UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE INGENIERÍA DEPARTAMENTO DE RIEGO Y DRENAJE



ANÁLISIS DE EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE BACTERIÓFAGOS NATIVOS Y BACTERIA DEL GÉNERO SALMONELLA EN UN SISTEMA NATURAL DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUALES.

POR:

BERNARDO ANTONIO VILLAFÁN CORTEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO EN IRRIGACIÓN

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, JUNIO 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

División de Ingeniería Departamento de Riego y Drenaje

ANÁLISIS DE EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE BACTERIÓFAGOS NATIVOS Y BACTERIA DEL GÉNERO SALMONELLA EN UN SISTEMA NATURAL DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUALES.

POR:

BERNARDO ANTONIO VILLAFÁN CORTEZ

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN IRRIGACIÓN

Aprobado por:

Dr. Luis Samaniego Moreno

Asesor Principal

Dr. Sergio Z. Garza Vara

Coasesor

M.C. Aaron Isain Melendres Alvarez

Coasesor

Dr. Sergio Sánchez Martínez

coprdinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México, Junio 2019

ÍNDICE DE CONTENIDO

NDICE DE CONTENIDOi	iii
AGRADECIMIENTOS	٧
DEDICATORIASv	۷i
NDICE DE FIGURASv	′ii
NDICE DE CUADROSi	Χ
RESUMEN	X
. INTRODUCCIÓN.	1
1.1 Objetivos:	2
1.2 Hipótesis:	2
I. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Agua en México	3
2.2 Disponibilidad del agua.	4
2.3 Generación del agua residual	5
2.4 Tratamiento del agua residual	6
2.4.1 Sistemas convencionales.	7
2.4.2 Sistemas naturales.	8
2.4.2.1 Pantanos construidos.	9
2.4.2.2 Lagunas1	2
2.5 Evaluación de sistemas naturales de tratamiento	5
2.6 Hidrodinámica 1	6

	2.7 Remoción de contaminantes	. 17
	2.8 Procesos de remoción.	. 19
	2.8.1 Físicos.	. 19
	2.8.2 Químicos	. 19
	2.8.3 Biológicos.	. 19
	2.9 Remoción de microorganismos.	. 20
	2.10 Bacteria del género salmonella.	. 21
	2.11 Bacteriófagos.	. 22
	2.12 Fagoterapia.	. 23
II	I. MATERIALES Y MÉTODOS	. 25
	3.1 Localización del sitio de estudio.	. 25
	3.2 Características del sistema de tratamiento	. 26
	3.3 Preparación de medios de cultivo	. 29
	3.4 Dilución decimal sucesiva.	. 29
	3.5 Concentración de bacteria	. 29
	3.6 Concentración de bacteriófagos.	. 30
	3.7 Determinación del porcentaje de remoción	. 31
I۱	/. RESULTADOS	. 32
٧	. CONCLUSIÓN	. 41
٧	I. RECOMENDACIONES	. 42
٧	II. REFERENCIAS	. 43

AGRADECIMIENTOS.

A **Dios** porque siempre está apoyándome y dándome la sabiduría para poder seguir adelante y seguir por un buen camino, también gracias porque siempre estas cuidando lo que más amo a mi familia.

A mi **Alma Mater** por abrirme las puertas y darme la oportunidad de adquirir los conocimientos para mi formación profesional.

A mis **Padres** porque desde pequeño me enseñaron que los estudios son la mejor herencia que uno puede recibir, quiero darles las gracias por su apoyo, cariño, compresión, consejos y en especial darme la vida; no tengo palabras para decirles lo mucho que los AMO, gracias por ser mis padres y un ejemplo a seguir en la vida.

Al **Dr. Luis Samaniego Moreno** por darme la oportunidad de poder realizar mi trabajo de tesis, por su valioso apoyo, tiempo y esfuerzo que le dedico a esta investigación, también por los buenos consejos y palabras de aliento en esas platicas de amigos que jamás olvidare.

A mis **Profesores** Dr. Sergio Garza Vara, al Dr. Javier de Jesús Cortés Bracho, al Dr. Alejandro Zermeño Gonzales, al Dr. Fernando Augusto Villareal Reyna, a la Dra. Manuela Bolívar Duarte, al M.C. Aaron Isain Melendres Alvarez. Gracias por compartirme de sus conocimientos y consejos que siempre llevare presentes.

A mis **Amigos y compañeros** por darme la oportunidad de ser su amigo y compartir experiencias inolvidables (Edgar Giovanni Campos López, Raymundo Escalante Notario, Gustavo Villafán Olivares, José Isabel León, Ali Montserrat Díaz Gálvez, Agustín Cruz y compañero de irrigación generación CXXIV).

DEDICATORIAS.

A mis padres:

<u>Antonio Villafán López</u> A ti padre por enseñarme a ser una persona trabajadora, humilde y responsable, tu siempre me demostraste que hay que darle a una sonrisa a la vida y seguir a delante a pesar de las circunstancias.

<u>Maricela Cortez Álvarez</u> Gracias madre por levantarme todos los días para ir a la escuela, aunque yo no quería ir gracias a eso he podido culminar mis estudios, también gracias por el cariño y amor que siempre tuviste para mí.

A mis hermanos:

Maricruz Villafán Cortez, Antonia Villafán Cortés, Kevin Villafán Cortez Por estar en mi vida compartiendo alegrías, tristezas y logros, también por su apoyo, amistad, cariño, lealtad, confianza y por todo ese amor que día con día me han demostrado; gracias por todos los momentos compartidos como familia.

A mi gran amor:

<u>Sámara Jael Juárez</u> Por formar parte de mi vida, gracias amor porque desde que te conocí siempre me has apoyado, por brindarme tu amor, tiempo confianza y amistad, me siento afortunado por tenerte a mi lado TE AMO.

A mis abuelos:

<u>Carlos Villafán Torres (†), Eulalia López Cortez (†), Bernardo Cortez Sánchez,</u> <u>Salome Álvarez Moreno</u> Porque gracias a sus consejos y amor de abuelos he podido ser una persona cada día.

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Valores medios anuales de los componentes del ciclo hidrológico en
México3
Figura 2. Pantanos construidos de flujo superficial
Figura 3. Pantanos construidos de flujo subsuperficial
Figura 4. Sistema de plantas acuáticas flotantes
Figura 5. Laguna de estabilización Aerobia o Fotosintéticas
Figura 6. Laguna de estabilización Anaerobias
Figura 7. Laguna de estabilización Facultativa
Figura 8. Laguna de estabilización con aireación mecánica
Figura 9. Representación del ciclo lítico y el ciclo lisogénico
Figura 10. Localización del sitio de estudio (Google earth®)
Figura 11. Esquema del sistema de la U.A.A.A.N. (S/E)
Figura 12. Fosas igualadoras de gasto
Figura 13. Sistema de pantano construido de flujo subsuperficial
Figura 14. Estanque de sedimentación
Figura 15. Laguna de sedimentación y almacenamiento de agua 28
Figura 16. Modelo de diluciones decimales sucesivas
Figura 17. Comportamiento de la Conductividad Eléctrica
Figura 18. Contenido de Sólidos Disueltos Totales
Figura 19. Valores de pH
Figura 20. Representación de Temperatura

Figura 21. Valores de Turbidez	37
Figura 22. Oxígeno Disuelto	38
Figura 23. Concentración de bacterias del género Salmonella	39
Figura 24. Decaimiento de Bacteriófagos nativos	40

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de contaminantes	xi
Cuadro 2. Procesos de remoción de contaminantes en un flujo subsuperf	icial. 17
Cuadro 3. Especies y subespecies del género Salmonella	22
Cuadro 4. Medios de cultivos	29
Cuadro 5. Concentración de bacteriófagos nativos y género salmonella e	
punto de muestreo.	38
Cuadro 6. Porcentaje de remoción para Género Salmonella y Bacter	iófagos
nativos	40

RESUMEN.

El agua residual es un factor que condiciona el desarrollo de la sociedad, por lo que, someter este recurso a un intenso tratamiento de depuración, tiende a mejorar la calidad del agua. Los sistemas naturales de tratamiento se caracterizan por su bajo costo de construcción, operación y mantenimiento, siendo utilizados para la remoción de contaminantes en las aguas residuales. En este trabajo se utilizó el sistema natural de tratamiento que está ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

El objetivo principal de este estudio fue analizar la eficiencia de remoción del género salmonella y bacteriófagos nativos dentro del sistema natural de tratamiento. Para esto, en cinco puntos de muestreo y empleando la técnica de filtración por membrana, se detectaron las concentraciones del género salmonella y bacteriófagos nativos, también se realizaron mediciones "in situ" de algunos parámetros físicos-químicos del agua.

Con los resultados obtenidos se puede afirmar que la eficiencia de remoción para el género salmonella y bacteriófagos nativos dentro del sistema natural de tratamiento, alcanzan porcentajes del 85.25 y 99.81 por ciento, respectivamente, siendo en los dos primeros procesos el lugar en donde se encuentra la mayor tasa de remoción.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles de contaminantes (Nom-003-ECOL-1997).

	PROMEDIO MENSUAL				
TIPO DE REUSO	Coliformes fecales NMP/100 ml	Huevos de helminto (h/l)	Grasas y aceites mg/l	DBO5 mg/l	SST mg/l
SERVICIOS AL PUBLICO CON CONTACTO DIRECTO	240	1	15	20	20
SERVICIOS AL PUBLICO CON CONTACTO INDIRECTO U OCASIONAL	1,000	5	15	30	30

Palabrasclave:Bacteriófagosnativos,Génerosalmonella,Depuración,SistemadeTratamientoNatural,Remoción.

I. INTRODUCCIÓN.

La salmonelosis en el mundo y en México es un gran problema para la salud, debido a que causan enfermedades gastrointestinales, las principales causas de esta enfermedad son la mortalidad y morbilidad¹, es decir, llegan a morir una gran cantidad de personas. Las manifestaciones clínicas más destacadas de la gastroenteritis son: fiebre, vómito, dolor abdominal, y diarrea moderada o intensa. Las principales fuentes de infección de la bacteria son por vía fecal-oral tras ingerir alimentos contaminados, entre los principales alimentos involucrados son la carne y los productos elaborados de esta, también a partir del consumo de aguas contaminadas (Parra *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 2012).

