT) y fecales (CF), con relación a los factores, cumplían con dos de los supuestos más importantes de la prueba de ANOVA: prueba de Levene's y de normalidad.

NOTA. Para poder manejar apropiadamente los datos, se requirió hacer una transformación a base de $\ln(x+1)$.

Mediante la prueba Levene's se compararon las varianzas de los grupos con la finalidad de determinar si los datos eran o no paramétricos a partir del valor obtenido de p . Para ello se plantearon las siguientes hipótesis:

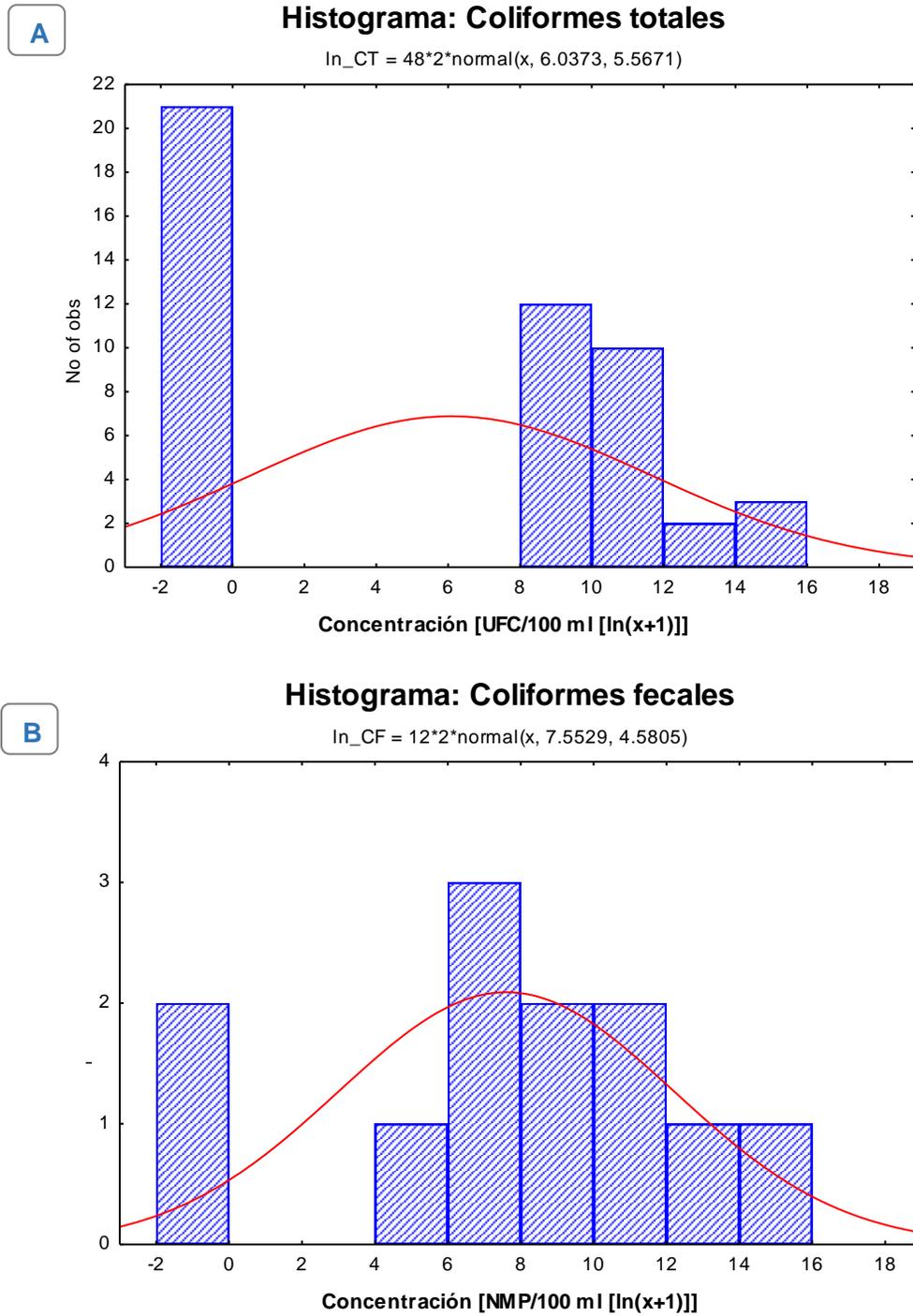
Si $p \geq 0.05$ $\therefore H_0 =$ No hay diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de CT o CF, por lo tanto son datos paramétricos.

Si $p \leq 0.05$ $\therefore H_A =$ Sí hay diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de CT o CF, por lo tanto son datos no paramétricos.

El resultado obtenido para ambas variables de repuesta fue de $p \leq 0.05$, por lo que se aceptó la H_A y se rechazó la H_0 . Con respecto a la prueba de normalidad, en la Figura 35 se muestran los histogramas en donde se aprecia que los datos no siguen una distribución normal y que la concentración de coliformes fecales y totales se adecuan a las siguientes ecuaciones, $\ln_{CT}=48*2*normal(x, 6.0373, 5.5671)$ y $\ln_{CF}=12*2*normal(x, 7.5529, 4.5805)$, respectivamente. Por lo que se concluye que los datos son no paramétricos.

Figura 35

Curvas de la prueba de normalidad: **A.** Histograma de concentración de coliformes totales y **B.** Histograma de concentración de coliformes fecales.



Notas:

[UFC/100 ml [ln(x+1)]] = Logaritmo natural de la concentración bacteriana sobre 100.

[NMP/100 ml [ln(x+1)]] = Logaritmo natural de la concentración bacteriana sobre 100.

Debido a que los datos son no paramétricos, el análisis de varianza se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. A continuación, se presenta la estadística descriptiva de las variables de respuesta con relación a los factores.

10.5.2 Estadística descriptiva de la variable de respuesta en UFC/100 ml con relación a los factores

Por lo que se refiere al resultado de la concentración de coliformes totales con base a la influencia de las temporadas climatológicas y los sitios del sistema, en la Tabla 18 se muestra los valores promedios correspondientes de esta interacción.

