# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

# DIVISIÓN DE INGENIERÍA DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Influencia del tiempo de retención hidráulica en los parámetros microbiológicos del tratamiento de agua residual municipal mediante sistema bioelectroquímico de dos cámaras

Por:

# **MARIANA NOHEMI MARTINEZ CRUZ**

**TESIS** 

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

# INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México. Diciembre 2024

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE INGENIERÍA

"Influencia del tiempo de retención hidráulica en los parámetros microbiológicos del tratamiento de agua residual municipal mediante sistema bioelectroquímico de dos cámaras"

Por:

#### MARIANA NOHEMI MARTINEZ CRUZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

#### INGENIERO EN BIOTECNOLOGIA

Aprobado por el Jurado Examinador

Dr/Pedro Pérez Rodríguez Presidente

Dra. Silvia Yudith Martínez Amador Vocal

Dr. Alonsó Méndez López Vocal

Dr. José Antonio Rodriguez de la Garza

Vocal

M.C. Sergio Sánchez Martínez Coordinador de la División de Ingeniería

med

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2024

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

# DIVISIÓN DE INGENIERÍA

"Influencia del tiempo de retención hidráulica en los parámetros microbiológicos del tratamiento de agua residual municipal mediante sistema bioelectroquímico de dos cámaras"

Por:

#### MARIANA NOHEMI MARTINEZ CRUZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

#### INGENIERO EN BIOTECNOLOGIA

Aprobado por el Comité de Asesoría

Dra. Silvia Yudith Martínez Amador Asesor Principal Interno

> Dr. Pedro Pérez Rodríguez Coasesor

Dr. José Antonio Rodríguez de la Garza Asesor Principal Externo

> Dr. Alonso Méndez López Coasesor

# Derechos de Autor y Declaración de no plagio.

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos: Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente.

Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor. Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Autor principal

Mariana Nohemi Martínez Cruz

Nombre y firma

Asesor principal

Nombre y firma

#### **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme cumplir un sueño más, por acompañarme e iluminarme en este camino, por brindarme salud y fuerza para poder estar aquí y por poner buenas personas en mi camino.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por ser mi segunda casa durante 4 años y medio, por brindarme tantos espacios en los que pude aprender y conocer personas, por tantas facilidades que ofrece a sus estudiantes y por ser mi Alma Mater.

A mis papás Jezabel Atenea Cruz Escalante y Noé de Jesús Martínez Menchaca que me dieron una buena educación, lo que me dio brindo buenas herramientas, tanto académicas como personales, por confiar en mí, porque no permitieron que hubiera ninguna limitante para que yo pudiera estudiar la carrera de mis sueños, por estar siempre al pendiente y sobre todo por enseñarme que siempre que algo se quiera se puede lograr.

A mi hermana Naomi Martínez por apoyarme en todo, escucharme incluso si no entendía de que le estaba hablando, que siempre me motivo a seguir y a no rendirme. A mi hermana Ruth Martínez que me mostró el mundo de la ciencia, y me enseño que lo que no se sabe o no se conoce, se puede aprender o investigar, por ser un modelo a seguir y apoyarme durante este camino.

A Mariana Denise por ser mi compañera desde el día 1, por apoyarme en todo momento, por estar en los días buenos y en los malos, por hacer esta etapa más amena y divertida, por ser una buena compañera de trabajo, pero lo más importante por ser mi amiga y hacerme un miembro más de su familia.

A la Dra. Silvia Yudith Martinez Amador y a la Q.F.B Brenda Borrego por siempre estar dispuestas a enseñarme, por trasmitirme su conocimiento, por tenerme mucha paciencia, por siempre estar al pendiente, por su apoyo incondicional, por ser mujeres que me inspiran, por brindarme un espacio seguro y por aportar tanto a mi crecimiento profesional como personal y por ofrecerme su bonita amistad.

A mi familia y amigos en general por ser parte de este sueño, acompañándome de cerca o de lejos pero siempre estando al pendiente, por su apoyo y su cariño, por brindarme una sonrisa o palabras de aliento en los momentos difíciles.

#### **DEDICATORIA**

A mi abuelo que desde el cielo me ve cumpliendo un sueño que antes de partir me vio iniciar, porque sé que estaría orgulloso de mi, por ser mi motivación, porque siempre me apoyó y estuvo al pendiente mí, por todas las cosas que me enseñó, por amarme tanto hasta el último de sus días, este trabajo es en su memoria.

A mis padres, mis hermanas y mi hermano, este trabajo también es para ustedes por su amor y cariño, por impulsarme a cumplir mis sueños y metas y apoyarme en todo momento.

A mi abuelita Juana María Escalante Oyervides y a mi tía Ana Ruth Cruz Escalante por estar siempre cerca de mí, por sus oraciones, por su amor y apoyo en todo momento.

A mis amigos Mariana Denise Valencia, Marcela González, Fernanda Chacón y Eduardo Mata porque sin ellos no hubiera sido lo mismo, por brindarme un espacio seguro, por las risas, por los buenos momentos.

A mis mascotas Margarita, Julieta, Nikole, Guanino y Max que estuvieron presentes durante esta etapa universitaria, que me acompañaron en noches de desvelo, que me brindaron su amor incondicional, que me hicieron reír con sus ocurrencias, porque comparto con ellos un momento de mi vida pero ellos comparten toda su vida conmigo.

# **INDICE**

AG	RADECIMIENTOS	5
DEI	DICATORIA	6
ABI	REVIATURAS	9
RE	SUMEN	12
1.	INTRODUCCIÓN	13
2.	OBJETIVOS	16
3.	HIPOTESIS	16
4.	REVISIÓN DE LITERATURA	17
4.1	Agua residual municipal	17
4.2	Tratamiento de aguas residuales	18
4.3	Tratamiento biológico de aguas residuales	19
4.4	Sistemas bioelectroquímicos	20
4.5	Tipos de sistemas bioelectroquímicos	21
4.6	Uso de sistemas biolectroquimicos para tratamiento de agua residual municipal	22
4.7	Sistema Bioelectroquímico Secuencial Anaerobio-Aerobio	22
4.8 trata	Uso de sistema bioelectroquímicos secuencial anaerobio-aerobio para amiento de agua residual municipal	
5	MATERIALES Y METÓDOS	24
5.1	Localización donde se llevó a cabo el experimento	24
5.2	Tipo de agua y tipos de retención hidráulica	25
5.3	Materiales y equipos	25
5.4	Metodología	26
5.4.	.1 Diseño y funcionamiento del reactor	26

5.4.	3 Generación de ene	ergía					28
	1 Determinacion				química		•
5.4.	5 Determinacion	de	la	demanda	bioquímica	de	oxígeno
5.4.0	6 Determina	acion	de	huevo	os de		helmintos
	7 Determina				ormes		,
6	RESULTADOS Y DI	SCUSIÓN	١				44
6.5	Generación de en	ergía					44
6.6	Determinación de	la deman	ıda quím	ica de oxígen	o		45
6.7	Determinación de	la deman	ıda bioqu	ıímica de oxig	eno		46
6.8	Determinación de	huevos d	le helmin	tos			47
6.9	Determinación de	coliforme	s fecales	S			48
7	CONCLUSIONES						50
8	REFERENCIAS						51

#### **ABREVIATURAS**

ARM: Agua residual municipal

CF: Coliformes fecales

DBO: Demanda bioquímica de oxigeno

DQO: Demanda química de oxigeno

ERDQO: Eficiencia de remoción de la demanda química de oxígeno

ERDBO: Eficiencia de remoción de la demanda bioquímica de oxígeno

ERHH: Eficiencia de remoción de huevos de helmintos

ERCF: Eficiencia de remoción de coliformes fecales

HH: Huevos de helmintos

SBE: sistema bioelectroquímico

TRH: Tiempo de retención hidráulica

# **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Sistema bioelectroquímico de dos cámaras utilizado en la investigación27
Figura 2. Multímetro Steren MUL-630 utilizado en la investigación28
Figura 3. Tubos del blanco y tubos con la muestra después de la digestión30
Figura 4. Lectura en el espectrofotómetro30
Figura 5. Aclaración de la muestra con tiosulfato de sodio33
Figura 6. Coloración después de agregar las gotas de almidón
Figura 7. Fases de separación después de agregar éter etílico y centrifugar35
Figura 8. Observación de helmintos en 40X36
Figura 9. Llenado y colocación de las campanas de Durham39
Figura 10. Tubo positivo de la prueba presuntiva40
Figura 11. Generación de voltaje en el tratamiento de agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara 44
Figura 12. Remoción de la demanda química de oxigeno contenida en agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico
de doble cámara durante 6 ciclos de operación46

# **INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Valores de NMP por cada 100 mL de muestra y 95%de límite de confianza42
Tabla 2. Promedios y porcentaje de eficiencia de remoción de DQO después de 6 ciclos de operación
Tabla 3. Remoción de la demanda bioquímica de oxigeno contenida en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara 47
Tabla 4. Remoción de los huevos de helmintos contenidos en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara .48
Tabla 5. Remoción de las coliformes fecales contenidas en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara49

#### **RESUMEN**

El tratamiento de aguas residuales es un proceso crucial para eliminar contaminantes de las aguas usadas, protegiendo así el medio ambiente y la salud pública. Existen distintos tipos de tratamiento para el agua residual como el físico, químico y biológico; dentro de los tratamientos biológicos se encuentran los sistemas bioelectroquímicos (SBE) que funcionan mediante procesos biológicos y electroquímicos para degradar contaminantes y generar electricidad.