En la actualidad la calidad del agua es crítica ya que hay contaminación por efluentes provenientes de desechos domésticos que afectan a fuentes de abastecimiento de agua. Con el objetivo de preservar la calidad del agua y disminuir el consumo de antibióticos para las enfermedades como la salmonelosis, existen sistemas naturales de tratamiento para el agua residual (agua contaminada), estos sistemas eliminan sustancias contaminantes presentes en las aguas residuales, sin el empleo de algún aditivo químico. Los efectos depuradores de estos sistemas son: la vegetación, suelo, microorganismos (terrestres y acuáticos) y, en menor medida la acción de plantas y animales superiores (Moreno *et al.*, 2003).

¹ Termino que se refiere a la cantidad de personas que se enferman en un lugar y un periodo de tiempo determinado en relación con el total de la población. Disponible en https://www.definicionabc.com/salud/morbilidad.php

Lo ya mencionado anteriormente lleva a evaluar la eficiencia de remoción del sistema natural que está ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), el cual se encarga de disminuir la carga contaminante generada en diferentes áreas de la universidad. Sin embargo, no se cuenta con registros de evaluaciones anteriores de la eficiencia de tratamiento para la remoción de la bacteria del género salmonella.

Los sistemas de tratamiento natural pueden tener una importante contribución en la remoción de cargas contaminantes por lo que en la UAAAN se opta por evaluar la presencia de bacterias del género salmonella, complementando la información con el análisis de los parámetros físico-químicos: Conductividad eléctrica (CE), Sólidos Disueltos Totales (SDT), Potencial de hidrogeno (pH), Temperatura (T°), Turbidez y Oxígeno Disuelto (OD).

1.1 Objetivos:

- ✓ Determinar la concentración de Bacteriófagos nativos y Género Salmonella en el proceso de tratamiento.
- ✓ Determinar la eficiencia de remoción de Bacteriófagos nativos y Género Salmonella en un sistema natural de tratamiento.

1.2 Hipótesis:

✓ El sistema es capaz de remover Bacteriófagos nativos y Género Salmonella durante su recorrido del agua residual.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Agua en México.

Anualmente México recibe aproximadamente 1 449 471 millones de metros cúbicos de agua en forma de precipitación. De esta agua, se estima que el 72.2% se evapotranspira y regresa a la atmósfera, el 21.5% escurre por los ríos o arroyos, y el 6.3% restante se infiltra al subsuelo de forma natural y recarga los acuíferos. Tomando en cuenta los flujos de salida (exportaciones) y de entrada (importaciones) de agua con los países vecinos, el país cuenta anualmente con 450 828 millones de metros cúbicos de agua dulce renovable (Figura 1) (Conagua, 2017).

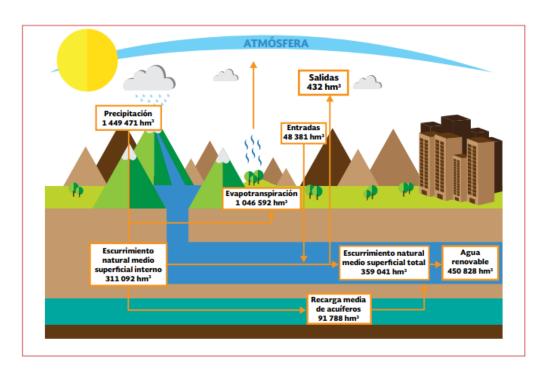


Figura 1. Valores medios anuales de los componentes del ciclo hidrológico en México.

El agua es uno de los recursos naturales que forma parte del desarrollo de cualquier país; es el compuesto químico más abundante del planeta y resulta indispensable para el desarrollo de la vida. Su disponibilidad es paulatinamente menor debido a su contaminación por diversos medios, incluyendo a los mantos acuíferos, lo cual representa un desequilibrio ambiental, económico y social (Esponda, 2001; Conagua, 2017).

El agua cubre aproximadamente tres cuartas partes de la superficie terrestre, en contra de lo que pudiera parecer, diversos factores limitan su disponibilidad para el uso humano; más del 97% del agua total del planeta se encuentra en los océanos y otras masas salinas, por lo que su utilización es limitada, del 3% restante más del 2% se encuentra en estado sólido, como hielo resultando prácticamente inaccesible. En términos generales sólo el 0.62% de toda el agua en el planeta es apta para el hombre y sus actividades domésticas, agrícolas e industriales, este volumen de agua se encuentra en lagos, ríos y acuíferos subterráneos (Bunge, 2010; Esponda, 2001).

La cantidad de agua disponible es ciertamente escasa, uno de sus mayores problemas es aún su distribución irregular en el planeta, por otro lado, el uso de los recursos naturales provoca un efecto sobre los ecosistemas de donde se extrae y donde se utilizan; el caso del agua es uno de los ejemplos más claros y contundentes: un mayor suministro de agua significa una mayor generación de aguas residuales, si se entiende por desarrollo sustentable aquél que permita compatibilizar el uso de los recursos con la conservación de los ecosistemas, entonces se debe propiciar el balance entre la explotación, el tratamiento y el restablecimiento de todos los recursos naturales, incluyendo el agua en todas sus formas y presentaciones (Esponda, 2001; Bunge, 2010).

2.2 Disponibilidad del agua.

La disponibilidad natural de agua representa el volumen de agua neto por año existente en un territorio. A nivel nacional, ésta se calcula a partir de la suma de la precipitación y el volumen de agua escurrido proveniente del extranjero, menos el volumen correspondiente a la evapotranspiración y el que escurre a otros países.

Disponibilidad natural media = (Pp + Importaciones) - (Et + Exportaciones).

Donde:

Pp: Precipitación.

Importaciones: Agua que escurre al territorio nacional proveniente de otros países.

Et: Evapotranspiración.

Exportaciones: Agua que escurre del territorio nacional hacia otros países.

El conocimiento de la disponibilidad natural de agua de un territorio es fundamental para poder llevar a cabo procesos de manejo del recurso hídrico. Los datos oficiales sobre disponibilidad natural de agua o aguas renovables los provee la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) (Bunge, 2010; Conagua, 2017).

2.3 Generación del agua residual.

Los recursos hídricos en México, al igual que en el resto del mundo, se encuentran bajo una creciente presión por el crecimiento demográfico, la urbanización y el incremento en el consumo de agua en los hogares, la agricultura y la industria, han aumentado significativamente el uso global del agua. Este desarrollo conduce a la escasez y perjudica gravemente en la calidad del agua (Monge y Brenes, 2016; Romero *et al.*, 2009; González y Aponte, 2010).

El agua potable no solo se contamina de forma natural por microorganismos, sino también por diferentes sustancias o por otras vías que involucran actividades humanas. El agua se contamina naturalmente por algunas sustancias o por elementos libres como el sodio, el potasio, el cobre, el hierro, el calcio, entre otros. Las sustancias introducidas por las actividades humanas incluyen sales, residuos de hidrocarburos derivados del petróleo, solventes provenientes de la industria y la agricultura, así como lixiviados de depósitos de basura, letrinas y pozos negros. Algunas actividades agrícolas dependientes de altos insumos pueden contribuir de forma significativa a la contaminación del agua potable, debido a las cantidades de fertilizantes y plaguicidas aplicados anualmente (Monge y Brenes, 2016; Moreno *et al.*, 2003).

Las diferentes actividades productivas al generar desechos diversos son las fuentes principales de contaminación de los diferentes cuerpos de agua; lo que se traduce en la desaparición de la vegetación natural, así como en la muerte de peces y demás animales acuáticos. Por otra parte, la descarga directa a cuerpos de agua de las aguas residuales generadas en estas actividades limita el uso del recurso para los diferentes usos productivos como el riego, la pesca, la agricultura y el consumo agua potable (Monge y Brenes, 2016; Andreo, 2014; González y Aponte, 2010).

2.4 Tratamiento del agua residual.

Se considera que el agua está contaminada cuando se ven alteradas sus características químicas, físicas, biológicas o su composición, por lo que pierde su potabilidad para consumo diario o para su utilización en actividades domésticas, industriales o agrícolas. Las aguas residuales se definen como aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general, de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (Romero et al., 2009; Andreo, 2014).

Los procesos utilizados principalmente son físicos, químicos y biológicos. Dentro de estos últimos, los humedales artificiales (HA) son utilizados para aguas residuales de tipo doméstico, aunque también han funcionado para aguas de origen industrial (Varón et al., 2011; Romero et al., 2009).

En México se generan alrededor de 200 m³s de aguas residuales, de las cuales reciben tratamiento sólo 36%, lo que indica que se requiere de mayor

infraestructura y recursos humanos para mejorar la calidad de este bien, además de propuestas innovadoras que permitan implementar el tratamiento en diferentes condiciones ambientales y socioeconómicas (Romero *et al.*, 2009).

2.4.1 Sistemas convencionales.

Para el tratamiento de las aguas residuales existen diversos procesos y operaciones unitarias, que, con una adecuada selección y combinación, pueden resolver la mayoría de las necesidades de disposición final o reaprovechamiento de los vertimientos.

Los pasos básicos para el tratamiento convencional de aguas residuales incluyen:

- Pretratamiento
- Tratamiento primario
- Tratamiento secundario
- Tratamiento terciario o avanzado

Pretratamiento: Es el proceso de eliminación de los constituyentes de las aguas residuales cuya presencia puede provocar problemas de mantenimiento y funcionamiento de los diferentes procesos y operaciones. El desbaste y la dilaceración son procesos utilizados para la eliminación de sólidos gruesos, la flotación para eliminar grasas y aceites y el desarenado para la eliminación de la materia en suspensión gruesa (Romero, 2000; Romero *et al.,* 2009).

Tratamiento primario: Se refiere comúnmente a la remoción parcial de sólidos suspendidos y materia orgánica particulada mediante sedimentación o flotación, constituyendo una estrategia de preparar el agua residual para el tratamiento biológico. Por lo general el tratamiento primario en un sistema convencional, remueve alrededor del 60% de los sólidos suspendidos del agua residual cruda y hasta un 40% de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), fundamentalmente particulada (Romero, 2000; Moreno *et al.*, 2003).

