



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE
HUMEDALES ARTIFICIALES COMO
DEPURADORES DE AGUAS
RESIDUALES MEDIANTE LA
ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS
PATÓGENOS

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P r e s e n t a:

Sandra Guzmán Aguirre



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

México D. F. 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente	Dra. María del Carmen Durán Domínguez
Vocal	M. en C. Rodolfo Pastelín Palacios
Secretario	Profa. Aurora Ortegón Ávila
Primer suplente	M. en C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez
Segundo suplente	M. en C. María del Carmen Urzúa Hernández

Lugar donde se realizó la investigación:

- Laboratorios E-301 al E-303 del Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (PIQAYQA), Facultad de Química, UNAM
- Laboratorio de Medios de cultivo 1-A, Facultad de Química, UNAM

Asesor del Tema:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez



Supervisor Técnica:

QFB. Adriana Guadalupe Mejía Chávez



Sustentante:

Sandra Guzmán Aguirre



AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Al pueblo de México, por que gracias a él, hay universidades públicas como la UNAM que me permitió hoy, concluir mis estudios.

A la UNAM, gracias por abrirme tus puertas desde el inicio de mis estudios, es un orgullo ser egresada tuya llevar los colores azul y oro y porque todo lo que pueda decir es poco comparado con lo importante que eres para mí.

A la Facultad de Química, por que ha sido mi casa durante estos años y dejo en ella parte muy especial de mi vida, sueños, retos, logros, amistad y amor.

A la Dra. Carmen Durán por su apoyo en la realización de este proyecto así como por la confianza depositada en mí.

A la maestra Adriana Mejía por la asesoría recibida durante todo proyecto y porque más que además de ser asesora fue una amiga.

A la Biol. Nora Salinas y al maestro Alejandro Camacho y por su asesoría en el recuento de los huevos de helminto.

Al respetable jurado, por sus valiosas observaciones y la rápida revisión de este trabajo.

A todo el personal del PIQA y QA; M. en C. Rolando García, Sra. Irene, Lorena Núñez, Sra. Julia y Sr. Servando; así como al personal del laboratorio 1A; Lulú y Alejandro por el apoyo logístico y las facilidades otorgadas en la realización de este proyecto.

A todos mis profesores, que colaboraron en mi formación profesional. Y en especial, a Maritza López, María Elena Dávila, Filiberto Ribera y Arturo Rosales.

A mi familia:

*A mis padres, José Luis Guzmán y Leticia Aguirre;
con amor y respeto, gracias por apoyarme siempre,
por quererme tal y como soy, por su paciencia,
comprensión y confianza que han depositado en mí;
y por estimularme en todo momento.
Este logro también es de ustedes.*

*A mi tía Norma y Abuelita Ana,
por su apoyo incondicional,
por quererme tanto
por encontrar en ustedes la paz y consuelo
que en ocasiones se necesita,
y animarme siempre a seguir adelante.
Este logro también es de ustedes.*

*A mis hermanos Carlos Alberto y
Christian Alejandro porque son
una parte fundamental en mi vida.*

¡Los quiero mucho a todos!

*A mis hermanos del alma, Carmen Álvarez,
Alberto Gutiérrez y Adrián Flores,
por su amistad incondicional y los momentos maravillosos
que hemos vivido desde que nos conocimos.
A Liliana García, que a pesar del tiempo y distancia se siente el apoyo.*

*A Analía Aguilar,
Nidia Contreras, Cruz Ramírez e Inés Ribero
porque juntas iniciamos este camino, por encontrar en ustedes
el consejo y apoyo necesarios y ser unas amigas extraordinarias.*

*A Azucena Reyes (Azu) por acompañarme siempre,
y escucharme, por tus consejos,
y ser una de mis mejores amigas;
a Elisa Romero (Eli), por ser una gran amiga
y una mujer muy valiente;
a Fabiola Rodríguez, por aceptarme como soy,
comprenderme, solidaridad en todas mis decisiones,
y ser una amiga a la que quiero mucho.
A Gustavo Lozano (Tavo) y Andrés Azuára por su apoyo,
consejos, tiempo y por que simplemente los quiero mucho.
Esto también es por ustedes amigos.*

*A Gerardo S. Pacheco por esta hermosa amistad
que me has brindado, confianza y
contagiarme tu alegría de ver la vida.*

*A toda la banda de la Zona del Terror; Chino (Carlos) por tu amistad, compañía, confianza y estímulo;
por enseñarme de lo que puedo ser capaz y ser un agente decisivo en mi vida; a Jorge (Rojo) por tu
confianza, amistad y por que eres un hombre muy valioso; Ariel (Rey) por esos abrazos, te quiero
mucho; Alejandro (Pelos) por escucharme siempre que lo necesité; Tania y Omar (Lucas) por su
invaluable amistad; Walter Armando por sus siempre "sabios consejos"; Julio (Shagy) y Alberto
(Mimoso) por su amistad y cariño; a Miguel (Huerta) y Julius por esas pláticas y el gran aprecio que les
tengo; a Fernando (Palencia) por el constante catarro; a Fernando Rentaría, Polo, Jorge (George), César
e Isaías, Gisela, Paty, Montse, Daniel (Pollo), Ricardito, Chabelita, Nacho, Miguel (Ra), Orlando
(Choco), Juan Ga, Rocío, Edgar (Rex), Erick, Israel (Gato) y Miguel, por que en ustedes he encontrado
amigos extraordinarios.*

*A todo el A, B, C, D, E, Kosovo y Cerro;
pero sobre todo a la HCC (Donaji Velasco, Alfonso Madrigal).
A todos y cada uno de los compañeros del
EE; a Pablo (Mestas) Javier (Pirrol) y Roberto (Maldad)*

*A Gustavo Álvarez por ser uno de mis mejores amigos
y una excelente persona, a Salvador González porque eres
un amigo muy especial, por esas charlas y consejos,
a César Hernández y Raúl Camarillo, por su cariño y
por ser amigos como pocos, Lupita de la Rosa,
Rafa (Cococonsejero), Martita Ribera,
Argelia Alegre, Jorge Luis Santos, Benjamín Escamilla,
Cristian de la Cruz, José Chávez, Edgar Damián,
Edgar Jaime, Ligia González gracias por tu amistad
y tiempo, Víctor Zúñiga, Víctor Ríos (Bart),
Paula Gamiño por tu cariño, confianza y consejos,
Ricardo Caballero, Raquel Aparicio,
Cristal Jennelí y José Miguel Ángel.
A los médicos (Sandy, Ivette, Samuel,
Cuahutemoc, JC, Brenda, etc)*

Al grupo SADAPI 01 generación 96

*A todos mis amigos y compañeros del PIQA y QA:
Liztli Gómez, por su apoyo incondicional
y por que eres una amiga maravillosa;
a Lilia García y Alicia Casariego,
por su apoyo y amistad tan valiosa para mí;
Angélica Velázquez por aquellos días de solcito,
y nublados también;
Anilú Miranda y Ronny (Con ye).
Carlos Roth, por sus pláticas y consejos;
Pável Castillo, por su tiempo y confianza;
Alberto Hernández, Laura Valencia,
Fabiola Ruiz, Arturo Rodríguez, Enefino Varela.*

Índice

Pág

Símbolos y abreviaturas**Resumen**

1

Capítulo I Problemática

2

1.1 Introducción

2

1.2 Justificación

6

1.3 Hipótesis

6

1.4 Objetivos

6

Capítulo II Antecedentes

7

2.1 El agua

7

2.2 Contaminación del agua

7

2.3 Procesos de tratamiento de aguas residuales

8

2.4 Recuperación o reutilización de las aguas residuales

11

2.5 Humedales artificiales

12

2.5.1 Clasificación de humedales artificiales

14

2.5.2 Componentes de un humedal artificial

15

2.5.2.1 Sustrato o medio de soporte inerte

15

2.5.2.2 El flujo del agua residual en el humedal

16

2.5.2.3 Vegetación en el humedal

16

2.5.2.4 Actividad microbiana en el humedal

19

2.6 El papel de los microorganismos

20

2.7 Clasificación de los microorganismos según su grado de riesgo para la salud

21

2.7.1 Microorganismos indicadores y pruebas relacionadas

22

2.7.2 Microorganismos patógenos presentes en aguas residuales

22

2.7.2.1 *Salmonella*

24

2.7.3 Parásitos

26

2.7.3.1 Huevos de helminto

26

Capítulo III Metodología

28

3.1 Sistemas en estudio

28

3.1.1 Humedal artificial de flujo vertical

28

3.1.2 Humedal artificial de flujo horizontal

29

3.2 Muestreo

30

3.2.1 Determinación de coliformes totales y fecales

31

3.2.2 Determinación de *Salmonella*

32

3.2.2.1 Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i>	33
3.2.3 Determinación de huevos de helminto	35
3.3 Análisis estadístico	35
Capítulo IV Resultados y discusión	37
4.1 Coliformes fecales y totales	37
4.2 <i>Salmonella</i>	41
4.2.1 Pruebas bioquímicas para <i>Salmonella</i>	45
4.3 Huevos de helminto	52
Capítulo V Conclusiones y sugerencias	58
5.1 Conclusiones	58
5.2 Sugerencias	59
Anexo 1. Glosario	61
Anexo 2. Anexo fotográfico	65
Anexo 3. Análisis microbiológicos	68
A3.1 Coliformes totales y fecales	68
A3.2 <i>Salmonella</i>	69
A3.3 Huevos de helminto	71
Anexo 4. Pruebas bioquímicas	72
Anexo 5. Condiciones de operación	81
Bibliografía	82

Índice de Tablas

Pág

Capítulo I Antecedentes

Tabla 1. Principales contaminantes y sus efectos potenciales	8
Tabla 2. Especies de plantas emergentes más utilizadas en la depuración de aguas residuales	18
Tabla 3. Principales organismos patógenos que pueden encontrarse en el agua residual doméstica y enfermedades que producen	23

Capítulo II Metodología

Tabla 4. Características de las colonias sospechosas de <i>Salmonella</i>	32
---	----

Capítulo III Resultados y discusión

Tabla 5. Determinación de coliformes fecales en el HAFV	37
Tabla 6. Determinación de coliformes totales en el HAFV	38
Tabla 7. Determinación de coliformes fecales en el HAFH	38
Tabla 8. Determinación de coliformes totales en el HAFH	39
Tabla 9. Determinación de <i>Salmonella</i> en el agua residual (entrada) del HAFV	41
Tabla 10. Determinación de <i>Salmonella</i> en el agua tratada (salida) del HAFV	42
Tabla 11. Determinación de <i>Salmonella</i> en el agua residual (entrada) del HAFH	42
Tabla 12. Determinación de <i>Salmonella</i> en el agua tratada (salida) del HAFH	43
Tabla 13. Resultados de las pruebas bioquímicas	46
Tabla 14. Cuantificación de huevos de helminto en el HAFV	52
Tabla 15. Cuantificación de huevos de helminto en el HAFH	52
Tabla 16. Porcentaje de remoción de organismos patógenos en ambos humedales	54
Tabla 17. Parámetros fisicoquímicos de ambos humedales	55

Anexo 3 Análisis microbiológicos

Tabla A3. Reacciones bioquímicas de <i>Salmonella</i>	70
---	----

Índice de Figuras y Gráficas

Pág

Capítulo II Antecedentes

Fig. 1. Sección transversal de un sistema de humedales artificiales	13
Fig. 2. Corte transversal de un humedal de flujo subsuperficial horizontal	14
Fig. 3. Plantas acuáticas comunes	17
Fig. 4. Plantas de tipo carrizos presentes en los humedales artificiales	18

Capítulo III Metodología

Fig. 5. Humedal artificial de flujo vertical (Zona Cultural de Ciudad Universitaria)	29
Fig. 6. Humedal artificial de flujo horizontal (Viveros de Coyoacán)	30
Fig. 7. Diagrama de flujo general	36

Capítulo IV Resultados y discusión

Gráfica 1. Resultados de los logaritmos promedio de la determinación de coliformes fecales para ambos humedales	39
Gráfica 2. Resultados de los logaritmos promedio de la determinación de coliformes totales para ambos humedales	40
Gráfica 3. Eficiencia de ambos humedales en la determinación de <i>Salmonella</i>	43
Gráfica 4. Comparación entre ambos humedales en la remoción de huevos de helminto	53

Anexo 2

Foto 1. Placas inoculadas con agua residual del HAFV	65
Foto 2. Placas inoculadas con agua tratada del HAFV	65
Foto 3. Placas inoculadas con agua residual del HAFH	66
Foto 4. Placas inoculadas con agua tratada del HAFH	66
Foto 5. Huevos de helminto encontrados en el agua residual y agua tratada de los humedales artificiales de flujo horizontal y vertical.	67

Anexo 3

Fig. A3.1 Diagrama de flujo para la determinación de coliformes fecales y totales	68
Fig. A3.2 Diagrama de flujo para la determinación de <i>Salmonella</i>	69
Fig. A3.3 Diagrama de flujo para la determinación de huevos de helminto	71

Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

DBO: Demanda bioquímica de oxígeno
DE: Desviación estandar
DQO: Demanda química de oxígeno
E: Entrada
HA: Humedal artificial o construido
HAFH: Humedal artificial de flujo horizontal
HAFV: Humedal artificial de flujo vertical
S: Salida
UFC: Unidades formadoras de colonias

Abreviaturas de medios de cultivo

KIA: Tubo con agar hierro Kligler
LIA: Tubo con agar hierro lisina
Mac: Agar Mac Conkey
SS: Agar Salmonella y Shigella
XLD: Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Símbolos

+, 90% o más resultados positivos
-, 90% o más resultados negativos
V, resultados variables, 10-89% en un sentido o en otro (+/-)
V⁺, resultados variables en su mayoría positivos
V⁻, resultados variables en su mayoría negativos

Requerimientos de oxígeno (O₂)

O Aer, aerobio obligado
Fac, anaerobio facultativo
Aner, anaerobio

Pruebas

H₂S, ácido sulfhídrico

Resultados de la prueba de Agar Kligler

A/A, ácido /ácido (amarillo/amarillo)
Alc/A, alcalino/ácido (rojo/amarillo)
Alc/Alc, alcalino/alcalino (rojo/rojo)
Alc/SN, alcalino sin cambios (rojo/anaranjado rojizo)

Resumen

El agua es un elemento esencial para la vida. Forma gran proporción del componente celular orgánico, en el ser humano, constituye 2/3 partes de su cuerpo y en el planeta, del 75% del agua que cubre la superficie terrestre, solo el 25% es agua dulce. Sin embargo su contaminación, presencia de gases y sólidos tóxicos así como de gérmenes microbianos disminuye su calidad para poder ser utilizada. Los principales contaminantes del agua entran en las siguientes categorías: Nitrógeno, Fósforo, metales pesados, trazas orgánicas y microorganismos patógenos. El empeño por encontrar una solución a este problema se ve dificultado por el incremento demográfico y el vertiginoso desarrollo industrial. En la búsqueda de procesos de tratamiento que permitan solucionar el problema del agua contaminada, se pensó en el sistema conocido como humedales artificiales. Los cuales son áreas que se encuentran saturadas por aguas superficiales o subterráneas con una frecuencia y duración tales que sean suficientes para la depuración del agua. La presente tesis plantea la evaluación de dos sistemas de humedales artificiales, uno de flujo vertical (HAFV) y otro de flujo horizontal (HAFH), usados en la de depuración de aguas residuales sanitarias y mixtas, considerando la eliminación de microorganismos patógenos. Se realizó un análisis microbiológico de los dos sistemas,. Se determinaron coliformes totales y fecales así como microorganismos patógenos (*Salmonella spp*) y huevos de helminto. Se determinó la eficiencia de depuración en los humedales. Se obtuvieron valores iniciales y finales promedio de 2.15 y 2.46×10^6 NMP/100mL en el agua residual y de 606 y 718 NMP/100mL en el agua tratada para el HAFV y el HAFH, respectivamente, para coliformes fecales. La reducción fue de casi 4 ciclos logarítmicos, pero excede de 240 NMP/100mL para uso directo, aunque cumple con la normatividad para agua de riego (contacto indirecto), que es de 1000 NMP/100mL. Los valores para *Salmonella* fueron de 1.87 y 0.83×10^5 UFC/100mL a la entrada de los HAFV y HAFH y de 116 a 200 y de 100 a 383 UFC/mL a la salida. Los obtenidos para huevos de helminto fueron de 6 y 11 HH/L como valores iniciales promedio para el HAFV y HAFH respectivamente y de 1 HH/L como valor final para ambos humedales. Aunque fueron muy altas las remociones y en el caso de huevos de helminto si cumplen con la norma para destinar esta agua para contacto directo, es recomendable un tratamiento posterior para garantizar su inocuidad.

Capítulo I

Problemática

1.1 Introducción

El agua es un líquido incoloro, insípido e inodoro, compuesto por un mol de oxígeno y dos de hidrógeno (H_2O). Constituye el 50 al 90% en peso de todas las plantas y animales y es un elemento esencial para la vida, pues todos los procesos vitales requieren agua. Sin embargo, de acuerdo con el tamaño de nuestro mundo y a pesar de lo necesaria que es, en realidad, hay muy poca agua dulce disponible. Solo el 3% del agua del planeta es agua dulce, del cual el 2.9997% resulta de muy difícil acceso para el consumo, ya que se sitúa en los casquetes polares y en los glaciales. Por ello solo el 0.003% del volumen total del agua de nuestro planeta es accesible para el consumo humano (<http://www.ecoportat.net>).

La sexta parte de la humanidad vive en zonas de clima seco y cálido, en el llamado Tercer Mundo. El 55% de la población rural y el 40% de la urbana carecen de acceso adecuado a fuentes de agua potable (<http://infoforhelth.org/pr>).

De acuerdo con datos de la OMS, aproximadamente 1,500 millones de personas carecen de abastecimiento de agua potable y 1,700 millones no cuentan con

instalaciones adecuadas para recibir dicha provisión. De igual forma, unos 5 millones de personas, fallecen anualmente a causa de enfermedades transmitidas por medio del agua (<http://www.ecoportat.net>). Estos estudios tienen una larga historia. En 1855, se publicaron resultados del estudio innovador que se llevó a cabo sobre las causas del cólera en Londres, atribuyéndolas al hecho de beber agua contaminada con aguas residuales o sin tratar, señalando así el inicio del campo de la epidemiología (Show, 2000).