En la presente investigación se estudió un SBE a diferentes TRH (48, 36, 24, y 12 horas) formado por dos compartimentos separados: uno anódico y otro catódico, cada uno con un volumen de 1.660 L, lo que da un volumen total de trabajo de 3.320 L para el reactor. Se tuvo como objetivo determinar la influencia del tiempo de retención hidráulica en la remoción de la Demanda Química de Oxigeno (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigeno (DBO), huevos de helmintos (HH), coliformes totales y fecales (CT y CF), así como la generación de voltaje en el tratamiento de agua residual municipal mediante un sistema bioelectroquímico de dos cámaras. En los resultados se observó que no todos los parámetros medidos mostraron una relación proporcional entre la remoción y el tiempo de retención hidráulica. En la remoción de DQO, DBO y la generación de voltaje, los mejores resultados se lograron con TRH de 48 y 24 horas. Para la remoción de HH, el TRH más efectivo fue de 12 horas. El único parámetro que presentó una relación directa y proporcional entre la remoción y el TRH fue el de las coliformes fecales. Por lo anterior el TRH de 24 horas es una opción viable porque garantiza una alta eficiencia de remoción de los parámetros medidos, reduce los tiempos de operación, favorece el aprovechamiento de los recursos.

Palabras clave: demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, huevos de helmintos, coliformes fecales.

# 1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso vital para los seres vivos y para el planeta Tierra, ya que es el principal componente del medio natural y de la materia viva (Fernández-Cirell, 2012). El agua se encuentra distribuida en nuestro planeta mayormente en forma líquida, pero podemos encontrarla también en estado sólido y gaseoso; el 97% se encuentra constituido por agua de mares y océanos, mientras que el 3% restante es agua dulce; esta es la porción que es aprovechada por el hombre (Martos-López, 2016).

Desde la antigüedad las comunidades han buscado la manera de obtener y aprovechar el agua para poder satisfacer sus necesidades, este recurso fue un factor decisivo que permitió que las civilizaciones evolucionarán y adoptarán un estilo de vida de nómada a sedentario, ya que el agua era aprovechada para la agricultura, el consumo y también como vía de comunicación (Martos-López, 2016).

Las diversas actividades humanas, entre ellas la industria, el comercio y el uso indiscriminado del recurso han generado cambio en las características del mismo, lo que ha provocado que no sea apta para consumo humano de manera directa o indirecta, considerándose agua residual (Chulluncuy-Camacho, 2011). En la actualidad es necesaria la regulación del uso del agua, que permita garantizar la calidad, la sanidad y la armonización; por eso en nuestro país la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) expide la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece que las aguas residuales son "las 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" (Diario de la Federación, 1996).

Las aguas residuales municipales que son aquellas que se desechan por lavabos, inodoros, duchas, lavanderías provenientes de hogares, escuelas y pequeños negocios (Clean TeQ Water, 2020). Este tipo de descargas están compuestas por una gran cantidad de contaminantes, limitando la posibilidad de reúso de este

recurso, por lo que en este contexto, la implementación de tecnologías innovadoras y sostenibles para el tratamiento de estas aguas se vuelve esencial.

El tratamiento de aguas residuales es un proceso crucial para eliminar contaminantes de las aguas usadas, protegiendo así el medio ambiente y la salud pública. Se divide en tres etapas principales; Tratamiento primario donde se eliminan sólidos suspendidos mediante procesos físicos como sedimentación y filtración; Tratamiento secundario en el que se descomponen los contaminantes orgánicos disueltos mediante procesos biológicos, como el uso de lodos activados o filtros biológicos; Tratamiento terciario es una fase opcional donde se utilizan técnicas avanzadas, como la desinfección con cloro o ultravioleta para mejorar aún más la calidad del agua (Metcalf & Eddy, 2014).

En la actualidad existen distintos tipos de tratamiento de las aguas residuales entre ellos podemos encontrar los procesos físicos, químicos y biológicos, este último se basa en el uso de microorganismos con la capacidad para utilizar los contaminantes orgánicos como fuente de alimento, transformándolos en compuestos más simples; algunos ejemplos de tratamiento son: lodos activados, laguna de estabilización, reactor biológico de membrana, sistemas bioelectroquímicos, entre otros (Muñoz-Cruz, 2008).

Un sistema bioelectroquímico (SBE) combina procesos biológicos y electroquímicos para degradar contaminantes y generar electricidad (Aguilar-González et al., 2016). Utiliza microorganismos que descomponen la materia orgánica en el agua, liberando electrones que son transferidos a un electrodo, generando así una corriente eléctrica. Este proceso no solo trata los contaminantes orgánicos, sino que también permite la remoción de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo (Logan et al., 2006).

En un estudio realizado por Ccora *et al.* (2020) se evaluó un sistema bioelectroquímico para generar electricidad y tratar aguas residuales. El objetivo fue evaluar el potencial de generación eléctrica y la eficiencia en el tratamiento de

aguas residuales municipales en Huancavelica. Para la investigación se construyeron tres CCM con diferentes proporciones de inóculo bacteriano y sustrato, se recolectó el inóculo y sustrato, y se caracterizó el agua residual. Los resultados mostraron que la celda 2 (con proporciones iguales de inóculo y sustrato) alcanzó un voltaje promedio de 521.24 mV y una eficiencia de remoción de DQO del 44.75%. Se concluyó que la celda 2 generó más de 500 mV y demostró ser eficaz en la remoción de contaminantes.

#### 2. OBJETIVOS

Determinar la influencia del tiempo de retención hidráulica en la remoción de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, huevos de helmintos, coliformes totales y fecales, así como la generación de voltaje en el tratamiento de agua residual municipal mediante un sistema bioelectroquímico de dos cámaras.

#### 3. HIPOTESIS

El sistema bioelectroquímico de dos cámaras para el tratamiento de agua residual municipal tendrá una alta eficiencia en la remoción de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, huevos de helmintos, coliformes totales y fecales directamente proporcional al tiempo de retención hidráulica.

#### 4. REVISIÓN DE LITERATURA

# 4.1 Agua residual municipal

Las características del agua residual municipal pueden variar considerablemente en función de la hora del día, el día de la semana, y la temporada del año, debido a factores como las variaciones en la población, la actividad doméstica y comercial, y las condiciones climáticas. El agua residual municipal se puede definir como aquella que ha sido utilizada en actividades domésticas - comerciales, estas aguas pueden contener contaminantes como materia orgánica, nutrientes (nitrógeno y fósforo), patógenos (bacterias, virus, parásitos) y productos químicos provenientes de detergentes, productos de limpieza, entre otros (Rani-Devi *et al.*, 2007).

Los contaminantes químicos presentes en el agua residual municipal son una mezcla de sustancias orgánicas e inorgánicas, tales como materia orgánica biodegradable (por ejemplo, restos de alimentos, materia fecal), compuestos inorgánicos (sales, metales pesados), productos químicos (Rojas, 2007). Uno de los parámetros de contaminación es la demanda química de oxigeno (DQO), que indica la cantidad de oxígeno necesario para oxidar tanto la materia orgánica como la inorgánica.

El agua residual municipal puede contener una variedad de contaminantes microbiológicos que representan riesgos para la salud pública y el medio ambiente. Estos contaminantes provienen principalmente de los desechos domésticos, industriales y comerciales, y pueden incluir patógenos bacterianos, virales y protozoarios (Montiel *et al.*, 2006). Las bacterias coliformes son uno de los grupos más comunes de contaminantes microbiológicos en las aguas residuales, son ampliamente utilizadas como indicadores microbiológicos en estudios de calidad del agua debido a su fácil detección y su relación con la contaminación fecal. En aguas residuales, su presencia refleja una carga significativa de materia fecal, lo que implica un mayor riesgo de exposición a patógenos intestinales que pueden causar enfermedades gastrointestinales y

otras infecciones. (OMS, 2011). Entre las principales especies se incluyen: Escherichia coli (E. coli), Salmonella spp y Shigella spp.

Aunque no son tan prevalentes como las bacterias y los virus, algunos hongos y algas también pueden proliferar en aguas residuales, especialmente si las condiciones son propicias para su crecimiento. También existen otros grupos de microorganismos patógenos en las aguas residuales, como los helmintos, que son parásitos multicelulares, como gusanos planos y redondos. Cuando sus huevecillos o larvas están presentes en aguas no tratadas, pueden infectar a los seres humanos a través del contacto con agua contaminada o por ingestión de alimentos contaminados (Valbuena *et al.*, 2002).

Un parámetro utilizado para medir la cantidad de oxígeno que los microorganismos requieren para descomponer la materia orgánica presente en el agua en condiciones aeróbicas es la demanda bioquímica de oxigeno (DBO). Es un indicador clave de la calidad del agua, particularmente en las aguas residuales, ya que refleja el nivel de contaminación orgánica en el agua. Una alta DBO indica una gran cantidad de materia orgánica biodegradable, lo que puede llevar a una disminución de los niveles de oxígeno disuelto en el agua, afectando negativamente a los organismos acuáticos (Fernández, 2012).