Tratamiento secundario: El tratamiento secundario convencional es biológico, se usa principalmente para remoción de DBO5 soluble y sólidos

suspendidos volátiles, se incluyen en estos los procesos biológicos de lodos activados, filtros percoladores, sistemas de lagunaje y los humedales artificiales, además de otras opciones anaeróbicas o mixtas (Romero, 2000; Romero *et al.*, 2009; Moreno *et al.*, 2003).

Tratamiento terciario y avanzado: Supone generalmente, la necesidad de remover nutrientes para prevenir la eutrofización² de fuentes receptoras ambientalmente más sensibles o para mejorar la calidad de un efluente secundario con el fin de adecuar el agua para su reúso (Romero, 2000; Romero et al., 2009).

Romero y colaboradores (2009), mencionan que en un desarrollo gradual de sistemas de tratamiento se pueden considerar, como objetivos iníciales y principales del tratamiento de aguas residuales, los siguientes:

- Remoción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5).
- Remoción de Sólidos Suspendidos Totales (SST).
- Remoción de Nitrógeno y Fósforo.

2.4.2 Sistemas naturales.

En el medio ambiente natural, cuando interaccionan el agua, el suelo, las plantas, los microorganismos y la atmósfera, se producen procesos físicosquímicos y biológicos. Los sistemas de tratamiento natural se diseñan para aprovechar estos procesos con objeto de proporcionar tratamiento al agua residual. Los sistemas naturales de tratamiento (SN) están surgiendo como alternativas de bajo costo, fáciles de operar y eficientes en comparación con los sistemas de tratamiento convencional para una amplia gama de aguas residuales (Varón et al., 2011; Gonzales y Aponte, 2010).

² Termino que se refiere a cuando el agua asimila una alta concentración de nutrientes (en concreto, fosfatos y nitratos) por afluencia de aguas de procedencia, sobre todo, agrícola o urbana. Disponible en https://blogdelagua.com/noticias/eutrofizacion-problematica-ambiental-en-la-depuracion-de-aguas-residuales/

La denominación de métodos de depuración natural, se engloban aquellos procedimientos en los que el tratamiento principal es proporcionado por componentes del medio natural. Habitualmente se diferencian dos grandes grupos: los métodos de tratamiento mediante aplicación en el terreno y los sistemas acuáticos. En todos ellos, el efecto depurador se debe a la acción de la vegetación, suelo, microorganismos (terrestres y acuáticos) y en menor medida, a la acción de animales superiores, sin la intervención de agentes artificiales. Estos procedimientos naturales se caracterizan, en general, por sus menores necesidades de personal de operaciones, menor consumo energético y menor producción de fangos. Sin embargo, habitualmente requieren mayores superficies de terreno disponibles. Este factor, a veces limitante, es el que determina que los llamados métodos naturales de depuración sean los apropiados y aconsejados para pequeños núcleos rurales. Algunos de estos métodos o conceptos de depuración han sido conocidos y empleados desde hace siglos, habiéndose puesto de actualidad con la aparición y divulgación del concepto vertido de contaminación cero o vertido cero (Varón et al., 2011; delgadillo, 2010).

Entre los métodos de tratamiento en el terreno se incluyen habitualmente tres tipos (Varón *et al.*, 2011):

- Infiltración lenta.
- Infiltración rápida.
- Flujo superficial.

2.4.2.1 Pantanos construidos.

Los pantanos construidos son sistemas de tratamiento del agua residual, eficientes en la remoción de sólidos suspendidos, materia orgánica, nutrientes, microorganismos y metales pesados, los procesos de tratamiento que se llevan a cabo imitan a aquellos que ocurren en los pantanos naturales, teniendo procesos físicos, químicos y biológicos, que incluyen la sedimentación, filtración, precipitación, adsorción, descomposición microbiológica, nitrificación y desnitrificación (Samaniego *et al.*, 2011; Andreo, 2014).

Hay Tres tipos de pantanos construidos que son utilizados para el tratamiento del agua residual.

Superficial: Los pantanos construidos de flujo superficial (Figura 2) son cuencas de tierra poco profundas, plantadas con vegetación emergente. El agua fluye por la superficie con una profundidad que generalmente va de 15 a 46 cm, dependiendo del tipo de vegetación y otros factores de diseño.

En su funcionamiento gran parte de los resultados del tratamiento son debidos a las actividades de los microorganismos, principalmente bacterias y hongos, que prosperan en este tipo de entorno en los humedales. Muchos de los organismos se unen a los tallos de plantas sumergidas y restos de las mismas, mientras que otros se convierten en parte de la matriz suelo-raíz. Además, la columna de agua está llena de microorganismos que contribuyen al proceso de tratamiento (Samaniego *et al.*, 2011; Ramos y Uribe, 2009).

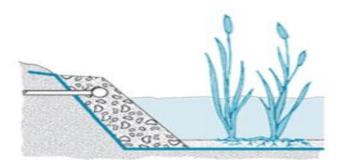


Figura 2. Pantanos construidos de flujo superficial.

Subsuperficial: Los pantanos construidos de flujo subsuperficial (Figura 3) contienen un lecho de roca, grava, o suelo a través del cual fluye el agua residual. El lecho está por debajo del nivel del terreno y el agua residual entra aproximadamente a media profundidad. La vegetación hidrofítica emergente se siembra en la superficie de los humedales, a menudo en una capa poco profunda de hojarasca de pino, astillas de madera, u otro tipo de sustrato. Las raíces de las plantas se extienden en el lecho saturado (Samaniego *et al.*, 2011; Ramos y Uribe, 2009).

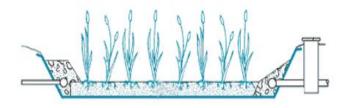


Figura 3. Pantanos construidos de flujo subsuperficial.

Plantas Acuáticas Flotantes: Los sistemas de plantas acuáticas flotantes (Figura 4) constan de un estanque o una serie de estanques en los que las plantas se cultivan. Los estanques deben ser lo suficientemente profundos para evitar el crecimiento de plantas emergentes, pero de profundidad suficiente para asegurar un contacto adecuado entre las raíces de las plantas flotantes y las aguas residuales (rango de profundidad de 0.9 a 1.5 m).

Las plantas más utilizadas para el tratamiento de aguas residuales son jacintos de agua (*Eichhornia crassipes*) y la lenteja de agua (miembros de los géneros Lemna, Spirodella, Wolffia y Wolfiella). Ambos tipos de vegetación crece rápidamente y en general dan sombra suficiente para evitar el crecimiento de algas, que, a su vez, evitan grandes oscilaciones diurnas en el pH y las concentraciones de oxígeno disuelto (Samaniego *et al.*, 2011; Ramos y Uribe, 2009).

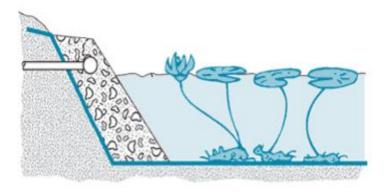


Figura 4. Sistema de plantas acuáticas flotantes.

2.4.2.2 Lagunas.

Las lagunas de estabilización reciben diferentes nombres: Lagunas de Oxidación, Lagunas de Aguas Negras, Estanques de Oxidación, entre otros. El término Lagunas de Oxidación, se utilizó por la importancia que tiene el oxígeno en el proceso estabilizador de la materia orgánica, y por la gran cantidad de este gas que se produce a través del proceso de fotosíntesis de algas (Vázquez, 2016).

Las lagunas de estabilización se clasifican en cuatro clases:

Fotosintéticas o aerobias (Figura 5): Son las lagunas que suelen medir de 1 a 1.3 m profundidad para que la luz solar pueda llegar al fondo de ella, reciben una carga orgánica relativamente baja para que puedan crecer algas y así logran mantener oxígeno disuelto en toda su profundidad para las bacterias aerobias.

Si la laguna es muy profunda el crecimiento excesivo de algas puede impedir que la luz solar penetre en el agua. En lugares muy fríos no se utilizan lagunas aerobias ya que pueden congelarse completamente en invierno y paralizar el tratamiento del agua residual (Vázquez, 2016; Calvo, 2004).

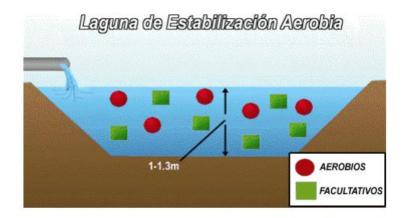


Figura 5. Laguna de estabilización Aerobia o Fotosintéticas.

Anaerobias (Figura 6): son lagunas que suelen medir de 2.5 a 5.0 metros de profundidad y que reciben cargas orgánicas muy fuertes, por lo que se mantienen en condiciones anaerobias en todo su contenido.

Estas lagunas suelen utilizarse para tratar residuos muy concentrados como los que se eliminan en una industria alimenticia. La espuma de la superficie que es típica de este tipo de lagunas. Estas masas impiden que el aire entre en contacto con el agua residual. La laguna así no contiene prácticamente nada de oxígeno disuelto y el ambiente en el interior es completamente anaerobio.

Tienen la ventaja de que ocupan menos área, pero en cambio su mantenimiento es más costoso, pues hay que estar removiendo lodos digeridos periódicamente. Además, producen olores nauseabundos dado que los gases que se forman durante la degradación anaerobia de la materia huelen mal, por lo que estas lagunas no se utilizan habitualmente y hay que instalarlas en zonas alejadas de centros urbanos (Vázquez, 2016; Calvo, 2004).

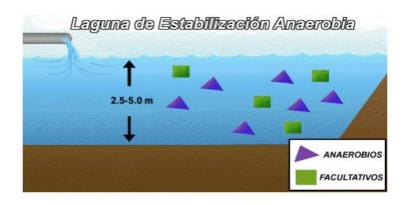


Figura 6. Laguna de estabilización Anaerobias.