Tabla 18

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a los sitios del HAFSSH y las temporadas climatológicas.

| Sitios | Temporadas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|--------|------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| | | [UFC/100 ml] | | |
| C0 | | 1,000,000 ± 1,414,214 | 1,595,000 ± 2,213,244 | 35,000 ± 21,213 |
| C1 | | 1,000,000 ± 1,414,214 | 542,500 ± 731,856 | 20,000 ± 0 |
| C2 | | 0 ± 0 | 87,500 ± 53,033 | 0 ± 0 |
| C3 | | 0 ± 0 | 17,500 ± 17,678 | 0 ± 0 |
| C4 | | 0 ± 0 | 37,500 ± 45,962 | 15,000 ± 7,071 |
| C5 | | 0 ± 0 | 42,500 ± 53,033 | 35,000 ± 35,355 |
| C6 | | 0 ± 0 | 10,000 ± 7,071 | 200,000 ± 141,421 |
| C7 | | 0 ± 0 | 2,500 ± 3,536 | 0 ± 0 |

Durante la temporada de lluvia, en los sitios C0 y C1 se detectó la presencia de $1,000,000 \pm 1,414,214$ UFC/100 ml, estos sitios corresponden a los puntos iniciales del tratamiento por lo que dichos valores están asociados a la carga microbiana proveniente de la alimentación, por otro lado, durante esta temporada en el resto de los sitios no se detectó presencia de concentración bacteria. Esto último podría ser resultado de que el agua haya actuado como diluyente, por lo que la concentración bacteriana no fue detectable en estos sitios durante esta temporada.

En la temporada de norte, la mayor y menor concentración bacteriana se registraron en el sitio C0 con $1,595,000 \pm 2,213,244$ UFC/100 ml y en el C7 con $2,500 \pm 3,536$ UFC/100 ml, respectivamente. Los datos obtenidos muestran un comportamiento de disminución en la concentración de UFC en orden consecutivo de los sitios del HAFSSH, sin embargo, se observa que en los C4 y C5 se presentó un aumento en la presencia de este tipo de coliformes. Este comportamiento podría deberse a dos situaciones. La primera a que este aumento podría estar relacionado con la agregación de coliformes provenientes del medio y que, mediante el efecto de dispersión por el viento, se agregaron a estos sitios al ser los más expuestos a la intemperie (Mosso *et al.*, 2002). Y la segunda, podría deberse a que en estos sitios se presentaron condiciones adecuadas para que los coliformes totales pudieran crecer/reproducirse (Zurita Martínez *et al.*, 2015).

Finalmente, durante la temporada de estiaje la concentración más alta reportada corresponde al sitio C6 con $200,000 \pm 141,421$ UFC/100 ml, esto debido a que para poder obtener la muestra fue necesario remover parte del sustrato, ya que no había caudal en el sitio específico para la toma de muestra; como subsecuentes los sitios C0 y C5 con concentraciones similares de $35,000 \pm 21,213$ y $35,000 \pm 35,355$ UFC/100 ml, respectivamente. Dada la circunstancia bajo la cual fue obtenida la muestra del sitio C6, se reconoció que los sitios C0 y C5 fueron aquellos donde se determinó la mayor concentración bacteriana. Por otro lado, las concentraciones más bajas se registraron en los sitios C2, C3 y C7 con 0 ± 0 NPM.

En la Tabla 19 se muestra la concentración promedio de coliformes totales obtenida en cada temporada climatológica, se puede apreciar que el valor más alto se obtuvo en la temporada de norte y la más baja en la temporada de estiaje.

Tabla 19

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a las temporadas climatológicas.

| Temporadas climatológicas | Lluvia | Norte | Estiaje |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | [UFC/100 ml] | | |
| | $250,000 \pm 683,130^a$ | $291,875 \pm 807,397^b$ | $38,125 \pm 75,119^b$ |

Nota. Valores con literales diferentes expresan datos con diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza de 95%.

Como se mencionó anteriormente, el que exista una mayor concentración de coliformes totales en la temporada de norte, podría deberse a la agregación de este tipo de microorganismos por medio de la dispersión a través del aire como medio de transporte (Mosso *et al.*, 2002).

En relación a la temporada de estiaje, la radiación solar influye de manera importante sobre la muerte de estos microorganismos, lo que resulta en uno de los mecanismos de remoción de bacterias patógenas que en conjunto con otros mecanismos, como filtración, sedimentación, adsorción y depredación, más las condiciones del sitio, promueven la remoción de los coliformes (Apella y Araujo, 2005; Alarcón-Herrera *et al.*, 2018; Fernández y Curt, 2000; Mora y Calvo, 2000).

Así mismo, en la Tabla 20 se describe la concentración promedio de las UFC/100 ml con relación a los sitios del sistema, y con base los resultados obtenidos la concentración mayor se obtuvo en el sitio C0 con $876,667 \pm 1,369,535$ UFC/100 ml. En esta misma tabla se muestra el comportamiento que tuvo la concentración bacteriana en el transcurso de las diferentes celdas.

Tabla 20

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes totales con relación a los sitios del HAFSSH.

| Sitios del HAFSSH | C0 | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 |
|-------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------|
| | [UFC/100 ml] | | | | | | | |
| | $876,667 \pm 1,369,535^a$ | $520,833 \pm 836,352^a$ | $29,167 \pm 51,031^{a,b}$ | $5,833 \pm 12,007^{a,b}$ | $17,500 \pm 26,786^{a,b}$ | $25,833 \pm 34,988^{a,b}$ | $70,000 \pm 119,038^{a,b}$ | $833 \pm 2,041^b$ |

Nota. Valores con literales diferentes expresan datos con diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza de 95%.

A partir del sitio C2 se aprecia una disminución que luego comienza a incrementar a partir del sitio C4, hasta llegar a obtenerse la concentración promedio menor de coliformes totales en el sitio C7 con $833 \pm 2,041$. Como se mencionó anteriormente, existe una dinámica entre los componentes del sistema y las condiciones de los sitios, por lo que se refleja en los aumentos y disminución de estas bacterias, sin embargo, para cuando el caudal corresponde al efluente de la Celda 7, este presenta una notable disminución de estos microorganismos en comparación con la alimentación inicial.

10.5.3 Estadística descriptiva de la variable de respuesta en NMP/100 ml con relación a los factores

En cuanto a la estadística descriptiva de la concentración de coliformes fecales (NMP/100 ml) con relación a la influencia de las temporadas climatológicas y los sitios del sistema, en la Tabla 21 se muestra los valores promedios correspondientes a esta relación.

Tabla 21

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a los sitios del HAFSSH y las temporadas climatológicas.

| Sitios | Temporadas | Lluvia | Norte | | Estiaje |
|--------|------------|--------|-----------------------|--|----------------|
| | | | [NMP/100 ml] | | |
| C0 | | - | 2,196,170 ± 2,541,153 | | 39,931 ± 9,971 |
| C3 | | - | 3,762 ± 0 | | 0 ± 0 |
| C7 | | - | 1,137 ± 717 | | 312 ± 261 |

A través de los datos obtenidos, se determinó que la concentración promedio máxima de coliformes fecales se presentó durante la temporada de norte en el sitio C0 con 2,196,170 ± 2,541,153 NMP/100 ml y la concentración mínima en el sitio C3 durante la temporada de estiaje.

