

01190
3



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
(INGENIERÍA AMBIENTAL)

“EFECTO DEL AMONIACO EN LA ESTABILIZACIÓN
ALCALINA DE LODOS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN INGENIERÍA

PRESENTA:

M. en Ing. Química. Juan Manuel Méndez Contreras

Directora de tesis
Dra. Blanca E. Jiménez Cisneros

Ciudad Universitaria, junio de 2003

UNAM
DOCTORADO
Ingeniería

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

RESUMEN

En México, los lodos fisicoquímicos contienen altos niveles de microorganismos patógenos. La estabilización alcalina es una alternativa para su control, sin embargo, los olores ocasionados principalmente por la generación de amoniaco durante el proceso representan un inconveniente. No obstante, el NH_3 es un desinfectante efectivo. Por ello, en este trabajo se intenta demostrar que el amoniaco puede representar una alternativa de tratamiento de lodos y que además puede ser utilizado para incrementar la eficiencia de la estabilización alcalina si se reusa en el proceso en lugar de descargarlo al ambiente.

Los lodos utilizados en el estudio se obtuvieron de una planta de tratamiento fisicoquímico de aguas residuales donde se ha demostrado la presencia de altos niveles de patógenos. Su estabilización se realizó en dos equipos; un reactor de cierre hermético con capacidad de 2 L, el cual, se utilizó en las primeras tres etapas de experimentación para impedir la volatilización del amoniaco y que en la cuarta y quinta etapas simuló un sistema cerrado que reaprovecha el amoniaco. Además, se utilizó un equipo de agitación mecánica (prueba de jarras) para las pruebas en sistemas abiertos llevadas a cabo en la cuarta etapa.

Inicialmente, la primera etapa de experimentación se realizó para evaluar únicamente el poder desinfectante del NH_3 en lodos. Para ello, se aplicaron dosis de 10 a 50% m/m de una solución grado reactivo de NH_4OH al 28 – 30% vol/vol con pH de 13. Los resultados indicaron que el amoniaco inactiva significativamente los coliformes fecales y la *Salmonella* spp. (7 y 5 log, respectivamente) así como a los huevos de helmintos (94%). A partir del análisis estadístico se seleccionó a la dosis de 20% para el tratamiento de los lodos. En la segunda etapa se evaluó el efecto del tiempo de contacto. Se aplicó a 2 litros de lodo una dosis de 20% m/m de NH_3 y se analizó su efecto a los 30, 60, 90 y 120 min. Los mejores resultados de inactivación se obtuvieron con 2 h para los huevos de helmintos, coliformes fecales y *Salmonella* spp, también se observó que tiempos de contacto superiores a 24 h no producen cambios significativos en la inactivación alcanzada con 2 h por lo que no existe el recrecimiento bacteriano. Para evaluar el efecto de la combinación de la temperatura con la dosis de amoniaco (tercera etapa), se adicionaron dosis de 10 y 20% m/m y los tratamientos se

realizaron a 20, 30, 40 y 50 °C durante dos horas.; los coliformes fecales y la *Salmonella ssp.* reducen su concentración hasta menos de 2 unidades log y menos de 1 log, respectivamente, con dosis de 10% de NH₃ a 40 °C y los huevos de helmintos disminuyeron hasta en un 100% cuando se utilizó una dosis de 20% de NH₃ a 50 °C. Se comprobó que la inactivación de microorganismos aumenta cuando mayor es el producto de ambas variables (producto DT).

Además, en la cuarta etapa se comparó la inactivación de microorganismos indicadores y patógenos en sistemas abiertos y cerrados en la estabilización de lodos con cal. Los tratamientos se realizaron con 5 a 40% m/m de CaO (cal viva con 81.5% de CaO) y un volumen de dos litros de lodo. Al final de cada tratamiento se evaluó la calidad fisicoquímica (pH, temperatura, sólidos totales, volátiles, fijos y N-NH₃) y microbiológica (coliformes fecales, *Salmonella spp.* y huevos de helmintos) de los lodos. Se demostró que efectivamente los sistemas cerrados son más eficientes en la inactivación de microorganismos, debido a que el producto DT tuvo valores superiores a los determinados en los sistemas abiertos. Los requerimientos de CaO pueden reducirse hasta en 5% para lograr la producción de biosólidos. Finalmente, se evaluó el efecto de la recirculación de NH₃ al proceso de estabilización alcalina. Las dosis de CaO utilizadas fueron, 5, 10 15 y 20%. A cada una de éstas, se añadieron dosis de 5, 10 y 15% m/m de NH₃. Los resultados demostraron que los coliformes fecales y la *Salmonella spp.* reducen su concentración hasta menos de 3 NMP/g de ST con dosis de 10% de CaO más 10% de NH₃ y la concentración de huevos de helmintos viables disminuyó hasta 5 HH/g de ST con dosis de 20% de CaO más 15% de NH₃. En general, se determinó que es posible incrementar la destrucción de microorganismos patógenos si se recircula el amoníaco producido, requiriendo para ello dosis de CaO menores a 20% m/m.

Los resultados obtenidos contribuyen al mejor conocimiento del efecto del NH₃ en la inactivación de microorganismos patógenos y en el proceso de estabilización alcalina. Su recirculación puede reducir los costos del proceso convencional hasta en un 25% por requerimientos de CaO.