Facultativas (Figura 7): Son lagunas de mediana profundidad entre 1 y 2 metros, que a 0.6 m es aerobia por que mantienen oxígeno disuelto y son anaerobias en las capas inferiores. A media profundidad la cantidad de oxígeno disuelto suele variar y entonces tendrá lugar una descomposición aerobia o anaerobia dependiendo de la cantidad de oxígeno disponible en cada momento.

Estas lagunas reciben una carga orgánica moderada, generalmente no producen malos olores, por lo que basta con retirarlas unos 100 a 300 metros de las zonas pobladas. Las lagunas facultativas son las más utilizadas para el tratamiento de aguas residuales municipales y de algunas industrias (Vázquez, 2016; Calvo, 2004).

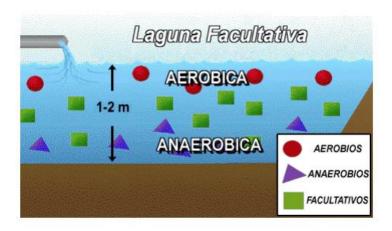


Figura 7. Laguna de estabilización Facultativa.

Lagunas con aireación mecánica o forzada o artificial (Figura 8): Son las que se proveen de oxígeno en forma artificial mediante aireadores mecánicos, que lo toman del aire para tener más cantidad de oxígeno disuelto y lo transfieren a la laguna o estanque de este modo se puede añadir carga de residuos a la laguna o bien disminuir el tiempo de retención del agua residual (Vázquez, 2016; Calvo, 2004).



Figura 8. Laguna de estabilización con aireación mecánica.

2.5 Evaluación de sistemas naturales de tratamiento.

El desarrollo de sistemas naturales de tratamiento ha incrementado en las últimas décadas, estas técnicas de depuración natural son compatibles con el medio ambiente y con reducidos requerimientos de inversión económica y mantenimiento, permite abordar el problema de la eliminación de residuos líquidos urbanos desde una nueva perspectiva. Se trata de técnicas novedosas y eficaces que no hacen sino aprovechar los procesos y sistemas naturales de depuración (Hernández et al., 2015; Moreno et al., 2003).

Estos sistemas son simples, costo efectivos y eficientes métodos para purificar la gran cantidad de aguas residuales producidas por nuestra sociedad. Pueden aplicarse a tratamiento secundario o terciario, removiendo bacterias, microorganismos y la materia orgánica.

Los procesos que intervienen en ellos incluyen a muchos de los que se aplican en los tratamientos convencionales (sedimentación, filtración, adsorción, precipitación química, intercambio iónico, degradación biológica), junto con procesos propios de los tratamientos naturales (fotosíntesis, fotoxidación, asimilación por parte de las plantas), pero en las técnicas de depuración natural se opera a velocidad "natural" (sin aporte de energía).

Los humedales construidos se incluyen entre los llamados sistemas naturales de tratamiento. Son sistemas que han sido diseñados y construidos, para utilizar los procesos naturales que tienen lugar entre la vegetación, el suelo y los microorganismos asociados, y así tratar las aguas residuales (Hernández et al., 2015; Pérez et al., 2013).

Pérez y colaboradores (2013) mencionan que las eficiencias en la remoción de carga orgánica de las aguas tratadas con los humedales construidos pueden alcanzar porcentajes promedios de 91% para el caso de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y 72% para la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La construcción de un pantano (humedal artificial) de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas negras posterior a un sistema tradicional de tanque séptico demostró ser una alternativa viable para la aplicación de tecnologías limpias en la depuración de aguas en el país (Pérez *et al.*, 2013; Lavirra et al., 2017).

2.6 Hidrodinámica.

El conocimiento de las propiedades hidráulicas para los estudios del funcionamiento de los sistemas naturales de tratamiento, las cuales principalmente, son la distribución del tiempo de residencia, la dispersión y la velocidad de flujo. El tiempo teórico o esperado de tránsito del agua residual dentro del pantano es estimado con la relación entre el volumen de almacenamiento de agua y el gasto de salida, sin embargo, frecuentemente, existen diferencias con el tiempo actual del movimiento de agua, estas discrepancias en los diferentes tiempos pueden deberse al retardo del agua residual en zonas de estancamiento (zonas muertas) o de flujos preferenciales (cortos circuitos). La información referente a las propiedades hidráulicas de los pantanos construidos en términos de eficiencia y mezclado está representada por la distribución del tiempo de residencia, el cual puede ser únicamente obtenido mediante una prueba de trazadores en el efluente del pantano para obtener una curva de avance del trazador no reactivo, inyectado instantáneamente a la entrada del sistema (Samaniego, 2011).

El primero en proponer el empleo de la distribución del tiempo de residencia (RTD) para caracterizar los reactores químicos fue Danckwertsen en 1953. Para lograr la predicción del comportamiento del flujo dentro de un reactor es imprescindible el conocimiento de la curva de distribución de tiempos de residencia (RTD) de la corriente del fluido. Esta información puede determinarse mediante el método experimental estímulo-respuesta, el cual consiste en introducir una perturbación en el flujo (inyección de trazador) y observar su comportamiento a lo largo del tiempo (la distribución de las concentraciones) (Larriva et al., 2017; Ramo y Uribe, 2009).

La correcta formulación de los fenómenos de dispersión y difusión es compleja ya que es difícil simular física y matemáticamente los fenómenos que tienen lugar en el flujo a través de un medio poroso, aun en casos sencillos (Larriva *et al.*, 2017; Vinueza, 2014).

2.7 Remoción de contaminantes.

Se desarrollan diferentes mecanismos básicos de remoción de contaminantes para el agua residual que son tamizado, sedimentación, precipitación química, adsorción y degradación microbiológica de la DBO₅ y del nitrógeno, así como la captación por parte de la vegetación (Mena *et al.*, 2008; Delgadillo, 2010).

Los principales mecanismos son los siguientes (Mena et al., 2008):

- Remoción de DBO₅.
- Remoción de SST.
- Remoción de Nitrógeno.
- Remoción de Fósforo.

Cuadro 2. Procesos de remoción de contaminantes en un flujo subsuperficial (Mena *et al.*, 2008).

Contaminante	Proceso
Materia	Las partículas de MO son eliminadas por la
orgánica (MO)	sedimentación y filtración, luego convertidas a DBO ₅ soluble
(medida como DBO ₅ o DQO)	 La MO soluble es fijada y adsorbida por el biofilm³ y degradadas por las bacterias adheridas en este.

17

³ Termino que se refiere a una colonia estructurada de células bacterianas incrustadas en un matriz polimérica fabricada por ellas mismas y adheridas a la superficie. Disponible en http://www.cresa.cat/blogs/sociedad/es/espanol-biofilms-bacterianos-por-que-deberia-importarnos/.

 Sedimentación y filtració 	n
---	---

Sólidos suspendidos totales (SST)

- Descomposición durante los largos tiempos de retención por bacterias especializadas en el lecho de arena.
- Nitrificación / Desnitrificación por el biofilm

Nitrógeno

Absorción de las plantas (influencia limitada)

Fósforo

- Retención en el lecho de arena (adsorción)
- Precipitación con aluminio, hierro y calcio
- Absorción de las plantas (influencia limitada)

Patógenos

- Sedimentación y filtración
- Absorción por el biofilm
- Depredación por protozoarios
- Eliminación de bacterias por condiciones ambientales desfavorables (temperatura y pH)

Metales pesados

- Precipitación y adsorción
- Absorción de las plantas (influencia limitada)

Contaminantes orgánicos

- Adsorción por el biofilm y partículas de arena
- Descomposición debido a lo largo del tiempo de retención y a las bacterias especializadas del suelo (no calculable).

2.8 Procesos de remoción.

Los procesos para la remoción de contaminantes de las aguas pueden ser de tipo físico, químico y biológico (Ramos y Uribe, 2009).

2.8.1 Físicos.

En el proceso de remoción físicos son capaces de proporcionar una alta eficiencia física en la remoción de contaminantes asociados con material particulado en suspensión existente en el agua. El agua se mueve muy lentamente a través de los humedales, debido al flujo laminar característico y la resistencia proporcionada por las raíces de las especies vegetales seleccionadas (Ramos y Uribe, 2009; Llagas y Guadalupe, 2006).

2.8.2 Químicos.

El proceso de remoción química, el proceso más importante dentro de la remoción química es la absorción, que da lugar a la retención a corto plazo o a la inmovilización a largo plazo de varias clases de contaminantes. La absorción está definida como la transferencia de los iones a partir de la fase de la solución (agua) a la fase sólida (suelo). La absorción incluye además los procesos de adsorción y precipitación. La adsorción se refiere a la unión de iones a las partículas del suelo o biomasa, por el intercambio catiónico o absorción atómica. El intercambio catiónico implica la unión física de los cationes a las superficies de las partículas de la arcilla y de la materia orgánica en el suelo (Ramos y Uribe, 2009; Llagas y Guadalupe, 2006).

2.8.3 Biológicos.

El proceso de remoción biológica, que es quizá el proceso más importante para la remoción de contaminantes, dado que en éste la planta capta los contaminantes que son una forma de nutrientes esenciales para las mismas, tales como Nitrato, Amonio y Fosfato, estos son tomados fácilmente por las plantas. Sin embargo, muchas especies de plantas del humedal son capaces de captar, e incluso acumular significativamente metales tóxicos, como Cadmio, Cromo y Plomo con la ayuda de los microorganismos existentes en el suelo o biomasa. En este proceso las bacterias y otros microorganismos en el

suelo también proveen, captan y almacenan nutrientes a corto plazo y algunos contaminantes ayudando a la mineralización del suelo (Ramos y Uribe, 2009).

Los tratamientos biológicos emplean microrganismos (bacterias, hongos, protozoos y algas) para llevar a cabo la eliminación de aquellos componentes indeseables del agua, aprovechando su actividad metabólica, y obtener, así, un efluente final que pueda ser vertido al medio (Llagas y Guadalupe, 2006).

Los procesos de biodegradación se llevan a cabo en reactores biológicos. El diseño y las condiciones de operación de los mismos (pH, temperatura y carácter aerobio o anaerobio del sistema) buscan mantener en cada momento las condiciones óptimas para el crecimiento microbiano. Considerando estos aspectos, existen múltiples formas de operar dependiendo de las características del agua y de la carga orgánica a tratar (Ramos y Uribe, 2009; Llagas y Guadalupe, 2006).