#### 4.2 Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales es un proceso esencial para reducir los impactos negativos de las aguas contaminadas en el medio ambiente y en la salud humana. Este proceso generalmente involucra una serie de etapas que pueden incluir la remoción de sólidos suspendidos, desinfección, eliminación de nutrientes, y tratamiento de compuestos químicos (Muñoz-Cruz, 2008).

Existen diferentes tipos de tratamiento de aguas residuales, que pueden clasificarse en tres etapas principales: tratamiento primario, secundario y terciario. Tratamiento primario: este proceso se enfoca en la eliminación de sólidos grandes y partículas suspendidas a través de métodos físicos como sedimentación y

filtración. El tratamiento primario no elimina compuestos disueltos o contaminantes orgánicos.

Tratamiento secundario: en esta fase, se buscan eliminar contaminantes orgánicos disueltos y mejorar la calidad del agua. Comúnmente se emplean procesos biológicos, como los sistemas de lodos activados o los filtros biológicos, donde microorganismos descomponen la materia orgánica.

Tratamiento terciario: esta etapa es opcional, pero se utiliza para mejorar aún más la calidad del agua tratada. El tratamiento terciario incluye métodos avanzados como la filtración fina, la desinfección con cloro o ultravioleta, y la eliminación de nutrientes específicos como el nitrógeno y el fósforo (Rojas, 2007).

El uso de tecnologías avanzadas y la adecuada gestión de los sistemas de tratamiento de aguas residuales son cruciales para asegurar la sostenibilidad de los ecosistemas acuáticos y prevenir la contaminación.

### 4.3 Tratamiento biológico de aguas residuales

El tratamiento biológico de aguas residuales es una de las tecnologías más utilizadas para la depuración de aguas, en la que microorganismos como bacterias, protozoos y hongos son los encargados de descomponer la materia orgánica disuelta en el agua. Estos procesos biológicos son altamente eficaces para reducir la carga orgánica y mejorar la calidad del agua tratada, y se emplean principalmente en el tratamiento secundario de aguas residuales. Entre los métodos más comunes se encuentran el tratamiento con lodos activados, los lechos bacterianos y las lagunas de estabilización (Henze *et al.*, 2008).

#### Lodos activados

El proceso de lodos activados es uno de los más utilizados en el tratamiento biológico de aguas residuales. Consiste en introducir aire u oxígeno en un tanque para favorecer el crecimiento de microorganismos que degradan la materia orgánica. El lodo formado por estos microorganismos es luego sedimentado en un clarificador.

#### 2. Filtros percoladores

En este proceso, las aguas residuales pasan a través de un material de soporte (generalmente un sustrato sólido como grava o plástico) sobre el cual se desarrollan biopelículas o biofilms, que son comunidades de microorganismos adheridos. Estas biopelículas ayudan a descomponer la materia orgánica presente en el agua residual (De Leon-Prem, 2017).

#### 3. Lagunas de estabilización

Las lagunas de estabilización son grandes estanques que permiten la acción biológica de la descomposición de la materia orgánica a través de la acción de microorganismos. Se suelen utilizar en condiciones de baja carga orgánica y son procesos de bajo costo (Vázquez, 2016).

#### 4. Reactores biológicos de película fija

Este tipo de proceso también utiliza un sustrato sobre el cual los microorganismos crecen formando una biopelícula. La diferencia es que, en lugar de suspenderse libremente, los microorganismos están fijados al sustrato, lo que favorece la eficiencia en el tratamiento (Li *et al.*, 2017).

#### 4.4 Sistemas bioelectroquímicos

Los sistemas bioelectroquímicos (SBE) son tecnologías que integran procesos biológicos y electroquímicos con el objetivo de tratar aguas residuales, producir energía y recuperar recursos de forma eficiente y sostenible. Estos sistemas utilizan la habilidad de los microorganismos para facilitar reacciones de oxidación-reducción de compuestos orgánicos e inorgánicos en el agua, al mismo tiempo que generan o recuperan productos valiosos como electricidad, hidrógeno, metano o nutrientes (Aguilar-González *et al.*, 2016).

El principio de funcionamiento de los sistemas bioelectroquímicos se basa en un proceso de degradación biológica en el que los microorganismos presentes en el sistema descomponen la materia orgánica contenida en las aguas residuales,

liberando electrones durante este proceso. Estos electrones son transferidos a un electrodo, ya sea el ánodo o el cátodo, lo que genera un flujo de corriente eléctrica. Este fenómeno permite la generación de electricidad, ya que la transferencia de electrones desde los microorganismos hacia el electrodo produce un flujo eléctrico que puede ser aprovechado como fuente de energía, convirtiendo a los sistemas bioelectroquímicos en una alternativa energéticamente eficiente para el tratamiento de aguas residuales (Salinas-Juárez, 2023). Además de la producción de electricidad, estos sistemas tienen la capacidad de eliminar contaminantes de las aguas, incluyendo materia orgánica y nutrientes. Los compuestos como el nitrógeno y el fósforo son eliminados a través de procesos de nitrificación y desnitrificación, o bien mediante adsorción electroquímica en los electrodos, lo que contribuye a una depuración más completa y sostenible de las aguas residuales (Bustos-Murillo *et al.*, 2023)

### 4.5 Tipos de sistemas bioelectroquímicos

Celdas de combustible microbianas (CCM): son sistemas en los que los microorganismos generan electricidad al transferir electrones de la descomposición de materia orgánica a un electrodo. Estos sistemas son capaces de tratar aguas residuales al mismo tiempo que producen energía (AlSayed *et al.*, 2020).

Sistemas bioelectroquímicos de membrana: son sistemas que integran una membrana selectiva para separar las fases de ánodo y cátodo, lo que mejora la eficiencia del tratamiento y de la generación de electricidad.

Bioceldas de electrocoagulación: utilizan un proceso electroquímico para coagular contaminantes, permitiendo una remoción eficiente de metales pesados y otros compuestos orgánicos (Aguilar-González *et al.*, 2016).

# 4.6Uso de sistemas bioelectroquímicos para tratamiento de agua residual municipal

En un estudio realizado por Ccora et al. (2020) analizaron el rendimiento de celdas de combustible microbiano (CCM) en la generación de energía eléctrica y en el tratamiento de aguas residuales municipales en la ciudad de Huancavelica, Perú, utilizando diferentes concentraciones de inóculo (lodo activado) y sustrato (agua residual); lo que se observó en cuanto a producción de energía fue que en la primera semana, la celda con una proporción igual de inóculo y sustrato (celda 2) mostró el mayor voltaje (521.24 mV), lo que indica que esta configuración optimiza la producción de energía al estar equilibrada la cantidad de bacterias y sustrato. A lo largo de las semanas, las celdas con más inóculo (celda 3 y celda 2) continuaron generando más voltaje, pero la producción de energía disminuyó con el agotamiento del sustrato. En la cuarta semana, la celda 1, con más sustrato, alcanzó el mayor voltaje (388.10 mV); en cuanto a la eficiencia en remoción de DQO: las celdas 2 y 3 mostraron la mejor eficiencia de remoción de DQO en la primera semana (44.75% y 39.95%, respectivamente), debido a la mayor cantidad de bacterias.

La celda 1, con más sustrato, mejoró su eficiencia de remoción en las semanas siguientes, alcanzando el 11.26% en la cuarta semana. Lo que concluyeron fue que la celda 2 fue la más eficiente tanto en generación de energía como en remoción de DQO; ninguna de las celdas alcanzó una remoción de DQO superior al 70%, pero la generación de energía superó los 500 mV en la celda 2. Por lo que se recomienda optimizar las condiciones para mejorar los resultados en futuras investigaciones.

#### 4.7 Sistema Bioelectroquímico Secuencial Anaerobio-Aerobio

Un sistema bioelectroquímico secuencial anaerobio-aerobio es una tecnología emergente utilizada para el tratamiento de aguas residuales municipales, que combina procesos biológicos con procesos electroquímicos en un ciclo secuencial

de dos fases: anaerobia y aerobia. Este sistema busca mejorar la remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo, al mismo tiempo que genera electricidad a partir de la degradación de la materia orgánica, lo que lo convierte en una opción sostenible y eficiente

#### Fase Anaerobia

En la fase anaerobia, el agua residual se trata sin la presencia de oxígeno. Durante este proceso, los microorganismos descomponen la materia orgánica en condiciones reducidas. En un sistema secuencial anaerobio - aerobio, esta etapa ocurre en un bioreactor donde se utilizan bacterias anaerobias para la conversión de compuestos orgánicos en biogás, como metano, o en productos más simples como ácidos grasos volátiles. Además, en esta fase, se genera una corriente eléctrica a partir de la conversión de electrones durante la oxidación de la materia orgánica. Este fenómeno se conoce como "celdas de combustible microbianas" (CCM), que permite la generación de electricidad a medida que los microorganismos transfieren electrones a un electrodo (Mohan *et al.*,2022)

#### Fase Aerobia

Una vez que los contaminantes orgánicos más fácilmente degradables han sido removidos en la fase anaerobia, el agua pasa a la fase aerobia. En este punto, se introduce oxígeno para permitir que los microorganismos aeróbicos (como bacterias nitrificantes) continúen con la descomposición de la materia orgánica remanente y también eliminen nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, a través de procesos de nitrificación y desnitrificación. Esta etapa mejora la calidad del agua tratada, permitiendo cumplir con los estándares de calidad necesarios para su reutilización o descarga en cuerpos de agua (Bahena,2022).