Luego, en la Tabla 22 se expresan las concentraciones promedio de coliformes fecales obtenidas con respecto a la influencia de las temporadas climatológicas, y en comparación con los resultados de coliformes totales, de igual manera la mayor concentración bacteriana se obtuvo durante la temporada de norte con 733,690 ± 1,604,619 NMP/100 ml.

Tabla 22

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a las temporadas climatológicas.

| Temporadas climatológicas | Lluvia | Norte | | Estiaje |
|---------------------------|--------|----------------------------------|--|------------------------------|
| | | [NMP/100 ml] | | |
| | - | 733,690 ± 1,604,619 ^a | | 13,414 ± 21,019 ^a |

Nota. Valores con literales diferentes expresan datos con diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza de 95%.

Finalmente, en la Tabla 23 se muestra la concentración de coliformes fecales con relación a los sitios del sistema, en donde la concentración promedio mayor y menor corresponden al sitio C0 con $1,118,050 \pm 1,924,138$ NMP/100 ml y al sitio C7 con 724 ± 649 NMP/100 ml, respectivamente.

Tabla 23

Estadística descriptiva de la concentración promedio de coliformes fecales con relación a los sitios del HAFSSH.

| Sitios del HAFSSH | C0 | C3 | C7 |
|-------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------|
| | [NMP/100 ml] | | |
| | $1,118,050 \pm 1,924,138^a$ | $1,881 \pm 2,172^b$ | 724 ± 649^b |

Nota. Valores con literales diferentes expresan datos con diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza de 95%.

Los resultados de coliformes fecales en relación a la influencia de las temporadas climatológicas y los sitios del sistema, muestran similitudes con el comportamiento de los coliformes totales, y que como de enunció anteriormente, los coliformes fecales representan una fracción de los totales. Por lo tanto, los criterios de remoción son similares, solo cabe mencionar que en el caso de estos microorganismos, unos de los factores que podría contribuir con la muerte de la *Escherichia coli* es que esta bacteria no sobrevive mucho tiempo en ambientes salinos, pero otros coliformes fecales sí (Mora y Calvo, 2010).

10.5.4 Gráficas de cajas, resultado del análisis estadístico

A través de las gráficas de cajas se representa la concentración bacteriana y como está relacionada con las temporadas climatológicas y sitios del sistema, lo que permite visualizar de forma gráfica las similitudes o diferencias entre las variables de respuesta con los factores. Para ello se plantearon las siguientes hipótesis:

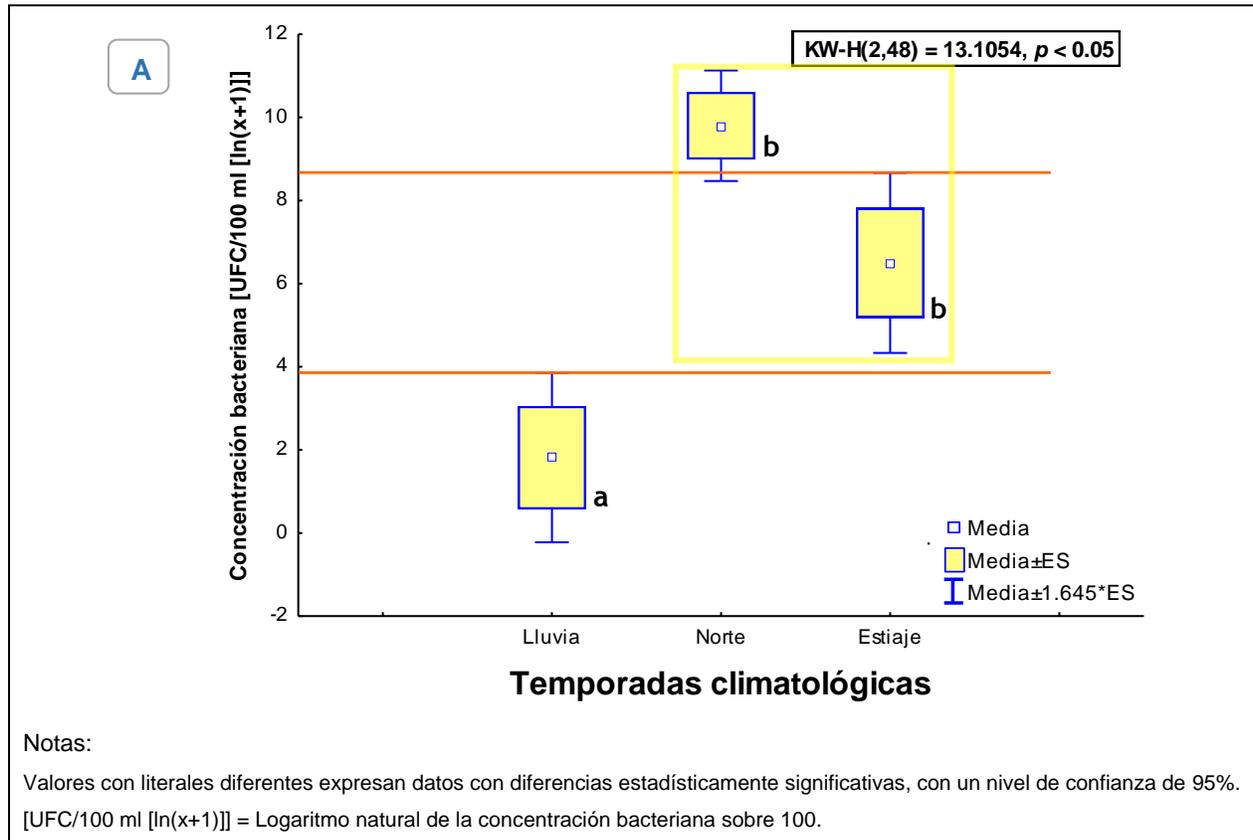
Si $p \geq 0.05$ $\therefore H_0 =$ No existen diferencias estadísticamente significativas entre los factores en relación con la variable de respuesta.

Si $p \leq 0.05$ $\therefore H_A =$ Sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los factores en relación con la variable de respuesta.

Es así que, en la Figura 36 se muestran las gráficas de cajas correspondientes a la concentración promedio de coliformes totales en relación a las temporadas climatológicas.