ABSTRACT

In Mexico, sludge contains high levels of pathogens that must be inactivated if the sludge is going to be reused. Alkaline stabilization is an alternative for their control but the odours caused mainly by ammonia generation represent a disadvantage. On the other hand, the ammonia is known as an effective disinfectant. This study intends to demonstrate that ammonia can be an alternative of sludge treatment and also can be used to increase the efficiency of the alkaline stabilization process by its reuse instead of its release to the atmosphere.

In this study, raw sludge from a municipal wastewater treatment plant using a physicochemical process was used. Its stabilization in a closed system was carried out using a hermetically closed 2-litre reactor. The simulation of the alkaline stabilisation process in open systems was performed in a jar test apparatus. In addition, ammonia was studied as an alternative sludge disinfectant by applying NH_4OH .

Ammonia was applied in doses from 10 to 50% w/w using a solution of 28 – 30% v/v NH_4OH with a pH of 13. Results showed that ammonia removed 7 and 5 logs of faecal coliforms and *Salmonella spp.*, respectively and up to 94% of viable helminth ova. From statistical analysis, the dose of 20% was selected for sludge disinfection. In the second stage, the effect of contact time was evaluated applying 20% w/w of ammonia into sludge. At the end of each one of the four contact times (30, 60, 90 and 120 minutes) samples were taken for microbial analyses. 2 hours was the time that showed the best results for microbial inactivation. Moreover, times higher than 24 h did not produce significant changes in efficiencies reached after 2 h, there was no apparent bacterial regrowth in the alkaline process. In the third stage, the combined effect of the ammonia and different temperatures was studied. In this case, 10% and 20% of ammonia was directly applied to the sludge and the treatments were carried out at 20, 30, 40 and 50 °C during 2 hours. The density of faecal coliforms and *Salmonella spp.* was reduced below 2 and 1 logs, respectively, with 10% of ammonia and 40 °C. The helminth ova concentration decreased in 100% by applying 20% of ammonia with 50 °C. It was demonstrated that the reduction of the microorganisms increases when both parameters increased (dose-temperature DT product).

The fourth stage evaluated the microbial reduction comparing lime stabilisation in open and closed systems, analysing the requirements of lime on each case to achieve similar results. Doses from 5 to 40% of CaO were applied in open and closed systems and raw and treated sludge quality was evaluated. Because the value of the DT product was superior in the closed system, this was more efficient. The requirements of CaO can be reduced up to 5% to produce biosolids when closed systems are used. Finally, the effect of the ammonia recirculation in the lime stabilisation was analyzed. The lime doses applied were 5, 10, 15 and 20% and in each one of these, doses of 5, 10 y 15% of NH₃ were added. Results showed a total reduction in the concentration of faecal coliforms and *Salmonella spp.* when 10/10% of CaO/NH₃ were used. Also, viable helminth ova concentration decreased to 5 ova/g TS after the addition of 20/15% of CaO/NH₃. It was determined that the destruction of microorganisms can be significantly increased by ammonia recirculation; requiring doses lower than 20% w/w.

The obtained results contribute to the best knowledge of the ammonia effect in the destruction of pathogens contained in sludge as well as in the alkaline stabilization process. Its recirculation can reduce the costs of the conventional process up to 25% as a result of a lower lime dose.

AGRADECIMIENTOS

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recopional.

NOMBRE: Juan Manuel Méndez Contreras

FECHA: 24/06/03

FIRMA: 

A mi asesora:

Dra. Blanca Elena Jiménez Cisneros, por todo su apoyo y la orientación brindados en la realización de este trabajo de tesis. Gracias por siempre.

A los miembros de mi jurado doctoral:

Dr. Germán Buitrón Méndez

Dra. Rosario Iturbe Argüelles

Dra. Blanca Jiménez Cisneros

Dr. Enrique Cifuentes López

Dra. Gabriela Moeller

Dra. Petia Mijaylova

Dr. Alfonso Duran Moreno

Por su valiosa aportación para la culminación del presente trabajo.

Al **Instituto de Ingeniería de la UNAM**, por permitirme desarrollar mi trabajo de tesis en los proyectos 9346 y 2310.

DEDICO ESTE TRABAJO A:

Mi hijo, **JUAN MANUEL**, por quién conocí el milagro de la vida y el amor que puede llegar a sentir un padre. Nunca quise estar ausente hijo. Te amo.

ROSALBA, por su apoyo y paciencia mientras duró.

Mis padres, **JUAN MANUEL** y **VIRGINIA**, quienes me dieron la vida y me han apoyado siempre incondicionalmente.

Mis hermanos, **GONZALO**, **MERCEDES** y **GUILLERMO**, por compartir momentos importantes y alentarme siempre a seguir adelante.

Mis cuñados, **ANA LILIA**, **GERARDO**.

Mis sobrinos, **ANA KARINA**, **GERARDO** y **EDGAR**.

CATALINA MAYA RENDÓN y todo su equipo de microbiología, sin ustedes no hubiera sido posible este trabajo de tesis.

SALVADOR SANTOS MENDOZA, un ejemplo de profesionalismo para mí. Te debía una, amigo.