En todo el mundo, 2,300 millones de personas padecen enfermedades relacionadas con el agua. La provisión de agua potable y el saneamiento adecuado reportaría importantes beneficios para la salud. Entre esos beneficios están incluidas, según las estimaciones, 2.1 millones menos de muertes por enfermedades transmitidas por el agua o, realmente, el “agua sucia”, se deben al uso del agua contaminada por desechos humanos, animales o químicos. Se estima que estas enfermedades causan 12 millones de muertes por año, 5 millones de ellas por enfermedades diarreicas. En su mayoría, las víctimas son niños de países en desarrollo (Davidson y col., 1992; UN, 1997a, b; UNDP, 1998).

En muchos lugares, tanto las aguas superficiales como las subterráneas, están contaminadas con desechos industriales, agrícolas y municipales. De acuerdo con la Comisión Mundial sobre el Agua para el Siglo XXI, más de la mitad de los ríos principales del mundo están tan agotados y contaminados que ponen en peligro la salud humana y envenenan los ecosistemas circundantes (IPS,

1999). En muchas grandes ciudades del mundo en desarrollo los suministros de agua potable están contaminados.

En México, como en otros países, las principales fuentes de contaminación del agua se han agrupado, de acuerdo a su procedencia, en tres factores.

- El social, correspondiente a las descargas de residuos de origen doméstico y público que contribuyen mayoritariamente a las aguas municipales.
- El agropecuario, representado por los efluentes de instalaciones dedicadas a la crianza y engorda de ganado, así como por las aguas de retorno de los campos agrícolas.
- El industrial, derivado de las descargas originadas por las actividades correspondientes a la extracción y transformación de recursos naturales de bienes de consumo y satisfactores para la población.

Uno de los problemas que presenta el agua contaminada es provocado por los microorganismos. No todos los núcleos urbanos e industriales tienen una debida segregación de drenajes, lo que ocasiona que haya una proliferación exacerbada de microorganismos que pueden estar presentes en las aguas residuales, tanto de las diferentes operaciones unitarias de la industria como de las aguas municipales y agrícolas.

Un ejemplo clásico es el de la industria alimentaria, donde la mezcla de aguas sanitarias provenientes de baños de empleados y obreros con las del procesamiento de alimentos que tienen residuos “nutritivos” para los microorganismos patógenos que pudieran venir de algún trabajador enfermo, hacen que estos se produzcan exorbitadamente empeorando la calidad de esas aguas residuales y haciendo más costoso y difícil su tratamiento.

El proyecto del que forma parte este trabajo plantea la evaluación de un sistema de tratamiento de aguas residuales de tipo no convencional, conocido con el nombre de humedales artificiales.

Esta investigación está enfocada al estudio de la eliminación de microorganismos patógenos que podrían estar presentes en las aguas residuales, para usarlos como indicadores de la calidad del agua tratada y de la eficiencia de este sistema de depuración.

1.2 Justificación

El proyecto plantea la evaluación del sistema de humedales artificiales como una opción para la eliminación de microorganismos patógenos presentes en aguas residuales.

1.3 Hipótesis

Debido a que los humedales artificiales son sistemas diseñados para tratar aguas residuales, el agua tratada por este sistema deberá tener una disminución de la carga microbiana e, inclusive, la eliminación de algunos microorganismos patógenos.

1.4 Objetivos

Los objetivos de esta investigación son los siguientes:

General:

Realizar un seguimiento analítico microbiológico de dos sistemas de humedales artificiales, uno de flujo vertical y otro de flujo horizontal para verificar su eficiencia de remoción de microorganismos patógenos.

Particulares:

- Cuantificar los coliformes totales y fecales, como microorganismos indicadores presentes en aguas residuales, antes y después del tratamiento con humedales artificiales.
- Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp* en aguas residuales, antes y después del tratamiento y, en caso de estar presentes, cuantificarlas, usando medios de cultivo selectivos e identificación bioquímica.
- Cuantificar la presencia de huevos de helminto en aguas residuales, antes y después del tratamiento, como indicadores de contaminación parasitaria.

Capítulo II

Antecedentes

2.1 El agua

El agua es indispensable para la vida, no sólo por ser disolvente para innumerables sustancias, sino también por las muchas reacciones químicas en que participa, de las cuales las más importantes son: las hidrólisis de los carbohidratos, grasas y proteínas; paso esencial en la digestión y asimilación de los alimentos.

Para el ser humano en particular, la disponibilidad de agua es un factor que determina su buen desarrollo. Como puede verse a lo largo de la historia, civilizaciones completas han desaparecido o han florecido en función de su disponibilidad de agua. Hoy en día, aunque el desarrollo industrial tecnológico permite disponer abundantemente de agua de buena calidad, el crecimiento poblacional agota este recurso y lo encarece en todos los niveles de vida.

2.2 Contaminación del agua

La contaminación, un proceso que altera o modifica de manera perjudicial su calidad, la hace inadecuada para muchos de sus usos y aplicaciones. Estos contaminantes y los posibles efectos potenciales que causan mayor preocupación se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales contaminantes y sus efectos potenciales
(<http://www.geocities.com/jalarab>)

CONTAMINANTE	EFEECTO POTENCIAL
Patógenos Salud y ambiente	En el suministro de agua para cultivos Acumulación en el terreno y contaminación de la vida silvestre
Metales pesados Salud y ambiente	Suministro de agua a cultivos y animales en la cadena alimenticia humana A largo plazo, daños en el terreno y es tóxico para plantas y animales
Elementos traza orgánicos Salud y ambiente	Suministro de agua para plantas y animales en la cadena alimenticia Acumulación en el terreno

Los contaminantes de interés sanitario presentes en un agua residual pueden clasificarse de forma general en agentes biológicos y agentes químicos. El peligro principal del agua residual es, a corto plazo, el aumento de exposición de la población a los organismos patógenos y, a largo plazo, la acumulación de determinados elementos o compuestos en plantas y productos de consumo que pueden afectar al hombre o a los animales. El peligro sanitario está relacionado con el grado de contacto del agua residual depurada con las personas, el tipo y la calidad del agua depurada, así como la fiabilidad de los procesos. Las infecciones transmitidas por las aguas contaminadas microbiológicamente se producen por bacterias, virus y parásitos, los cuales son introducidos al agua a través de las heces fecales y otros fluidos corporales de animales o individuos contaminados (<http://tierra.rederis.es>).

2.3 Procesos de tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de las aguas residuales para fines de reutilización tiene como enfoque principal la reducción considerable de los microorganismos patógenos,

sean de origen bacteriano, viral, de protozoos o helmintos. Los contaminantes del agua residual se pueden eliminar por medios físicos, químicos y biológicos (Durán de Bazúa, 1994).

Según el medio de eliminación de los contaminantes, los procesos de tratamiento de aguas residuales se dividen en:

Procesos físicos: Son los métodos de tratamiento en los que predominan los fenómenos físicos (aplicación de fuerzas gravitatorias, centrifugas, retención física, etc.). En este grupo se pueden incluir: desbaste de sólidos, desengrasado, desarenado, sedimentación, flotación, etc.

Procesos químicos: Son los métodos de tratamiento en los que la eliminación de contaminantes es provocada por la adición de productos químicos o por otras reacciones químicas. Entre estos destacan: floculación y coagulación, neutralización, oxidación, reducción, intercambio iónico, absorción, etc. También los procesos de desinfección son químicos.

Procesos biológicos: Son los métodos de tratamiento en los cuales se consigue la eliminación de contaminantes por medio de la actividad biológica. El tratamiento biológico se usa esencialmente para metabolizar y convertir en nuevos organismos a las sustancias orgánicas biodegradables (coloidales o disueltas) presentes en el agua residual. Entre ellos se pueden citar: fangos o lodos activos, lechos bacterianos, lechos de turba, lagunaje, biodiscos, sistemas de aplicación al suelo, etc.

Según la fase de depuración, los sistemas de tratamiento de aguas residuales se clasifican en función de los rendimientos alcanzados en el proceso de depuración o según la fase de depuración en la que se sitúan.

Esta clasificación es quizás la más utilizada, aunque como en el caso anterior, no siempre es posible encuadrar un tratamiento dentro de una fase concreta.

Tratamiento primario: No se considera un tratamiento propiamente dicho, pero su utilidad al inicio de las instalaciones de depuración, está enfocada a eliminar elementos presentes en estas aguas que, de entrar en el proceso, podrían comprometer gravemente su funcionamiento; generalmente está asociado con procesos físicos y químicos.

Tratamiento secundario: Suele ser de naturaleza biológica, incorporándose, normalmente, a la línea de tratamiento de una planta depuradora, después del tratamiento primario. Pueden citarse los sistemas aerobios y anaerobios, con reactores de tipo reactor “perfectamente” mezclado o de tipo “pistón”. Se incluyen procesos de nitrificación-desnitrificación, procesos de eliminación de fósforo, filtros verdes y sistemas de aplicación al suelo en general.

Tratamiento terciario: De naturaleza biológica o fisico-química, reúne un conjunto de instalaciones de tratamiento que, normalmente, se sitúan después del tratamiento secundario, para que su costo sea menor. Incluyen la nanofiltración y ultrafiltración, ozonización, radiación ultravioleta, etc.

2.4 Recuperación o reutilización de las aguas residuales

La recuperación es el tratamiento o proceso que se aplica a las aguas residuales para poder ser reutilizadas con fines beneficiosos. En las últimas décadas, el interés por el aprovechamiento de las aguas residuales urbanas que han recibido tratamientos avanzados de depuración ha ido en aumento. La convicción de que estas aguas deben ser aprovechadas y no desperdiciadas, junto con la escasez creciente de agua y los problemas de protección ambiental, crean un entorno realista para considerar la reutilización de las aguas residuales en muchas áreas del mundo que se enfrentan a la escasez del agua. Las aguas residuales tratadas desempeñan una importante función como sustituto del agua de abastecimiento empleada para el riego en la agricultura, que es casi de un 80% en todo el mundo (<http://www.ecoportal.net/temas/agua.htm>).

Sin embargo, algunos compuestos presentes en el agua residual doméstica y que se pueden considerar como contaminantes (especialmente compuestos de nitrógeno, fósforo y potasio), sirven como nutrientes cuando el agua se vierte al suelo o a fuentes de agua. De esta forma, el vertimiento de aguas residuales, sin tratar o parcialmente tratadas, al ambiente puede crear problemas de contaminación del agua subterránea y superficial (<http://tierra.rederis.es>).

La reutilización de aguas residuales exige la adopción de medidas de protección de la salud pública. Debido a esto, muchos países han adoptado normas

microbiológicas muy estrictas para las aguas residuales regeneradas, basándose exclusivamente en criterios indicadores de la calidad microbiológica.

2.5 Humedales artificiales

En la búsqueda de procesos de tratamiento que permitan solucionar el problema del agua contaminada y que sean accesibles a todo tipo de comunidades en el mundo, para lograr así que la disponibilidad del agua se realice de manera equitativa y se mantengan en un equilibrio, se pensó en el sistema conocido como humedales artificiales (Durán de Bazúa y col., 1998). Los humedales artificiales (HA) son sistemas depuradores de aguas residuales y son, sin lugar a dudas, una alternativa viable para el tratamiento del agua residual puesto que tienen bajos costos de construcción, operación y mantenimiento, tienen un periodo de vida útil relativamente largo (25 años) y no sufren fácilmente desequilibrios por cambios en la concentración de contaminantes y de flujo de agua (Fenoglio-Limón, 2000, 2003; Rodríguez-Cruz y Varela-Montellano, 2003; Soto-Esquivel, 1997, 2003).

Los humedales artificiales son sistemas de tratamiento biológico para aguas residuales y se utilizan principalmente para la depuración de aguas que contienen contaminantes de tipo doméstico, aunque también pueden ser utilizados para la depuración de aguas residuales que contienen detergentes, metales pesados e incluso hidrocarburos. El funcionamiento de estos sistemas se basa en tres constituyentes principales (Fig. 1): 1) La gran variedad de microorganismos que se reproducen dentro del sistema, 2) Las plantas

vasculares que acondicionan un hábitat propicio para la proliferación de los microorganismos y 3) El lecho, que funciona como material de soporte para los microorganismos y las plantas vasculares, además de servir como material filtrante para algunos sólidos presentes en el agua residual por tratar. A través de la interacción de estos tres factores se logra la remoción de los contaminantes (Fenoglio-Limón, 2000).

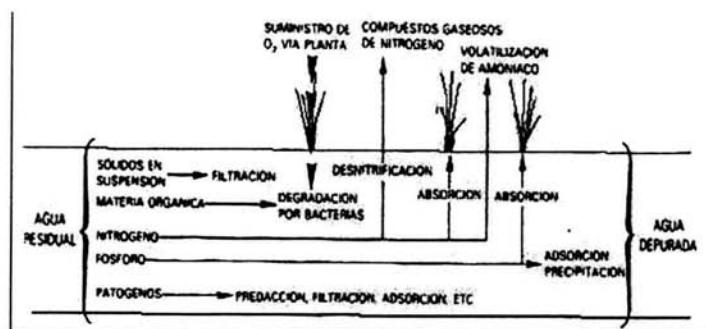


Fig 1. Sección transversal de un sistema de humedales artificiales (<http://www.geocities.com/jalarab>)

Los humedales construidos o artificiales consisten en el diseño correcto de un depósito que contiene agua, un sustrato para las plantas (que no es normalmente suelo, sino un soporte inerte para que los organismos deban tomar sus nutrientes del agua residual que es alimentada a ellos) y plantas acuáticas, generalmente del tipo conocido como emergentes. Estos componentes pueden manipularse construyendo un humedal artificial específico. A lo largo de varias décadas, los humedales artificiales (HA) se han ido modificando para lograr que las características de sus principales componentes interactúen de manera adecuada para aumentar su eficiencia de tratamiento.

2.5.1 Clasificación de humedales artificiales

Pueden destacarse tres grupos principales de sistemas de humedales, que se clasifican de acuerdo con la forma de vida de las plantas dominantes del humedal.

1. Sistema de libre flotación
2. Sistema subemergente
3. Sistema emergente

El sistema emergente se divide en dos grupos: de flujo superficial y de flujo subterráneo o subsuperficial, siendo éste el tipo de humedal seleccionado para esta investigación (Fig. 2). En estos, las plantas se encuentran soportadas en materiales inertes, como grava, arena, etc., y, a diferencia de los sistemas subemergentes, las plantas sobresalen del nivel del agua. Los humedales de flujo subterráneo se encuentran clasificados en dos grupos: De flujo vertical y de flujo horizontal (Juárez-Méndez, 2002).

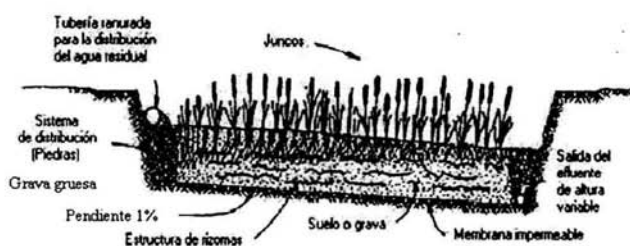


Fig 2. Corte transversal de un humedal de flujo subsuperficial horizontal (<http://www.geocities.com/jalarab>)

Los componentes de un humedal artificial son el agua residual que entra para ser depurada, el sustrato, las plantas y los microorganismos que proliferan sobre sus raíces. A continuación se describen brevemente.

2.5.2 Componentes de un humedal artificial

2.5.2.1 Sustrato o medio de soporte inerte

Los sustratos o soportes inertes en los humedales artificiales incluyen suelo, arena, grava, roca y materiales orgánicos como la “composta” (residuos sometidos a tratamientos bioquímicos). Los sedimentos y vegetación se acumulan en el humedal debido a la baja velocidad hidráulica del agua y a la alta productividad típica de estos sistemas. El sustrato, los sedimentos y los restos de vegetación son importantes por varias razones:

1. Soportan a muchos de los organismos vivientes en el humedal.
2. La permeabilidad del sustrato promueve el movimiento del agua a través del humedal.
3. Muchas transformaciones químicas y biológicas (sobre todo microbianas) tienen lugar sobre o dentro del sustrato.
4. El sustrato proporciona almacenamiento para muchos contaminantes.
5. La acumulación de restos de vegetación aumenta la cantidad de materia orgánica en el humedal. La materia orgánica da lugar al intercambio de materia, fijación de microorganismos y es una fuente de carbono, que es la fuente de energía para algunas de las más importantes reacciones biológicas en el humedal.

Las características físicas y químicas del suelo y otros sustratos se alteran cuando se inundan. En un sustrato saturado, el agua reemplaza los gases

atmosféricos en los poros y el metabolismo microbiano consume el oxígeno disponible y aunque se presenta por difusión, puede darse lugar a la formación de un sustrato anóxico, lo cual será importante para la remoción de contaminantes como el nitrógeno y metales.

2.5.2.2 El flujo del agua residual en el humedal

La hidrología de un humedal construido o artificial no es muy diferente que la de otras aguas superficiales y cercanas a superficie, pero difiere en aspectos importantes:

1. Pequeños cambios en la hidrología pueden tener efectos importantes en un humedal y en la efectividad del tratamiento.
2. Debido al área superficial del sistema y su relativamente poca profundidad, el sistema actúa recíproca y fuertemente con la atmósfera a través de la lluvia y la evapotranspiración (pérdida combinada de agua por evaporación de la superficie de agua y pérdida a través de la transpiración de las plantas).
3. La densidad de la vegetación en un humedal afecta fuertemente su hidrología, primero, obstruyendo caminos del flujo sinuoso el movimiento del agua a través de la red de tallos, hojas raíces y rizomas y, segundo, bloqueando la exposición al viento y al sol.

2.5.2.3 Vegetación en el humedal

El mayor beneficio de las plantas es la transferencia de oxígeno a la zona de la raíz. Su presencia física en el sistema permite la penetración a la tierra o medio de apoyo y transporta el oxígeno de manera más profunda, de lo que llegaría

naturalmente a través de la sola difusión. Lo más importante en los humedales es que las porciones sumergidas de las hojas y tallos se degradan y se convierten en lo que se llama restos de vegetación, que sirven como sustrato para el crecimiento de la película microbiana fija que es la responsable de gran parte del tratamiento que ocurre (Fig. 3).