Figura 36

Gráfica de cajas, relación de la concentración bacteriana con las temporadas climatológicas: **A. Coliformes totales.**

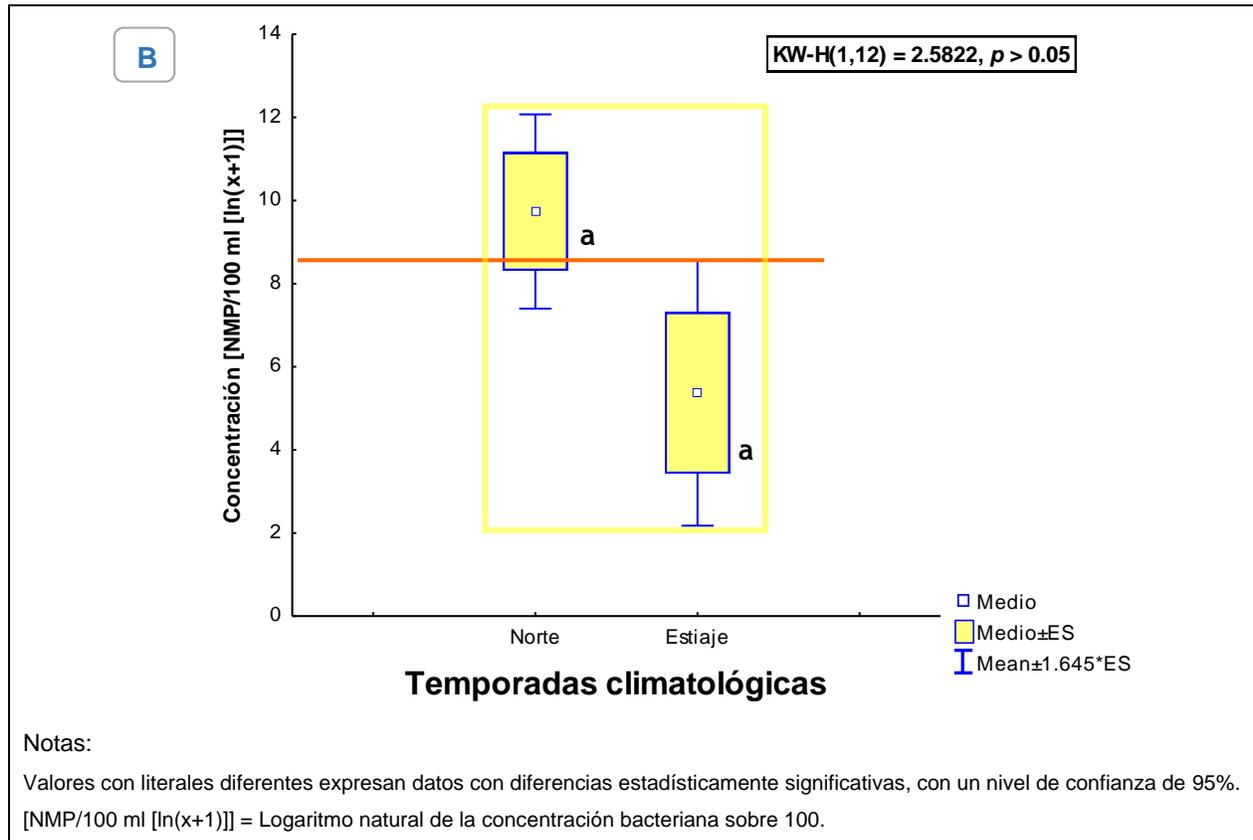


Esta gráfica obedece a la siguiente expresión matemática $KW-H(2,48) = 13.1054, p < 0.05$ y se puede apreciar que la concentración de coliformes totales en la temporada de lluvia no muestra similitudes estadísticas con las otras temporadas, pero las concentraciones en la temporada de norte y estiaje, si tienen similitudes entre sí. De acuerdo a lo anterior, se rechaza la H_0 y se acepta la H_A , y se concluye que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre las temporadas climatológicas en relación a la concentración promedio de coliformes totales.

Lo que respecta a la relación entre la concentración promedio de coliformes fecales y las temporadas climatológicas, en la Figura 37 se presenta la gráfica de cajas correspondiente.

Figura 37

Gráfica de cajas, relación de la concentración bacteriana con las temporadas climatológicas: **B. Coliformes fecales**.