# 4.8 Uso de sistema bioelectroquímicos secuencial anaerobio-aerobio para el tratamiento de agua residual municipal

En este estudio realizado por Pérez-Rodríguez et al. (2018) investigaron el uso de un sistema bioelectroquímico (SBE) secuencial para tratar aguas residuales

municipales. Se descubrió que la materia orgánica presente en las aguas actuaba como un donador de electrones, lo que ayudaba a generar electricidad mientras trataba el agua. La concentración de materia orgánica en el efluente cambió dependiendo del tiempo de retención hidráulico (TRH) en el sistema. Los resultados mostraron que la remoción de la DQO aumentaba a medida que se extendía el TRH, alcanzando 58.34%, 76.88% y 91.76% para TRH de 24, 48 y 72 horas, respectivamente.

El compartimento anódico (parte anaerobia) del SBE fue más efectivo en remover la DQO cuando el TRH aumentó. A 24 horas de TRH, solo se eliminó el 12.15% de la DQO, pero con 48 y 72 horas de TRH, la remoción mejoró notablemente. Por otro lado, la remoción de DQO en el compartimento catódico (parte aerobia) se mantuvo casi igual (entre 45% y 50%) en los tres TRH probados. Esto sugiere que sería útil probar tiempos de retención más cortos en el compartimento catódico para ver si la remoción de DQO sigue siendo efectiva.

Sin embargo, el estudio también señaló que, aunque el sistema mostró efectividad en la eliminación de contaminantes, no fue tan eficiente en la generación o recolección de energía eléctrica en comparación con otros sistemas bioelectroquímicos reportados en la literatura. Esto sugiere que, si bien los SBE son prometedores para el tratamiento de aguas residuales, aún existen aspectos técnicos que necesitan ser optimizados.

#### 5 MATERIALES Y METÓDOS

#### 5.1 Localización donde se llevó a cabo el experimento

El presente experimento fue llevado a cabo en el laboratorio de Biología, ubicado en el Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que se encuentra en la localidad de Buenavista, municipio de Saltillo, estado de Coahuila.

# 5.2 Tipo de agua y tipos de retención hidráulica

El agua residual municipal utilizada para el tratamiento se obtuvo de la Planta Tratadora del Bosque Urbano de Saltillo, el tratamiento se realizó a distintos TRH (tiempos de retención hidráulica) los cuales se establecieron a 48 h, 36 h, 24 h y 12 h, evaluando cada uno de ellos por un período de 168 h durante los meses de enero a abril del 2024.

# 5.3 Materiales y equipos

- Ácido sulfúrico
- Agitador magnético Civeq
- Aluminio
- Balanza electrónica de precisión US Solid
- Bascula American Scientific Products
- Bomba peristáltica Monostat Simon
- Centrifuga J-600
- Crisoles
- Cúter
- Desecador Pyrex
- Digestor Hach DRB 200
- Espectrofotómetro Hach DR5000
- Fieltro de grafito
- Frascos de cultivo Kimax 80 ml
- Frascos Winkler
- Gradillas
- Guantes de látex Mc Gloves
- Horno Orsa
- Incubadora Hach Modelo 205
- Jeringas BD 5 ml
- Matraces 50 ml y 500 ml
- Matraz de aforación Pyrex 1 L

- Micropipeta Labmate
- Multímetro Steren MUL-630
- Parafilm
- Pisetas
- Pinzas
- Probetas Pyrex 100ml y 250ml
- Puntillas
- Refrigerador Mabe
- Sistema de filtración Glassco 250 ml
- Termómetro
- Tijeras
- Tiras de pH Macherey-Nagel
- Tubos Hach con Tapa
- Tubos Kimax
- Vasos de Precipitado Pyrex 200 ml y 500 ml

# 5.4 Metodología

# 5.4.1 Diseño y funcionamiento del reactor

El sistema bioelectroquímico estaba formado por dos compartimentos separados: uno anódico y otro catódico, cada uno con un volumen de 1.660 L, lo que da un volumen total de trabajo de 3.320 L para el reactor. Para su construcción, se utilizaron tubos de PVC y piezas impresas en 3D con PLA (ácido poliláctico).

Los compartimentos estaban aislados entre sí, pero se conectaban mediante una manguera de silicona que permite que el agua tratada en el ánodo pase al cátodo para un segundo proceso de tratamiento. Este sistema tenía dos puntos de muestreo de agua tratada: el primero después del tratamiento anaeróbico en el ánodo, y el segundo después de ambos tratamientos (cuando el agua sale del cátodo, que realiza un tratamiento aeróbico), lo que se conoce como tratamiento secuencial.

Dentro de cada compartimento se colocaron seis discos de fieltro de grafito de 8.5 cm de diámetro, cada uno con 10 perforaciones de 0.5 cm de diámetro, que sirven como filtro y brindan soporte a los microorganismos durante el proceso. Estos discos se ubicaron en la parte media de los compartimentos y, encima de ellos, se puso un disco de malla de acero inoxidable para evitar que los discos flotaran.

Para medir el voltaje, se instaló un alambre de titanio que conectaba los dos compartimentos, lo que permitió realizar mediciones de voltaje. El flujo de agua se controlaba mediante una bomba peristáltica Watson-Marlow Limited 101U/R, mientras que el aire necesario para el tratamiento en el cátodo se suministraba mediante una bomba de pecera, que producía un flujo de 2 L/min. El aire entraba al sistema a través de una manguera de silicona conectada a un difusor impreso en 3D con PLA. En la figura 1 se puede observar el sistema que fue utilizado durante la investigación.



Figura 1. Sistema bioelectroquímico de dos cámaras utilizado en la investigación.

#### 5.4.2 Parámetros evaluados

Se midieron distintos parámetros para evaluar la influencia del TRH en el tratamiento del agua residual municipal, dentro de los parámetros medidos se encuentra el voltaje y la demanda química de oxígeno, que fueron medidos diariamente después de que se cumplió el TRH hasta completar las 168 horas del trabajo, otros parámetros que se evaluaron fueron la demanda bioquímica de oxígeno, los huevos de helmintos, las coliformes totales y fecales que fueron medidos del influente (agua residual sin tratamiento) y del efluente (agua tratada cumplidas las 168 horas de trabajo).

# 5.4.3 Generación de energía

En un SBE, las bacterias descomponen la materia orgánica, liberando electrones, los cuales son transferidos al ánodo y viajan a través de un circuito eléctrico externo hacia el cátodo. En el cátodo, el oxígeno se combina con los electrones y los protones para formar agua. Las bacterias en el ánodo, que se encuentran en condiciones anaeróbicas, utilizan el electrodo como aceptor de electrones, en lugar de oxígeno, para completar el proceso de generación de energía (Mohan *et al.*, 2018) Este parámetro fue medido mediante un multímetro Steren MUL-630 en mV.



Figura 2. Multímetro Steren MUL-630 utilizado en la investigación.

#### 5.4.4 Determinación de la demanda química de oxígeno

Principio del método: las muestras se oxidan mediante digestión con ácido sulfúrico y dicromato de potasio en presencia de sulfato de plata y sulfato de mercurio (II). La plata actúa como catalizador para oxidar la materia orgánica más resistente. El mercurio reduce la interferencia causada por la presencia de iones cloruro. La cantidad de dicromato utilizada en la oxidación de la muestra se determina midiendo la absorbancia del Cromo (III) formado a una longitud de onda de  $(600 \pm 20)$  nm para un intervalo hasta de 1000 mg/L. Las mediciones de la absorbancia se efectúan en el tubo de digestión, que hace las veces de celda, y son convertidas a un valor de DQO-TS. Se puede utilizar una longitud de onda alternativa de  $(440 \pm 20)$  nm para un intervalo de calibración de hasta una concentración de masa de 150 mg/L. Para un intervalo de calibración menor, de hasta 50 mg/L, se puede utilizar una longitud de onda alternativa de  $(348 \pm 15)$  nm. A 348 nm y 440 nm, se mide la absorbancia del Cromo (IV) remanente (NMX-AA-030/2-SCFI-2011).

Materiales utilizados para determinar la DQO

Agitador magnético Civeq

- Agua destilada
- Balanza electrónica de precisión US Solid
- Desecador Pyrex
- Dicromato de potasio
- Digestor Hach DRB 200
- Espectrofotómetro Hach DR5000
- Frascos ámbar
- Matraz de aforación Pyrex
- Sulfato de mercurio
- Sulfato de plata
- Tubos Hach con tapa

•

#### Procedimiento:

- Utilizar tubos Hach.
- Agregar 1.5 ml de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.
- Agregar 3.5 ml de H<sub>2</sub>S0<sub>4</sub>-AgSO<sub>4</sub>.
- Tapar bien y mezclar.
- Agregar 2.5 mL de muestra.
- Realizar dilución 1:10 para agua cruda o muestras muy contaminadas
- agregando 250 μL muestra y 2.25 ml H<sub>2</sub>O destilada.
- Tapar bien y mezclar.
- Limpiar los tubos por fuera con papel húmedo.
- Introducir en el digestor por 120 min a 150°C.
- Sacar los tubos del digestor y dejar que se enfríen.