FÉLIX, **JAVIER** y **DAVID**, mis grandes amigos.

GERMÁN SALGADO, **MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ**, **ABELARDO RODRIGUEZ**, **ANTONIO GONZÁLEZ**, **NORMA BELTRAN** y **JONATHAN MAGAÑA** por su apoyo incondicional durante la realización de esta tesis.

A **OCTAVIO MARTÍNEZ FLORES**, por ofrecerme su hogar y compartir momentos difíciles.

A **JOSÉ ANTONIO BARRIOS PÉREZ**, por todo su apoyo técnico y moral durante mi desarrollo doctoral. Gracias amigo.

CONTENIDO	Página
RESUMEN	i
ABSTRAC	iii
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE TABLAS	xviii
LISTA DE FOTOGRAFÍAS	xxiii
NOMENCLATURA	xxiv
OBJETIVO Y METAS	xxvii
INTRODUCCIÓN	xxviii
1 ANTECEDENTES	2
1.1 Generación, tratamiento y manejo de lodos.....	2
1.1.1 Países de la Unión Europea	3
1.1.2 Países de Europa del este.....	5
1.1.3 Continente Asiático	6
1.1.4 Continente Africano	7
1.1.5 Continente Americano.....	7
1.2 Problemática de los lodos en México.	8
1.2.1 Infraestructura de tratamiento de aguas residuales en México.....	8
1.2.2 Aspectos normativos.	9
1.2.3 Calidad de los lodos en México.....	11
1.3 Aspectos microbiológicos.	12
1.4 Estabilización alcalina de lodos como alternativa de solución.	15
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	18
2.1 Estabilización alcalina.....	18
2.2 Objetivos de la estabilización alcalina	19
2.3 Aplicabilidad	19

2.4	Ventajas y desventajas de la estabilización alcalina.....	20
2.4.1	Ventajas	20
2.4.2	Desventajas	21
2.4.3	Requerimientos de materiales alcalinos	21
2.5	Química de la estabilización alcalina.....	23
2.5.1	Generación de calor	23
2.5.2	Olores	24
2.5.3	Inmovilización de metales	25
2.5.4	Materia orgánica e inorgánica	26
2.6	Procesos de estabilización alcalina comúnmente utilizados.	26
2.6.1	Pre-estabilización alcalina de lodos.....	27
2.6.2	Pos – estabilización alcalina de lodos.....	27
2.7	Importancia de la generación de NH₃.....	29
2.7.1	Usos industriales del amoniaco	29
2.7.2	Poder desinfectante del amoniaco	30
2.7.3	Propuesta para la estabilización alcalina de lodos.....	31
3	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	34
3.1	Etapas generales de los estudios de estabilización.....	34
3.1.1	Obtención de los lodos a estabilizar	35
3.1.2	Estudios de estabilización alcalina de lodos.....	39
3.1.2.1	Primera etapa: Efecto de la dosis de NH ₃ en la estabilización alcalina de lodos	39
3.1.2.2	Segunda etapa: Efecto del tiempo de contacto en la estabilización de lodos con amoniaco	42
3.1.2.3	Tercera etapa: Efecto de la temperatura en la estabilización de lodos con amoniaco	43
3.1.2.4	Cuarta etapa: Comparación de la estabilización alcalina de lodos en sistemas abiertos y cerrados	44
3.1.2.5	Quinta etapa: Evaluación del efecto de la recirculación de NH ₃ en el proceso de estabilización con CaO.....	46
3.1.3	Evaluación de la calidad de los lodos estabilizados	47
4	RESULTADOS.....	50
4.1	Primera etapa de experimentación: Efecto de la dosis de NH₃ en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos.....	50
4.1.1	Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 10, 20, 30, 40 y 50 % m/m de NH ₃	50
4.1.1.1	pH	50

4.1.1.2	Coliformes fecales	51
4.1.1.3	<i>Salmonella spp.</i>	52
4.1.1.4	Huevos de helmintos	54
4.1.2	Discusión de Resultados (Primera etapa)	58
4.2	Segunda etapa de experimentación: Efecto del tiempo de contacto en la estabilización de lodos fisicoquímicos con amoniaco	63
4.2.1	Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 20% de NH ₃ y tiempos de contacto de 0.5, 1, 1.5 y 2 h.....	63
4.2.1.1	Coliformes fecales.....	63
4.2.1.2	<i>Salmonella spp.</i>	65
4.2.1.3	Huevos de helmintos	66
4.2.1.4	Estudios de recrecimiento.....	68
4.2.2	Discusión de resultados (segunda etapa)	70
4.3	Tercera etapa de experimentación: Efecto de la temperatura en la estabilización de lodos con amoniaco.....	73
4.3.1	Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 20 % de NH ₃ a 20, 30, 40 y 50 °C	73
4.3.1.1	Coliformes fecales.....	73
4.3.1.2	<i>Salmonella spp.</i>	76
4.3.1.3	Huevos de helmintos	79
4.3.2	Discusión de resultados (tercera etapa)	81
4.4	Cuarta etapa de experimentación: Comparación de la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos en sistemas abiertos y cerrados.....	84
4.4.1	Lodos fisicoquímicos de San Pedro Atocpan estabilizados con 5, 10, 15, 20, 30 y 40 % m/m de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	84
4.4.1.1	Coliformes fecales.....	84
4.4.1.2	<i>Salmonella spp.</i>	87
4.4.1.3	Huevos de helmintos	90
4.4.1.4	pH	95
4.4.1.5	Temperatura.....	95
4.4.1.6	Nitrógeno amoniacal (N-NH ₃).....	96
4.4.1.7	Metales Pesados.....	97
4.4.2	Discusión de resultados (cuarta etapa)	99
4.5	Quinta etapa de experimentación: Evaluación del efecto de la recirculación de NH₃ en el proceso de estabilización con CaO.....	104
4.5.1	Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con CaO y recirculación de NH ₃	104
4.5.1.1	Coliformes fecales	104
4.5.1.2	<i>Salmonella spp.</i>	107
4.5.1.3	Huevos de helmintos	109
4.5.2	Discusión de resultados (quinta etapa)	111
4.5.3	Aspectos económicos	111