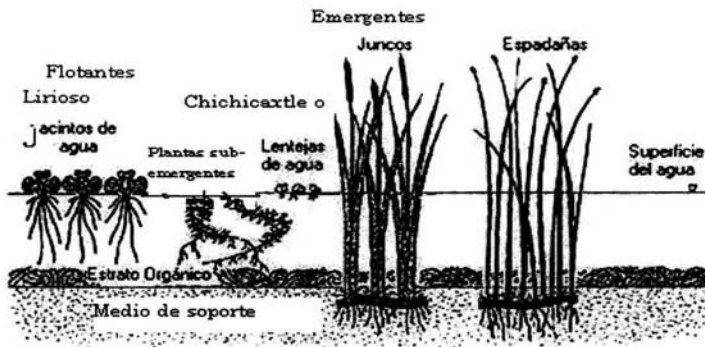


Fig. 3. Plantas acuáticas comunes (<http://www.geocities.com/jalarab>)

Las plantas emergentes contribuyen al tratamiento del agua residual y escorrentía de varias maneras:

- Estabilizan el sustrato y limitan la canalización del flujo.
- Dan lugar a velocidades de agua bajas y permiten que los materiales suspendidos se depositen.
- Toman el carbono, nutrientes y elementos traza y los incorporan a los tejidos de la planta.
- Transfieren gases entre la atmósfera y los sedimentos.
- El suministro de oxígeno, desde las estructuras sub-superficiales de las plantas, oxigena otros espacios dentro del sustrato.

6. El tallo y los sistemas de la raíz dan lugar a sitios para la fijación de microorganismos.
7. Cuando se mueren y se deterioran dan lugar a restos de vegetación.

Las plantas emergentes que frecuentemente se encuentran en la mayoría de los humedales para aguas residuales incluyen espadañas, carrizos y juncos (Fig.

4). La Tabla 2 muestra información al respecto.

Tabla 2. Especies de plantas emergentes más utilizadas en la depuración de aguas residuales (<http://www.geocities.com/jalarab>)

FAMILIA	NOMBRE LATINO	NOMBRE COMÚN
Ciperáceas	Carex sp. Eleocharis sp. Scirpus lacustris L. (*)	Junco de laguna
Gramíneas	Glyceria fluitans (L.) R. Br Phragmites australis (*)	Hierba del maná Carrizo
Iridáceas	Iris pseudacorus L.	Lirio amarillo, espadaña fina
Juncáceas	Juncus sp	Juncos
Tifáceas	Typha sp (*)	Eneas, aneas, espadañas, tules

(*) Espacies más utilizadas entre otras en los sistemas instalados en todo el mundo

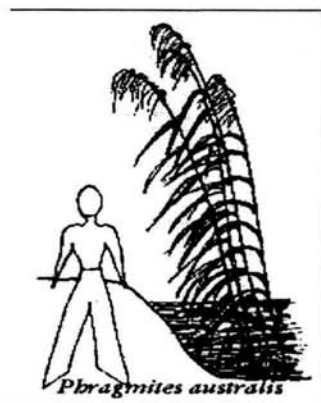


Fig. 4. Plantas de tipo carrizos (*Phragmites australis*) presentes en los humedales artificiales (<http://www.geocities.com/jalarab>)

2.5.2.4 Actividad microbiana en el humedal

Una característica fundamental de los humedales es que sus funciones son principalmente reguladas por los microorganismos y su metabolismo. Los microorganismos incluyen bacterias, levaduras, hongos y protozoarios. La biomasa microbiana consume gran parte del carbono y muchos nutrientes que vienen como contaminantes en el agua residual en tratamiento.

La actividad microbiana

1. Transforma un gran número de sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas o insolubles.
2. Altera las condiciones de potencial redox del sustrato y así afecta la capacidad de proceso del humedal.
3. Está involucrada en el reciclaje de nutrientes.

Algunas transformaciones microbianas son aerobias mientras que otras son anaerobias. Muchas especies bacterianas son facultativas, es decir son capaces de funcionar bajo condiciones aerobias y anaerobias en respuesta a los cambios en las condiciones medioambientales.

La comunidad microbiana de un humedal artificial o construido puede ser afectada por sustancias tóxicas, como plaguicidas y metales pesados y debe tenerse cuidado para prevenir que tales sustancias se introduzcan en las cadenas tróficas en concentraciones perjudiciales.

2.6 El papel de los microorganismos

Los microorganismos son la base para el funcionamiento de los humedales, pues de ellos depende la remoción de materia orgánica presente en el agua. Los compuestos que generalmente pueden ser biotransformados por los microorganismos son compuestos nitrogenados, fosforados y compuestos de carbono. Algunos de estos microorganismos funcionan como predadores de otros microorganismos no deseados, así que su actividad depurativa no se limita a la eliminación de compuestos únicamente, sino que también tienen la capacidad de desinfección del agua (Fenoglio-Limón, 2000).

Los humedales son, en general, capaces de reducir cantidades significativas de microorganismos patógenos, así como las de organismos indicadores como por ejemplo los coliformes fecales. Generalmente, se requieren largos tiempos de residencia hidráulica para lograr reducciones deseadas, aunque naturalmente depende de la carga inicial de microorganismos que contenga el agua al ingresar al humedal.

Cuando se presentan eventos intensos de lluvia, los picos de caudal influyen negativamente en la eficiencia de remoción de los microorganismos. Como resultado, la mayoría de los sistemas utilizan alguna forma de desinfección final. Entre los microorganismos patógenos que están presentes en el agua residual tanto de tipo doméstico como mixto, que son los que alimentan a los humedales, sean de flujo vertical u horizontal, respectivamente, la legislación

usa al género coliformes como microorganismos indicadores de contaminación bacteriana. Las *Salmonella* son bacterias patógenas, por lo que también serán estudiadas. Los huevos de helminto son usados también por la legislación ambiental como indicadores de contaminación parasitaria. En el presente trabajo se estudiaron estos tres tipos de organismos.

2.7 Clasificación de los microorganismos según su grado de riesgo para la salud

No todos los microorganismos son considerados por igual cuando se mide el potencial de enfermedad. El potencial para provocar enfermedades o el tipo de factor de riesgo que un microorganismo representa, abarca desde severo hasta cero, con variaciones entre los extremos. La Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (ICMSF, por sus siglas en inglés) ha dividido arbitrariamente a dichos microorganismos en varias categorías para contar con un modelo de valoración del riesgo (ICMSF, 1983).

Los microorganismos pueden presentar dos tipos de riesgos para la salud:

1. Factor de riesgo no directo a la salud, y
2. Factor de riesgo directo a la salud.

El número de microorganismos necesarios para causar infección varía con la cepa específica del microorganismo y la susceptibilidad del huésped. Un niño puede ser más susceptible y, por lo tanto, el número de microorganismos necesarios será menor que el que un adulto necesita.

2.7.1 Microorganismos indicadores y pruebas relacionadas

El principal objetivo de los sistemas de desinfección es la eliminación de microorganismos patógenos. La alternativa para realizar un control fiable, económico y rápido de la calidad microbiológica del agua es el uso de indicadores de contaminación fecal. Los indicadores de organismos no representan necesariamente un factor de riesgo directo a la salud. Sin embargo, sirven para indicar si existe el potencial para que un factor de riesgo ocurra. Generalmente, estos organismos o pruebas relacionadas pueden indicar:

1. La posible presencia de un patógeno o toxina,
2. La posibilidad de que ocurrieron malas prácticas durante el proceso.

Los microorganismos indicadores se han usado para indicar la presencia de contaminación fecal o falta de higiene. Las bacterias coliformes y la *E. coli*, son indicadores comúnmente usados para este propósito. El grupo coliforme comprende todos los bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que “fermentan” la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$. La determinación de coliformes fecales se fundamenta en la capacidad “fermentativa” de la lactosa con producción de gas.

2.7.2 Microorganismos patógenos presentes en aguas residuales

Entre los microorganismos de riesgo para la salud, cabe señalar que los programas actuales de prevención de enfermedades se han concentrado en tres

grupos de patógenos potencialmente presentes en aguas residuales: bacterias, virus y parásitos. Dentro de estos últimos, los helmintos tienen gran importancia en el tratamiento y reutilización de aguas residuales.

Durante las últimas décadas, el número de microorganismos patógenos presentes en el agua residual ha disminuido considerablemente a causa de las mejoras en el saneamiento y por la utilización de antibióticos. No obstante, durante un brote epidémico aumenta apreciablemente el número de patógenos presentes en el agua residual. En la Tabla 3 se mencionan los principales agentes infecciosos que pueden encontrarse en un agua residual de tipo doméstico.

Tabla 3. Principales organismos patógenos que pueden encontrarse en el agua residual doméstica y enfermedades que producen (Heinke, 1996)

ORGANISMO PATÓGENO	ENFERMEDAD
Helmintos	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis
<i>Ancylostoma duodenale</i>	Anquilostomiasis
<i>Necator americanus</i>	Necatoriasis
<i>Ancylostoma spp</i>	Larva migrante cutánea
<i>Trichuris trichiura</i>	Trichuriasis
<i>Taenia spp</i>	Teniasis
<i>Enterobius vermicularis</i>	Enterobiasis
<i>Echinococcus granulosus</i>	Hidatidosis
Bacterias	
<i>Shigella</i> (4 especies)	Shigelosis
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea
<i>Salmonella</i> (unas 1700 esp.)	Salmonelosis
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	Gastroenteritis

La supervivencia de las bacterias en el agua depende mucho de la presencia de otros microorganismos que tengan efectos de predación o competencia. A menudo, las bacterias sobreviven más en aguas limpias que en aguas sucias.

Son raras las supervivencias de bacterias de más de 50 días, mientras que a 20-30°C el tiempo máximo es de 20 días.

Los factores que afectan al comportamiento de los microorganismos son:

1. Humedad relativa, temperatura, cantidad de sólidos: aumentan la supervivencia.
2. Radiaciones solares: disminuyen la supervivencia.
3. Alta velocidad del viento: aumenta el movimiento.
4. Barreras vegetales: disminuyen el movimiento.

Como se mostró en la Tabla 3 puede existir una gama de microorganismos patógenos en el agua residual. Para esta investigación se enfocará a una especie de bacterias y a una de parásitos, debido a que son estos los que se presentan con mayor frecuencia, especialmente en México.

2.7.2.1 *Salmonella*

Salmonella es una bacteria no demasiado resistente a las condiciones ambientales, tales como luz solar, desecación, concentraciones elevadas de sal o calor. Prolifera en condiciones aerobias y anaerobias. Su temperatura óptima es de 35-37°C. El valor de pH donde prolifera mejor es de 6.5 a 7.5; un valor de pH menor de 4.6 evita su desarrollo. Sin embargo, es la responsable de casi la

mitad de los casos de infecciones de origen alimentario que se diagnostican en los hospitales (ICMSF, 1983).

El origen del problema radica en que este organismo se adapta muy bien a los animales y las personas. Puede colonizar el intestino y llegar a un equilibrio con otros microorganismos intestinales donde sobrevivirá y se multiplicará en los restos de alimentos que van a ir pasando por el tubo digestivo. Si se produce la infección, aparecen una serie de síntomas indicativos del proceso. En primer lugar, durante el lapso comprendido entre 24 y 48 horas, la persona afectada sufre vómitos, diarrea y fiebre elevada que puede superar los 40°C. La diarrea presenta un color verde esmeralda debido a que no se metabolizan los ácidos biliares.

Cuando *Salmonella* llega a los alimentos, puede multiplicarse a una velocidad muy elevada en cualquier alimento fresco. Su número puede duplicarse cada 15 o 20 minutos si la temperatura es “elevada”, es decir superior a 20°C. Es por ello que si los alimentos no se refrigeran rápidamente (los frigoríficos domésticos suelen estar a temperaturas inferiores a 8°C), el microorganismo se multiplicará, con el consiguiente riesgo para los consumidores. La materia fecal de los portadores tiene una elevada concentración del microorganismo patógeno. Por ello, el mejor sistema de prevención es acentuar las medidas de higiene personal. Lavarse las manos de forma intensa con abundante agua y jabón tras defecar u orinar, así como antes y después de manipular alimentos frescos.

2.7.3 Parásitos

2.7.3.1 Huevos de helminto

Las aguas con alto contenido de patógenos y, en especial, contaminadas con parásitos pueden originar enfermedades graves como la helmintiasis provocada por helmintos y que representa un serio problema de salud pública. Una cuarta parte de la población mundial ha estado o está infectada con *Ascaris lumbricoides* u otro tipo de helmintos. En conjunto, las helmintiasis intestinales son causas de muerte de alrededor de 100 000 individuos por año y producen cuadros clínicos como anemia, obstrucción intestinal, prolapso rectal y diarrea en el resto de los enfermos (INDRE, 1993). Una característica importante de la helmintiasis es que afectan especialmente a las poblaciones menores de 15 años (Kumate y col., 1990).

Características: Los helmintos o gusanos son animales multicelulares, en los cuales las células se hallan diferenciadas formando órganos con funciones especiales. La unión de los gametos termina con la formación de un huevo que contiene el cigoto y el vitelo (material nutritivo necesario para el desarrollo embrionario hasta el estado de larva). Las dimensiones varían de cerca de un milímetro a varios metros de longitud (Jiménez y col., 1999).

Transmisión: Estas enfermedades parasitarias dependen de 3 factores:

1. Fuente de infección
2. Modo de transmisión
3. Presencia del huésped susceptible

Los parásitos llegan a los huéspedes susceptibles a partir de las fuentes primarias por caminos muy variables. Algunos sólo requieren contacto directo; otros con ciclos vitales más complejos, deben pasar por fases de desarrollo bien sea como formas de vida libre o en huéspedes intermediarios, antes de resultar infectados. La transmisión se lleva a cabo por contacto directo o indirecto; alimentos, agua, tierra, transmisores vertebrados y artrópodos y, muy rara vez, de madre a hijo. Además de la natural capacidad de adaptación del parásito hacia el huésped, la facilidad de transmisión depende también de las costumbres de la comunidad así como la resistencia del huésped. Después de penetrar en él, el parásito emigra hasta la región del organismo que constituye su residencia permanente, pues son específicos de determinados tejidos, lo cual es una de las características más notables de las infecciones parásitas.

Tratamiento: Incluye medidas médicas, quirúrgicas, buena nutrición y quimioterapia específica. Ninguno de los parasiticidas eficaces es enteramente inocuo para el hombre. El control de enfermedades parasitarias propone lo siguiente:

1. Reducción de fuentes de infección en el hombre
2. Educación sobre la profilaxis personal para impedir la diseminación de la infección
3. Control sanitario del agua, alimento, condiciones de vida, trabajo y desechos
4. Control de huéspedes reservorios y los vectores
5. Instalación de barreras biológicas a la transmisión de los parásitos.

Capítulo III

Metodología

En la Figura 7 se presenta un diagrama de bloques que explica la metodología seguida para determinar coliformes totales y fecales, posible presencia de *Salmonella* así como la cuantificación de huevos de helminto, en las aguas residuales y en las aguas tratadas de cada uno de los dos sistemas de humedales artificiales (HAFV y HAFH) a escala prototipo en estudio.

3.1 Sistemas en estudio

3.1.1 Humedal artificial de flujo vertical

El humedal artificial de flujo vertical (HAFV) se alimenta con agua residual de tipo doméstico, que provienen de las instalaciones administrativas de los Talleres del Departamento de Conservación, que forman parte de las oficinas de la Dirección General de Obras y Servicios Generales de la UNAM, en la Ciudad Universitaria de la UNAM. Se suministra al sistema un volumen de $0.4\text{m}^3/\text{día}$ de aguas negras y se desea que salgan tratadas con calidad para riego de las áreas de composta aledañas al sitio donde se encuentra. En la Figura 5 se muestra una fotografía del humedal artificial de flujo vertical.

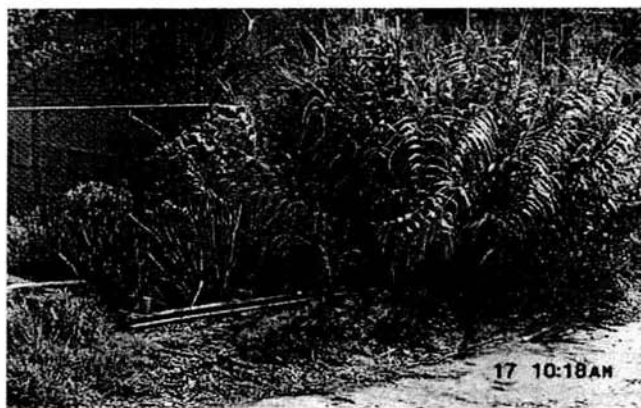


Fig. 5. Humedal artificial de flujo vertical (Zona Cultural de Ciudad Universitaria)

Este humedal tiene plantas del tipo carrizos, tules y zacaltules. La descripción detallada del sistema se encuentra en tres tesis de licenciatura, dos de la Facultad de Química y una de la FES Zaragoza de la UNAM (Fenoglio-Limón, 2000; Esponda, 2001; Rodríguez-Cruz y Varela-Montellano, 2003). Para el análisis microbiológico de este humedal, la muestra del agua de entrada, fue tomada a la salida del sedimentador primario (que es la entrada del humedal).

3.1.2 Humedal artificial de flujo horizontal

El humedal artificial de flujo horizontal (HAFH) se alimenta con agua residual de tipo mixto, que proviene del río Magdalena, el cual nace en la Delegación de Magdalena Contreras y atraviesa el suroeste de la ciudad pasando por los Viveros de Coyoacán. El sistema recibe un flujo de $5.37\text{m}^3/\text{día}$ de aguas residuales. En la Figura 6 se muestra una fotografía del humedal artificial de flujo horizontal.