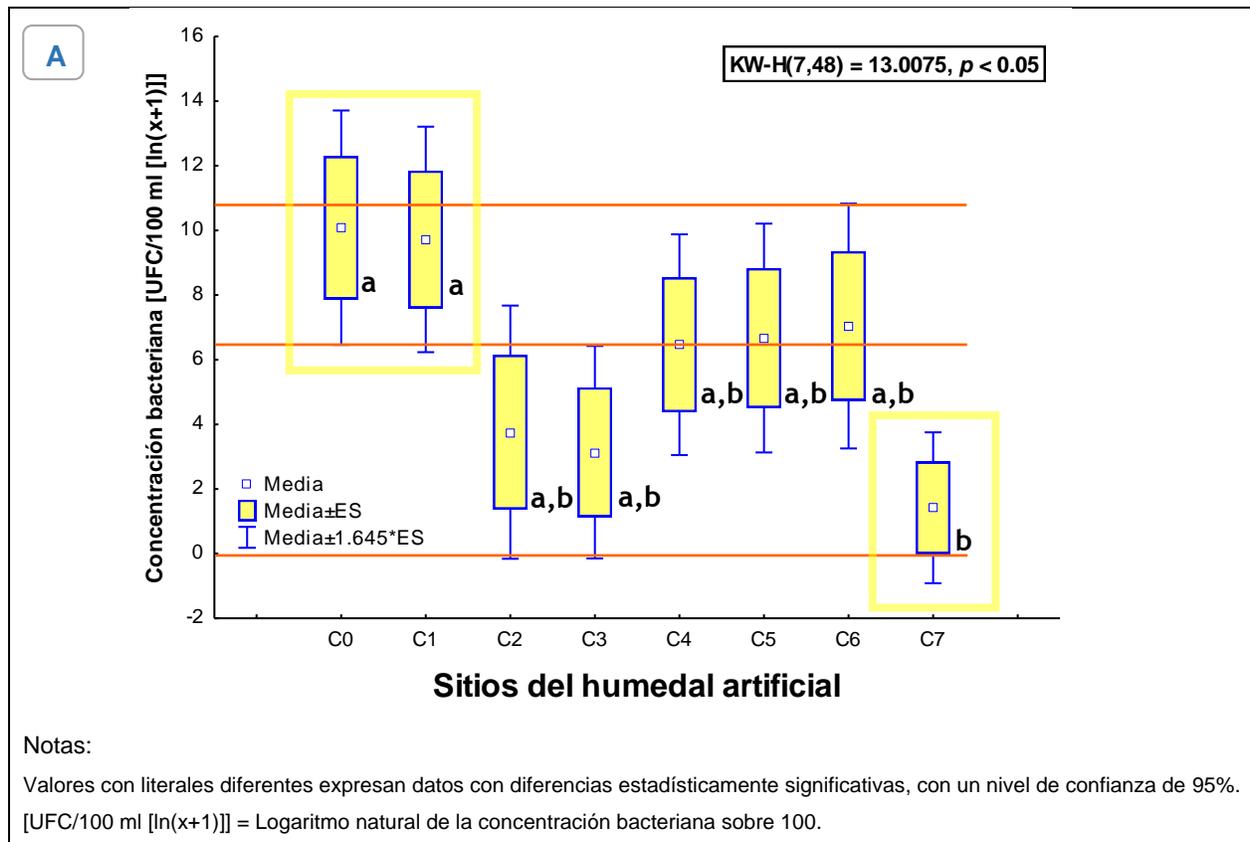


Esta gráfica está descrita por la expresión $KW-H(1,12) = 2.5822, p > 0.05$ y se puede visualizar que la concentración bacteriana durante la temporada de norte y estiaje, no presentan diferencias estadísticas entre sí. Por lo tanto, se acepta la H_0 y se rechaza la H_A , y se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las temporadas climatológicas de norte y estiaje en relación a la concentración promedio de coliformes fecales. Este resultado coincide con lo obtenido en relación a la concentración promedio de coliformes totales en comparación con las mismas temporadas.

A continuación, se presentan las gráficas en donde se relaciona la concentración bacteriana con los sitios del HAFSSH. De manera que, en la Figura 38 se visualiza gráficamente la concentración promedio de coliformes totales en relación a los sitios del sistema.

Figura 38

Gráfica de cajas, relación de concentración bacteriana con los sitios del HAFSSH: **A. Coliformes totales.**

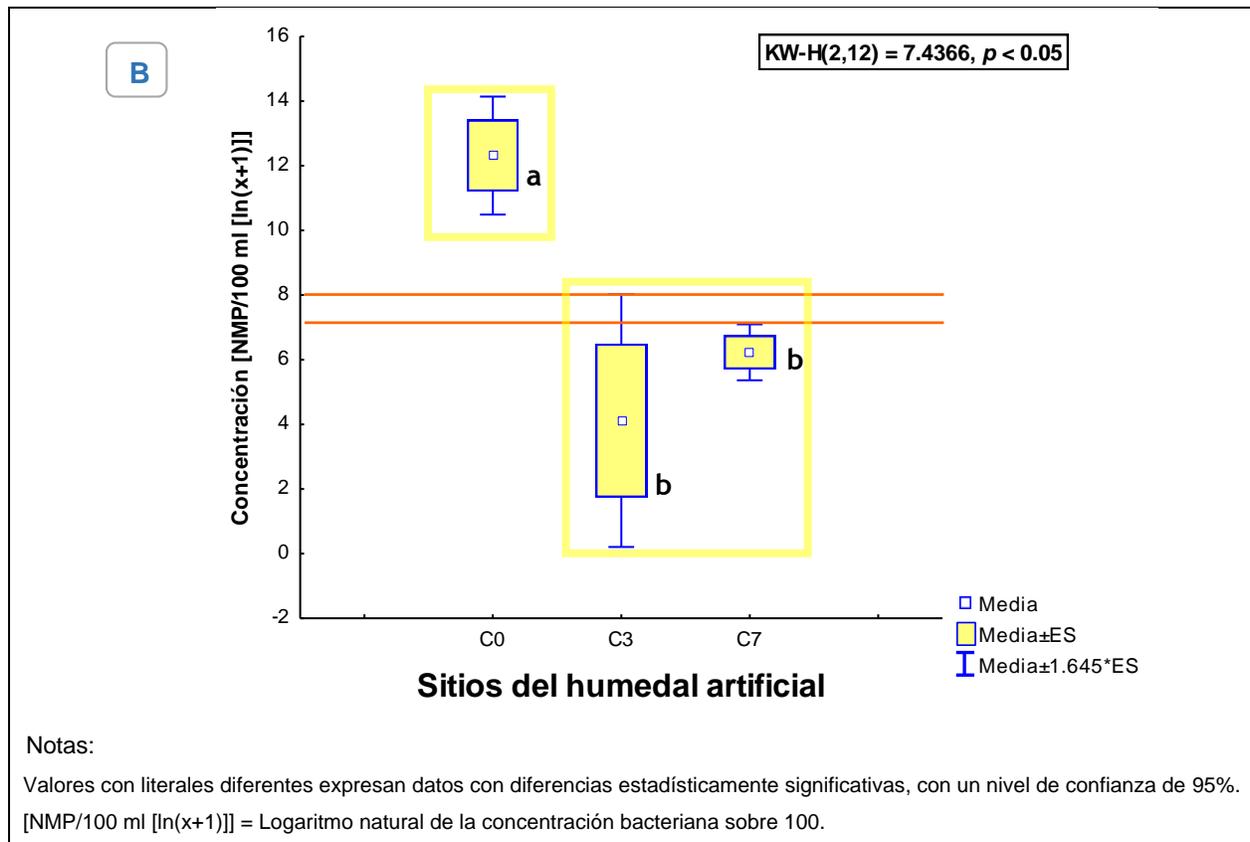


Esta gráfica de cajas se expresa bajo la fórmula $KW-H(7,48) = 13.0075, p < 0.05$, y visualmente se aprecia que únicamente los sitios C0 y C1 con respecto al sitio C7, muestran diferencias estadísticas, este último corresponde al efluente del sistema. Pero, el resto de los sitios muestran similitudes estadísticas entre sí en relación a los sitios antes mencionados. Por lo tanto, se rechaza la H_0 y se acepta la H_A , y se concluye que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los sitios del sistema en relación a la concentración promedio de coliformes totales.

Finalmente, en la Figura 39 se muestra la gráfica correspondiente entre la concentración promedio de coliformes fecales y los sitios del sistema.

Figura 39

Gráfica de cajas, relación de concentración bacteriana con los sitios del HAFSSH: **B. Coliformes fecales.**



La ecuación de cajas correspondiente a dicha gráfica es $KW-H(2,12) = 7.4366, p < 0.05$, aquí nuevamente se visualiza que existen diferencias estadísticas entre el afluente del sistema con respecto al efluente. Aunque, se aprecia que existen similitudes entre el sitio C3 y C7, éste último en concentraciones menores por el tamaño de la caja. Por lo tanto, se rechaza la H_0 y se acepta la H_A , y se concluye que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los sitios del sistema en relación a la concentración promedio de coliformes fecales.