5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	113
5.1	Conclusiones.....	113
5.2	Investigaciones futuras.....	115
6	REFERENCIAS	117
7	Anexo A. “Bases de datos”.....	125
7.1	Resultados de la primera etapa de experimentación.....	125
7.2	Resultados de la segunda etapa de experimentación.....	126
7.3	Resultados de la tercera etapa de experimentación	128
7.4	Resultados de la cuarta etapa de experimentación.	129
7.5	Resultados de la quinta etapa de experimentación	131
8	Anexo B “Técnicas analíticas”.	134
8.1	Sólidos Totales en muestras semisólidas (APHA, AWWA Y WEF 2540B)	134
8.1.1	Procedimiento.....	134
8.1.2	Cálculos:	134
8.2	Sólidos Volátiles Totales (APHA, AWWA Y WEF 2540E)	134
8.2.1	Procedimiento:.....	134
8.2.2	Cálculos:	134
8.3	Método para la cuantificación de coliformes fecales en lodos (9221 E SM).....	135
8.3.1	Principio del método.....	135
8.3.2	Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra	135
8.3.3	Reactivos y materiales	136
8.3.3.1	Reactivos:	136
8.3.3.2	Aparatos e instrumentos	136
8.3.4	Procedimiento.....	137
8.3.4.1	Caldo lauril-triptosa con púrpura de bromocresol (C.L.T.).....	137
8.3.4.2	Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (C.L.).....	137
8.3.4.3	Medio líquido A-1	138
8.3.4.4	Medio EC.....	138
8.3.4.5	Solución madre de tampón A:	139
8.3.4.6	Solución madre de tampón B:	139

8.3.4.7	Solución tampón de fosfatos (agua de dilución)	139
8.3.4.8	Solución de hidróxido de sodio 0,1 N	139
8.3.4.9	Solución de hidróxido de sodio 1 N	140
8.3.5	Calibración de aparatos	140
8.3.6	Seguridad	140
8.3.7	Manejo de residuos	140
8.3.8	Preparación de la muestra	140
8.3.9	Preparación de diluciones	140
8.3.10	Determinación de coliformes fecales	141
8.3.10.1	Prueba directa (medio A-1)	141
8.3.11	Cálculos	141
8.3.12	Expresión de resultados	142
8.4	Método para la cuantificación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos (9221 B SM)	142
8.4.1	Principio del método	142
8.4.2	Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra	143
8.4.3	Reactivos y materiales	143
8.4.3.1	Reactivos	143
8.4.3.2	Materiales	144
8.4.4	Aparatos e instrumentos	144
8.4.5	Procedimiento	144
8.4.5.1	Caldo tetrionato	145
8.4.5.2	Caldo selenito cistina	145
8.4.5.3	Agar sulfito de bismuto	145
8.4.5.4	Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)	146
8.4.5.5	Agar verde brillante (VB)	146
8.4.5.6	Agar S.S.	147
8.4.5.7	Agar nutritivo**	148
8.4.5.8	Agar triple azúcar hierro (TSI)	148
8.4.5.9	Agar hierro lisina (LIA)	148
8.4.5.10	Solución madre de tampón A:	149
8.4.5.11	Solución madre de tampón B:	149
8.4.5.12	Solución tampón de fosfatos (agua de dilución)	149
8.4.5.13	Solución de hidróxido de sodio 0.1 N	150
8.4.5.14	Solución de hidróxido de sodio 1 N	150
8.4.5.15	Solución de yodo yoduro	150
8.4.6	Calibración de aparatos	150
8.4.7	Seguridad	150
8.4.8	Manejo de residuos	151
8.4.9	Preparación de la muestra	151
8.4.10	Enriquecimiento	151
8.4.11	Preparación de diluciones	151
8.4.12	Aislamiento e identificación bioquímica de <i>Salmonella</i>	152
8.4.13	Cálculos	152
8.4.14	Expresión de resultados	153
8.4.15	Informe de prueba	153