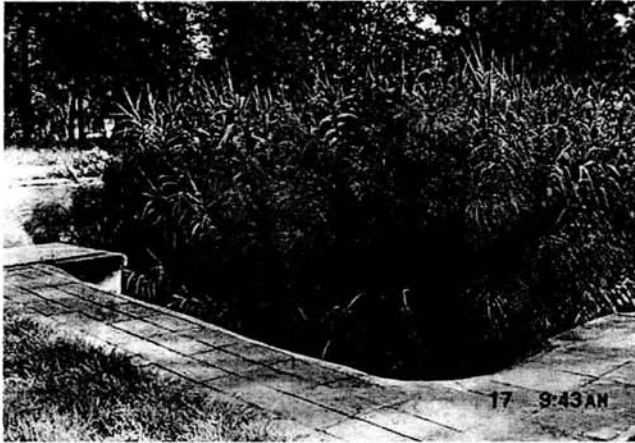


Fig. 6. Humedal artificial de flujo horizontal (Viveros de Coyoacán)

Este humedal tiene plantas del tipo carrizos, juncos y papiros. La descripción detallada del sistema se encuentra en dos tesis de licenciatura de la Facultad de Química de la UNAM (Jiménez, 2000; Millán, 2000) y de la FES-Z (Ramírez-Carrillo, 1998). Para el análisis microbiológico de los coliformes y *Salmonella*, la muestra del agua de entrada, se tomó a la salida del sedimentador primario y para la cuantificación de huevos de helminto, la muestra se tomó en el cauce del río Magdalena.

3.2 Muestreo

Se tomaron muestras de las corrientes de entrada y salida a cada uno de los dos humedales en estudio.

Se realizaron 8 pruebas para la determinación de coliformes fecales y totales, 6 para la identificación de *Salmonella* y 3 para la cuantificación de huevos de helminto, tanto del agua de entrada como de salida de cada uno de los

humedales. Las muestras fueron tomadas siguiendo la metodología de la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994.

3.2.1 Determinación de coliformes totales y fecales

El diagrama de flujo donde se muestra la metodología detallada en la determinación de coliformes totales y fecales se encuentra en el Anexo 3. Para la determinación de coliformes se prepararon para la prueba presuntiva; series de 5 (tubos de 16x150 mm con campana Durham) con 9mL de caldo lauril sulfato de sodio. Cada serie contenía una dilución diferente, de 10^{-1} a 10^{-7} para el agua residual (entrada) y de 10^{-1} a 10^{-3} para el agua tratada (salida). Se agitaron para su homogenización y se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. Los tubos que presentaban turbidez (proliferación microbiológica) y desplazamiento de la campana (producción de gas) se consideraban como positivos. Posteriormente, en la prueba confirmativa se prepararon tubos de 16x150 mm con campana Durham con 9mL de caldo bilis verde brillante para coliformes totales y caldo EC para coliformes fecales. Se transfirieron 3 asadas de cada tubo positivo obtenido durante la prueba presuntiva, se agitaron para su homogenización. Se incubaron a $44.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ por 48 horas para coliformes facales y a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas para coliformes totales. Los tubos que presentaban turbidez (proliferación microbiológica) y desplazamiento de la campana (producción de gas) se consideraban como positivos. Se reportan como número más probable NMP de coliformes/100 mL de agua.

3.2.2 Determinación de *Salmonella*

El diagrama de flujo donde se muestra la metodología detallada en la determinación de *Salmonella* se encuentra en el Anexo 3. Para esta prueba se hicieron diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-3} en agua peptonada al 1%, para el agua residual (entrada) en ambos humedales y para el agua tratada (salida) sólo se realizó la dilución de 10^{-1} . Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.1mL de cada una de las diluciones y se sembró por la técnica de extensión superficial en medios de cultivo sólidos selectivos (Agar *Salmonella* y *Shigella* SS, Agar Xilosa Lisina Desoxicolato XLD y Agar Mac Conkey), para su aislamiento. Así, podrían cuantificarse las colonias en un volumen determinado de muestra. Las placas se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Al término de este tiempo se observó el desarrollo colonial y las características en los medios sólidos selectivos ya mencionados (Tabla 4). De las colonias sospechosas, se registraron las características morfológicas tanto macroscópicas como microscópicas; en este último aspecto se realizó una tinción de Gram, observando la forma de la colonia, el color de la misma, el color del medio y la forma de las bacterias en el frotis, etc.

Tabla 4. Características de las colonias sospechosas de *Salmonella*

Medio selectivo	Color del medio antes de la inoculación	Características coloniales de <i>Salmonella</i>
Agar SS	Rosa claro	Translúcidas a veces opacas, algunas con centro negro
Agar XLD	Rojo brillante	Rosas, rojas o transparentes con o sin centro negro
Agar Mac Conkey	Púrpura claro	Rosas con halo transparente

3.2.2.1 Pruebas bioquímicas para *Salmonella*

Después de las observaciones micro y macroscópicas se realizaron las pruebas bioquímicas, las cuales fueron: KIA, LIA (Agar hierro lisina), Citrato de Simmons, SIM (Sulfuro-Indol-Motilidad), Urea, RMVP (Rojo de metilo Vogues Proskawer).

Las primeras pruebas que se realizaron fueron las de KIA y LIA, para las que se tomó una porción de la colonia sospechosa y se inoculó por picadura en los medios que contienen KIA. Posteriormente, se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. De la misma forma se procedió para la prueba de LIA. Para interpretar los resultados se empleó la Tabla A3 presentada en el Anexo 3.

Transcurridas las 24 horas de incubación se procedió a realizar las siguientes pruebas bioquímicas.

Agar citrato de Simmons

Con asa microbiológica estéril tomar crecimiento del tubo KIA o LIA e inocular por estría en el tubo con agar citrato de Simmons. Incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 96 horas. Interpretar resultados de acuerdo con la Tabla A3 presentada en el Anexo 3.

Medio SIM (Sulfuro-Indol-Motilidad)

Con asa microbiológica estéril tomar crecimiento del tubo KIA o LIA e inocular por punción vertical en el tubo con medio SIM. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Interpretar resultados de acuerdo con la Tabla A3 presentada en el Anexo 3.

Caldo RM-VP

Con asa microbiológica estéril tomar crecimiento del tubo KIA o LIA e inocular el tubo con caldo RM-VP. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas para realizar la prueba de VP y 96 horas para la prueba de RM. Para efectuar la prueba de Voges Proskauer (VP): Transferir 1 mL del cultivo de 48 horas de incubación, a otro tubo limpio y seco y adicionar 0.6 mL de reactivo de VP No. 1 (α -naftol), agitar nuevamente y agregar 0.2 mL del reactivo No. 2 de VP (hidróxido de potasio al 40%), agitar nuevamente y dejar reposar el tubo en forma inclinada, con objeto de que la reacción se lleve a cabo en forma aerobia. Para la prueba de rojo de metilo (RM), al cultivo de 96 horas de incubación se le adicionan 2 a 3 gotas de solución de rojo de metilo, se agita y se interpretan resultados inmediatamente. De ambas pruebas los resultados se pueden consultar de acuerdo con la tabla presentada en el Anexo 3.

Caldo Urea o Surraco

Con asa microbiológica estéril tomar crecimiento del tubo KIA o LIA e inocular el tubo con caldo urea. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Interpretar resultados de acuerdo con la tabla presentada en el Anexo 3.

Una vez transcurridos los tiempos de incubación respectivos para cada una de las pruebas bioquímicas, se observaron los resultados obtenidos y se procedió a la identificación bioquímica de *Salmonella*.

3.2.3 Determinación de huevos de helminto

El diagrama de flujo donde se muestra la metodología detallada en la determinación de huevos de helminto se encuentra en el Anexo A.3.3.

Para esta prueba en el caso del HAFV la muestra del agua residual se tomó a la salida del sedimentador primario, es decir, exactamente a la entrada del humedal en cuestión.

Para el caso del HAFH la muestra del agua residual se tomó directamente del cauce del río Magdalena, es decir, antes del sedimentador primario. Esto se debió a que no se podía muestrear justo antes del humedal (Rodríguez-Cruz y Varela-Montellano, 2003).

3.3 Análisis estadístico

Para una mejor interpretación de los resultados obtenidos durante las pruebas realizadas a las muestras de agua tanto residual como tratadas, se determinó para cada una el promedio así como su desviación estándar, y para hacer cada uno de los gráficos se determinó el logaritmo de los promedios obtenidos.

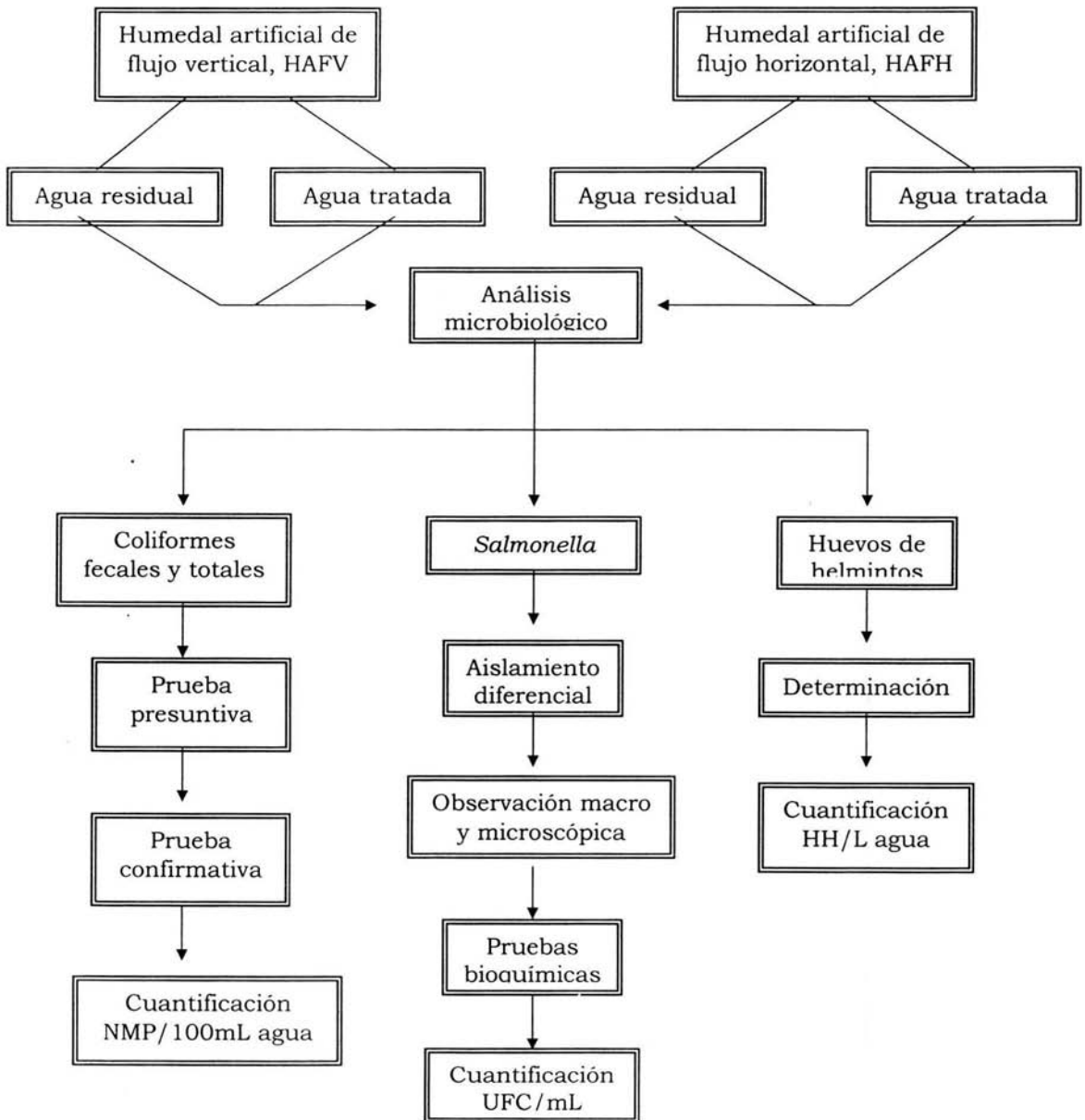


Figura 7. Diagrama de flujo general

Capítulo IV

Resultados y discusión

4.1 Coliformes fecales y totales

Las primeras pruebas que se les realizaron a las muestras, tanto del agua residual como de agua tratada, fueron las determinaciones de coliformes fecales y totales, se realizaron 8 pruebas para cada humedal. Las Tablas 5 y 6 muestran los resultados de las determinaciones de coliformes fecales y totales para el humedal de flujo vertical y en las Tablas 7 y 8 los resultados de las determinaciones de coliformes fecales y totales para el humedal de flujo horizontal. Se presenta también la media de las pruebas realizadas y su logaritmo, para una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

Tabla 5. Determinación de coliformes fecales en el humedal artificial de flujo vertical

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO VERTICAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) NMP/100 mL agua	Agua residual (salida) NMP/100 mL agua
7-11-oct-02	3.3×10^6	0.68×10^3
4-8-nov-02	5.6×10^6	1.1×10^3
2-6-dic-02	3.3×10^6	1.2×10^3
6-10-ene-03	1.8×10^6	0.2×10^3
3-7-mar-03	1.7×10^6	0.17×10^3
1-4-abr-03	2.7×10^6	0.17×10^3
2-6-jun-03	1.4×10^6	0.93×10^3
1-4-jul-03	2.4×10^6	0.4×10^3
Promedio	2.15×10^6	6.06×10^2
DE, desv. est.	9.58×10^5	4.3×10^2
log promedio	6.33 (=6)	2.9 (=3)

Tabla 6. Determinación de coliformes totales en el humedal artificial de flujo vertical

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO VERTICAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) NMP/100 mL agua	Agua residual (salida) NMP/100 mL agua
21-25-oct-02	2.6x10 ⁶	0.23x10 ³
11-15-nov-02	1.1x10 ⁶	0.49x10 ³
9-13-dic-02	7.0x10 ⁶	2.9x10 ³
13-17-ene-03	3.3x10 ⁶	1.1x10 ³
10-13-mar-03	2.2x10 ⁶	0.22x10 ³
7-11-abr-03	2.2x10 ⁶	0.21x10 ³
9-11-jun-03	4.5x10 ⁶	0.93x10 ³
7-11-jul-03	7.0x10 ⁶	0.68x10 ³
Promedio	3.74x10 ⁶	8.45x10 ²
DE, desv. est.	2.23x10 ⁶	8.26x10 ²
log promedio	6.57 (=7)	2.92 (=3)

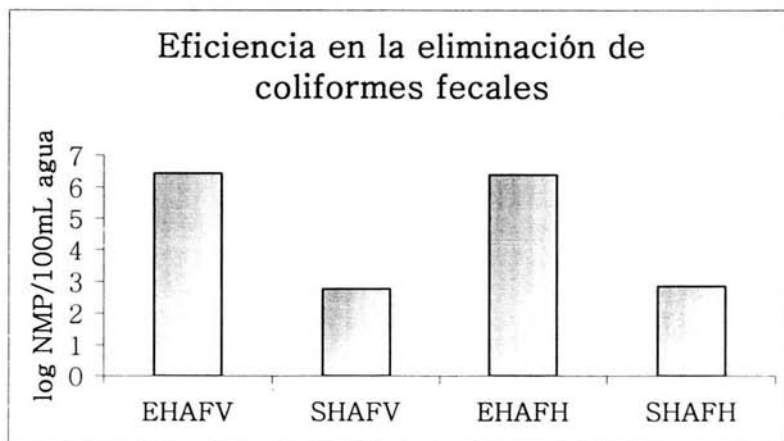
Tabla 7. Determinación de coliformes fecales en el humedal artificial de flujo horizontal

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO HORIZONTAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) NMP/100 mL agua	Agua residual (salida) NMP/100 mL agua
7-11-oct-02	4.7x10 ⁶	1.2x10 ³
4-8-nov-02	1.1x10 ⁶	0.68x10 ³
2-6-dic-02	2.2x10 ⁶	0.2x10 ³
6-10-ene-03	1.4x10 ⁶	0.61x10 ³
3-7-mar-03	2.2x10 ⁶	0.24x10 ³
1-4-abr-03	4.5x10 ⁶	0.92x10 ³
2-6-jun-03	2.2x10 ⁶	1.7x10 ³
1-4-jul-03	1.4x10 ⁶	0.2x10 ³
Promedio	2.46x10 ⁶	7.18x10 ²
DE, desv. est.	1.38x10 ⁶	5.36x10 ²
log promedio	6.39	2.85 (=3)

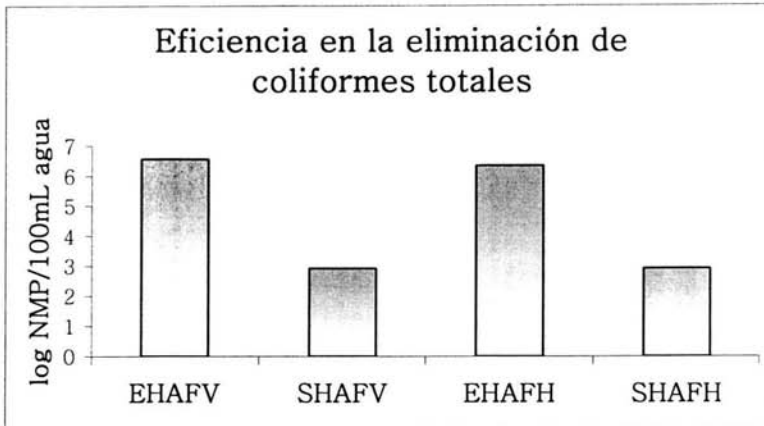
Tabla 8. Determinación de coliformes totales en el humedal artificial de flujo horizontal

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO HORIZONTAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) NMP/100 mL agua	Agua residual (salida) NMP/100 mL agua
21-25-oct-02	2.6×10^6	0.22×10^3
11-15-nov-02	0.92×10^6	0.78×10^3
9-13-dic-02	2.24×10^6	0.78×10^3
13-17-ene-03	2.6×10^6	1.4×10^3
10-13-mar-03	3.2×10^6	0.22×10^3
7-11-abr-03	4.7×10^6	0.68×10^3
9-11-jun-03	2.4×10^6	1.2×10^3
7-11-jul-03	2.2×10^6	1.4×10^3
Promedio	2.25×10^6	8.35×10^2
DE, desv. est.	5.78×10^5	4.71×10^2
log promedio	6.35	3.06 (=3)

A continuación en las Gráficas 1 y 2 se presentan la comparación en la eficiencia de remoción de coliformes fecales y totales para ambos humedales, así como los ciclos logarítmicos de los promedios para una mejor ejemplificación.