Figura 3. Tubos del blanco y tubos con la muestra después de la digestión.

- Si no se leen al momento, guardarlos en lugar oscuro.
- Limpiar los tubos por fuera con papel húmedo.
- Leer absorbancias en el espectrofotómetro a 620 nm.



Figura 4. Digestión de los tubos a 150°C por 2 horas.

• La lectura puede tomarse hasta 24 h máximo.

# **5.4.5** Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno

Principio del método: el método se basa en medir la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20°C. Para la determinación de oxígeno disuelto (OD) se puede emplear cualquiera de los dos métodos establecidos en la norma mexicana NMX-AA-012-SCFI (NMX-AA-028-SCFI-2021).

### Materiales utilizados para determinar la DBO

- Ácido sulfúrico
- Agitador magnético Civeq
- Almidón
- Agua
- Bureta
- Frascos Winkler
- Matraz Erlenmeyer Pyrex
- Micropipetas
- Pipetas de vidrio
- Sulfato de manganeso
- Tiosulfato de sodio
- Yoduro azida de sodio

#### Procedimiento

- Por muestra usar 1 frasco Winkler para ODí y otro para OD5.
- Realizar duplicado de las muestras y del blanco.
- Preparar el Agua de Disolución (AD) necesaria (320 ml/frasco).
- Agitar el AD al menos por 1 h.
- Determinar la dilución a utilizar: agua cruda 1% (3 ml), 0.1% (300 (L),

- 0.001% (30 μl) o 0.0001% (3 μl) de muestra y para Agua Tratada 10% (30 ml) o 1% (3 ml) de muestra.
- Colocar con una pipeta la muestra en el frasco Winkler.
- Llenar el frasco Winkler con AD hasta donde termina el esmerilado.
- Colocar el tapón del frasco Winkler, sostener bien y mezclar varias veces, eliminar el excedente.
- Frascos para OD5 se meten a incubar por 5 días a 20°C.
- Tanto para OD como para OD5 (después de incubar) añadir a cada frasco Winkler 2 ml de MnSO<sub>4</sub>, inmediatamente agregar 2 ml de yoduro azida de sodio.
- Colocar el tapón del frasco Winkler, sostener bien y mezclar varias veces, eliminar el excedente.
- Agregar 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- Colocar el tapón del frasco Winkler, sostener bien y mezclar varias veces, eliminar el excedente.
- Colocar en una bureta el tiosulfato de sodio para realizar la titulación.
- Medir 100 mL de la muestra y colocarla en un matraz Erlenmeyer.
- La titulación se lleva a cabo mezclando con agitación magnética.
- Dejar caer un poco de tiosulfato de sodio para aclarar el tono amarillo de la muestra.



Figura 5. Aclaración de la muestra con tiosulfato de sodio.

- Agregar de 5-10 gotas de indicador de almidón hasta que la solución tome
- un color azul o verde.



Figura 6. Coloración después de agregar las gotas de almidón.

- Agregar nuevamente tiosulfato de sodio lentamente hasta la desaparición del color azul.
- Detener el flujo del reactivo al primer cambio de coloración y medir el volumen de tiosulfato de sodio gastado en la titulación.

#### **5.4.5** Determinación de huevos de helmintos

Principio del método: el análisis se basa en la diferencia de densidades entre los huevos de helmintos, las demás sustancias presentes en las aguas residuales, y procesos de sedimentación, flotación, decantación y la técnica bifásica para recuperar los huevos de helminto y efectuar el conteo.

- Agitador o vórtex para tubos
- Buffer acetoacético pH 4.5 (15 g de acetato de sodio trihidratado; 3.6 m de ácido acético glacial; aforar a 1 litro con agua destilada)
- Cámara McMaster
- Centrífuga capaz de generar 1,000 g
- Éter (o acetato de etilo)

- Pipetas Pasteur
- Probetas graduadas de 10 y 50 ml; o pipeta graduada de 10 ml
- Solución de detergente (1 ml Tritón X-100 o Tween 80, aforado a 1 litro con agua de la llave)
- Solución de sulfato de zinc al 33%
- Tubos cónicos para centrífuga de 15 y 50 ml

#### Procedimiento:

- Recolectar la muestra (V litros), usualmente 1 litro para agua residual cruda o parcialmente tratada en un recipiente de abertura ancha y paredes rectas.
- Dejar sedimentar la muestra de 1 a 2 horas (agua residual cruda) o 18-24 h
   (agua tratada)
- Remover el 90% del sobrenadante por decantación o con ayuda de una jeringa.
- Transfiera con cuidado el sedimento a uno o más tubos cónicos de centrífuga, dependiendo del volumen, y centrifugue a 250 rpm (o 1000 g) por 15 min. Recuerde enjuagar el contenedor muy bien con la solución de detergente, y agregue el agua de enjuagado al sedimento.
- Remueva el sobrenadante. Si se ha empleado más de un tubo cónico en el paso anterior, transfiera todos los sedimentos a un tubo (enjuague muy bien con la solución de detergente para asegurar que no se quede sedimento alguno) y centrifugue nuevamente a 250 rpm por 15 min.
- Suspenda el pellet en un volumen igual de buffer acetoacético (ej., si el volumen del pellet es de 2 ml, agregar 2 ml de buffer). Si el pellet es menor a 2 ml, agregue buffer hasta un volumen final de 4ml.
- Agregue 2 volúmenes de éter etílico y mezcle la solución en un vórtex.
- Centrifugue la muestra a 250 rpm g por 15 min. La muestra se separará en 3 fases distintas. Como se muestra en la figura 7. Toda la muestra "pesada", no grasosa, incluyendo los huevos de helminto, larvas y protozoos, estarán en la capa inferior. Encima de esto, estará el buffer, que deberá se

claro. Las grasas y otro material se mueven en el acetato de etilo o éter y se forma un tapón oscuro y espeso en el fondo del vial.



Figura 7. Fases de separación después de agregar éter etílico y centrifugar.

- Anote el volumen del pellet que contiene los huevos de helminto, y vacíe el resto del sobrenadante en un solo movimiento.
- Resuspenda el pellet en 5 volúmenes de solución de sulfato de zinc. Anote el volumen final del producto (X ml). Mezcle bien. Se requiere un mínimo de 1.5 ml para llenar una cámara McMaster doble (sin burbujas).
- Rápidamente tome muestra con una pipeta Pasteur y transfiera a una cámara McMaster.
- Deje la cámara en reposo en una superficie plana por 5 minutos antes de trabajar. Esto permite que los huevos de helminto floten.
- Coloque la cámara en el microscopio bajo 10x o 40x. cuente los huevos de helminto que se encuentren dentro de la cuadrícula en la cámara completa.

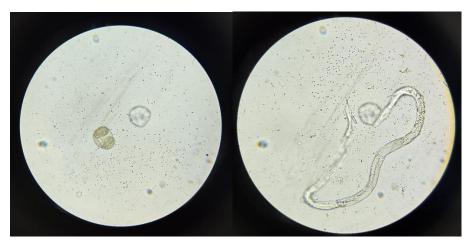


Figura 8. Observación de helmintos en objetivo de 40X.

• Calcular el número de huevos de helmintos por litro con la siguiente fórmula.

$$N = \frac{AX}{PV}$$

Donde:

N= número de huevos de helminto.

A= número de huevos de helminto contabilizados en la cámara o el promedio de estos.

X= volumen del producto final (ml)

P= volumen de la cámara McMaster (0.3 ml) [si se usa cámara sencilla, 0.15ml]

V= volumen original de la muestra (litros)

## 5.4.6 Determinación de coliformes totales y fecales

Principio del método: se basa en la tecnología del sustrato definido, en donde se emplea un nutriente específico como la principal fuente de carbono para el crecimiento de los organismos de interés acoplado a un indicador y la expresión de enzimas características de estos organismos. El indicador se torna visible después de la hidrolización del sustrato a través de una señal de color y fluorescencia. Esta señal indica que se ha producido la reacción y confirma la

presencia de los organismos de interés. El cálculo de sus números más probables (NMP) en la muestra, se lleva a cabo, mediante el uso de tablas de referencia para NMP. Los tubos se examinan a las 24 y 48 horas de incubación ya sea a 35 o 37°C. Cada uno de los que muestran turbidez con producción de gas se resiembra en un medio confirmativo más selectivo y, cuando se busca *E. coli* presuntiva, en un medio en el que se pueda demostrar la producción de indol. Se lleva a cabo la incubación de estos medios confirmativos basta por 48 horas ya sea 35 o 37°C para la detección de organismos coliformes y a 44°C para organismos termo tolerantes y *E. coli*. Mediante tablas estadísticas se lleva a cabo el cálculo del número más probable (NMP) de organismos coliformes, organismos coliformes termo tolerantes y *E. coli* que pueda estar presente en 100 cm3 de muestra, a partir de los números de los tubos que dan resultados confirmativos positivos (NMX-AA-186-SCFI-2012).