8.5	Método para la cuantificación de huevos de helmintos en lodos (de anexo de PROY-NOM-004-ECOL-2001)	154
8.5.1	Principio	154
8.5.2	Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra	154
8.5.3	Reactivos y materiales	155
8.5.3.1	Reactivos	155
8.5.3.2	Aparatos y/o instrumentos	156
8.5.4	Procedimiento	156
8.5.5	Calibración de aparatos	157
8.5.6	Seguridad	157
8.5.7	Manejo de residuos	157
8.5.8	Concentración y separación de los huevos de helminto	157
8.5.9	Determinación de viabilidad y lectura al microscopio	159
8.5.10	Cálculos	159
8.5.11	Expresión de resultados	160
8.5.12	Interferencias	160
8.5.13	Informe de prueba	160
8.6	Ensayo para valorar una solución de Hidróxido de amonio	161
8.7	Apariencia de la solución de Hidróxido de amonio	161
9	Anexo C. “Análisis estadístico de datos”	163
9.1	Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la primera etapa de experimentación	163
9.1.1	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales con amoniaco	163
9.1.2	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción de coliformes fecales	164
9.1.3	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> con amoniaco	165
9.1.4	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción de <i>Salmonella spp.</i>	166
9.1.5	Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos con amoniaco	167
9.1.6	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción de huevos de helmintos	168
9.2	Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la segunda etapa de experimentación	170
9.2.1	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con amoniaco y diferentes tiempos de contacto	170
9.2.2	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción coliformes fecales	171

9.2.3	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con amoniaco y diferentes tiempos de contacto.....	172
9.2.4	Determinación de las pruebas de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en inactivación de <i>Salmonella spp.</i> a diferentes tiempos de contacto.	173
9.2.5	Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con amoniaco y diferentes tiempos de contacto.....	174
9.2.6	Determinación de las prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en inactivación de huevos de helmintos a diferentes tiempos de contacto.....	175
9.3	Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la tercera etapa de experimentación.....	176
9.3.1	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con amoniaco y diferentes temperaturas.	176
9.3.2	Determinación de las prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la inactivación de coliformes fecales a diferentes temperaturas.	177
9.3.3	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con amoniaco y diferentes temperaturas.	179
9.3.4	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la inactivación de <i>Salmonella spp.</i> a diferentes temperaturas.....	180
9.3.5	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de huevos de helmintos en lodos tratados con amoniaco y diferentes temperaturas.....	182
9.3.6	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la remoción de huevos de helmintos a diferentes temperaturas.....	183
9.4	Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la cuarta etapa de experimentación.....	185
9.4.1	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados.	185
9.4.2	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la inactivación de coliformes fecales en la estabilización con cal.....	186
9.4.3	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados.	188
9.4.4	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en la estabilización con cal.	190
9.4.5	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de Huevos de helmintos en lodos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	192
9.5	Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la quinta etapa de experimentación.....	194
9.5.1	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con CaO y recirculación de amoniaco.....	194

9.5.2	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de coliformes fecales en la estabilización de lodos con cal y amoniaco.....	195
9.5.3	Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con CaO y recirculación de amoniaco.....	198
9.5.4	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de <i>Salmonella spp.</i> en la estabilización de lodos con cal y amoniaco.....	199
9.5.5	Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con CaO y recirculación de amoniaco.....	202
9.5.6	Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de huevos de helmintos en la estabilización de lodos con cal y amoniaco.	203

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1.1 Producción de lodos en países de la comunidad Europea.....	3
Figura 1.2 Uso y depósito de lodos en la unión europea y proyección al año 2005	5
Figura 1.3 Producción de lodos en países de Europa del Este	6
Figura 1.4 Uso y disposición de lodos en los Estados Unidos en 1998	8
Figura 1.5 Concentración de metales pesados en lodos del Distrito Federal	12
Figura 2.1 Dependencia del porcentaje de conversión de NH_4 a NH_3 con el pH.....	24
Figura 2.2 Pre - estabilización alcalina de lodos	27
Figura 2.3 Post - estabilización alcalina de lodos	28
Figura 2.4 Estabilización alcalina de lodos en sistemas cerrados con recirculación de amoníaco.....	31
Figura 3.1 Diagrama de obtención de lodos estabilizados	35
Figura 3.2 Diagrama de flujo de la planta de San Pedro Atocpan.....	36
Figura 3.3 Disposición de la planta de San Pedro Atocpan	37
Figura 4.1 Remoción de coliformes fecales en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3	51
Figura 4.2 Remoción de <i>Salmonella</i> spp. en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3	53
Figura 4.3 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3	55
Figura 4.4 Remoción de <i>Ascaris</i> spp. en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3	56
Figura 4.5 Remoción de otros géneros de huevos de helmintos viables en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3	58
Figura 4.6 Posible mecanismo de inactivación de bacterias por el amoníaco.....	60
Figura 4.7 Efecto de tiempo de contacto en la remoción de coliformes fecales en lodos físicoquímicos tratados con 20% de NH_3	64