Gráfica 1. Resultados de los ciclos logarítmicos promedio de la determinación de coliformes fecales para ambos humedales (E= entrada; S= salida; HAFV= humedal artificial de flujo vertical; HAFH= humedal artificial de flujo horizontal)



Gráfica 2. Resultados de los ciclos logarítmicos promedio en la determinación de coliformes totales para ambos humedales (E= entrada; S= salida; HAFV= humedal artificial de flujo vertical; HAFH= humedal artificial de flujo horizontal)

Puede verse que la eliminación de coliformes, tanto totales como fecales, que se logra, es de cuatro ciclos logarítmicos. En microbiología, se sigue el criterio de evaluar los ciclos logarítmicos que se han logrado reducir por estos sistemas para así determinar su capacidad depurativa. Estos resultados se corroboran con estudios anteriores en los que se presenta que la máxima capacidad depurativa de este sistema es de cuatro ciclos logarítmicos.

Considerando la legislación mexicana, ésta indica que, para contacto directo de servicios al público, el límite es de 240 NMP/100mL y para contacto indirecto es de 1000 NMP/100mL. Esto implica que el agua tratada por estos sistemas de humedales sólo podrá ser de uso indirecto de servicios al público, como por ejemplo, en el sistema de riego de áreas verdes o especies arbóreas, pero no para riego de productos agrícolas.

4.2 *Salmonella*

Posteriormente, se procedió a la determinación de *Salmonella*. En las Tablas 9 y 10 se muestran los resultados del HAFV para la cuantificación de *Salmonella*, en el agua residual (entrada) y en el agua tratada (salida), respectivamente, con relación a cada uno de los medios de cultivo utilizados en su aislamiento. También se presenta la media de las pruebas realizadas y su logaritmo para una mejor interpretación (Gráfica 3).

En ambos humedales, las unidades formadoras de colonias (UFC) reportadas en dichas tablas para el agua residual, fueron contabilizadas en la dilución de 10^{-2} de cada medio de cultivo, debido a que en la dilución 10^{-1} las colonias que se presentan eran incontables (>200 UFC) y en la dilución 10^{-3} eran insuficientes (<20 UFC) para poder ser contabilizadas. Para el agua tratada el conteo se hizo en la dilución 10^{-1} .

Tabla 9. Determinación de *Salmonella* en el agua residual (entrada) del HAFV en tres medios de cultivo (Agar *Salmonella* y *Shigella*, SS; Agar Xilosa Lisina Deso xicolato, XLD y Agar Mac Conkey)

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO VERTICAL			
Agar	SS	XLD	Mac Conkey
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) UFC/mL		
18-22-nov-02	194x10 ³	195x10 ³	135x10 ³
16-20-dic-02	192x10 ³	193x10 ³	134x10 ³
17-21-mar-03	188x10 ³	183x10 ³	126x10 ³
14-17-abr-03	182x10 ³	180x10 ³	119x10 ³
16-20-jun-03	181x10 ³	181x10 ³	125x10 ³
14-17-abr-03	185x10 ³	184x10 ³	129x10 ³
Promedio	187x10 ³	186x10 ³	128x10 ³
DE, desv. est.	5.2x10 ³	6.38x10 ³	6x10 ³
log promedio	5.27	5.26	5.10

Tabla 10. Determinación de *Salmonella* en el agua tratada (salida) del HAFV en tres medios de cultivo (Agar *Salmonella* y *Shigella*, SS; Agar Xilosa Lisina Deso xicolato, XLD y Agar Mac Conkey)

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO VERTICAL			
Agar	SS	XLD	Mac Conkey
Fecha de muestreo	Agua residual (salida) UFC/mL		
18-22-nov-02	6x10 ²	2x10 ²	4x10 ²
16-20-dic-02	3x10 ²	<10	1x10 ²
17-21-mar-03	<10	<10	< 10
14-17-abr-03	<10	2x10 ²	< 10
16-20-jun-03	<10	3x10 ²	2x10 ²
14-17-abr-03	3x10 ²	< 10	< 10
Promedio	2x10 ²	1.16x10 ²	1.16x10 ²
DE, desv. est.	2.44x10 ²	1.32x10 ²	1x10 ²
log promedio	2.3	2.06	2.06

Nota: 10 es la sensibilidad mínima de detección del medio de cultivo, debido a que en esa prueba no se observó presencia de colonias microbianas

En las Tablas 11 y 12 se presentan los resultados de la cuantificación de *Salmonella* para el agua residual (entrada) y el agua tratada (salida), respectivamente, del humedal de flujo horizontal, así como los medios de cultivo de los cuales provienen.

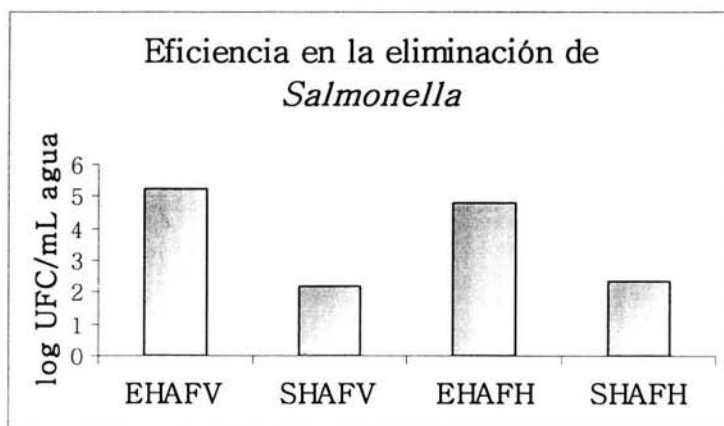
Tabla 11. Determinación de *Salmonella* en el agua residual (entrada) del HAFH en tres medios de cultivo (Agar *Salmonella* y *Shigella*, SS; Agar Xilosa Lisina Deso xicolato, XLD y Agar Mac Conkey)

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO HORIZONTAL			
Agar	SS	XLD	Mac Conkey
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) UFC/mL		
18-22-nov-02	81x10 ³	57x10 ³	43x10 ³
16-20-dic-02	79x10 ³	55x10 ³	42x10 ³
17-21-mar-03	86x10 ³	63x10 ³	49x10 ³
14-17-abr-03	82x10 ³	61x10 ³	44x10 ³
16-20-jun-03	88x10 ³	62x10 ³	50x10 ³
14-17-abr-03	84x10 ³	62x10 ³	44x10 ³
Promedio	83x10 ³	60x10 ³	45x10 ³
DE, desv. est.	3.32x10 ³	3.22x10 ³	3.32x10 ³
log promedio	4.91	4.77	4.65

Tabla 12. Determinación de *Salmonella* en el agua tratada (salida) del HAFH en tres medios de cultivo (Agar Salmonella y Shigella, SS; Agar Xilosa Lisina Desoxicolato, XLD y Agar Mac Conkey)

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO HORIZONTAL			
Agar	SS	XLD	Mac Conkey
Fecha de muestreo	Agua residual (salida) UFC/mL		
18-22-nov-02	3×10^2	< 10	< 10
16-20-dic-02	< 10	2×10^2	< 10
17-21-mar-03	5×10^2	< 10	2×10^2
14-17-abr-03	8×10^2	4×10^2	1×10^2
16-20-jun-03	< 10	2×10^2	3×10^2
14-17-abr-03	7×10^2	3×10^2	< 10
Promedio	3.83×10^2	1.83×10^2	1×10^2
DE, desv. est.	3.43×10^2	1.6×10^2	1.26×10^2
log promedio	2.58	2.26	1

Nota: 10 es la sensibilidad mínima de detección del medio de cultivo, debido a que en esa prueba no se observó presencia de colonias microbianas.



Gráfica 3. Eficiencia de ambos humedales en la determinación de *Salmonella* (E= entrada; S= salida; HAFV= humedal artificial de flujo vertical; HAFH= humedal artificial de flujo horizontal)

Resulta preocupante que el agua tratada contenga todavía cantidades importantes de lo que podría ser *Salmonella* (383 , 183 y 100 UFC/mL para SS, XLD y Mac Conkey, respectivamente) aún cuando en algunas pruebas se obtuvieron resultados satisfactorios, pues no se presentaban colonias, persiste

el problema latente para la salud pública, lo que haría recomendar un sistema de desinfección o cambios en las condiciones de operación de los sistemas.

En el caso del HAFV, el agua que lo alimenta presenta una carga microbiana muy alta, aproximadamente 167×10^3 , como la media de los tres medios de cultivo, mostrándose también que la mayor cantidad de UFC se presenta en el medio SS, el cual es un medio diferencial y selectivo idóneo para el aislamiento de bacterias del género *Salmonella* y *Shigella*.

La diferenciación de *Salmonella* de otros microorganismos se consigue a través de los cambios de color con indicadores de pH, presentes en los medios de cultivo, al responder a las degradaciones de lactosa o de sacarosa, dependiendo todo ello de la producción de H_2S (aunque no todas liberan H_2S) o de la descarboxilación de lisina. Normalmente, los medios de cultivo sólidos selectivos más utilizados son el verde brillante (VB), entérico Hoecten (HE) sulfito bismuto (SB), el *Salmonella-Shigella* (SS), Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) y Mac Conkey, siendo estos últimos tres los medios seleccionados para este estudio (<http://pb.merck.de>).

El medio XLD es un medio ligeramente selectivo y diferencial para el aislamiento de patógenos entéricos gram negativos en muestras clínicas y no clínicas. El agar Mac Conkey es un medio diferencial selectivo para el aislamiento de *Salmonella*, *Shigella* y bacterias coliformes, a partir de heces, orina, alimentos, aguas residuales, etc.

El agua tratada por este sistema también pudiera ser utilizada como agua de riego en la agricultura; sin embargo, como en el caso anterior, por ser microorganismos potencialmente patógenos, no es recomendable usarla sin un tratamiento de desinfección, ya que es deseable la eliminación total de estos organismos.

4.2.1 Pruebas bioquímicas para *Salmonella*

Después del aislamiento se procedió a la identificación bioquímica de *Salmonella*. Esto, con el objetivo de saber si todas las colonias que fueron contabilizadas como sospechosas de *Salmonella* por presentar las características macroscópicas realmente lo son. Para ello se seleccionaron colonias sospechosas de *Salmonella* de entre los diferentes medios de cultivo y diluciones. A cada colonia se le realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes. Los resultados de las pruebas bioquímicas se presentan en la Tabla 13. En estas pruebas, de las colonias sospechosas de ser *Salmonella* que se habían contabilizado en un principio, sólo el 60% presentaban las mismas características que las indicadas en la bibliografía, mientras que el 40% restante, muestra variaciones en las diferentes pruebas. El significado de cada prueba y composición se encuentran especificados en el Anexo 4.

Tabla 13. Resultados de las pruebas bioquímicas

Medio proveniente	Prueba	Bibliografía	60%
Agar KIA	Glu	+ A	+A
Agar KIA	Lac	- Alc	- Alc
Agar LIA	Lys	+	+
Agar SIM	Sulfuro	+	+
Agar SIM	Indol	-	-
AgarSIM	Movilidad	+	+
Agar Citrato de Simmons	Citrato	+	+
Caldo surraco	Ureasa	-	-
Caldo RM-VP	Rojo de metilo	+	+
Caldo RM-VP	Vogues Proskawer	-	-

A continuación se presenta la discusión de cada una de las pruebas bioquímicas.

Prueba KIA: El medio KIA contiene dos carbohidratos un monosacárido, la glucosa y lactosa en una concentración de 0.1% y 1% respectivamente. Algunos microorganismos tienen la capacidad de fermentar ambos carbohidratos, otros sólo la glucosa y algunos otros, ninguno de los dos carbohidratos. Las colonias analizadas presentaban el caso en el que solamente se fermenta la glucosa (alcalina/ácida). El pico de flauta es alcalino (rojo), lo que indica que se ha producido la degradación aeróbica de la glucosa. Después de 18 a 24 horas de incubación la baja concentración de glucosa (0.1%) ha sido consumida por completo y el organismo comienza a utilizar las peptonas que se encuentran en el medio para obtener los nutrientes para su crecimiento. El catabolismo de la peptona produce la liberación de amoníaco dando un pH alcalino con el rojo de

fenol, indicador del pH incorporado en el medio. Estos resultados se presentan en algunos microorganismos como *Escherichia*, *Enterobacter hafniae*, *Serratia*, *Salmonella enteritidis* bioserotipo *paratiphy A*, *Shigella*, *Proteus morganni* y *rettgeri*. Como podemos observar son todavía muchos microorganismos los que presentan este mismo resultado por lo que es necesario continuar con las otras pruebas.

Prueba LIA: Para la identificación bacteriana las enzimas descarboxilasas más utilizadas son: Lisina, ornitina y arginina descarboxilasas. En este caso nos concretamos a la descarboxilación por la enzima lisina descarboxilasa. Estas enzimas son formadas por un organismo solamente cultivadas en un medio ácido en presencia de un sustrato específico, y los productos de la descarboxilación provocan una desviación del pH hacia la alcalinidad. La lisina descarboxilasa, ayuda a la diferenciación entre géneros: *Edwardsiella* (+), *Salmonella* (por lo general (+), y *Arizona* (+) del *Citrobacter* (-). Una prueba positiva es indicada por un púrpura turbio a un púrpura amarillento apagado (producido por la cadaverina). El 60% de las colonias analizadas como presuntas *Salmonella*, presentaban un color azulado y en el pico de la flauta un amarillo oscuro, otras en cambio un amarillo más claro.

Prueba Citrato: En las bacterias el desdoblamiento del citrato comprende un sistema enzimático sin la intervención de la coenzima A. el medio utilizado para la fermentación del citrato contiene también sales de amonio inorgánicas.

Un organismo capaz de utilizar al citrato como única fuente de carbono emplea también amonio como única fuente de nitrógeno. Las sales de amonio se desdoblan en amoníaco (NH_3) con la consiguiente alcalinidad. Para esta prueba se utilizó el medio de citrato de Simmons el cual indica que para dar positiva esta prueba el crecimiento en el medio vira de un color verde (antes de la inoculación), a un azul intenso en el pico de la flauta. Esto, debido al indicador en el medio azul de bromotimol. Este resultado se presentó en un 60% de las colonias sospechosas de *Salmonella*, incluso antes de cumplirse las 96 horas de incubación, pero un 10% de este 60%, presentaba este resultado sólo hasta el término de las 96 horas.

Prueba del ácido sulfhídrico: Un organismo que produzca H_2S cultivado en un medio orgánico como la peptona, reduce el azufre por hidrogenación, produciendo el gas H_2S . Los indicadores del ácido sulfhídrico son una sal, citrato férrico de amonio, y una sustancia química, tiosulfato de sodio. La bacteria reacciona con el tiosulfato de sodio por medio de una reacción de reducción que da un sulfito y un sulfato. El H_2S es un gas incoloro y para detectarlo éste reacciona con el citrato férrico de amonio, produciendo así un precipitado negro insoluble, sulfuro ferroso. Esta prueba ayuda a la identificación de: *Arizona (+)*; *Citrobacter (var)*; *Edwardsiella (+)*; *Salmonella* (por lo general +). Un porcentaje de las colonias analizadas presentaban en la prueba un color negro alrededor de la picadura, y otras, invadían el tubo por completo y entonces sólo se veía el medio totalmente negro.

Prueba Indol: El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar tres metabolitos indólicos: indol, escatol e indolacético. El principal intermediario en la degradación del triptófano es el indolpirúvico, del cual puede formarse indol por desaminación. El indol desdoblado de la molécula del triptófano, puede ser detectado por un reactivo que tenga una combinación química que produzca un color definido. La presencia o ausencia de formación de Indol se emplea para la identificación bacteriana, como *Edwardsiella* (+) de *Salmonella* (-). Los resultados obtenidos mostraban que un alto porcentaje de las colonias analizadas, no presentaban un anillo rojo o naranja en la superficie del tubo, por el contrario, se presentaba un color ligeramente amarillo lo que indica que estaba tomando el color del reactivo de Kovacs y por lo tanto la prueba era negativa, como se especifica para el género *Salmonella*.

Prueba Motilidad: Esta prueba determina si un organismo es móvil o no. De acuerdo con los resultados obtenidos observamos que un 60% de las colonias presuntas de *Salmonella* presentaban movilidad muy evidente ya que se notaba en algunos tubos como había crecimiento en todo el medio. De este 60% un 10% presentaba muy poca movilidad ya que se observaba un leve crecimiento pero solo alrededor de la picadura de inoculación

Prueba Rojo de Metilo: Los organismos rojo de metilo positivos producen ácidos estables, manteniendo una alta concentración de iones hidrógeno. Esta prueba depende de un tiempo de incubación suficiente como para permitir que se produzca la diferencia en el metabolismo de la glucosa. Los organismos en estudio se incubarán por lo menos 2 días a 35-37°C, lo que permite que todos los organismos con baja proporción gaseosa (RM+) muestren su límite en la concentración de iones hidrógeno (pH bajo). Los resultados obtenidos presentaron que en las colonias examinadas después del tiempo de incubación y al añadir las 3 gotas de la solución rojo de metilo, el medio era lo suficientemente ácido como para mantener el color rojo del indicador.

Prueba Vogues-Proskawer: La solución alcohólica de α -naftol actúa como intensificador del color, el α -naftol se combina con el producto de la reacción del diacetilo, que se encuentra en la peptona desde los primeros momentos de la reacción. El NaOH 40%, contribuye a la absorción del CO₂ y reaccionará con la peptona dando un color salmón. Cuando el medio se agita para beneficiar la aireación, ésta favorece la acumulación de diacetilo. El NaOH, actúa como agente oxidante para apresurar la oxidación de la acetoina en diacetilo lo que da una reacción de color con el NaOH y la peptona. Para *S. Typhi* y otras especies de *Salmonella* indican que la prueba de Vogues-Proskawer es negativa, pues no debe mostrar presencia de acetoina. Los resultados conseguidos muestran que casi la mayoría de las colonias sospechosas, efectivamente dan

negativa esta prueba, aún cuando se calentaban suavemente para estar seguros, el tubo que contenía el medio se mantenía amarillo.