Y es como se explicó en los apartados anteriores, las características que brindan cada una de las temporadas repercute en las condiciones de los sitios del sistema, lo que favorece en algunos casos a que exista una mayor remoción de estos microorganismos gracias a los mecanismos de remoción; y en otros casos, en que se creen las condiciones idóneas para una reproducción microbiana.

10.6 Comparación de la concentración de coliformes fecales en el efluente con la NOM-001-SEMARNAT-1996

Para determinar la contaminación por patógenos, la NOM-001-SEMARNAT-1996 empleaba como indicador microbiológico a los coliformes fecales. En donde el límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, así como las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) era de 1,000 y 2,000 como número más probable (NMP) de coliformes fecales por cada 100 ml. Se optó por comparar las concentraciones de coliformes fecales del efluente con esta norma oficial, debido a que el desarrollo de este proyecto se llevó a cabo bajo los criterios de esta norma.

En la Tabla 24 se describen las concentraciones de coliformes fecales obtenidas en el efluente (C7) del HAFSSH, y con base a los valores de referencia de la norma oficial mexicana, se concluye que los datos obtenidos se encuentran dentro de los valores de referencia de la norma. Por lo que, el agua residual tratada cumple con los criterios de los límites máximos permisibles de contaminación microbiológica para poder ser descargada en las inmediaciones del Río Jamapa.

Tabla 24

Comparación de concentración de coliformes fecales en el efluente con la NOM-001-SEMARNAT-1996.

| Valor de referencia | Valores obtenidos | | |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| NOM-001-SEMARNAT-1996 | Lluvia | Norte | Estiaje |
| 1,000 a 2,000 NMP/100 ml | - | 1,137 NMP/100 ml | 311.5 NMP/100 ml |
| Cumple: Sí/No | NA | Sí | Sí |

Sin embargo, recientemente la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) dio a conocer que la NOM-001 se actualizó en temas de descargas de aguas residual, por lo que ahora será la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, la cual establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la Nación. Dicha ley aún no se encuentra disponible, sin embargo, a partir del comunicado publicado en la página de la Semarnat se infiere que las actualizaciones corresponden con las ya antes descritas en el Diario Oficial de la Federación (DOF) correspondiente al PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017 (Semarnat, 2021; DOF, 2018).

De ser así, entonces la contaminación por patógenos ahora estaría determinada por la concentración de *Escherichia coli* en unidades de NMP/100 ml. En donde los límites máximos permisibles corresponderían a valores de referencia de 1 000, 1 200 y 1 400 NMP/100 ml para promedio mensual, promedio diario y valor instantáneo de concentración de *Escherichia coli*.

Al tomar en cuenta lo anterior, se podría concluir que las concentraciones obtenidas de NMP/100 ml, si cumplen con lo establecido por la NOM-001-SEMARNAT-2021, debido a que los resultados corresponden a valores instantáneos.

XI. CONCLUSIONES

Como resultado del presente proyecto, se obtuvieron eficiencias de remoción de bacterias patógenas, en su mayoría por encima del 95 % en las diferentes temporadas climatológicas, por lo que en temas de calidad microbiológica de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-001-SEMARNAT-2021, el agua residual tratada puede ser descargada en las inmediaciones del Río Jamapa sin causar daños a la vida acuática. Así mismo, los resultados de remoción de la Celda 3 fueron similares al efluente del humedal artificial de flujo subsuperficial horizontal (HAFSSH), esto podría influir en futuros criterios de diseño de algún humedal artificial, porque en el transcurso del afluente de alimentación hacia la Celda 3, la eficiencia de remoción es óptima. Por otro lado, a partir de la identificación de las bacterias patógenas, resulto interesante tener una mejor perspectiva sobre los microorganismos que participan en la dinámica del humedal a través de la interacción del sistema con el medio; por lo que el haberlas identificados, permitiría desarrollar estrategias para lograr su completa remoción y con ello evitar daños a la salud de los seres vivos.

Y finalmente, las temporadas climatológicas y los componentes del sistema, si influyen sobre la eficiencia de remoción de estos microorganismos. Sin embargo, desde una perspectiva funcional del HAFSSH, este resulta ser eficiente para tratar el agua residual de una población de 3 000 personas, porque como se ha mencionado antes, este humedal se encuentra funcionando a escala real para tratar las aguas residuales que se generan en el Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Boca del Río.

XII. LITERATURA CITADA

- Alarcón, M. E. H. (2016). Humedales ornamentales con participación comunitaria para el saneamiento de aguas municipales en México. *Rinderesu*, 1(2), 01-12. <http://www.rinderesu.com/index.php/rinderesu/article/view/16>
- Alarcón-Herrera, M. T., Zurita Martínez, F., Lara-Borrero, J. A. y Vidal, G. (2018). *Humedales de tratamiento: alternativa de saneamiento de aguas residuales aplicable en América Latina*. Pontificia Universidad Javeriana Bogotá. https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es
- Amaya, O. A. (2020). *Arquitectura de humedales contruidos para el tratamiento de aguas residuales*. (Tesis de Maestría en Ciencias, Tecnológico Nacional de México-Campus Boca del Río).
- Anda Sánchez, J. D. (2017). Saneamiento descentralizado y reutilización sustentable de las aguas residuales municipales en México. *Sociedad y ambiente*, (14), 119-143. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-65762017000200119&script=sci_arttext
- Apella, M. C., y Araujo, P. Z. (2005). Microbiología del agua. Conceptos básicos. *Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua*, 33-50.
- Arias, C. A. y Brix, H. (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e ingeniería neogranadina*, (13), 17-24. <https://www.redalyc.org/pdf/911/91101302.pdf>
- Barrera-Escorcía, G., Fernández-Rendón, C. L., Wong-Chang, I., y Ramírez Romero, P. (2013). La sensibilidad del grupo coliforme como indicador de la presencia de enterobacterias patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica*, 23(1), 87-96. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-88972013000100009&script=sci_arttext
- Bedoya Pérez, J. C., Ardila Arias, A. N. y Reyes Calle, J. (2014). Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial en el tratamiento de las aguas residuales generadas en la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Colombia. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(3), 275-283. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000300004
- Bermúdez, G. S., UAGro, P. V., y Mendoza, M. G. V. L. (2016). Tratamiento de Aguas Residuales: Acapulco-México. *Tlamati Sabiduría*, 7 (2). <http://tlamati.uagro.mx/t7e2/112.pdf>
- Bernal, D. P., Cardona, D. A., Galvis, A. y Peña, M. (2003). Guía de selección de tecnología para el tratamiento de aguas residuales domésticas por métodos naturales. *Seminario internacional de métodos naturales para el tratamiento de aguas residuales*, 19-27. http://sistemamid.com/panel/uploads/biblioteca/2014-09-28_10-26-25111030.pdf