Figura 4.8 Efecto de tiempo del contacto en la remoción de <i>Salmonella spp.</i> en lodos fisicoquímicos tratados con 20% de NH ₃	65
Figura 4.9 Efecto del tiempo de contacto en huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con 20% de NH ₃	67
Figura 4.10 Efecto de tiempos de contacto prolongados en la remoción de huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos estabilizados con 20% de NH ₃	69
Figura 4.11 Efecto de la temperatura en la remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH ₃	74
Figura 4.12 Inactivación de coliformes fecales (respuesta) contra temperatura.....	75
Figura 4.13 Efecto de la temperatura en la inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH ₃	77
Figura 4.14 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> (respuesta) contra temperatura.....	78
Figura 4.15 Efecto de la temperatura en huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH ₃	80
Figura 4.16 Remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	85
Figura 4.17 Inactivación de coliformes fecales (respuesta) contra dosis de CaO.....	86
Figura 4.18 Remoción de <i>Salmonella spp.</i> en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	88
Figura 4.19 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> (respuesta) contra dosis de CaO.....	89
Figura 4.20 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	90
Figura 4.21 Eficiencia de inactivación de huevos de helmintos (respuesta) contra dosis de CaO.....	91
Figura 4.22 Remoción de <i>Ascaris spp.</i> en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	92
Figura 4.23 Efecto de la dosis de 10% de CaO en <i>Ascaris spp.</i>	93
Figura 4.24 Efecto de la dosis de 15% de CaO en <i>Ascaris spp.</i>	93
Figura 4.25 Remoción de otros géneros de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	94

Figura 4.26 Temperatura obtenida en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	96
Figura 4.27 Nitrógeno amoniacal en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	97
Figura 4.28 Metales pesados determinados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO.....	98
Figura 4.29 Posible mecanismo de inactivación de bacterias por el CaO.....	103
Figura 4.30 Remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH ₃	105
Figura 4.31 Remoción de <i>Salmonella ssp.</i> en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH ₃	107
Figura 4.32 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH ₃	109

Tabla 1.1 Generación de lodos por diversos procesos de tratamiento de aguas residuales.....	2
Tabla 1.2 Procesos de estabilización de lodos (en porcentaje) empleados en algunos países de la Unión Europea	4
Tabla 1.3 Valores máximos permisibles de microorganismos en biosólidos según la US EPA y el Proyecto NOM-004-ECOL-2001	10
Tabla 1.4 Valores máximos permisibles de metales pesados en biosólidos según la US EPA y el Proyecto NOM-004-ECOL-2001.....	11
Tabla 1.5 Aprovechamiento de biosólidos	11
Tabla 1.6 Concentración de microorganismos en lodos crudos (1)	13
Tabla 1.7 Concentración de microorganismos en lodos crudos (2)	14
Tabla 1.8 Comparación de la inactivación de bacterias mediante estabilización alcalina, digestión anaerobia, elaboración de composta y digestión aerobia.....	16
Tabla 2.1 Características de la cal viva e hidratada.....	18
Tabla 2.2 Compuestos alcalinos utilizados para la estabilización de lodos	19
Tabla 2.3 Requerimientos de cal para alcanzar un valor de pH de 12 y mantenerlo durante 30 minutos	21
Tabla 2.4 Dosis recomendada de cal para diferentes tipos de lodo.....	22
Tabla 2.5 Dosis mínimas de cal viva para elevar el pH a más de 12 después de dos horas de contacto en lodos fisicoquímicos.....	22
Tabla 3.1 Condiciones de operación de la planta de San Pedro Atocpan	36
Tabla 3.2 Características del NH ₃ utilizado en los estudios de estabilización	39
Tabla 3.3 Criterios de mezclado empleados para la estabilización de lodos con NH ₃	40
Tabla 3.4 Diseño experimental para determinar el efecto de la dosis de NH ₃ en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos.....	41
Tabla 3.5 Diseño experimental para determinar el efecto del tiempo de contacto en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos.....	42

Tabla 3.6 Diseño experimental para determinar el efecto de la temperatura en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos.....	43
Tabla 3.7 Composición de la cal viva utilizada en los estudios de estabilización	44
Tabla 3.8 Diseño de experimentos para determinar el efecto de la dosis de CaO y el tipo de sistema en la estabilización alcalina de lodos.....	46
Tabla 3.9 Diseño experimental para determinar el efecto de la incorporación de NH ₃ en la estabilización con CaO de lodos fisicoquímicos	47
Tabla 3.10 Parámetros de evaluación	48
Tabla 4.1 Valores de pH alcanzados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH ₃	50
Tabla 4.2 Géneros de huevos de helmintos determinados en lodos fisicoquímicos crudos	54
Tabla 4.3 Resumen de resultados de la primera etapa de experimentación	59
Tabla 4.4 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom obtenidos en la primera etapa de experimentación.....	62
Tabla 4.5 Resumen de resultados de la segunda etapa de experimentación.....	70
Tabla 4.6 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom obtenidos en la segunda etapa de experimentación.....	71
Tabla 4.7 Valor de la constante <i>k</i> del modelo de Hom obtenida en la primera y segunda etapa de experimentación	72
Tabla 4.8 Resumen de la estimación de parámetros cinéticos para el modelo de Hom.....	83
Tabla 4.9 Géneros de huevos de helmintos viables determinados en lodos de San pedro Atocpan en los experimentos con diferentes dosis de CaO.....	92
Tabla 4.10 Valores de pH alcanzados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	95
Tabla 4.11 Metales pesados determinados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO	98
Tabla 4.12 Resumen de resultados de la cuarta etapa de experimentación	99
Tabla 4.13 Relación de la inactivación de coliformes fecales de la estabilización alcalina con la inactivación producida por el producto (DT).....	100