Prueba Ureasa: Esta prueba determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea por acción de la ureasa. La ureasa se clasifica como una amidasa catalizando la hidrólisis de las amidas. En el caso de la ureasa, el nitrógeno es disociado en amoníaco (NH_3). La ureasa actúa sobre los enlaces C-N del compuesto, con excepción de los que contienen enlaces peptídicos. La literatura indica que el género *Salmonella* presenta negativa esta prueba. Según los resultados obtenidos tenemos que las colonias presuntas de ser *Salmonella*, no solo por sus características macroscópicas, sino también en base a los resultados de las pruebas bioquímicas anteriores, mostraban esta característica. En el tubo que contenía el medio no se observaba cambio de color por el contrario se mantenía el mismo que antes de ser inoculado.

Con estos resultados tenemos que del 100% de las colonias que en un principio, según sus características macroscópicas, se consideraban como sospechosas de *Salmonella*, solo un 60% presentaban las pruebas bioquímicas como indicaba la literatura para el género *Salmonella*, mientras que el resto presentaba variación en algunas o en todas las pruebas. Aún así es recomendable realizar pruebas serológicas para poder dictaminar si verdaderamente era *Salmonella*.

En estudios posteriores se realizarán los análisis correspondientes para determinar la especie de *Salmonella* presente.

4.3 Huevos de helminto

La siguiente prueba que se realizó fue la indicación de contaminación parasitaria, mediante la cuantificación de huevos de helminto presentes en el agua, antes y después del tratamiento con los humedales. Los resultados del humedal de flujo vertical y flujo horizontal se presentan en las Tablas 14 y 15, respectivamente.

Tabla 14. Cuantificación de huevos de helminto, HH, en el HAFV

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO VERTICAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) HH/L agua	Agua tratada (salida) HH/L agua
21-25-abr-03	4	0
23-27-jun-03	8	1
21-25-jul-03	5	0
Promedio	5.66 (=6)	0.33
DE, desv. est.	2.08	0.57

Tabla 15. Cuantificación de huevos de helminto, HH, en el HAFH

HUMEDAL ARTIFICIAL DE FLUJO HORIZONTAL		
Fecha de muestreo	Agua residual (entrada) HH/L agua	Agua tratada (salida) HH/L agua
21-25-abr-03	10	0
23-27-jun-03	14	1
21-25-jul-03	8	1
Promedio	10.66 (=11)	0.66 (=1)
DE, desv. est.	3.05	0.57

A continuación, en la Gráfica 4, se muestra la eficiencia de ambos humedales en la eliminación de huevos de helminto.



Gráfica 4. Comparación entre ambos humedales en la remoción de huevos de helminto (E= entrada; S= salida; HAFV= humedal artificial de flujo vertical; HAFH= humedal artificial de flujo horizontal)

La diferencia en la cantidad de huevos de helminto encontrados en los dos tipos de aguas que alimentan cada humedal se debe al sitio de muestreo. En el caso del HAFV el agua residual (entrada) se tomó después de su paso por el sedimentador primario y en el caso del HAFH, la muestra se tomó directamente del cauce del río Magdalena (antes del sedimentador primario). Esto parece indicar que parte de la contaminación del agua provocada por los huevos de helminto se retiene en el sedimentador primario.

Como puede observarse, el sistema de humedales artificiales, tanto de flujo vertical como de flujo horizontal, resulta eficaz en la eliminación de estos parásitos durante la depuración de aguas residuales (sanitaria y mixta), aunque todavía no se alcanzan niveles que garanticen la inocuidad del agua tratada.

A continuación, en la Tabla 16, se presenta la comparación en la eficiencia de remoción entre ambos humedales, para cada uno de los análisis microbiológicos realizados (coliformes fecales y totales, *Salmonella* y huevos de helminto).

Tabla 16. Porcentaje de remoción de organismos patógenos en ambos humedales

Organismos patógenos	% de remoción		Valores finales
	HAFV	HAFH	HAFV-HAFH
Coliformes fecales	99.97	99.98	606±430 - 718±536 NMP/100mL
Coliformes totales	99.99	99.97	845±826 - 835±471 NMP/100mL
<i>Salmonella</i>	99.89	99.64	200±244 - 383±343 UFC/mL
Huevos de helminto	83.33	87.5	1±0.57 - 1±0.57 HH/L

Nota: HAFV = humedal artificial de flujo vertical; HAFH = humedal artificial de flujo horizontal

Los organismos patógenos se eliminan del agua residual por depredación de otros organismos o por filtración a través del soporte del humedal. Por lo tanto, mientras mayor sea el tiempo de residencia, aumenta la probabilidad de que éstos sean depredados o filtrados. En este caso, los tiempos de residencia hidráulica son de 5.4 y 5.3 días para el HAFV y el HAFH, respectivamente (Anexo 5).

Los análisis fisicoquímicos del agua residual de ambos sistemas fueron realizados en otra fase de la investigación (Rodríguez-Cruz y Varela-Montellano, 2003). El seguimiento analítico de ambos humedales incluyó: pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos, oxígeno disuelto, demanda química de oxígeno soluble (DQO_s) y, como parámetro físico, la temperatura. En la Tabla

17 se presentan los valores promedio de cada uno de estos parámetros, para el agua de entrada y salida de cada humedal.

Tabla 17. Parámetros fisicoquímicos de ambos humedales (Rodríguez-Cruz y Varela-Montellano, 2003)

Parámetros fisicoquímicos	EHAFFV	SHAFFV	% Efic. Rem.	EHAFFH	SHAFFH	% Efic. Rem.
Temperatura, °C	24.1	21.05	-	18	16	-
pH	7.44	7	-	7.66	7	-
Conductividad eléctrica, $\mu\text{oms/cm}$	1261	877	30	1169	931	20
Sólidos disueltos, mg/L	1010	670	33.7	269	218	19.0
Oxígeno disuelto, mg O ₂ /L	1.2	2.2	-	0.6	1.6	-
DQO, mg/L	663	113	83	304	170	44

Nota: E = entrada; S = salida; HAFV = humedal artificial de flujo vertical; HAFH = humedal artificial de flujo horizontal

Como puede observarse, hubo una disminución en todos los parámetros fisicoquímicos. La DQO, que mide la cantidad de materia orgánica presente en el agua, disminuye debido a la degradación por bacterias presentes en el sustrato, la conductividad eléctrica disminuye también porque se reduce la cantidad de sales (iones) presentes en el agua que entra al humedal. La cantidad de oxígeno disuelto se incrementa cuando el agua se somete a procesos de aireación natural o artificial, situación que se favorece por la actividad fotosintética de las plantas del humedal. El oxígeno disuelto se requiere para la respiración de las bacterias aerobias que degradan la materia orgánica. El pH neutro y la temperatura permiten el desarrollo de flora microbiana que contribuye al tratamiento del agua residual. Así, conjuntando

todos estos procesos es como se logra la depuración del agua residual. Es claro que el sistema de flujo vertical que recibe un flujo de agua residual de tipo sanitario tiene una mejor eficiencia de depuración que el sistema que recibe aguas residuales mixtas (provenientes de la contaminación del río Magdalena a lo largo de su trayecto desde Los Dinamos hasta los Viveros de Coyoacán por casas habitación, negocios, talleres, etc.). Esto mismo pudo observarse para la eliminación de los organismos (coliformes fecales y totales y *Salmonella*) y los huevos de helminto ya que, aunque el agua residual proveniente de los servicios sanitarios de los empleados de los Talleres de Conservación de la UNAM tenía una concentración mayor de ellos, su eficiencia depurativa también fue mayor. En el caso del agua residual del río Magdalena, aunque tenía una concentración menor, el sistema no podía eliminarla con la misma eficiencia, probablemente por la presencia de sustancias tóxicas, lo que indicaría que parte de su remoción se debe a los procesos de depredación de otros organismos.

Es interesante mencionar sobre la “calidad” de las aguas residuales, que las de la industria alimentaria, en general, poseen sustancias que no solamente no resultan tóxicas para los microorganismos sino que promueven su proliferación. En esos casos, resulta contraproducente mezclar aguas residuales de servicios sanitarios con las aguas de proceso, ya que estos microorganismos potencialmente patógenos presentes en las aguas sanitarias, si alguno de los trabajadores o usuarios está enfermo, se reproducirán de

manera considerable y su remoción será más complicada desde el punto de vista tecnológico.

Será importante para cualquier estudioso del tema, de acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, considerar la separación de efluentes con objeto de minimizar la presencia de organismos patógenos de las aguas residuales en tratamiento.

En la siguiente y última parte de esta investigación se presentan las conclusiones derivadas de estos resultados y su discusión.

Capítulo V

Conclusiones y sugerencias

5.1 Conclusiones

De acuerdo con la justificación y los objetivos de esta investigación puede concluirse lo siguiente:

- El sistema de humedales artificiales es un método eficaz en la reducción de organismos potencialmente patógenos presentes en aguas residuales
- La eliminación de coliformes resulta muy eficiente ya que disminuye la cantidad de organismos hasta en 4 ciclos logarítmicos. Los valores finales mínimos encontrados para coliformes fecales y totales fueron 606 y 845 NMP/100mL respectivamente para el HAFV y 718 y 8 35 NMP/100mL respectivamente para el HAFH.
- De acuerdo con la NOM-003-SEMARNAT 1997, que especifica que para contacto directo el límite máximo permisible es de 240 NMP/100mL y para contacto indirecto de 1000 NMP/100mL, estas aguas tratadas sólo podrían emplearse para contacto indirecto
- Para el caso de *Salmonella* y de huevos de helminto no es suficiente una disminución de su presencia (116 a 200 y 100 a 383 UFC/mL, para el HAFV y el HAFH, respectivamente y 1HH/L para ambos humedales), ya que por ser organismos patógenos deben ser eliminados por completo,

aún cuando la NOM-003-SEMARNAT-1997, indica que puede estar presente al menos 1HH/L de agua para uso indirecto.

- Con estos resultados puede concluirse que, cuando el agua es tratada empleando estos sistemas se elimina de manera importante su contenido de microorganismos y parásitos y que el agua resultante puede utilizarse para riego de especies arbóreas, mas no para contacto directo ni para especies comestibles “en fresco” (Chávez-Espinosa, 2003).

5.2 Sugerencias

Como resultado de esta investigación, a continuación se dan algunas sugerencias para avanzar en esta línea:

- Un ejemplo en el que podrían aplicarse los resultados de esta investigación sobre el problema de la presencia de organismos patógenos es la industria alimentaria donde, en general, se mezclan las aguas sanitarias con las de proceso y después se vierten a los cuerpos receptores sin ningún tratamiento
- Como las aguas de tipo sanitario contienen patógenos y las de proceso arrastran parte de los nutrimentos provenientes de los alimentos, los organismos patógenos se reproducen en forma considerable. Esto hace más difícil su eliminación. Por ello es importante informar este tipo de investigaciones a los responsables del manejo de efluentes líquidos en esta rama industrial, con objeto de que segreguen las aguas de tipo

sanitario de las de proceso, minimizando así el impacto de estos microorganismos en la salud pública

- Será importante corroborar en las siguientes etapas de la investigación, determinar las especies de *Salmonella* que se encuentran en esta agua, ya que todas las especies del género *Salmonella* son patógenas.
- También será importante estudiar la presencia de otros organismos patógenos como *Shigella sonnei* y su eliminación en estos sistemas de depuración de aguas residuales
- Finalmente, será importante ver el efecto de las variables de operación, como el tiempo de residencia hidráulico, en la eliminación de estos organismos durante la depuración.

Anexo 1

Glosario

Absorción: Ejercer atracción una sustancia sólida sobre un fluido con el que está en contacto, de modo que las moléculas de éste penetren en ella.

Adsorción: Propiedad de ciertos cuerpos de fijar sobre su superficie otras sustancias.

Afluente: Arroyo o río secundario que desemboca o desagua en otro principal, por consiguiente, una corriente secundaria que entra a engrosar una corriente principal en un proceso.

Agar: Especie de gelatina, llamada gelosa. En bacteriología se emplea para la elaboración de medios de cultivo.

Agar Mac Conkey: Medio de cultivo sólido selectivo para el aislamiento de ciertas bacterias. Contiene peptonas y lactosa como ingredientes principales.

Agar SS: Medio de cultivo sólido selectivo, que restringe el crecimiento de otros géneros diferentes de *Salmonella* y que permiten el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas.

Agar XLD: Medio de cultivo sólido selectivo, que restringe el crecimiento de otros géneros diferentes de *Salmonella* y que permiten el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas. Contiene xilosa, L-lisina y desoxicolato de sodio.

Agua: Compuesto incoloro, inodoro e insípido, formado por dos moléculas de hidrógeno y por una molécula de oxígeno, que se encuentra en la naturaleza en forma líquida, gaseosa o sólida.

Aguas de proceso: Son las aguas provenientes de las descargas originadas por las actividades correspondientes a la extracción y transformación de recursos naturales de bienes de consumo y satisfactores para la población.

Aguas residuales: Aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas,

pecuarios y domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas.

Aguas sanitarias: Son las aguas correspondientes a las descargas de los drenajes de baños, tanto del aseo personal como de los sanitarios.

Aguas tratadas: Aguas que han pasado por un proceso de purificación de diferentes niveles según su destino, cumpliendo con normas de calidad de higiene para poder ser reutilizadas con fines beneficiosos.

Caldo: Líquido preparado para favorecer la proliferación de ciertas bacterias con características específicas.

Caldo bilis verde brillante: Medio de cultivo líquido utilizado para determinación de coliformes totales (prueba confirmativa).

Caldo EC: Medio de cultivo líquido para la determinación de bacterias del género coliforme.

Caldo lauril sulfato de sodio: Medio de cultivo líquido utilizado para la determinación de coliformes totales y fecales (prueba presuntiva).

Composta: Abono de gran calidad obtenido a partir de la descomposición de residuos orgánicos, que se utiliza para fertilizar y acondicionar los suelos, mejorando su calidad. Al mezclarse con la tierra la vivifica y favorece al desarrollo de las características óptimas para el cultivo.

Conductividad eléctrica: La conductividad de los materiales es generalmente medida por el paso de una corriente conocida y un voltaje constante a través de un volumen conocido del material determinando su resistencia en unidades conocidas como ohm y, siendo esta variable lo opuesto a la resistencia, ha dado en llamársele a su unidad mho. También se usa la unidad Siemens.

Contaminantes patógenos y parasitarios: Son aquellos microorganismos, quistes y huevos de parásitos, tales como coliformes fecales y huevos de helminto, que pueden estar presentes en las aguas residuales y que presentan un riesgo a la salud humana, flora o fauna.

Cuerpos receptores: Lugares en los cuales se vierten las descargas de los drenajes agrícolas, industriales y/o domésticas, pueden ser arroyos, ríos, bahías.

Demanda bioquímica de oxígeno: Indicador del contenido de contaminantes de un efluente expresado por el consumo de oxígeno disuelto por parte de microorganismos que descomponen esos contaminantes, generalmente materia orgánica presente en el propio efluente. Se parte para ello, de la capacidad

autodepurativa del agua, conferida por los propios microorganismos. La DBO se mide como la masa (en mg) de oxígeno utilizado para degradar contaminantes contenidos en un litro de muestra de agua incubada a 20°C durante un periodo de 5 días (DBO₅) o por un lapso indefinido hasta que ya no hay más consumo de oxígeno (DBO última o DBO_u).

Demanda química de oxígeno: Es la medición indirecta de la materia orgánica e inorgánica presente en disolución y/o suspendida que puede ser químicamente oxidada en un medio ácido por un fuerte oxidante como permanganato o dicromato de potasio expuesta a una temperatura entre 150 y 200°C. Se le adicionan algunos reactivos para eliminar los iones inorgánicos y medir solamente el contenido de material orgánico y para acelerar la reacción de oxidación (sulfatos de mercurio y plata).

Depredación: Utilización de organismos vivos en la alimentación de otras especies animales.

Desnitrificación: Extraer el N₂ contenido en una sustancia.

Efluente: Descargas contaminantes al ambiente parcial o totalmente tratados o en su estado natural provenientes de alguna actividad humana.

Humedal: Las zonas pantanosas, marismas y turberas, conocida con el nombre colectivo de humedales, son ecosistemas en la frontera entre el agua y tierra. Independientemente de su vegetación, cada humedal se encuentra sobre un sustrato que está saturado de agua, al menos parte del año. Los humedales se encuentran en todos los tipos de regiones de vegetación natural, aunque la mayor parte de ellos son demasiado pequeños para estar representados en los mapas a pequeña escala. Generalmente se reconocen cinco clases principales de humedales: Marinos, humedales costeros, incluyendo costas rocosas y arrecifes de coral; estuarios, como los deltas, marismas de mares y pantanos de manglar; lacustres, como los lagos y lagunas; ribereños, como los humedales asociados a ríos y arroyos y palustres, como los lodazales o ciénegas, marismas y pantanos.

Humedal artificial: Otro grupo es el de los humedales construidos por el ser humano, como estanques, embalses, graveras abandonadas, canales y acequias que, por flora y la fauna que sustentan también merecen ser considerados como humedales. Un claro ejemplo lo constituyen las graveras abandonadas en zonas próximas a los ríos en donde el nivel freático ha permitido la inundación del vaso de la explotación y que se convierten en importantes zonas de invernación o de cría de especies acuáticas. En Sudamérica se les conoce como jardines de totoras o filtros fitoterrestres.

Humedales naturales: Las zonas de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres que constituyen áreas de inundación temporal o permanente, sujetas

o no a la influencia de mareas, pantanos, ciénagas y marismas. Sus límites están constituidos el tipo de vegetación hidrófila de presencia permanente o estacional; las áreas donde el suelo es predominantemente hídrico y las áreas lacustres o de suelos permanentemente húmedos originadas por la descarga natural de acuíferos.

Influente: Río de las regiones secas que pierde agua por evaporación. Entrada de fluido a un sistema hecho por el hombre.

NMP: Número más probable, método para la determinación de coliformes, que se fundamenta en la capacidad de fermentar la lactosa con producción de gas al incubar a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante un tiempo máximo de 48 horas.

pH: Es el menos logaritmo de la concentración de iones hidrógeno (H^+) en una solución. Sirve para describir si una solución es ácida o alcalina en una escala de 1-14, o en su defecto neutra con un valor de 7 a temperatura ambiente.