Materiales utilizados para determinar coliformes totales y fecales

- Autoclave u olla de presión para esterilizar
- Balanza analítica
- Caldo EC
- Caldo lactosa verde brillante bilis
- Caldo lauril sulfato de sodio
- Campanas Durham (0.5 ml capacidad)
- Gasas y algodón
- Incubadora para 35 o 37°C
- Incubadora para 44°C
- Pipetas de 5, 1 y 0.2 ml
- Puntillas para pipeta (estériles)
- Tubos de ensayo

Procedimiento:

Las muestras empleadas en el análisis, se deben tomar en frascos que se hayan lavado con extremo cuidado y esterilizado.

Siempre que sea posible, llenar el frasco a 2/3 partes de su capacidad; una cantidad menor sería insuficiente, si fuera mayor, disminuiría el espacio de aire disponible, necesario para homogeneizar la muestra. Las muestras deben ser representativas del agua en el estudio y asimismo no deben contaminarse en forma alguna (al menos 100 ml). El material se prepara al menos un día antes de la prueba, y la muestra debe ser fresca (no más de 2 horas).

### a) Pruebas presuntivas

Preparación del medio e inoculación

- Realizar diluciones seriadas de 10<sup>1</sup> hasta 10<sup>24</sup>.
- Marcar los tubos con la dilución y la muestra correspondiente.
- Agregar 22.5 ml de caldo lauril sulfato de sodio (CLSS) a cada tubo de ensaye (22 ml directo con una pipeta, y 0.5 ml en la campana de Durham).
- Llenar la campana de Durham e introducirla al tubo de ensayo rápidamente por inversión cuidando que no queden burbujas en el proceso.



Figura 9. Llenado y colocación de las campanas de Durham.

 Colocar correctamente los tapones de plástico en la boca de los tubos de ensaye.

- Esterilizar los tubos de ensaye con el medio de cultivo por 15 min a 121°C/15 lbp.
- Esterilizar el área a trabajar y agregar a cada tubo de ensaye correspondiente a la dilución 10<sup>1</sup>, 2.5 ml de muestra. Tapar nuevamente los tubos al finalizar este paso.
- Mezclar cada tubo en el vórtex para homogeneizar la muestra con el caldo de cultivo.
- Tomar 2.5 ml de los tubos de la dilución 10¹ y vaciarlo en el tubo correspondiente de la dilución 10².
- Mezclar cada tubo en el vórtex para homogeneizar la muestra con el caldo de cultivo.
- Realizar los dos pasos anteriores a fin de que se realicen las diluciones seriadas hasta 10<sup>24</sup>.
- Incubar los tubos de ensayo a 35°C por 24 a 48 h.
- Observar los resultados, los tubos positivos deben tener turbio el caldo de cultivo y observarse producción de gas en la campana de Durham (desplazamiento de líquido - vacío).



Figura 10. Tubo positivo de la prueba presuntiva.

Guardar los tubos positivos y desechar los tubos negativos.

### b) Prueba confirmatoria coliformes totales

Solo se trabajará en este punto con los tubos que resultaron positivos en la prueba presuntiva.

- Marcar los tubos con la dilución y la muestra correspondiente.
- Agregar 24.75 ml de caldo bilis verde brillante (CBVB) a cada tubo de ensaye (24.25 ml directo con una pipeta, y 0.5 ml en la campana de Durham).
- Llenar la campana de Durham e introducirla al tubo de ensayo rápidamente por inversión cuidando que no queden burbujas en el proceso.
- Colocar correctamente los tapones de plástico en la boca de los tubos de ensaye.
- Esterilizar los tubos de ensaye con el medio de cultivo por 15 min a 121°C/15 lbp.
- Esterilizar el área a trabajar y agregar a cada tubo de ensaye con la dilución correspondiente 0.25 ml (250µl) de muestra. Tapar nuevamente los tubos al finalizar este paso.
- Mezclar cada tubo en el vórtex para homogeneizar la muestra con el caldo de cultivo.
- Incubar los tubos de ensayo a 35°C ±1 por 24-48 h ±3.
- Observar los resultados, los tubos positivos deben tener turbio el caldo de cultivo y observarse producción de gas en la campana de Durham (desplazamiento de líquido - vacío).
- Analizar los resultados y Tabla 1. Valores de NMP por cada 100 mL de muestra y 95%de límite de confianza.

### c) Prueba confirmatoria coliformes fecales

Solo se trabajará en este punto con los tubos que resultaron positivos en la prueba presuntiva.

- Marcar los tubos con la dilución y la muestra correspondiente.
- Agregar 24.75 ml de caldo EC (CEC) a cada tubo de ensaye (24.25 ml directo con una pipeta, y 0.5 ml en la campana de Durham).
- Llenar la campana de Durham e introducirla al tubo de ensayo rápidamente por inversión cuidando que no queden burbujas en el proceso.
- Colocar correctamente los tapones de plástico en la boca de los tubos de ensaye.
- Esterilizar los tubos de ensaye con el medio de cultivo por 15 min a 121°C/15 lbp.
- Esterilizar el área a trabajar y agregar a cada tubo de ensaye con la dilución correspondiente 0.25 ml (250µL) de muestra. Tapar nuevamente los tubos al finalizar este paso.
- Mezclar cada tubo en el vórtex para homogeneizar la muestra con el caldo de cultivo.
- Incubar los tubos de ensayo a 35°C ±1 por 24-48 h ±3.4.
- Observar los resultados, los tubos positivos deben tener turbio el caldo de cultivo y observarse producción de gas en la campana de Durham (desplazamiento de líquido - vacío).
- Analizar los resultados y compararlos con la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de NMP por cada 100 mL de muestra y 95% de límite de confianza (NMX-AA-186-SCFI-2012).

Número de tubos que dieron reacción positiva			NMP por 100mL
3 de 10 mL	3 de 1 mL	3 de 0.1 mL	
0	0	0	<3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11

1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>2400

Cuando la combinación de resultados obtenidos no se encuentre en tablas se aplicará la siguiente fórmula.

$$NMP/100mL = \frac{\text{No. de tubos positivos x } 100}{\sqrt{\text{mL}} de \ muestra \ en \ tubo \ negativos \ x \ mL \ de \ muestra \ en \ todos \ los \ tubos}}$$

# 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# 6.1 Generación de energía

En la figura 11 se puede observar la generación de voltaje en el tratamiento de agua residual a diferentes tiempos de retención hidráulica, en los TRH de 48 horas y 24 horas se tiene una alta producción de energía, por lo que se podría tomar el segundo TRH para reducir los tiempos y poder aprovechar la energía generada en un sistema a gran escala. Es relevante señalar que en la literatura se reporta que existe una relación inversa observada entre el rendimiento eléctrico del SBE y la eficiencia en la remoción de materia orgánica y se debe principalmente a que, a TRH cortos, se obtiene una mayor generación de electricidad, pero una menor eficiencia en la eliminación de la materia orgánica en el agua residual (Akman et al., 2013).

Un factor que es de importancia en los sistemas bioelectroquímicos es el material del cual estén hechos los electrodos, en este caso el fieltro de grafito proporciona un excelente contacto eléctrico, necesario para la recolección de electrones producidos por los microorganismos exoelectrógenos (Salinas-Juárez,2023).

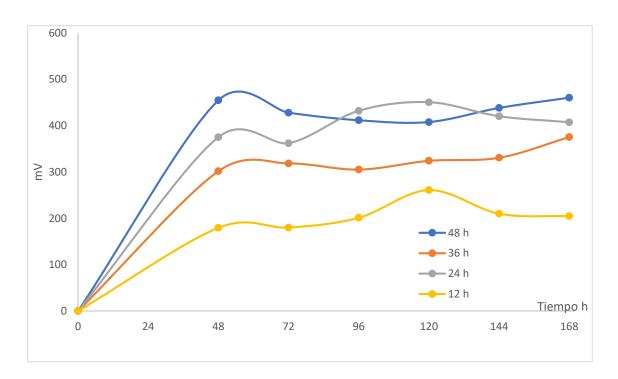


Figura 11. Generación de voltaje en el tratamiento de agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara.

### 6.2 Determinación de la demanda química de oxígeno

En la figura 12 se puede observar la variación que tuvo el sistema en los diferentes TRH durante 6 ciclos de operación, se calculó la desviación estándar y para los TRH de 48, 36, 24 y 12 se obtuvieron desviaciones estándar de 16.32, 18.82, 12.77 y 28.95 respectivamente, que en relación a la media que se encuentra en la Tabla 2 (promedios de remoción) es razonable ya que no se muestra una gran dispersión de los datos e indica un buen funcionamiento del sistema. Se calculó el porcentaje de eficiencia en la remoción (%ERDQO) de cada TRH, utilizando el valor promedio de la DQO del efluente (mg DQO/L) tras los 6 ciclos de operación, y comparándolo con la DQO del agua residual municipal antes del tratamiento. El promedio se obtuvo tomando en cuenta los valores de la DQO medidos en cada ciclo de operación.

En la tabla 2 también se pueden observar que los TRH de 24 y 48 horas tuvieron una mejor remoción en comparación de los otros sin embargo los porcentajes de eficiencia de remoción son similares en todos los sistemas (entre 85%-91%), lo que muestra que no existe una diferencia numérica significativa en la remoción a diferentes tiempos de retención hidráulica.