Tabla 4.14 Relación de la inactivación de huevos de helmintos de la estabilización alcalina con la inactivación producida por el producto (DT)	101
Tabla 4.15 Resumen de la estimación de parámetros cinéticos para el modelo de Hom (cuarta etapa)	102
Tabla 4.16 Consumo de reactivos para los procesos evaluados	111
Tabla 7.1 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con amoniaco	125
Tabla 7.2 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> en lodos estabilizados con amoniaco.....	125
Tabla 7.3 Resultados de huevos de helmintos en lodos tratados con amoniaco	126
Tabla 7.4 Resultados de coliformes fecales con 20 % de NH ₃ y diferentes tiempos de contacto.....	126
Tabla 7.5 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> con 20 % de NH ₃ y diferentes tiempos de contacto.....	127
Tabla 7.6 Resultados de huevos de helmintos con 20% de NH ₃ y diferentes tiempos de contacto.....	127
Tabla 7.7 Resultados de coliformes fecales con diferentes dosis de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	128
Tabla 7.8 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> con diferentes con NH ₃ y diferentes temperaturas.....	128
Tabla 7.9 Resultados de huevos de helmintos en lodos tratados con NH ₃ y diferentes temperaturas.....	129
Tabla 7.10 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos	129
Tabla 7.11 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados.....	129
Tabla 7.12 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos	130
Tabla 7.13 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados.....	130
Tabla 7.14 Resultados de huevos de helmintos en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos	130

Tabla 7.15 Resultados de huevos de helmintos en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados	131
Tabla 7.16 Resultados de coliformes fecales para las pruebas de recirculación de NH ₃	131
Tabla 7.17 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> para las pruebas de recirculación de NH ₃	132
Tabla 7.18 Resultados de huevos de helmintos para las pruebas de recirculación de NH ₃	132
Tabla 7.19 Resultados de <i>Salmonella spp.</i> para las pruebas de recirculación de NH ₃ (Continuación).....	132
Tabla 9.1 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con NH ₃	163
Tabla 9.2 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes dosis de NH ₃	163
Tabla 9.3 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> obtenidas en los tratamientos de lodos con NH ₃	165
Tabla 9.4 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> con diferentes dosis de NH ₃	166
Tabla 9.5 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con NH ₃	168
Tabla 9.6 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de huevos de helmintos con diferentes dosis de NH ₃	168
Tabla 9.7 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto	170
Tabla 9.8 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes tiempos de contacto.....	170
Tabla 9.9 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto	172
Tabla 9.10 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> con diferentes tiempos de contacto.....	172
Tabla 9.11 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto	174
Tabla 9.12 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos con diferentes tiempos de contacto.....	174

Tabla 9.13 Inactivación de coliformes fecales obtenida en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	176
Tabla 9.14 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	177
Tabla 9.15 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> obtenida en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	179
Tabla 9.16 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	180
Tabla 9.17 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas	182
Tabla 9.18 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con 10 y 20% de NH ₃ y diferentes temperaturas.....	183
Tabla 9.19 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados.....	185
Tabla 9.20 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas Abiertos y Cerrados.....	186
Tabla 9.21 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> obtenida en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en ambos sistemas	189
Tabla 9.22 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de <i>Salmonella spp.</i> en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en ambos sistemas	189
Tabla 9.23 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados	193
Tabla 9.24 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas Abiertos y Cerrados.....	193
Tabla 9.25 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH ₃	194
Tabla 9.26 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes dosis de CaO/NH ₃	195
Tabla 9.27 Inactivación de <i>Salmonella spp.</i> obtenida en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH ₃	198

Tabla 9.28 Análisis de varianza para el experimento inactivación de <i>Salmonella</i> spp. con diferentes dosis de CaO/NH ₃	199
Tabla 9.29 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH ₃	202
Tabla 9.30 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos con diferentes dosis de CaO/NH ₃	202

LISTA DE FOTOGRAFÍAS

Página

Fotografía 3.1 Espesadores de la planta de tratamiento de San Pedro Atocpan.....	38
Fotografía 3.2 Registro de extracción de lodos de la planta de San Pedro Atocpan	38
Fotografía 3.3 Fermentador de cierre hermético “Sistema cerrado”.....	40
Fotografía 3.4 Equipo de Jarras “Sistemas abiertos”	45
Fotografía 4.1 Efecto de la dosis de 10% de NH ₃ en <i>Ascaris</i> spp.	57
Fotografía 4.2 Efecto de la dosis de 15% de amoniaco en <i>Ascaris</i> spp.	57

NOMENCLATURA

Aprovechamiento. Uso de los biosólidos como mejoradores de los suelos por su contenido de materia orgánica y nutrientes, o en cualquier actividad que represente un beneficio.

Ascariasis. Infestación por parásitos intestinales o helmintos de la especie llamada *Ascaris Lumbricoides*.

Bacteria. Microorganismo unicelular sin núcleo, que puede causar enfermedad.

Bacteriófago. Tipo especial de enterovirus que se caracteriza por infectar bacterias del intestino humano.

Biosólidos. Lodos que han sido sometidos a procesos de estabilización y que por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización puedan ser susceptibles de aprovechamiento.