2.9 Remoción de microorganismos.

Los microorganismos se encargan de realizar el tratamiento biológico. En la zona superior del humedal, donde predomina el oxígeno liberado por las raíces de las plantas y el oxígeno proveniente de la atmósfera, se desarrollan colonias de microorganismos aerobios. En el resto del lecho granular predominarán los microorganismos anaerobios. Los principales procesos que llevan a cabo los microorganismos son la degradación de la materia orgánica, la eliminación de nutrientes y elementos traza y la desinfección (Vinueza, 2014; Vera et al., 2006).

Los principales microorganismos presentes son: bacterias, hongos y protozoarios. La biomasa microbiana consume gran parte del carbono y muchos nutrientes. La actividad microbiana tiene la función de transformar un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas e insolubles y alterar las condiciones de potencial de reducción y oxidación del sustrato afectando así a la capacidad de proceso del humedal. Asimismo, gracias a la actividad biológica, muchas de las sustancias contaminantes se

convierten en gases que son liberados a la atmósfera (Vinueza, 2014; Varón, 2011).

2.10 Bacteria del género salmonella.

Los miembros del género salmonella están ampliamente distribuidos en la naturaleza, el género Salmonella recibe su nombre gracias al microbiólogo Daniel Elmer Salmon (1850-1914). Junto a Theobald Smith (1859-1934) fueron quienes descubrieron los gérmenes designados como salmonelas en 1885, aislándolos de cerdo con cólera (Gordillo *et al.*, 2010; Pachón, 2009).

Las bacterias son generalmente unicelulares las cuales hacen parte del grupo de los protistas inferiores. Estas presentan una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores. Son células procariotas su núcleo está formado por único cromosoma y carecen de membrana nuclear (Gordillo *et al.*, 2010; Pachón, 2009).

Las diversas especies de Salmonelas se trasmiten por contacto con animales enfermos, aunque por lo general la enfermedad producida tiene un origen alimentario debido a la ingesta de alimentos contaminados, teniendo en cuenta que la materia fecal es una de las principales fuentes de contaminación a nivel ambiental (Gordillo *et al.*, 2010; Rivera *et al.*, 2012).

La Salmonela corresponde a bacterias Gram negativas está constituido por bacilos gramnegativos no esporoformadores, anaerobios facultativos, estrechamente relacionados morfológica y fisiológicamente con los otros géneros que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae pueden tener un tamaño de 2 a 3 x 0.4 a 0.6 micras y están compuestas por una sola especie denominada Salmonella Entérica. Generalmente son móviles por flagelos, las cuales causan tifoidea aviar y pullorosis respectivamente (Gordillo *et al.*, 2010; Pachón, 2009; Uribe *et al.*, 2006; Parra *et al.*, 2002).

El género Salmonella consta de sólo dos especies, en el (Cuadro 3) se clasifican las especies y subespecies del género Salmonella (Rivera *et al.*, 2012; Parra *et al.*, 2002).

Cuadro 3. Especies y subespecies del género Salmonella Rivera *et al.*, 2012; Parra *et al.*, 2002.

Especie	Subespecie
Salmonella entérica	Entericae
	Salamae
	Arizonae
	Diarizonae
	Houtenae
	Indica
Salmonella bongori	

2.11 Bacteriófagos.

La palabra bacteriófago proviene de "bacteria" y "fagein" (del griego comer o devorar) propuesta por Felix d'Herelle. Fueron observados por primera vez en 1896 y 1898 por el británico Ernest Hankin y el ruso Gamaleya, respectivamente, quienes los describieron como una sustancia no identificada con posible actividad antibacteriana. Descritos de manera independiente por el británico Frederick Twort en 1915 y por el francocanadiense Felix d'Herelle en 1917, Twort fue el primero en reportar su capacidad lítica lítica (Monk *et al.*, 2010, Brown *et al.*, 2017); sin embargo, por diversas circunstancias, no continuó con sus experimentos. Los bacteriófagos fueron oficialmente nombrados en 1917 por d'Herelle durante sus investigaciones en el Instituto Pasteur de Paris, mientras estudiaba la crisis de disentería en soldados franceses (Segundo *et al.*, 2010; Prada *et al.*, 2015)

Los bacteriófagos o fagos son virus que infectan y lisan bacterias de manera especie específica por lo tanto son inofensivos para las células del hospedero eucariota peces humanos plantas (Borie *et al.*, 2007)

La elevada especificidad de un bacteriófago por una bacteria (hospedero) hace que su efecto lítico sobre otras poblaciones bacterianas sea mínimo, en otras palabras, un bacteriófago sólo provoca la lisis de bacterias altamente relacionadas o emparentadas entre sí. Esta notable característica permitió que, tempranamente desde su descubrimiento, se utilizaran como "agentes terapéuticos" frente a ciertas infecciones bacterianas. Son

omnipresentes en casi todos los entornos, incluidos el suelo, los alimentos, el suelo y las aguas superficiales. Los bacteriófagos también desempeñan un papel importante en la difusión en bacterias que presentan resistencia a los antibióticos (Borie *et al.*, 2007)

Una de las propiedades más asombrosas de estos agentes virales, es que han sido llamados, "la forma de vida más abundante y ubicua en la tierra" ya que se calcula que hay alrededor de 1 X 10³⁰ UFP/mL, o más sólo en el agua de mar; sin embargo, éstos han sido aislados desde aguas residuales, hasta muestras de tierra (Segundo *et al.*, 2010).

2.12 Fagoterapia.

La fagoterapia es un tratamiento basado en la actividad bactericida de los bacteriófagos (fagos), virus específicos de las bacterias.

Con respecto al ciclo viral que realizan pueden clasificarse como bacteriófagos líticos o virulentos y lisogénicos o temperados.

El ciclo lítico:

Cada tipo de bacteriófago tiene como blanco una bacteria específica, el primer ciclo lo llevan a cabo los fagos virulentos, en el cual se reconoce los receptores de la bacteria por los contra receptores del fago, después se unen a ellos para inyectar su genoma (ADN o ARN) al interior de la célula huésped, después utilizan la maquinaria bacteriana enzimática para multiplicarse y ensamblarse dentro de la bacteria, para después producir cientos de partículas virales. Después aparecen ciertas enzimas llamadas endolosinas que son las que rompen la pared celular de la bacteria, y así liberar la progenie viral. En este proceso del ciclo, la célula huésped infectada muere y el número de fagos se incrementa de forma exponencial por lo cual su efecto en el sito de infección es mayor, por ello se dice que ellos son "autoreplicativos". Estos nuevos fagos producidos buscarán infectar a nuevas células bacterianas. Esta dinámica se asemeja al tradicional sistema depredador/presa (Segundo *et al.*, 2010; Prada *et al.*, 2015; Zurita *et al.*, 2004; Borie *et al.*, 2007).

El ciclo lisogénico:

Este ciclo es desarrollado por fagos temperados que no lisan bacterias, el proceso es prácticamente igual que al ciclo lítico, pero después de que inyecta su material genético dentro de la célula hospedera (penetración), en lugar de transformar a la bacteria en una fábrica de fagos se inserta directamente en el genoma bacteriano y se replica como si fuera un gen más de la bacteria por una o varias generaciones, no obstante, este ciclo puede iniciar un ciclo lítico sólo frente a ciertas condiciones pueden liberarse y lisar la bacteria que los contiene (Segundo et al., 2010; Zurita et al., 2004; Borie et al., 2007).

La Figura 9: muestra dos de los ciclos de infección que pueden llevar a cabo los fagos: el ciclo lítico (pasos 1 a 6) y el ciclo lisogénico (pasos 1 a 2 y 7 a 9). Paso 1: El fago se une a la bacteria (adsorción). Paso 2: El material genético del fago entra al citoplasma bacteriano (penetración). Paso 3: Síntesis de proteínas tempranas del fago que permiten el inicio del ciclo reproductivo del virus y detienen el metabolismo bacteriano. Paso 4: Síntesis de proteínas estructurales virales. Paso 5: Ensamblaje de estructuras virales. Paso 6: Liberación de la progenie viral. Paso 7: Formación del lisógeno, inserción del material genético del fago al cromosoma bacteriano. Paso 8: Multiplicación bacteriana con el profago en su genoma. Paso 9: Escisión del profago y activación del ciclo lítico.

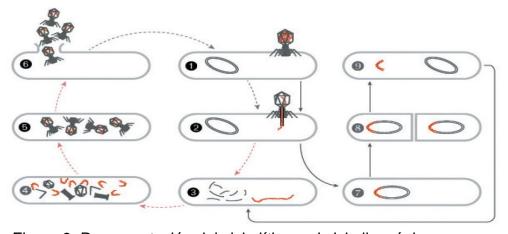


Figura 9. Representación del ciclo lítico y el ciclo lisogénico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Localización del sitio de estudio.

Esta investigación se realizó en las instalaciones de la planta tratadora de aguas residuales de proceso natural biológico con humedales artificiales de Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) (Figura 10) en Buenavista, Saltillo, Coahuila México, ubicada en las coordenadas geográficas; latitud 25°21'18"N y longitud 101° 25'O, con una altitud de 1767 msnm, el clima de la región es seco desértico, la temperatura media anual varía entre 11.28 y 15.29 °C. Los gastos de operación del sistema natural de tratamiento se encuentran entre 1.73 L s⁻¹ y 2.50 L s⁻¹ (Guzmán, 2013; Alvaro, 2013).



Figura 10. Localización del sitio de estudio (Google earth®).

3.2 Características del sistema de tratamiento.

El sistema de tratamiento de la UAAAN consta de los siguientes componentes, (Figura 11).