Sólidos totales disueltos: La cantidad total de materiales orgánicos e inorgánicos disueltos en el agua. Una cantidad excesivamente de sólidos disueltos en agua la inhabilitan para el consumo humano y para usos industriales que requieren de aguas blandas.

Sustrato: Material inerte de soporte usado para sustituir al suelo en los humedales ratificales.

Tiempo de residencia hidráulico: Es el periodo necesario para remover los contaminantes y la materia orgánica presente en el agua residual o, de manera general, el tiempo que transcurre para que un elemento de reactivos se transforme en productos y salga de un reactor.

Uso de agua en riego agrícola: Utilización del agua destinada a la actividad de siembra, cultivo y cosecha de productos agrícolas y su preparación, siempre que los productos no hayan sido objeto de transformación industrial.

Uso público urbano de agua: Utilización de agua nacional para centros de población o asentamientos humanos, destinada para el consumo humano, previa potabilización.

Anexo 2

Anexo fotográfico

Foto 1. Placas inoculadas con agua residual del humedal artificial de flujo vertical (Agar SS, Agar XLD y Agar Mac Conkey; dilución 10^{-1})

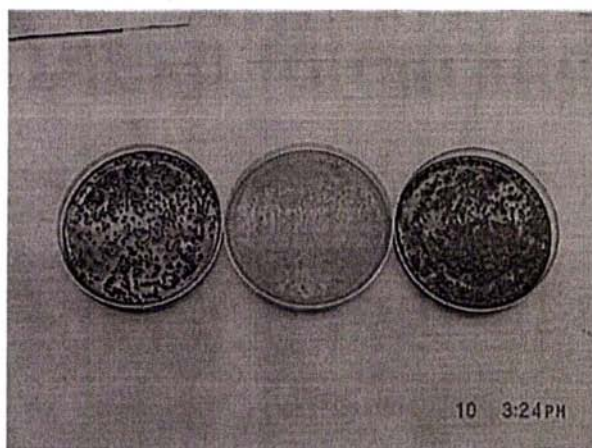


Foto 2. Placas inoculadas con agua tratada del humedal artificial de flujo vertical (Agar SS, Agar XLD y Agar Mac Conkey; dilución 10^{-1})

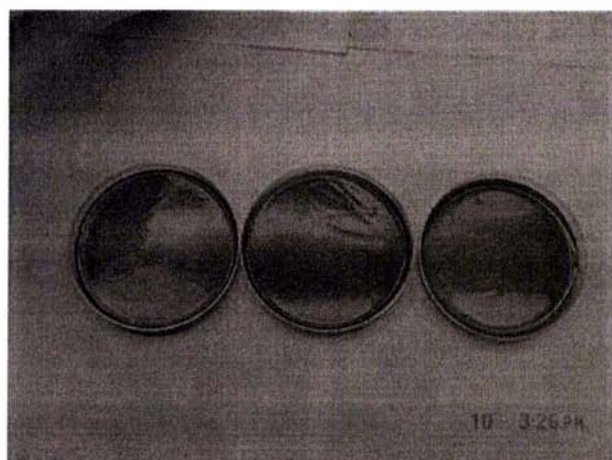


Foto 3. Placas inoculadas con agua residual del humedal artificial de flujo horizontal (Agar SS, Agar XLD y Agar Mac Conkey; dilución 10^{-1})

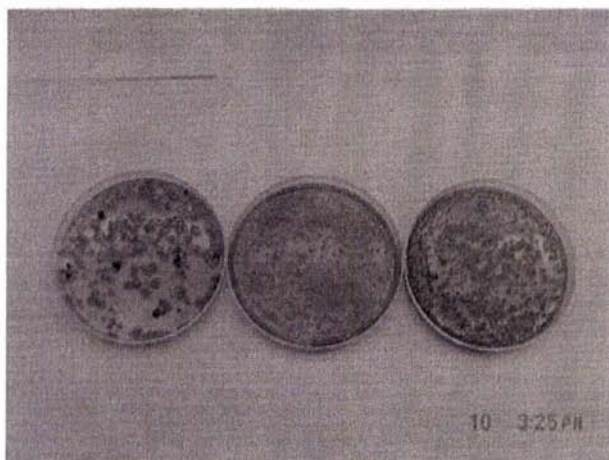


Foto 4. Placas inoculadas con agua tratada del humedal artificial de flujo horizontal (Agar SS, Agar XLD y Agar Mac Conkey; dilución 10^{-1})

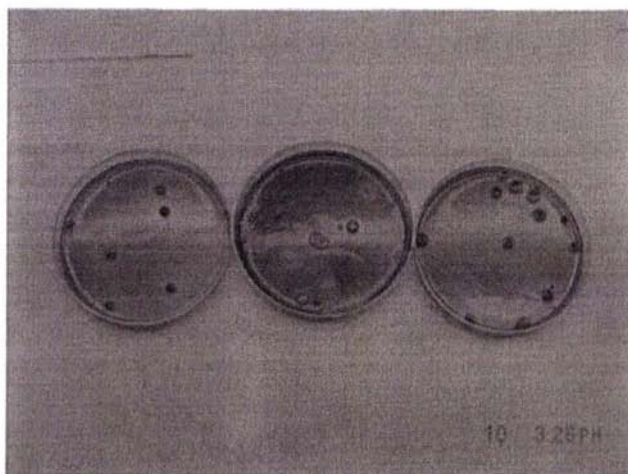


Foto 5. Huevos de helminto encontrados en el agua residual de los humedales artificiales de flujo horizontal y vertical



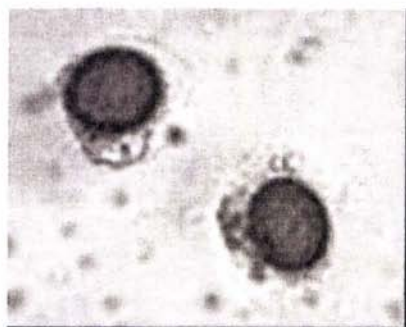
Ascaris lumbricoides

Huevo de helminto encontrado en el agua residual y tratada del HAFV y HAFH

Huevo de helminto encontrado en el agua residual y tratada del HAFH



Trichuris trichuria



Taenia spp

Huevo de helminto encontrado en el agua residual del HAFV

Anexo 3

Análisis microbiológicos

A3.1 Coliformes fecales y totales

PRUEBA PRESUNTIVA

Tomar 1.0 mL de agua tratada o residual y adicinarla a cada tubo de la serie de 5, diluciones 10^{-1} a 10^{-7} para el agua residual y 10^{-1} a 10^{-3} para el agua tratada (16x150mm con campana Durham) con caldo lauril sulfato de sodio

Agitar los tubos para su homogenización e Incubar todos los tubos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24-48h

Los tubos después de la incubación se registran como positivos si presentan turbidez (crecimiento) y producción de gas (desplazamiento de la campana de Durham)

PRUEBA CONFIRMATIVA

Transferir de 2 a 3 asadas de cada tubo positivo durante la prueba presuntiva a un tubo con caldo EC para coliformes fecales y caldo bilis verde brillante para coliformes totales con campana Durham

Agitar los tubos para su homogenización. Incubar todos los tubos a $44.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ de 24-48 h para coliformes fecales y a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ para coliformes totales

Registrar como positivos todos los tubos donde se observe crecimiento y producción de gas. Consultar la tabla de datos contenida en la NOM-112-SSA1-1994 para conocer el NMP de coliformes fecales/100mL.

A3.2 Salmonella

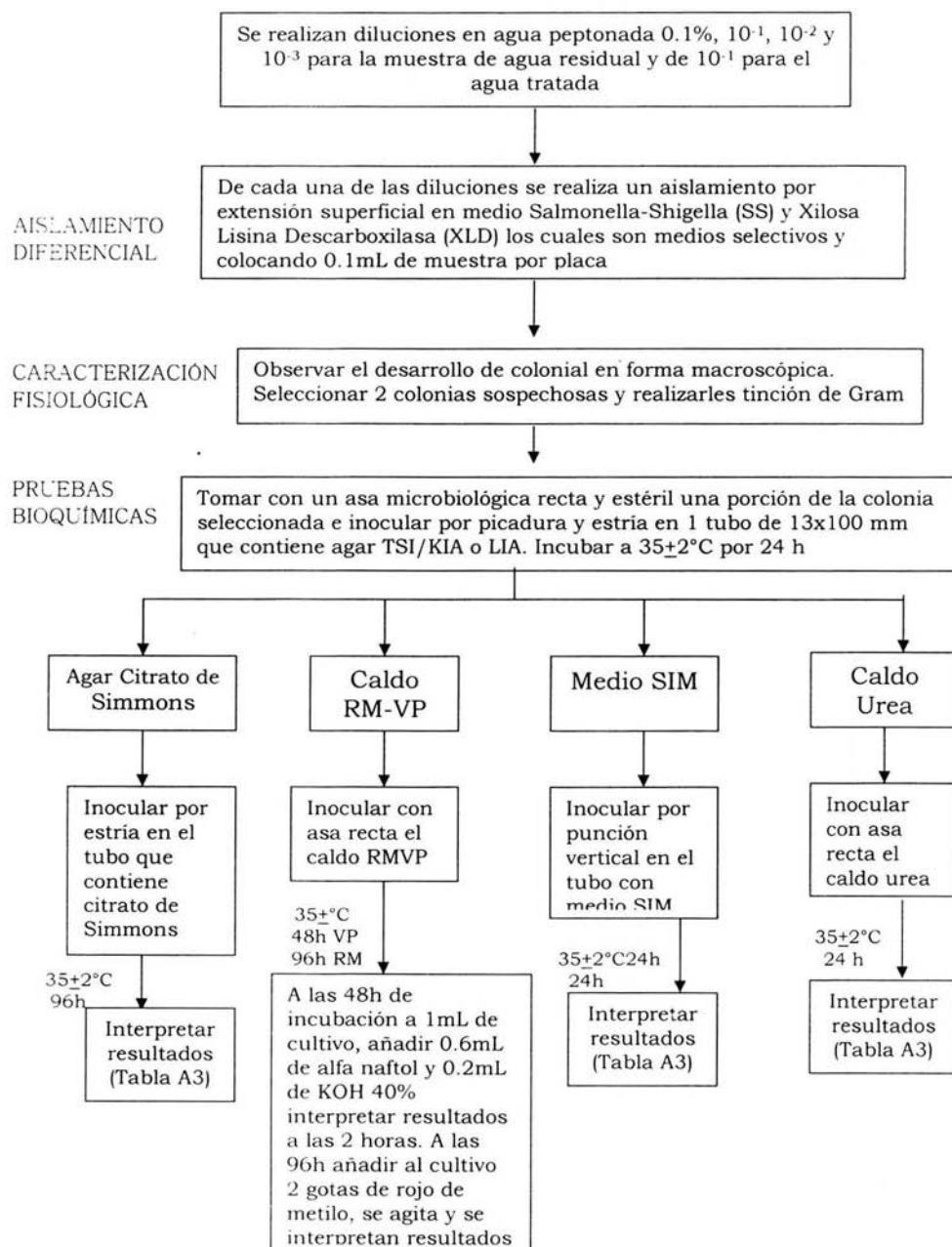
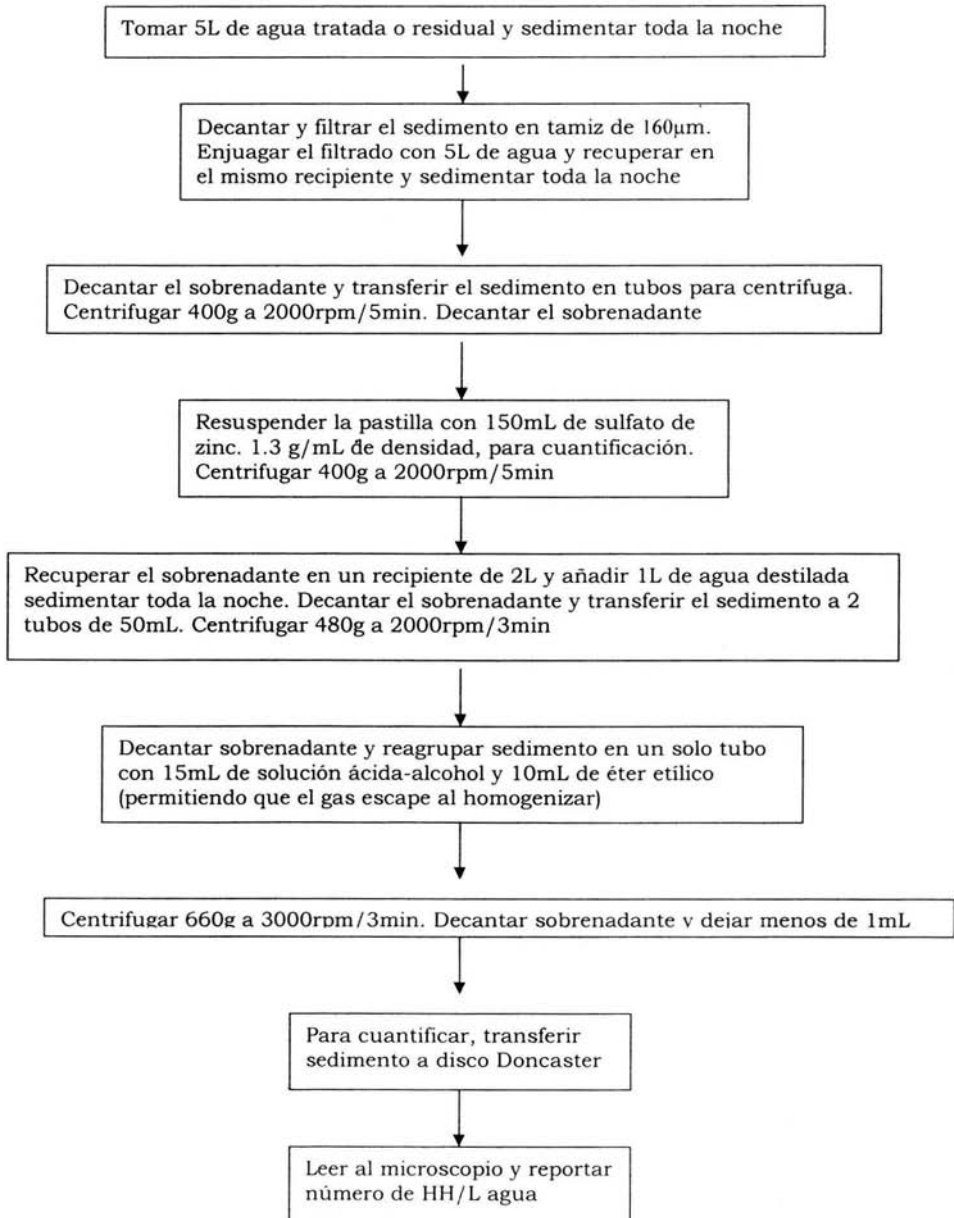


Tabla A3 Reacciones bioquímicas de *Salmonella* (Palao y col.2002)

Prueba	Positivo	Negativo	<i>Salmonella</i>
Glucosa (Kligler)	Fondo amarillo pendiente roja	Rojo	+
Lisina descarboxilasa (LIA)	Púrpura	Amarillo	+
H ₂ S (Kligler, LIA)	Negro	No negro	+
Ureasa	Rojo-Púrpura	No hay cambio de color	-
Prueba Indol	Superficie color violeta	Superficie color amarillo	-
Prueba movilidad	Desplazamiento	No desplazamiento	+
Prueba Voges Proskawer	De rosa a rojo	No hay cambio de color	-
Prueba rojo de metilo	Rojo difuso	Amarillo difuso	+
Citrato de Simmons	Crecimiento color azul	No hay cambio de color	+

A3.3 Huevos de helminto, HH



Anexo 4

Pruebas bioquímicas

A4.1 Pruebas bioquímicas para *Salmonella*

Después del aislamiento se procedió a la identificación bioquímica de *Salmonella*. Se seleccionaron colonias sospechosas de *Salmonella* de entre los diferentes medios de cultivo y diluciones. A cada colonia se le realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes. Los resultados de las pruebas bioquímicas se presentan en la Tabla 13. En estas pruebas, el 60% de las colonias sospechosas de ser *Salmonella* presentaban las mismas características que las indicadas en la bibliografía, mientras que 40% restante muestra variaciones en las diferentes pruebas.

Tabla 13. Resultados de las pruebas bioquímicas

Medio proveniente	Prueba	Bibliografía	60%
Agar KIA	Glu	+ A	+A
Agar KIA	Lac	- Alc	- Alc
Agar LIA	Lys	+	+
Agar SIM	Sulfuro	+	+
Agar SIM	Indol	-	-
AgarSIM	Movilidad	+	+
Agar Citrato de Simmons	Citrato	+	+
Caldo sarraco	Ureasa	-	-
Caldo RM-VP	Rojo de metilo	+	+
Caldo RM-VP	Vogues Proskawer	-	-

En estudios posteriores se realizarán los análisis correspondientes para determinar la especie de *Salmonella* presente y con ello establecer su especie.

A continuación se muestran los principios e interpretación de, cada una de las pruebas bioquímicas realizadas en este estudio (Mac Faddin, 1984).

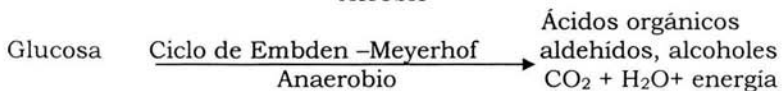
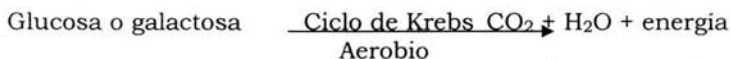
A4.1 PRUEBA AGAR HIERRO KLIGLER

Principio

Determinar la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción de gases, junto con la determinación de posible producción de ácido sulfhídrico (H₂S)

Bases bioquímicas

El medio AHK contiene dos carbohidratos: lactosa y glucosa, con concentraciones de 1% y 0.1%, respectivamente. En el medio AHK, algunos organismos tienen la facultad de fermentar ambos carbohidratos; otros de fermentar solo la glucosa y algunos otros no son capaces de fermentar lactosa y tampoco glucosa. La fermentación de los carbohidratos puede ser con o sin producción de gases (CO₂ + H₂). La fermentación se produce de forma aerobia en el pico de la flauta y de forma anaerobia en la capa inferior del cultivo.