- Bernal, F., Mosquera, D., Maury, H., Gonzalez, D., Guerra, R., Pomare, A., y Silva, M. (2003). Humedales Artificiales para el tratamiento de las Aguas Residuales en la Corporación Universitaria de la Costa. *In Memorias del Congreso Internacional Agua. Seminario sobre Métodos Naturales para el Tratamiento de Aguas Residuales. Instituto Cinara. Cartagena, Colombia.* p (pp. 149-155). http://sistemamid.com/panel/uploads/biblioteca/2014-09-28_10-28-30111032.pdf
- Boards, W. (2018). *Folleto Informativo conductividad eléctrica/salinidad.* California: Division of Water Quality. https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/swamp/docs/cwt/guidance/3130sp.pdf
- Carvajal, R. A., Zapattini, I.C y Quintero, Z.C. (2018). Humedales Artificiales, una alternativa para la depuración de Aguas Residuales en el Municipio de Mizque, Bolivia. *Diseño y Tecnología para el Desarrollo*, (5), 88-108. <http://polired.upm.es/index.php/distecd/article/view/3744>
- Castañeda Villanueva, A. A. y Flores López, H. E. (2013). Tratamiento de aguas residuales domésticas mediante plantas macrófitas típicas en Los Altos de Jalisco. *Paakat: Revista de Tecnología y Sociedad*, 4(7), 33. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=499051554003>
- CGJordán. (s.f.). Racionalismo Historia Filosofía 2º Bach.
- Corrales, A., Rodríguez, L. y Lara-Borrero, J. A. (2014). Remoción de patógenos con humedales construidos para aprovechamiento de aguas lluvias en la Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Civil. Pontificia Universidad Javeriana. https://www.researchgate.net/profile/Jaime-Lara-Borrero/publication/303966614_Rodriguez_L_Trabajo/links/57608d0308ae2b8d20eb64e3/Rodriguez-L-Trabajo.pdf
- Cruz Bautista, P., Martínez Dávila, J. P., Osorio Acosta, F., López Romero, G., Estrella Chulin, N. y Regalado López, J. (2017). Marco epistémico para estudiar los agroecosistemas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(1), 159-170. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.79>
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000100159
- CULTIMED. (s.f.). *Manual básico de microbiología.* Instrumentación científica técnica.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L. F., y Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales.* Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro AGUA). <https://core.ac.uk/download/pdf/48017573.pdf>

- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2018). *PROYECTO de Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales para quedar como proyecto de modificación de la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.* https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5510140&fecha=05/01/2018
- Egoavil, G. G. L. (2018). *Implementación de humedal artificial en el tratamiento de agua residual doméstica del proyecto Don Javier 79, Yarabamba–Arequipa.* (Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Federico Villareal). <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/2312>
- Fernández, G. J. y Curt, F. M. M. D. (2000). *Manual de fitodepuración. Filtros de macrófitas en flotación: Coordinada per Jesús Fernández González.* Proyecto Life. Amb disponibilitat.
- García, O. J. A., López, O. G y Torres, B. C. A. (2019). Evaluación de medios de soporte en humedales artificiales con vegetación *Sagittaria latifolia* en la remoción de contaminantes básicos/Evaluation of media of support of artificial wetlands with vegetation *Sagittaria latifolia* in the removal of basics pollutants. *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 8(15), 16-51. <https://doi.org/10.23913/ciba.v8i15.82>
- García, R. (2001). *Fundamentación de una epistemología en las ciencias sociales. Estudios Sociológicos, XIX.* <https://www.jstor.org/stable/40420681>
- Gobierno del Estado de Veracruz. (2021). *Boca del Río.* <https://veracruz.mx/destino?Municipio=28>.
- Hurtado, S. R., Segura, E. I. S., Vázquez, V. S. (2016). Humedal artificial de flujo vertical subsuperficial. Impacto de la tubería de aireación en la remoción de coliformes fecales. *Instituto Mexicano de Tecnología de Agua.* https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2016/12/humedal_artificial_flujo_vertical_hurtado_imta.pdf
- Lara Borrero, J. A. (1999). *Depuración de Aguas Residuales Municipales con Humedales Artificiales.* (Tesis de Maestría, Instituto Catalán de Tecnología Universidad Politécnica de Cataluña).
- Lara, A. M. (2021). *Tratamiento de aguas residuales universitarias mediante un humedal artificial con sustratos híbridos y plantas ornamentales tropicales.* (Tesis de Maestría en Ciencias, Tecnológico Nacional de México-Campus Boca del Río).
- Manjarrez, G., Blanco, J., González, B., Botero, C. M. y Díaz-Mendoza, C. (2019). Parásitos en playas Manjarrez turísticas: propuesta de inclusión como indicadores de calidad sanitaria. Revisión para América Latina. *Ecología Aplicada*, 18(1), 91-100.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162019000100011&script=sci_arttext&tlng=en

- Mena Sanz, J., Rodríguez, L., Núñez, J. y Villaseñor, J. (2009). Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: ventajas de los sistemas híbridos. *Congreso Nacional del Medio Ambiente. Cumbre del Desarrollo Sostenible* (pp. 4-7). http://www.premioconama.org/conama9/download/files/CTs/2643_JMena.pdf
- Metcalf y Eddy. (2003). *Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización*. McGraw Hill.
- Mondaca, M.A. y Campos, Víctor. (2014). Capítulo 2, Riesgo de enfermedades transmitidas por el agua en zonas rurales. G. Vidal y F. Araya (Ed). *Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales: situación actual y desafíos*. (pp. 21-29). Editorial Universidad de Concepción. <http://www.eula.cl/giba/wp-content/uploads/2017/09/las-aguas-servidas-y-su-depuracion-en-zonas-rurales-situacion-actual-y-desafios.pdf>
- Mora, Molina J. M., y Calvo, Brenes G. C. (2010). Estado actual de contaminación con coliformes fecales de los cuerpos de agua de la Península de Osa. *Tecnología en marcha*, 23(5), 34-40. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4835746>
- Moreno, L. Y. y Galvis, F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótrofes aisladas de muestras de suelo rizosférico. *Pastos y Forrajes*, 36(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000100003
- Mosso, M. A., Ullán, C. y De la Rosa, M. C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental*, (5), 375-402. <https://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/view/OBMD0202110375A/21767>
- Nava Bedolla, J. (2017). La esencia del conocimiento. El problema de la relación sujeto-objeto y sus implicaciones en la teoría educativa. *RIDE. Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, 8(15), 25-57. <https://doi.org/10.23913/ride.v8i15.289>
- Núñez Pungaña, T. S. (2015). *Evaluación de cargas contaminantes del afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Puerto Arturo del Cantón Ambato para el diseño de indicadores operacionales* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). <http://dspace.espe.edu.ec/handle/123456789/4853>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2008). *Guías para la calidad del agua potable*. Organización Mundial de la Salud. https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf
- Organización Mundial de la salud (OMS). (2014). *Hojas informativas*. <http://www.who>.