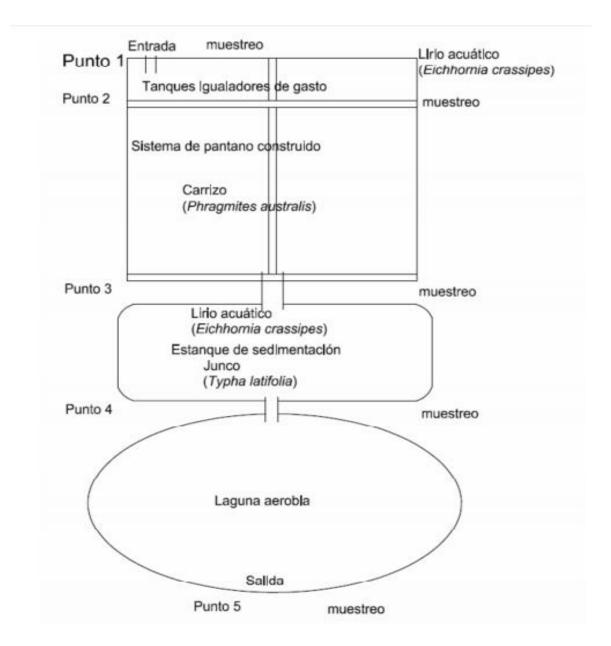


Figura 11. Esquema del sistema de la U.A.A.A.N. (S/E).

Dos fosas igualadoras de gasto (Figura 12) con medidas de 8 m de largo, 10 m de ancho y 0.6 m de profundidad, cada una. Con plantas acuáticas o macrófitas (también llamadas plantas hidrofíticas o hidrofitas) principalmente lirio acuático (*Eichhornia crassipes*).



Figura 12. Fosas igualadoras de gasto.

Sistema de pantanos construidos (Figura 13) cuenta con dos celdas paralelas de 40 m de largo, 10 m de ancho y 0.6 m de profundidad cada una, el flujo de aguas es subsuperficial, la planta dominante es el carrizo (*Phragmites australis*) y el lecho está constituido de grava de construcción de 0.02 m de diámetro. Una pendiente del 1 por ciento asegura un flujo del agua.



Figura 13. Sistema de pantano construido de flujo subsuperficial.

Estanque de sedimentación (Figura 14) de capacidad aproximada de 250 m³ con 17.0 m de largo, 24.5 m de ancho y 0.6 m de profundidad. En esta etapa existe una variedad de plantas. La salida del agua de este proceso es de manera puntual.



Figura 14. Estanque de sedimentación.

La laguna de sedimentación o de almacenamiento (Figura 15) de capacidad aproximada de 1098 m³, de 61 metros de largo. 30 metros de largo y 0.6 metros de profundidad. Su disposición y reusó final es el riego agrícola.



Figura 15. Laguna de sedimentación y almacenamiento de agua.

3.3 Preparación de medios de cultivo.

Los medios de cultivo utilizados para la identificación de la bacteria del Género Salmonella y Bacteriófagos nativos se muestran en el Cuadro 4. Los cuales se prepararon de acuerdo a las especificaciones del fabricante (BD Bioxon).

Cuadro 4. Medios de cultivos.

	Agar		
Bacteria	Agar Salmonella Shigella (ASS)		
Bacteriófagos nativos	Agar de Soya Tripticaseina (AST)		
	Caldo de Soya Tripticaseina (CST) Agar Bacteriológico (AB)		

3.4 Dilución decimal sucesiva.

En la Figura 16 se muestra el procediendo para realizar las diluciones decimales sucesivas, el principio de esta técnica es mantener la relación de 1:9 entre muestra y diluyente respectivamente permitiendo un conteo y posteriormente el cálculo de la concentración de cada muestra (Jiménez, 2012).

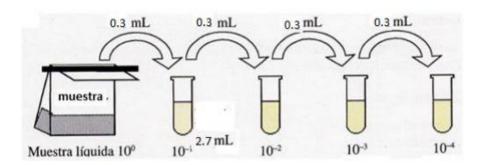


Figura 16. Modelo de diluciones decimales sucesivas.

3.5 Concentración de bacteria.

La determinación de la bacteria Salmonella se realizó en base a la norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, utilizando Agar Salmonella Shigella.

En términos generales, el procedimiento para determinar la concentración de bacteria es:

Tomar una alícuota de 0.3 mL de agua residual, a partir de esta, tomar 0.3 mL de la primera dilución y descargándolo en un tubo de dilución que contenga 2.7 mL de diluyente (agua destilada estéril), después se toma 0.1 ml de cada dilución para posteriormente filtrar en una membrana de 0.45 µm (Whatman, EE.UU.), ya que se haya filtrado se colocan las membranas en cajas Petri con ASS e incubar a 37° C por 24 horas. Para el conteo, una vez pasado el tiempo se contabilizarán los puntos de color rosa lo que significa que es una unidad formadora de colonia.

La fórmula utilizada para determinar la concentración de Salmonella según la NOM-092-SSA1-1994, es:

$$UFC/ML = \frac{\text{CONTEO}}{\text{VOL. ENSAYADO} * \text{FACTOR DE DILUCIÓN}}$$

3.6 Concentración de bacteriófagos.

La concentración de bacteriófagos se realizó en base al método de doble capa (Adams, 1959; citado por Samaniego, 2011).

En tubos de ensaye que contienen 4.5 mL de una solución de CST y AB se colocan en baño maría a 48 °C, cuando se ha licuado el medio se añade 0.5 mL del hospedero (ATCC 19585 Salmonella Typhimurium) y 0.1 mL del bacteriófago diluido en diluciones decimales sucesivas, se agita para homogenizar la mezcla, luego se vacía el contenido de los tubos de ensaye en cajas Petri con AST. Incubar a 37 °C por 24 horas. Pasado el tiempo de incubación, se contabilizarán los puntos sin crecimiento de la bacteria hospedera (puntos transparentes en placas de AST), los que significa que en ese punto un bacteriófago infectó a la bacteria inhibiendo su crecimiento.

Fórmula empleada para determinar la concentración de bacteriófagos nativos (Samaniego, 2011).

$$UFP/ML = \frac{\text{CONTEO}}{\text{VOL. ENSAYADO} * \text{FACTOR DE DILUCIÓN}}$$

3.7 Determinación del porcentaje de remoción.

Para calcular el porcentaje de remoción (Pacheco, 2015) de diversos contaminantes en los sistemas de tratamiento se utiliza:

$$\% REMOCIÓN = \frac{E - S}{S} * 100$$

Dónde:

E= concentración del contaminante en la entrada del proceso.

S= concentración del contaminante en la salida del proceso.

IV. RESULTADOS.

En el sistema natural de tratamiento se hicieron mediciones, "in situ", de los parámetros físicos-químicos del agua, para evaluar si existe una relación entre la concentración de bacterias del género salmonella y bacteriófagos nativos con respecto a Conductividad eléctrica (CE), Sólidos Disueltos Totales (SDT), Potencial de hidrogeno (pH), Temperatura (T°), Turbidez y Oxígeno Disuelto (OD).

El comportamiento de la conductividad eléctrica del agua en los puntos de muestreo dentro del sistema natural de tratamiento, es mostrado en la Figura 17. Los cambios encontrados, posiblemente se deban a las variaciones de la temperatura del agua. Díaz y colaboradores (2011), mencionan que entre mayor sea la temperatura mayor será la conductividad eléctrica y viceversa. Como se observa, no hay cambios mayores 0.1 mS entre cada punto de muestreo, por lo que el comportamiento de la conductividad eléctrica se considera estable. Comparando los resultados obtenidos con la investigación realizada de Jiménez, (2012) el comportamiento de la conductividad eléctrica se asemeja.

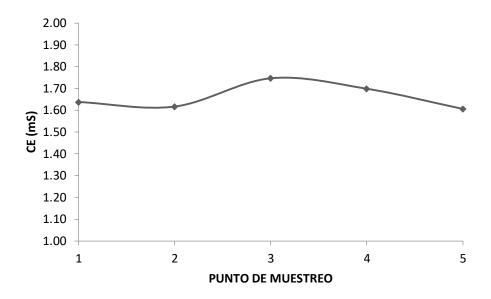


Figura 17. Comportamiento de la Conductividad Eléctrica.

El contenido de sólidos disueltos totales del agua en los puntos de muestreo, es mostrado en la Figura 18. Los cambios encontrados, posiblemente se deban a que la cantidad de sólidos disueltos totales es directamente proporcional a la conductividad eléctrica, teniendo una relación de 0.5, por lo que los mismos factores que afecten los cambios de la conductividad eléctrica también se verán reflejados en los sólidos disueltos totales (Saldaña *et al.,* 2001). No hay cambios mayores a 0.05 ppt entre cada punto de muestreo, también se observa que los sólidos disueltos totales son estables. Realizando una comparación entre los resultados obtenidos con las investigaciones realizadas por Jiménez, (2012) y Guzmán, (2013) el comportamiento de los sólidos disueltos totales coincide.

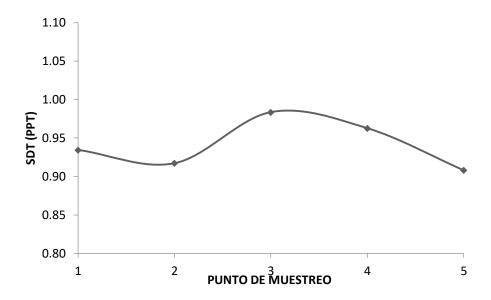


Figura 18. Contenido de Sólidos Disueltos Totales.

La Figura 19 muestra los cambios de los valores del potencial de hidrógeno (pH) en el sistema. González y Aponte, (2010) mencionan que el principal sistema regulador del pH en aguas residuales es el sistema carbonato (dióxido de carbono, ion bicarbonato y ácido carbónico), la secuencia de equilibrios de disolución de CO2 en el agua, y la subsiguiente disolución de carbonatos e insolubilización de bicarbonatos, altera drásticamente el pH de cualquier agua y también los cambios del pH pueden ser por la adsorción o liberación de cationes por las sustancias orgánicas. Como se observa no hubo un cambio mayor de 1 en el pH dentro del sistema natural de tratamiento por lo que el pH se considera neutro Alvaro (2013) y Pacheco, (2015) reafirman que el comportamiento del pH dentro del sistema natural de tratamiento es neutro Andreo, (2014) dice que el valor neutro del pH para aguas residuales está comprendido entre 6.5 y 8.5.