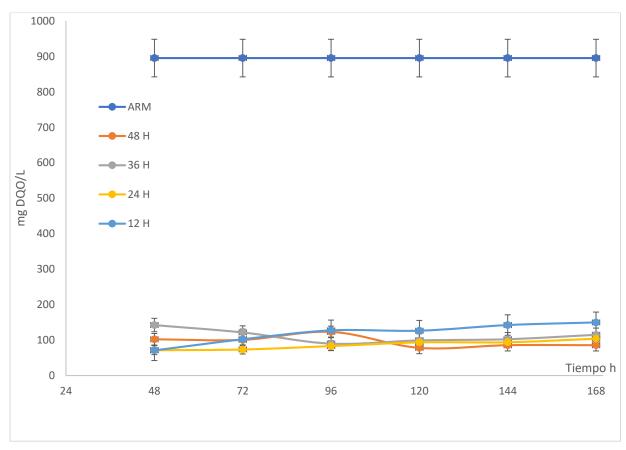


Figura 12. Remoción de la demanda química de oxigeno contenida en agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara durante 6 ciclos de operación.

Tabla 2. Promedios y porcentaje de eficiencia de remoción de DQO después de 6 ciclos de operación.

TRH	48 H	36H	24H	12H
ARM	858.75 mg DQO/L	925.83 mg DQO/L	843.33 mg DQO/L	954.17 mg DQO/L
Promedios	96.11 mg DQO/L	111.86 mg DQO/L	86.81 mg DQO/L	120.08 mg DQO/L
%ERDQO	89.28%	87.52%	90.31%	86.59%

# 6.3 Determinación de la demanda bioquímica de oxigeno

En la tabla 3 se puede observar que a 48 y 24 horas parecen ser los tiempos de retención hidráulica óptimos para la eliminación de DBO, ya que presenta la mayor

eficiencia de remoción (90.909% y 89.474% respectivamente) sin embargo, la eficiencia de remoción disminuye ligeramente a 36 horas y 12 horas y es similar entre ellas (alrededor del 85%), se puede notar que a un menor tiempo de retención hidráulica no mejora significativamente la eficiencia de remoción de la DBO. Por lo que si lo que se requiere es la disminución de la DBO se podría utilizar el TRH de 24 horas ya que proporciona una alta eficiencia de remoción, lo que optimiza los costos operativos y la utilización de recursos.

De acuerdo a la literatura se esperaría que a un mayor tiempo de retención hidráulica se tuviera una mayor eficiencia de remoción, ya que permite que los microorganismos tengan más tiempo para consumir el oxígeno disuelto y degradar la materia orgánica presente en el agua (Barbero-del-Rio, 2019).

Tabla 3. Remoción de la demanda bioquímica de oxigeno contenida en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara.

TRH	ARM	SBDC	%ERDBO
48 h	445.80	40.53	90.91%
36 h	405.27	60.79	85.00%
24 h	385.01	40.53	89.47%
12 h	405.27	60.79	85.00%

### 6.4 Determinación de huevos de helmintos

En la tabla 4 se observa que el sistema muestra una mayor eficiencia de remoción de huevos de helmintos a un TRH de 12 horas, con un 88.84% de remoción, mientras que, a 48 horas, aunque todavía es eficiente (72.68%), la remoción disminuye a medida que disminuye el tiempo de retención, alcanzando solo un 28.37% a 24 horas.

En investigaciones como la de Pérez-Rodríguez et al. (2018), se reportó que al aumentar el TRH en sistemas de tratamiento biológico, la eficiencia en la eliminación de huevos de helmintos mejoraba, posiblemente debido a un mayor tiempo de exposición de los patógenos a los microorganismos encargados de su descomposición. En este sistema los resultados obtenidos nos muestran que el mayor TRH tuvo una buena remoción (72.68%), sin embargo, los resultados indican que un TRH más corto, específicamente a 12 horas, produce la mayor

remoción de huevos de helmintos (88.84%), mientras que a TRH más largos, como 24 y 36 horas (28.37% y 65.87% respectivamente), la eficiencia disminuye significativamente.

Tabla 4. Remoción de los huevos de helmintos contenidos en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara.

TRH	ARM	SBDC	%ERHH
48 h	5820 HH/L	1590 HH/L	72.68%
36 h	6240 HH/L	2130 HH/L	65.867%
24 h	6240 HH/L	4470 HH/L	28.367%
12 h	7530 HH/L	840 HH/L	88.84%

#### 6.5 Determinación de coliformes fecales

Se puede observar en la tabla 5 que existe una gran eficiencia de remoción de las coliformes fecales mediante el sistema bioelectroquímico de doble cámara, a un mayor tiempo de retención hidráulica existe una mayor remoción de las coliformes fecales, de manera similar a la investigación realizada por Pérez-Rodríguez *et al.* (2018), ya que en su caso el TRH mayor (72 horas) fue en el que se observó una mayor remoción de este parámetro, en la presente investigación el mayor TRH que es el de 48 horas presento una disminución de casi el 100% de eficiencia de remoción.

A pesar de que existe una buena eficiencia de remoción, los datos obtenidos no entran dentro de los límites máximos permisibles, que en caso de reúso para servicios públicos de contacto directo seria de 240 NMP/L y para contacto indirecto u ocasional 1000 NMP/L (NOM-003-ECOL-1997). Por lo que posterior al tratamiento biológico podría realizarse un tratamiento terciario como la solarización, cloración o UV.

Tabla 5. Remoción de las coliformes fecales contenidas en el agua residual municipal a diferentes tiempos de retención hidráulica en un sistema bioelectroquímico de doble cámara

TRH	ARM	SBDC	%ERCF
48 h	1.E+24	1.E+04	99.99%
36 h	1.E+24	1.E+07	99.99%
24 h	1.E+24	1.E+09	99.99%
12 h	1.E+24	1.E+10	99.99%

### **7 CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran el potencial del tratamiento de aguas residuales mediante un sistema bioelectroquímico de doble cámara operado a diferentes tiempos de retención hidráulica.

Debido a que no todos los parámetros medidos en esta investigación no reflejaron una remoción directamente proporcional al aumento en el tiempo de retención, no se acepta la hipótesis planteada la cual fue que el sistema bioelectroquímico de dos cámaras para el tratamiento de agua residual municipal tendrá una alta eficiencia en la remoción de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, huevos de helmintos, coliformes totales y fecales directamente proporcional al tiempo de retención hidráulica.

### 8.REFERENCIAS

- Aguilar-González, Mariana, Buitrón, Germán, Shimada-Miyasaka, Armando, & Mora-Izaguirre, Ofelia. (2016). Estado actual de los sistemas bioelectroquímicos: factibilidad de su uso para aumentar la producción ruminal de propionato. Agrociencia, 50(2), 149-166. <a href="http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci">http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci</a> arttext&pid=S1405-31952016000200149&Ing=es&tIng=es.
- Akman, D., Cirik, K., Ozdemir, S., Ozkaya, B., & Cinar, O. (2013). Bioelectricity generation in continuously-fed microbial fuel cell: effects of anode electrode material and hydraulic retention time. Bioresource Technology, 149, 459-464. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852413015344
- Alcocer, I. A. (2021). Influencia de la temperatura y pH en la eficiencia de remoción de materia orgánica en un reactor RAFA a nivel de laboratorio de las aguas residuales municipales del Distrito de Quilcas – Huancayo. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Del Centro Del Perú.<a href="https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/7418/T010">https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/7418/T010000</a>
   45205903 T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- AlSayed, A., Soliman, M., & Eldyasti, A. (2020). Microbial fuel cells for municipal wastewater treatment: From technology fundamentals to full-scale development. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 134, 110367. <a href="https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110367">https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110367</a>
- Bahena Rabadán, K. Y. (2022). Evaluación de dos procesos de oxidación avanzada acoplados a un proceso anaerobio bioelectroquímico para el tratamiento de lixiviados provenientes de un relleno sanitario. Master's thesis. http://repositorio.imta.mx/handle/20.500.12013/2305
- Barbero Del Río, M. (2019). Diseño y aplicación de sistemas bioelectroquímicos para la optimización de la gestión de humedales construidos. Master's thesis,
   Universitat Politècnica de Catalunya.
   <a href="https://upcommons.upc.edu/handle/2117/168985">https://upcommons.upc.edu/handle/2117/168985</a>

- Bustos Murillo, F. A., Pulido Aponte, Á. E., & Rivera Escobar, H. M. (2023).
   Tratamiento de aguas residuales en Colombia y sistemas bioelectroquímicos: usos y perspectivas. Tecnura, 27(76), 111-143.