Interpretación

Fermentación de Glucosa	Fermentación de glucosa y lactosa	No fermentación de glucosa y lactosa
Pico de la flauta alcalino y una capa profunda ácida (Alc/A) (rojo/amarillo) después de 18 a 24 horas de incubación. Con o sin precipitado negro (producción de H ₂ S)	Pico de la flauta ácido y una capa profunda ácida (A/A) (amarillo/amarillo) después de 18 a 24 horas de incubación. Precipitado negro (producción de H ₂ S)	Pico de la flauta alcalino y una capa profunda alcalino (Alc/Alc) (rojo/rojo) después de 18 a 24 horas de incubación

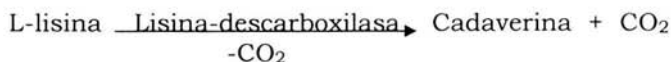
A4.2 PRUEBA AGAR LIA

Principio

Medir la capacidad enzimática de un organismo para descarboxilar un aminoácido para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad.

Bases bioquímicas

La descarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH). El aminoácido L-lisina sufre una descarboxilación para dar cadaverina (una diamina) y anhídrido carbónico por acción de la enzima específica lisina-descarboxilasa



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
El medio vira de un color púrpura turbio a un púrpura amarillento lo que indica la producción de cadaverina	El medio presenta un color amarillo claro y brillante (solamente fermentado por la glucosa)

A4.3 PRUEBA AGAR CITRATO DE SIMMONS

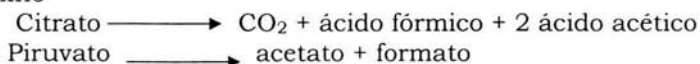
Principio

Determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, provocando alcalinidad.

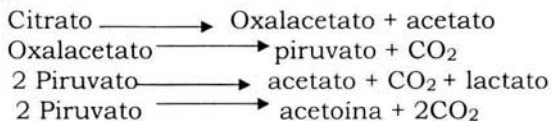
Bases bioquímicas

Algunas bacterias pueden suministrar energía en ausencia de la fermentación o producción de ácido láctico, empleando únicamente citrato como única fuente de carbono. Los productos del metabolismo del citrato dependen del pH del medio.

*pH alcalino



*pH ácido



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
Crecimiento y vire de color de verde a un azul intenso en el pico de la flauta	No se observa crecimiento y tampoco cambio de color

A4.4 PRUEBA MEDIO SIM

A4.4.1 Sulfhídrico

Principio

Determinar si ha liberado ácido sulfhídrico (H_2S) por acción enzimática de los aminoácidos que contienen azufre produciendo una reacción visible de color negro.

Bases bioquímicas

Algunas especies bacterianas heterotróficas son capaces de liberar azufre enzimáticamente de los diferentes aminoácidos que lo contienen (cistina y cisteína) produciendo el gas H_2S . La enzima responsable de esta actividad es la cisteinasa. Un organismo que produzca H_2S cultivado en un medio como la peptonina, reduce el azufre por hidrogenación, produciendo el gas H_2S .



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
Se observa un oscurecimiento del medio	No se observa cambio de color

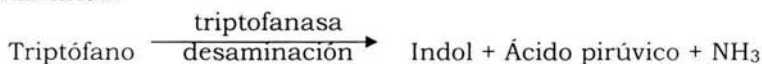
A4.4.2 Indol

Principio

Determinar la capacidad de un organismo de desdoblar el indol de la molécula triptófano.

Bases bioquímicas

El triptófano es un aa que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar metabolitos indólicos. El principal intermediario en la degradación del triptófano es el ácido indolpirúvico, del cual puede formarse indol por desaminación.



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
Se observa un anillo rojo en la superficie del medio	No se observa cambio de color mantiene el color amarillo

A4.4.3 Motilidad

Principio

Determinar si un organismo es móvil/inmóvil.

Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos, que se encuentran principalmente entre los bacilos; sin embargo, algunas formas de cocos son móviles. Las bacterias móviles pueden contener un solo flagelo o muchos. Los organismos no móviles carecen de flagelos.

Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
Los organismos móviles migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbiedad	Crecimiento bacteriano siguiendo la línea de siembra

A4.5 PRUEBA RM-VP

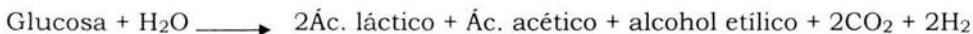
A4.5.1 Rojo de metilo

Principio

Comprobar la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad amortiguadora del sistema.

Bases bioquímicas

La prueba se basa en el empleo de un indicador de pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno presentes cuando un organismo fermenta la glucosa. Los organismos rojo de metilo positivos producen ácidos estables, manteniendo una alta concentración de iones H^+ hasta alcanzar cierta actividad y entonces cesa toda la actividad. Los organismos rojo de metilo negativos también producen ácidos, pero tienen una menor concentración de H^+ .



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa	Prueba retardada
El cultivo es lo suficientemente ácido como para permitir que el indicador rojo de metilo mantenga el color rojo	Color amarillo (pH=6) en la superficie del medio	Color naranja. Continuar incubación por 4 días más

A4.5.2 Voges-Proskauer

Principio

Determinar la capacidad de algunos organismos de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa.

Bases bioquímicas

Se basa en la detección de acetoína, un producto final neutro derivado del metabolismo de la glucosa. Ésta es metabolizada en ácido pirúvico, intermediario clave de la glucólisis. Una molécula de acetoína se forma por la descarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico. La producción de acetoína es uno de los ciclos para la degradación de la glucosa en las bacterias.



Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
Color rojo rosado en la superficie del medio (presencia de acetoína)	Color amarillo en la superficie del medio. Puede formarse un color cobrizo pero aún así la reacción es negativa (mezcla de reactivos)

A4.6 REACCIÓN DE LA UREASA

Principio

Determinar la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa.

Bases bioquímicas

La hidrólisis de la urea es catalizada por una enzima específica, la ureasa para dar dos moléculas de amoníaco. La ureasa es una importante enzima microbiana vinculada con la descomposición de los compuestos orgánicos. Las enzimas bacterianas se clasifican en constitutivas o adaptativas. Una enzima adaptativa es aquella que es producida por una bacteria solamente cuando se encuentra presente su sustrato específico. La ureasa se considera una enzima constitutiva, dado que es sintetizada por ciertas bacterias sin tener en cuenta la presencia o ausencia de su sustrato urea.

Interpretación

Prueba positiva	Prueba negativa
El caldo presenta un color rojo rosado intenso	No se presenta un vire de color permanece amarillo naranja

A4.7 MEDIOS DE CULTIVO

A4.7.1 Agar Salmonella y Shigella (SS)

Ingredientes	Cantidades (g)
Extracto de carne	5.0
Polipeptona	5.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	8.5
Citrato de sodio dihidratado	8.5
Tiosulfato de sodio pentahidratado	8.5
Citrato férrico	1.0
Agar	13.5
Rojo neutro	0.025
Verde brillante	0.33 (mg)
Agua destilada	1.0 (L)
pH final: 7.0 \pm 0.2	

Las sales biliares inhiben la proliferación de flora gram-positiva. El indicador de pH rojo neutro, sirve para la comprobación de la degradación de la lactosa.

A4.7.2 Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)

Ingredientes	Cantidades (g)
Xilosa	3.75
L-lisina	5.0
Lactosa	7.5
Sacarosa	7.5
Cloruro de sodio	5.0
Extracto de levadura	3.0
Rojo de fenol	0.08
Agar	15.0
Desoxicalato de sodio	2.5
Citrato férrico-amónico	0.8
Tiosulfato de sodio	6.8
Agua destilada	1 (L)
pH final 6.9 \pm 0.2	

El contenido de sacarosa posibilita la diferenciación de colonias de Salmonella, Shigella y Arizona lactosa y sacarosa –negativas, frente a la flora lactosa-negativa. Por la adición de sacarosa, este agar posee la ventaja de excluir resultados falsos positivos en la búsqueda de enterobacterias patógenas

A4.7.3 Agar Mac Conkey

Ingredientes	Cantidades (g)
Peptona de caseína	17.0
Peptona de carne	3.0
Cloruro de sodio	5.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	1.5
Rojo neutro	0.03
Violeta cristal	0.001
Agar-agar	13.5
Agua destilada	1(L)
pH final: 7.1±0.2	

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben considerablemente la flora gram-positiva, junto con el indicador de pH rojo neutro, sirven para la comprobación de la degradación de dicho azúcar.

A4.7.4 Agua Peptonada

Ingredientes	Cantidades (g)
Peptona	10
Cloruro de sodio	5
Agua destilada	1(L)
pH 7.2±0.1	

Medio de pre-enriquecimiento recomendado su empleo para el aislamiento de especies dañadas de Salmonella.

A4.7.5 Caldo laurel sulfato de sodio

Ingredientes	Cantidades (g)
Lauril sulfato de sodio	0.10
Peptona de caseína	20.0
Lactosa	5.0
Fosfato dipotásico	2.75
Fosfato monopotásico	2.75
Cloruro de sodio	5.0
Agua destilada	1 (L)
pH 6.8 ± 0.2	

Caldo bilis verde brillante

Ingredientes	Cantidades (g)
Bilis de buey deshidratada	20.0
Lactosa	10.0
Peptona de gelatina	10.0
Verde brillante	0.0133
Agua destilada	1(L)

Anexo 5

Condiciones de operación

A5.1 Condiciones de operación del HAFV

El humedal artificial de flujo vertical presenta un área de 15 m², 6 m de largo por 2.5 m de ancho y una profundidad de 1.3 m.

El medio de soporte está conformado por escoria volcánica dividido en 5 capas de diferente tamaño cada una.

Las plantas presentes en él son: carrizos, tules y zacaltule o espadaña,

El flujo con el cual se realizó el seguimiento analítico y microbiológico fue de 0.40 m³ /día con un tiempo de residencia hidráulico de 5.4 días.

A5.2 Condiciones de operación del HAFH

El humedal artificial de flujo horizontal presenta un área de 75 m², 15 m de largo por 5 m de ancho y una profundidad de 0.7 m.

El medio de soporte está conformado por escoria volcánica distribuida uniformemente con un diámetro de partícula de 12.7 mm.

Las plantas presentes en él son: carrizos y algunos papiros.

El flujo con el cual se realizó el seguimiento analítico y microbiológico fue de 5.37 m³ /día con un tiempo de residencia hidráulico de 5.3 días.

Bibliografía

1. Arroyo, G., Arroyo, J.A. 1995. Efficiency of different enrichment and isolation procedures for the detection of *Salmonella* serotypes in edible offal. *J. Appl. Bacteriol.* 79:360-367.
2. Browner, K.H. 1985. Nutrient removal from effluents by artificial wetlands. Influence of rhizosphere aeration and preferential flow study using bromide and dye tracers. *Wat. Res.*, 21(5):591-599.
3. Calero-Chrinos, P. 1990. Informe de la situación general en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente (1989-1990). Comisión Nacional de Ecología en México. Pp. 44-48. México D.F. México.
4. Cervantes, F. 1995. Limpiar y obedecer; la basura, el agua y la muerte. Ed. Continental. México D. F. México.
5. Chávez-Espinosa, J. 2003. Determinación de la calidad microbiológica de hortalizas de mayor consumo en una zona de Xochimilco. Tesis Profesional, Química de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
6. Davidson, J., Myers, D., Chakraborty, M. 1992. No time to waste: Poverty and the global environment. Oxford, 217 p. Oxfordshire, Inglaterra.
7. Durán-de-Bazúa, C. 1994. Tratamiento biológico de aguas residuales de la industria química y de proceso. Pub. PIQAYQA-FQ-UNAM. 5ª. Ed. Pp 4-44. México D. F. México.
8. Esponda-Aguilar, P.L. 2001. Estudio de los humedales artificiales como reactores de flujo pistón para el tratamiento de aguas residuales. Tesis profesional, Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
9. Esrey, S.A., Potash, J.B., Roberts, L., Schiff, C. 1991. Effects of improved water supply and sanitation on ascariasis, diarrhea, dracunculiasis, hookworm infection, schistosomiasis, and trachoma. *Bull. World Health Organization*, 69(5):609-621.
10. Fenoglio-Limón, F.E. 2000. Bases de diseño para la construcción de un reactor biológico experimental basado en los sistemas de humedales artificiales de flujo vertical. Tesis profesional, Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
11. Fenoglio-Limón, F.E. 2003. Fenómenos de transferencia de oxígeno por convección en sistemas que simulan humedales artificiales utilizando columnas empacadas. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. (Orientación: Química Ambiental). UNAM. México D.F. México.
12. García, J., Ruiz, A., Junqueras, X. 1997. Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales construidos. *Tecnología del agua*. No. 165, pp. 58-65.
13. García-Viveros, M., Silva-García, J., Salas-Mercado, K. 2000. En XI Simposium Internacional La salud en México ante el próximo milenio. Gpo. Ed Miguel Angel Porrúa. México D.F. México.
14. Guerrero, M. 1991. El agua. *Ciencia*, 102:68-73. México D.F. México.
15. Hernández-Martínez, E., Aguilar-Barajas, S., Rodríguez-Díaz, R., García-Barjau, H., Hernández-Lizarrá, N. 1994. Introducción a la salud pública. Centro de Investigación de Ciencias de la Salud. México D.F. México.
16. Heinke, H. 1996. Ingeniería ambiental. Ed. Prentice Hall. México D.F. México.
17. ICMSF. 1983. Ecología microbiana de los alimentos. Vol. I. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Ed. Comisión Internacional para las especificaciones microbiológicas para los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
18. INDRÉ. 1993. Diagnóstico parasitológico. Instituto Nacional de Referencias Epidemiológicas. Pp. 38-41. México D.F. México.
19. IPS. 1999. Most rivers in the world are polluted. Inter-Press Service. Wire Service. Washington, D.C., EEUUA.
20. Jiménez, B., Chávez, A., Barrios, J., Maya C., Salgado, G. 1999. Curso: Determinación y cuantificación de huevos de helminto. Instituto de Ingeniería, UNAM. México D.F. México.
21. Juárez-Méndez, C.H. 2002. Informe de servicio social. UNAM, Facultad de Ciencias. México D.F. México.
22. Kumate, J., Gutiérrez, G., Muñoz, O., Santos, J.I. 1990. Manual de infectología Ed. Méndez-Cervantes. México D.F., México.
23. MacFaddin, J. 1984. Interpretación de pruebas bioquímicas de importancia clínica. Ed. Panamericana. Pp. 45-190. México D.F., México.

-
-
24. Millán, S. 2000. Operación de una planta piloto tipo humedal artificial de flujo horizontal para tratamiento de aguas residuales y su reúso para riego. Tesis profesional. Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
 25. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997. Que establece los límites máximos permisibles en las aguas tratadas que se reutilicen en servicios al público. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
 26. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
 27. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
 28. Palao, M., Ortegón, A. 2002. Manual de microbiología de alimentos. UNAM. Facultad de Química. México, D.F. México.
 29. Ramírez-Carrillo, H.F. 1998. Desarrollo de la ingeniería básica para el diseño de una planta de tratamiento de aguas residuales a base de un humedal artificial de flujo horizontal. Tesis profesional. Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Estudios Superiores, Zaragoza. México D.F. México.
 30. Ramírez-Carrillo, H.F.; Luna-Pabello, V.M. y Durán-de-Bazúa, C. 1998. **Procedimiento para tratar aguas residuales**. Patente Núm. 9810668. Otorgada en septiembre de 2002. Solicitud de Registro: Noviembre 26, 1998. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. Dirección Divisional de Patentes. México D.F. México.
 31. Rivera, F., Calderón, A. 1993. Biotratamiento de aguas. Información Científica y Tecnológica. CONACYT. Vol. 15, No. 203, pp. 12-15.
 32. Rodríguez-Cruz, A.; Varela-Montellano, E. 2002. Informe de servicio social. Premio Nacional Comunitario. UNAM, Facultad de Estudios Superiores, Zaragoza. México D.F. México.
 33. Rodríguez-Cruz, Varela-Montellano. 2003. Comportamiento dinámico de dos sistemas de tratamiento de aguas residuales de tipo humedal artificial de flujo horizontal y vertical. Tesis Profesional, Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México D.F., México.
 34. Simmons, I G. 1982. Ecología y recursos naturales. Ed. Omega. Barcelona, España.
 35. Snow, J. 2000. UCLA School of Public Health. On the mode of communication of cholera. UCLA (Website). Accessed.
 36. Soto-Esquivel, M.G. 1997. Tratamiento terciario de aguas residuales agroindustriales mediante el uso de reactores con plantas hidrofíticas flotantes (*Hydrocotyle ranunculoides*). Tesis Profesional. Ingeniería Química. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
 37. Soto-Esquivel, M.G. 2003. Efecto de la generación de oxígeno fotosintético en un sistema sólido-líquido-gas. Tesis de Maestría en Ingeniería (Ambiental). Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. México D.F. México.
 38. SSA. 1998. Manual de saneamiento agua, vivienda y desechos. Dirección de Sanidad, Secretaría de Salubridad y Asistencia. Ed. Limusa México D.F. México.
 39. The University of Wisconsin Press. 1985. El hombre en el medio ambiente vivo. Ed. Continental. Wisconsin. EEUA.
 40. UN. 1997a. United Nations Department for Policy Coordination and Sustainable Development. Critical trends: Global change and sustainable development. Nueva York, EEUA.
 41. UN. 1997b. United Nations Department of Public Information. Five years after Rio: Where do we stand? (Earth Summit +5 Fact Sheet). Nueva York, EEUA.
 42. UNDP. 1998. United Nations Development Programme. Human Development Report. Nueva York, EEUA.
 43. WHO. 1997. World Health Organization. Health and environment in sustainable development. Five years after the Earth summit. 242 p. Ginebra, Suiza.
- Páginas de las redes internacionales (INTERNET, en inglés)
- o <http://www.ecoport.net/temas/agua.htm>
 - o <http://www.geocities.com/jalarab>
 - o <http://www.agpublications.tamu.edu/pbs/eng/14230s.pdf>
 - o <http://tierra.rederis.es>
 - o <http://pb.merck.de/servlet/PB/show/1220650/bz105465s.pdf>
-
-