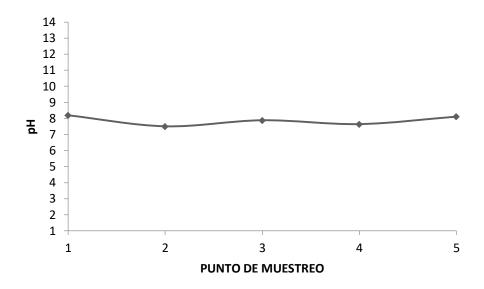


Figura 19. Valores de pH.

La temperatura del agua en los puntos de muestreo es mostrada en la Figura 20. Los cambios encontrados, posiblemente se deban a que la temperatura del agua residual regularmente es más alta que la del agua de abastecimiento, debido a la adición de agua caliente que proviene del uso doméstico e industrial y también está ligada a la absorción de radiación solar (García y López, 2003; González y Aponte, 2010). En los puntos 2 y 3 la temperatura del agua disminuye, posiblemente porque que en estos puntos hay una gran cantidad de basura y hojas que no permite la entrada de los rayos del sol, provocando que el agua se enfrié, en los puntos 4 y 5 la temperatura aumenta debido a que el flujo de agua es más lento y está más expuesta a los rayos del sol provocando su calentamiento. Los resultados de las investigaciones realizadas por Arcos, (2013), Guzmán, (2013) y Andreo (2014) son semejantes a los resultados obtenidos.

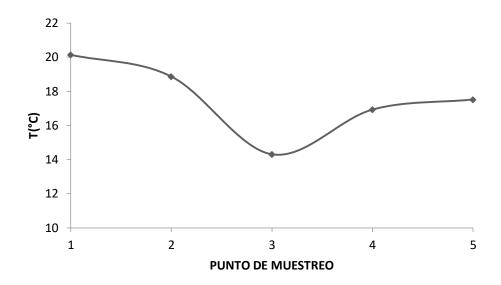


Figura 20. Representación de Temperatura.

La Figura 21 muestra los valores de turbidez del agua en los puntos de muestreo. García y López, (2003) dicen que la cantidad de materias en suspensión que hay en las aguas residuales (limo, materia orgánica y microorganismos), también afecta a la penetración de la luz. El aumento de la turbidez en el punto 2 se debe a la mayor cantidad de materias en suspensión y contaminación de microorganismos por eso la turbidez en ese punto es la máxima, en el punto 3 la turbidez disminuye por la filtración que realizan las raíces de las plantas y la grava, en el punto 4 aumenta ligeramente por la presencia de algas y en punto 5 vuelve a disminuir debido a que la presencia de materia orgánica o materiales en suspensión es menor. Los resultados obtenidos comparados con las investigaciones de Arcos, (2013), Pacheco, (2015) y Samaniego, (2011) muestran una concordancia en el comportamiento en esta investigación, ya que los valores de turbidez van disminuyendo conforme avanza el agua en el sistema de tratamiento.



Figura 21. Valores de Turbidez.

La representación del oxígeno disuelto del agua en los diferentes puntos de muestreo, se pueden observar en la Figura 22. Los cambios encontrados, posiblemente se deban al aumento de temperatura, ya que la temperatura puede contribuir al agotamiento del oxígeno disuelto (García y López, 2003), González y Aponte, (2010) mencionan que también pueden afectar otros microorganismos, algas, organismos factores como macroscópicos reacciones químicas, también afecta la solubilidad del gas, presión parcial del gas en la atmosfera, características del agua (salinidad, sólidos suspendidos, entre otros). El oxígeno disuelto disminuye en los puntos 2, 3 y 4 debido a los microorganismos presentes Liu y colaboradores (2016) revalidan que la disminución del oxígeno disuelto dentro del sistema natural de tratamiento se debe a la presencia de microorganismos que degradan la materia orgánica consumiendo una gran cantidad de oxígeno disuelto. En el punto 5 aumenta debido a que es una superficie libre y está más expuesta al viento.

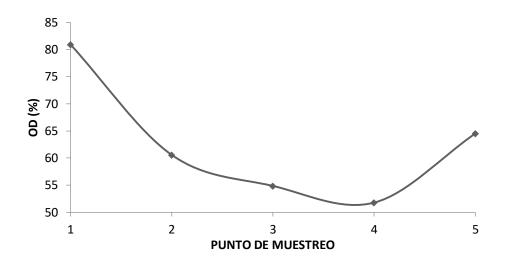


Figura 22. Oxígeno Disuelto.

Las concentraciones encontradas en cada punto de muestreo para las bacterias del género Salmonella y Bacteriófagos nativos son mostradas en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Concentración de bacteriófagos nativos y género salmonella en cada punto de muestreo.

PUNTO	CONCENTRACIÓN DE BACTERIÓFAGOS NATIVOS UFP/ML	CONCENTRACIÓN DEL GÉNERO SALMONELLA UFC/ML
	UFP/IVIL	UFC/IVIL
1	34250	610000
2	4900	480000
3	120	322500
4	80	105000
5	65	90000

En el sistema natural de tratamiento se hicieron muestreos para determinar la presencia de bacterias del género Salmonella y Bacteriófagos nativos, conforme el agua va avanzando en cada punto de muestreo se encontró una disminución en las concentraciones, lo cual se puede apreciar en las Figuras 23 y 24 respectivamente. Así mismo, en el Cuadro 6 se indica el porcentaje de remoción para bacterias del género Salmonella y Bacteriófagos nativos en los puntos de muestreo.

La Figura 23 muestra la concentración de bacterias del género Salmonella del agua en los puntos de muestreo. Los cambios encontrados, posiblemente de deban a la presencia de Bacteriófagos nativos que infectan y lisan bacterias en este caso Salmonella, para poder reproducirse, la disminución de bacterias puede ser por los cambios de temperatura y pH, también, ya que si las bacterias están cerca de la superficie del agua la radiación solar puede ser determinante en la tasa de disminución, la eliminación de bacterias parece estar correlacionada con la eliminación de SST, la sedimentación, adsorción, filtración y los tiempos de residencia hidráulicos (Borie et al., 2007; García y López, 2003; Restrepo et al., 2014; Andreo, 2014). Comparando los resultados obtenidos con la investigación realizada por Jiménez, (2012) y Samaniego (2011) muestra que los sistemas naturales de tratamiento son buenos para la remoción de bacterias del género Salmonella, Restrepo y colaboradores (2014) reafirma que la radiación solar es determinante para la disminución de bacterias del género Salmonella.

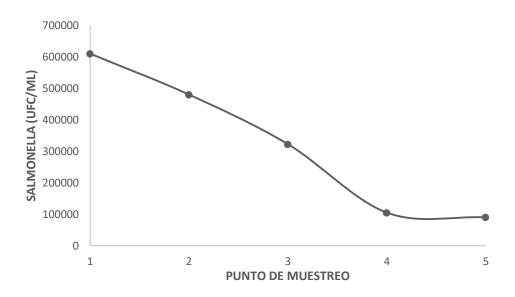


Figura 23. Concentración de bacterias del género Salmonella.

El decaimiento de Bacteriófagos nativos en los puntos de muestreo dentro del sistema es mostrado en la Figura 24. La disminución de bacteriófagos se debe a que se adhieren a las bacterias para reproducirse, y los procesos de sedimentación y filtración hacen que ya no se pueda replicar el

bacteriófago, además radiación solar influye significativamente en la concentración de bacteriófagos (León *et al.*, 2007; Vera *et al.*, 2006). Las investigaciones realizadas por Samaniego, (2011) y Vera y Colaboradores (2006) demuestran que los sistemas naturales de tratamiento son una buena alternativa para la remoción de bacteriófagos, ya que en esas investigaciones se obtienen resultados mayores del 80 por ciento en la remoción.



Figura 24. Decaimiento de Bacteriófagos nativos.

La tasa de remoción entre cada punto de muestreo dentro del sistema natural de tratamiento para género salmonella y bacteriófagos nativos es mostrada en el Cuadro 6. La remoción para género salmonella es de un 85.25% total y para los Bacteriófagos nativos es de un 99.81% total.

Cuadro 6. Porcentaje de remoción para Género Salmonella y Bacteriófagos nativos.

	REMOCIÓN %		
	GÉNERO	BACTERIÓFAGOS	
PUNTO	SALMONELLA	NATIVOS	
1-2	21.31	85.69	
2-3	32.81	97.55	
3-4	67.44	33.33	
4-5	14.29	18.75	
1-5	85.25	99.81	

V. CONCLUSIÓN.

El sistema natural de tratamiento de la UAAAN es una buena alternativa para la depuración del agua residual, a bajo costo en construcción, operación y mantenimiento, tratando el agua por medio de procesos físicos, químicos y biológicos. El comportamiento del sistema natural de tratamiento fue bueno en comparación con otras investigaciones, donde han obtenido eficiencias de un 99%, la combinación de la vegetación, el suelo y los microorganismos, con las características mecánicas establecidas permitieron obtener altas remociones de los parámetros analizados, con esto se puede alcanzar un gran beneficio para la depuración y reutilización de las aguas residuales de la UAAAN.

Los resultados demuestran que el sistema natural de tratamiento es eficiente para la remoción de la bacteria del género salmonella en un 85% y bacteriófagos nativos en un 99%, que es utilizada con un fin agrícola. El sistema no es tan eficiente para la remoción de la bacteria del género salmonella, ya que hay investigaciones que han obtenido un porcentaje mayor del 95%. La tasa mayor de remoción en el sistema se realiza en los procesos de pantanos construidos y estanque de sedimentación; mientras que, para los bacteriófagos nativos, la tasa mayor de remoción se realiza en las fosas igualadoras de gasto y en las celdas de los pantanos construidos.

No existe una relación entre los parámetros físicos-químicos; conductividad eléctrica (CE), solidos disueltos totales (SDT), turbidez y oxígeno disuelto (OD), en cuanto a remoción de la bacteria del género salmonella y bacteriófagos nativos, ya que en los parámetros medidos no existe un cambio significativo dentro del sistema natural de tratamiento.

VI. RECOMENDACIONES.

Con los datos obtenidos en la evaluación del sistema natural de tratamiento de la UAAAN, se puede decir que la eficiencia óptima para la remoción de salmonella no es la esperada para el uso agrícola; por lo que se recomienda.