   <a href="https://doi.org/10.14483/22487638.19390">https://doi.org/10.14483/22487638.19390</a>
- Cárdenas, Carmen, Yabroudi, Suher Carolina, Benítez, Andreina, Páez, Katiuska, Perruolo, Tomás, Angulo, Nancy, Araujo, Ismenia, & Herrera, Lenín (2012). Desempeño de un reactor biológico secuencial (RBS) en el tratamiento de aguas residuales domésticas. Revista Colombiana de Biotecnología, 14(2), 111-120. <a href="http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0123-34752012000200012&Ing=en&tIng=es.">http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0123-34752012000200012&Ing=en&tIng=es.</a>
- Chulluncuy-Camacho, N. C. (2011). Tratamiento de agua para consumo humano.
   Ingeniería Industrial, 29(029), 153-170.
   <a href="https://doi.org/10.26439/ing.ind2011.n029.232">https://doi.org/10.26439/ing.ind2011.n029.232</a>
- Clean TeQ Water. (2020, 6 julio). Reutilización de aguas residuales municipales
   CleanTEQ Water ES. Clean TeQ Water ES.
   https://www.cleanteqwater.com/es/mercados/reutilizacion-de-aguas-residuales-municipales/
- Ccora, B., Alvarez, A. y Toribio, F. (2020). "Generación de energía eléctrica y tratamiento de aguas residuales municipales utilizando celdas de combustible microbiano (MFC) en la ciudad de Huancavelica". South Sustainability, 1(2), e018. DOI: 10.21142/SS-0102-2020-018
- De león-Prem R. (2017). Evaluación técnica y propuesta de mejora de los filtros percoladores de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad RafaelLandívar.
   http://186.151.197.48/tesiseortiz/2017/02/09/De-Leon-Ricardo.pdf
- Fernández Cirelli, A. (2012). El agua: un recurso esencial. Química Viva, 11(3), 147-170. <a href="http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86325090002">http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86325090002</a>
- Henze, M., van Loosdrecht, MC, Ekama, GA y Brdjanovic, D. (Eds.). (2008).
   Tratamiento biológico de aguas residuales. Publicación IWA.
   <a href="https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=41JButufnm8C&oi=fnd&pg=PP2">https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=41JButufnm8C&oi=fnd&pg=PP2</a>
   &dq=Biological+wastewater+treatment.&ots=nUC5g0Alk&sig=EwGKV41t049j

# <u>1EsnT9Xr8IR8Zhs#v=onepage&q=Biological%20wastewat</u> <u>er%20treatment.&f=false</u>

- Kurniawan, T. A., Chan, G. Y. S., Lo, W. H., & Babel, S. (2006). Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. Chemical Engineering Journal, 118(1), 83-98. <a href="https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.01.014">https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.01.014</a>
- Li, T., & Liu, J. (2017). Rapid formation of biofilm grown on gas-permeable membrane induced by famine incubation. Biochemical Engineering Journal, 121, 156-162. https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.01.008
- Logan BE, Regan JM. (2006). Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. Trends Microbiol. doi: 10.1016/j.tim.2006.10.003
- Martos-López, Á. (2016). La importancia del agua para nuestro planeta. https://hdl.handle.net/10953.1/2374
- Metcalf & Eddy. (2014). Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery
  (5th ed.). McGraw-Hill Education.
  <a href="https://es.scribd.com/document/674257762/Wastewater-Engineering-Treatment-and-Resource-Recovery-Metcalf-and-Eddy-5th-Ed-Parte-Cap-3">https://es.scribd.com/document/674257762/Wastewater-Engineering-Treatment-and-Resource-Recovery-Metcalf-and-Eddy-5th-Ed-Parte-Cap-3</a>
- Mohan, S., Pandey, A., & Varjani, S. (2018). Biomass, biofuels, biochemicals: Microbial Electrochemical Technology: Sustainable Platform for Fuels, Chemicals and Remediation.

  Elsevier. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=VNxwDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=P P1&dq=Biomass,+biofuels,+biochemicals:+Microbial+Electrochemical+Technology:+Sustainable+Platform+for+Fuels,+Chemicals+and+Remediation&ots=jQ JdD3hmD &sig=3qE1t7L EqBXgrdKhxqP20M-0Fc#v=onepage&q=Biomass%2C%20biofuels%2C%20biochemicals%3A%20 Microbial%20Electrochemical%20Technology%3A%20Sustainable%20Platform%20for%20Fuels%2C%20Chemicals%20and%20Remediation&f=false
- Muñoz-Cruz, A. M. (2008). Caracterización y tratamiento de aguas residuales»
  [Monografía, Universidad Autónoma de Hidalgo].

   http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/514/?

   sequence=1
- NOM-001-SEMARNAT-2021. Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores

- propiedad de la nación.

  <a href="https://www.dof.gob.mx/nota\_detalle.php?codigo=5645374&fecha=11/03/2022">https://www.dof.gob.mx/nota\_detalle.php?codigo=5645374&fecha=11/03/2022</a>
  # gsc.tab=0
- NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público.
   <a href="https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/311363/NOM 003 SEMARN AT.pdf">https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/311363/NOM 003 SEMARN AT.pdf</a>
- NMX-AA-028-SCFI-2021. Análisis de agua medición de demanda bioquímica de oxígeno (DBO5) en aguas naturales, residuales y residuales tratadas dilución y método de siembra-método de prueba. <a href="https://www.dof.gob.mx/nota\_detalle.php?codigo=5669720&fecha=26/10/20228print=true#:~:text=Esta%20Norma%20Mexicana%20es%20de,naturales%2C%20residuales%20y%20residuales%20tratadas</a>
- NMX-AA-030/2-SCFI-2011. Análisis de agua determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas método de prueba parte 2 determinación del índice de la demanda química de oxígeno método de tubo sellado a pequeña escala. <a href="https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166775/NMX-AA-030-2-SCFI-2011.pdf">https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166775/NMX-AA-030-2-SCFI-2011.pdf</a>
- NMX-AA-113-SCFI-2012. Análisis de agua medición del número de huevos de helminto en aguas residuales y residuales tratadas por observación microscópica - método de prueba. <a href="https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166809/NMX-AA-113-SCFI-2012.pdf">https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166809/NMX-AA-113-SCFI-2012.pdf</a>
- NMX-AA-186-SCFI-2021. Análisis de agua enumeración de Escherichia coli, bacterias coliformes totales y bacterias coliformes fecales. Método del número más probable (NMP) "enzima-sustrato". <a href="https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD1/N">https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD1/N</a>
   MX-AA-186-SCFI-2021.pdf

- Organización Mundial de la Salud (2011). Guias para la calidad del agua de consumo humano: Cuarta edición que incorpora la primera adenda. <a href="https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241549950">https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241549950</a>
- Pérez-Rodríguez, P., Martínez-Amador, S. Y., Valdez-Aguilar, L. A., Benavides-Mendoza, A., Rodríguez-de, J. A., & la Garza, V. M. (2018). Diseño y evaluación de un sistema secuencial bioelectroquímico para el tratamiento de agua residual municipal y generación de voltaje. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 17(1), 145-154. <a href="https://www.researchgate.net/profile/Luis-Valdez-Aguilar/publication/350788401">https://www.researchgate.net/profile/Luis-Valdez-Aguilar/publication/350788401</a> Revista Mexicana de Ingenieria Quimica/lin ks/6071d865a6fdcc5f77982cd0/Revista-Mexicana-de-Ingenieria-Quimica.pdf
- Ponce Martínez, G., & Martínez Amador, S. Y. Tratamiento de agua residual doméstica mediante el uso de un filtro secuencial anaerobio-aerobio, empacado con espuma de poliuretano a diferentes tiempos de retención hidráulica.
  - https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/6497/T20167 %20PONCE%20MART%C3%8DNEZ%2C%20GUADALUPE%20%20TESIS. pdf?sequence=1
- Rabaey, K., & Verstraete, W. (2005). Microbial fuel cells: Novel biotechnology for energy generation. Trends in Biotechnology, 23(6), 291-298. <a href="https://www.researchgate.net/profile/Korneel-Rabaey/publication/7819936">https://www.researchgate.net/profile/Korneel-Rabaey/publication/7819936</a> Microbial Fuel Cells Novel Biotechnology for Energy Generation/links/5a546521a6fdccf3e2e2dae8/Microbial-Fuel-Cells-Novel-Biotechnology-for-Energy-Generation.pdf
- Rani Devi, Dahiya RP. (2008). COD and BOD removal from domestic wastewater generated in decentralized sectors. Bioresource Technol, 99(2), 344-349. doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.017
- Rojas, R. (2007). "Gestión integral de tratamiento de aguas residuales". En Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente División de Salud y Ambiente.
   <a href="https://www.academia.edu/download/57123734/GESTION INTEGRAL DELTATAMIENTO">https://www.academia.edu/download/57123734/GESTION INTEGRAL DELTATAMIENTO AR.pdf</a>

- Salinas-Juárez, M. G. (2023). Sistemas bio-electroquímicos para el tratamiento de agua. ExpresionES UVM, 11(4). <a href="http://expresionesuvm.com/ojs-3.3.0-8/index.php/expresionesuvm/article/download/368/214">http://expresionesuvm.com/ojs-3.3.0-8/index.php/expresionesuvm/article/download/368/214</a>
- Valbuena, Diana, Díaz-Suárez, Odelis, Botero-Ledesma, Ligia, & Cheng-Ng, Rosita. (2002). Detección de helmintos intestinales y bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales, tratadas y no tratadas. Interciencia, 27(12),710714. <a href="http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci">http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci</a> arttex t&pid=S0378-18442002001200012&Ing=es&tIng=es
- Vázquez, F. (2016). Lagunas de estabilización. Extensionismo Innovación y Transferencia Tecnológica, 3, 148. https://doi.org/10.30972/eitt.303004
- Zhang, Y., & Wang, Y. (2019). Advances in the removal of nitrogen and phosphorus from wastewater. Environmental Pollution, 252, 1646-1657. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.031