- Pullés, M. R. (2014). Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 45(1), 25-36. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181230079005.pdf>
- Ramalho, R. S. (2003). *Tratamiento secundario: El Proceso de Lodos Activados*. Editorial Reverté, S.A.
- Ríos-Tobón, S, Agudelo-Cadavid, R. M y Gutiérrez-Builes, LA. (2017). Patógenos e Indicadores Microbiológicos de calidad del agua para beber. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2). DOI: 10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08 <http://tesis.udea.edu.co/handle/10495/10714>
- Rivera Vergara, D. A. (2015). Humedales de flujo subsuperficial como biofiltros de aguas residuales en Colombia. *Cuaderno Activa*, 7, 99-108. <https://ojs.tdea.edu.co/index.php/cuadernoactiva/article/view/251>
- Rock, C., y Rivera, B. (2014). La calidad del agua, E. Coli y su salud. *College of Agriculture and life Sciences*, 1. <https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1624s.pdf>
- Rojas-Badía, M. M., Larrea-Murrell, J. A., Romeu-Álvarez, B., Heydrich-Pérez, M., y Rojas-Hernández, N. M. (2013). *Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura*. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 44(3), 024-034. <https://revista.cnic.edu.co/index.php/RevBiol/article/view/1014>
- Romero Rojas, J. A. (2004). *Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño*. Bogotá, CO, Escuela Colombiana de Ingenieros.
- Romero Rojas, J. A.. (2010). *Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño*. Colombia. Nuevas ediciones, S.A.
- Rubio Arias, H. O., Ortiz Delgado, R. C., Quintana Martínez, R. M., Saucedo Terán, R. A., Ochoa Rivero, J. M. y Rey Burciaga, N. I. (2014). Índice de calidad de agua (ICA) en la presa la boquilla en Chihuahua, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(2), 139-150. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282014000200005
- Sandoval, H. L. C., Marín-Muñiz, J. L., Alvarado, L. A., Castelán, R. y Ramírez, L. D. (2016). Diseño de un Mesocosmo de Humedal Construidos con Materiales Alternativos Para el Tratamiento de Aguas Residuales en la Comunidad de Pastorías Actopan. *Congreso Interdisciplinario de Ingenierías* (pp. 35).
- Schaffer, J. N. y Pearson, M. M. (2017). *Proteus mirabilis and urinary tract infections. Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management*. 383-433. <https://doi.org/10.1128/9781555817404.ch17>

- Secretaría de Economía (SE). (2006). Calidad del agua – Detección y enumeración de organismos coliformes, organismos coliformes termotolerantes y *escherichia coli* presuntiva – Método de filtración en membrana (cancela a la NMX-AA-102-1987). (NMX-AA-102-SCFI-2006). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166804/NMX-AA-102-SCFI-2006.pdf>
- Secretaría de Economía (SE). (2013). *Análisis de agua - Medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (cancela la NMX-AA-007-SCFI-2000)*. (NMX-AA-007-SCFI-2013). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166766/nmx-aa-007-scfi-2013.pdf>
- Secretaría de Economía (SE). (2015). *Análisis de agua - Enumeración de organismos coliformes totales, organismos coliformes fecales (termotolerantes) y escherichia coli - Método del número más probable en tubos múltiples (cancela a la NMX-AA-42-1987)*. (NMX-AA-042-SCFI-2015). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166147/nmx-aa-042-scfi-2015.pdf>
- Secretaría de Economía (SE). (2016). *Análisis de agua - Medición de pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas â método de prueba (cancela a la NMX-AA-008-SCFI-2011)*. (NMX-AA-008-SCFI-2016). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166767/NMX-AA-008-SCFI-2016.pdf>
- Secretaría de Economía (SE). (2018). *Análisis de agua - Medición de la conductividad eléctrica en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba (cancela a la NMX-AA-093-SCFI-2000)*. (NMX-AA-093-SCFI-2018). https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5529045&fecha=26/06/2018
http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/AA093-2018_06.pdf
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (1996). *Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales*. (NOM-001-SEMARNAT-1996). https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (1996). *Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales*. (NOM-001-SEMARNAT-1996). https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (1997). *Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se*

reúsen en servicios al público. (NOM-003-SEMARNAT-1997).
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/105139/Normas_Oficiales_Mexicanas.pdf

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2021). *Establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la Nación*. (NOM-001-SEMARNAT-2021).
<https://www.gob.mx/semarnat/prensa/semarnat-actualiza-nom-001-sobre-descargas-de-aguas-residuales-tras-25-anos-de-paralisis>.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2012). *Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental*.
https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_12eng/pdf/Informe_2012.pdf

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2015). *Semarnat. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde*.
https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Informe15_completo.pdf

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). (2021). *Semarnat actualiza NOM 001 sobre descargas de aguas residuales, tras 25 años de parálisis*.
<https://www.gob.mx/semarnat/prensa/semarnat-actualiza-nom-001-sobre-descargas-de-aguas-residuales-tras-25-anos-de-paralisis>

Secretaría de Salud (SS). (2014). *Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos*. (NOM-210-SSA1-2014).
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015

Solís Silván, R., López Ocaña, G., Bautista Margulis, R. G., Hernández Barajas, J. R., Romellón Cerino, M. J. (2016). Evaluación de humedales artificiales de flujo libre y subsuperficial en la remoción de contaminantes de aguas residuales utilizando diferentes especies de vegetación macrófita. *Interciencia*, 41(1), 40-47.
<https://www.redalyc.org/pdf/339/33943362007.pdf>

Tomasini, O. C., Bravo, I. L., Sánchez, C. J. y Moeller, C. G. (2016). Monitoreo de descargas de aguas residuales y su impacto en el lago de Pátzcuaro, México (2006-2011). *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica*, 9(1), 61-74. <http://repositorio.imta.mx/handle/20.500.12013/1730>

Vymazal, J. (2005). *Constructed wetlands with horizontal sub-surface flow and hybrid systems for wastewater treatment*. *Ecol. Eng*, 25, 478-490.

- WPCF-APHA-AWWA. (1992). *Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales*. Editorial Diaz de Santos.
- Zurita Martínez, F., Rojas Bravo, D., Carreón Álvarez, A. y Gutiérrez Lomelí, M. (2015). Desinfección de aguas residuales en tres sistemas de humedales construidos híbridos. *Interciencia*, 40(6), 409-415. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33938675008.pdf>