Realizar pruebas de trazadores para evaluar el comportamiento de la hidrodinámica dentro del sistema natural de tratamiento.

Para aumentar el tiempo de vida útil del sistema natural de tratamiento es necesario hacer una limpieza de las dos fosas igualadoras de gasto, cambiar las plantas acuáticas (colocar *Schoenoplectus tabernaemontani, S. americanus* y *Eleocharis densa*), hacer un cambio de la grava, ya que esta lleva varios años sin mantenimiento y no cumple su función de filtrar el agua. Lo anterior para hacer que el flujo de agua sea constante y la remoción de la bacteria del género salmonella se incremente.

Implementar un último proceso: un sistema de filtrado final del efluente antes de su reusó para aumentar la remoción de los sólidos en suspensión, siempre y cuando la energía empleada para esta acción sea de forma natural.

VII. REFERENCIAS.

- Alvaro Arcos, L.Y. (2013) Eficiencia de un sistema de tratamiento natural para la remoción de materia orgánica (Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro).
- Andreo Martínez, P. (2014). Evaluación y diseño de un humedal construido para la depuración de aguas residuales domésticas (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).
- Borie, C., Navarro, B. C., y Vet, M. S. (2007). Virus que matan bacterias: ¿el fin de los antimicrobianos? TecnoVet, *13*(2).
- Brown, R., Lengeling, A. y Wang, B. Quant Biol (2017) Phage engineering: how advances in molecular biology and synthetic biology are being utilized to enhance the therapeutic potential of bacteriophages 5: 42. https://doi.org/10.1007/s40484-017-0094-5
- Bunge, V. (2010). La disponibilidad natural de agua en las cuencas de México. Las cuencas hidrográficas de México: Diagnóstico y priorización. SEMARNAT-INE-FGRA. Printed in México, 46-49.
- Calvo, S. M. (2004). Depuración de las Aguas Residuales por Tecnología ecológicas y bajo Costo, disponible en https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/13904/VargaCalvo_Daviddela_TD-2014.pdf?sequence=4 recuperado el 22 de enero 2019
- Conagua. (Comisión Nacional del Agua). (2017). Estadísticas del agua en México. Pág. 32-50.
- Delgadillo, O. (2010). Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales, Edición Nelson Antequera, Bolivia. Pág. 12-19.

- Díaz, J. J. F., Blanco-Rhenals, I. C., Villadiego-Rojas, L. L., Tavera-Quiroz, H.
 C., & Rueda-Linares, B. (2011). Comportamiento fisicoquímico e hidráulico del sistema de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Montería-Colombia. Avances en Ciencias e Ingeniería, 2(1), 1-8.
- Esponda. A. (2001). Arranque de un sistema experimental de flujo vertical a escala piloto de tipo artificial para el tratamiento de aguas residuales.

 Tesis de licenciatura. Facultad de Química, Universidad Autónoma Nacional de México, México.Rev.Int.Contam.Ambient.25 (3) 157-167
- García, M. E., & López, J. P. (2003). Aguas residuales. composición. Centro De Investigación Y Desarrollo Tecnológico Del Agua, 22.
- González, H., Eugenia, M., & Aponte Hernández, N. O. (2010). Evaluación de un humedal artificial como tratamiento de agua residual en un asentamiento irregular (Doctoral dissertation, Tesis de grado, Ingeniería Industrial. México D, F: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería, División de Ingeniería Mecánica e Industrial).
- Gordillo, P., Andersson, J., & Rodríguez Vasquez, M. A. (2010). Identificación de Salmonella Gallinarum y Salmonella Pollurum en pollo de engorde de la línea Ross 308 (Tesis de licenciatura, Universidad de la Salle).
- Guzmán Mejía, S. (2013) Eficiencia de remoción de carga orgánica en un sistema natural de tratamiento, evaluado por DQO (Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro).
- Hernández-Ruiz, J. M., & Domínguez, E. R. (2015). Humedal subsuperficial vertical para el tratamiento de aguas residuales: diseño, construcción y evaluación. Revista Cubana de Química, *24*(2), 147-154.
- Jiménez López, M.A. (2012) Evaluación de la eficiencia de remoción de un sistema natural de tratamiento de agua residuales (Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro).

- Larriva Vásquez, Josué Bernardo, & González Díaz, Orestes Arsenio. (2017). Modelación hidráulica de humedales artificiales de flujo sub-superficial horizontal. Ingeniería Hidráulica y Ambiental, 38(1), 3-16.
- León-Zapata, A., Trejos-Rivera, J., Cárdenas-Guzmán, M., & Campos-Pinilla, C. (2007). Comportamiento de los fagos somáticos en mezclas de biosólido y áridos utilizados para la restauración ecológica de la cantera soratama, localidad de Usaquén, Bogotá. Universitas Scientiarum, *12* (Es2).
- Llagas, W.A. y Guadalupe, E. (2006). "Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM". Revista del Instituto de Investigaciones. FIGMMG. Vol 15. No. 17 paginas 85-96.
- Liu, H., Hu, Z., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Liang, S., ... & Wu, H. (2016). Optimizations on supply and distribution of dissolved oxygen in constructed wetlands: A review. *Bioresource technology*, *214*, 797-805.
- Mena, j., Rodríguez, L., Núñez, j., Fernández, F.J., y Villaseñor, J. (2008).
 Design of horizontal and vertical subsurface flow constructed wetlands treating industrial wastewater. Proceedings of the Ninth International Conference on Modeling, Monitoring and Magnament of Water Pollution.Witpress, 672pp.
- Monge, S. A., & Brenes, B. M. (2016). Contaminación del agua. Biocenosis, 20(1-2).
- Monk A, Rees C, Barrow P, Hagens S, Harper D (2010) Bacteriophage applications: where are we now? Letters in Applied Microbiology 51(4):363–369
- Moreno, M. L., Fernández J. M. A., Rubio C. J. C., Calaforra, Ch. J. M., López G. J. A., Beas T. J., Alcaín, M. G., Murillo, D. J. M. y Gómez L. J. A. (2003). La Depuración de Aguas Residuales Urbanas de Pequeñas Poblaciones Mediante Infiltración directa en el Terreno Fundamentos y Casos Prácticos. En línea en:

- http://aguas.igme.es/igme/publica/depuracion_aresidual/indice.htm consultado en diciembre del 2018.
- Pacheco Toro, R. S. (2015). Biopercolación para la remoción de materia orgánica de aguas residuales tipo domésticas (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2015).
- Pachón Cubillos, D. A. (2009). Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género salmonella en una población de crocodylus intermedius y testudinos mantenidos en cautiverio en la estación de biología tropical Roberto Franco EBTRB de la Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio-Meta (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias).
- Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella. Revista MVZ Córdoba, 7(2), 187-200.
- Pérez Salazar, R., Alfaro Chinchilla, C., Sasa Marín, J., & Agüero Pérez, J. (2013). Evaluación del funcionamiento de un sistema alternativo de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. Uniciencia, *27*(1).
- Prada-Peñaranda C, Holguín-Moreno AV, González-Barrios AF, Vives-Flórez MJ (2015) Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. Perspectivas en Colombia. Universitas Scientiarum 20(1): 43-60
- Ramos, Y., & Uribe, I. (2009). Planta piloto para tratamiento de aguas residuales industriales de ACESCO por medio de humedales construidos—láminas filtrantes®. Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos. Universidad del Norte (Vol. 24, pp. 1-15).
- Restrepo, M. M., Orrego, L. V., Arango, D. C. M., Andarade, C. N. L., & Ortiz, D. C. G. (2014). Efecto microbicida de la radiación solar (SODIS) combinado

- con Artemisia annua. DYNA: revista de la Facultad de Minas. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín, *81*(184), 71-76.
- Rivera Calderón, L. G., Motta Delgado, P. A., Urbano, C., Farley, M., Coy, C., & Andrés, F. (2012). Resistance of Salmonella to conventional antimicrobials for their treatment. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 7(1), 116-129.
- Romero, J. (2000). Tratamiento de Aguas Residuales: Teoría y Principio de Diseño. Escuela Colombiana de Ingeniería, Bogotá D.C, Colombia.
- Romero-Aguilar, M., Colín-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. A. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. Revista internacional de contaminación ambiental, 25(3), 157-167.
- Saldaña-Fabela, M. D. P., Díaz-Pardo, E., & Gutiérrez-Hernández, A. (2011). Diagnóstico de la calidad del agua en un sistema de embalses en cascada, cuenca del río San Juan, Querétaro, México. Tecnología y ciencias del agua, 2(3), 115-126.
- Samaniego Moreno, L. (2011). Remoción de contaminantes específicos en ecosistemas construidos (Doctoral Dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Segundo A., N., & Hernández B., E., & López V., O., & Torres A., O. (2010). Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas Bacterianas (Fagoterapia). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 41 (3), 17-26. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, Universidad Autónoma Nacional de México, México.Rev. Int.Contam. Ambient.25 (3)157-167.
- Uribe, C., & Suárez, M. (2006). Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. Colombia Médica, 37 (2), 151-158.

- Varón, M. R. P., Van Ginneken, M., & Madera, C. A. (2011). Humedales de flujo subsuperficial: una alternativa natural para el tratamiento de aguas residuales domésticas en zonas tropicales. Ingeniería y competitividad, *5*(1), 27-35.
- Vázquez, F. (2016). Lagunas de estabilización. Extensionismo, Innovación y Transferencia Tecnológica, 3, 148-163.
- Vera, L., Martel, G., Gutiérrez, J., Márquez, M., Abreu Acosta, N., Salas, J. J., ... & Brito, A. G. (2006). Evaluación de los sistemas de depuración natural.
- Vinueza Estévez, J. S. (2014). Diseño de un sistema de pantanos artificiales para el tratamiento de aguas negras y grises del campo base y área de mantenimiento el coca de la Empresa Triboilgas.
- Zurita, P., Borie, C., & Robeson, J. (2004). Virus que destruyen bacterias: una alternativa al uso de antimicrobianos. TecnoVet, *10*(2), pág-3