Coliformes fecales. Bacterias presentes en el intestino de animales de sangre caliente y humanos. Bacilos cortos Gram negativos no esporulados, también conocidos como coliformes termotolerantes. Pueden identificarse por su tolerancia a temperaturas de 44°C - 45° C. Tienen la capacidad de fermentar la lactosa a temperatura de 44,5°C. Incluyen al género *Escherichia* y algunas especies de *Klebsiella*.

Digestión aerobia. Es la transformación bioquímica de la materia orgánica presente en los lodos, que es transformada en bióxido de carbono y agua por los microorganismos en presencia de oxígeno

Digestión anaerobia. Es la transformación bioquímica de la materia orgánica presente en los lodos, que es transformada en gas metano, bióxido de carbono y agua por los microorganismos en ausencia de oxígeno disuelto y combinado.

Depósito final. La acción de depositar de manera permanente lodos y biosólidos en sitios autorizados.

Enterovirus. Forman parte de un grupo de virus que se llaman picornaviridae. Su hábitat y lugar de replica es el tracto intestinal humano.

Estabilización. Procesos físicos, químicos y biológicos a los que se someten los lodos para acondicionarlos para su aprovechamiento o disposición final evitando o reducir sus efectos dañinos al medio ambiente.

Estabilización alcalina. Proceso mediante el cual se añade cal viva (óxido de calcio CaO) o cal hidratada (hidróxido de calcio Ca(OH)₂) o equivalentes, a la masa de lodos y biosólidos para elevar el pH y eliminar microorganismos.

Helmintos. Término designado a un amplio grupo de gusanos parásitos (de humanos, animales y vegetales), de vida libre, con forma y tamaños variados. Poseen órganos diferenciados, y sus ciclos vitales comprenden la producción de huevos o larvas, infecciosas o no.

Helmintiasis. Presencia de helmintos en el organismo y conjunto de trastornos que ocasionan.

Huevos de helmintos viables. Huevos de helmintos susceptibles de desarrollarse e infectar.

Lodos. Son sólidos con un contenido variable de humedad, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales, que no han sido sometidos a procesos de estabilización.

Lodos Biológicos o secundarios. Son los lodos generados por la acción de los microorganismos en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales.

Lodos Físicoquímicos. Lodos generados en plantas de tratamiento que utilizan productos químicos para el tratamiento de las aguas residuales.

Mejoramiento de suelos. Aplicación de los biosólidos en terrenos para mejorar sus características físicas, químicas y microbiológicas.

Morbilidad. Número de personas o animales que enferman en lugar y periodo de tiempo determinado por cada 100,000 habitantes.

Mortalidad. Número de defunciones en un lugar y periodo de tiempo determinado por cada 100,000 habitantes.

Parásito. Organismo animal o vegetal que vive sobre o dentro de un individuo de otra especie, del cual obtiene alimento.

Patógeno. Microorganismo capaz de causar enfermedades, si esta presente en cantidad suficiente y condiciones favorables.

Salmonella spp. Bacilos móviles por sus flagelos peritricos, que fermentan de manera característica glucosa y manosa sin producir gas, pero no fermentan lactosa ni sacarosa. La mayoría produce sulfuro de hidrógeno (H₂S). A menudo, son patógenos para el hombre y los animales cuando se ingieren, ocasionando fiebre tifoidea y enterocolitis (conocida también como gastroenteritis).

Sólidos Totales (ST). Son los materiales residuales que permanecen en los lodos y biosólidos, que han sido deshidratados entre 103 °C a 105 °C durante 24 h, hasta alcanzar un peso constante y son equivalentes en base a peso seco.

Sólidos Volátiles (SV). Son los sólidos orgánicos totales presentes en los lodos y biosólidos, que se volatilizan cuando estos se incineran a 550 °C durante 2 h en presencia de aire.

Tratamiento primario avanzado. Tratamiento de aguas residuales en el que se adicionan agentes químicos de precipitación (sulfato de aluminio, cloruro férrico, etc.), combinados con pequeñas cantidades de polímero aniónico.

Virus. Son elementos genéticos que actúan como parásitos celulares especializados.

OBJETIVO Y METAS

OBJETIVO

Demostrar que el poder desinfectante del amoníaco puede utilizarse en lodos como alternativa de tratamiento y para incrementar la eficiencia de la estabilización con cal.

METAS

- Evaluar la influencia del amoníaco en la inactivación de microorganismos patógenos (huevos de helmintos y *Salmonella spp.*) e indicadores (coliformes fecales) en lodos residuales.
- Evaluar la influencia del tiempo de contacto y temperatura en la inactivación con amoníaco de microorganismos indicadores y patógenos contenidos en lodos fisicoquímicos.
- Comparar el uso de sistemas abiertos y cerrados en la estabilización con CaO de lodos residuales.
- Evaluar el efecto de la recirculación de NH_3 al proceso de estabilización de lodos con CaO.

INTRODUCCIÓN

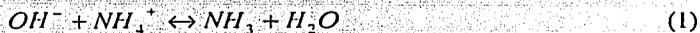
En México, en su mayoría los lodos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales no son tratados, sino comúnmente descargados en los sistemas de alcantarillado, depositados en rellenos sanitarios o enviados a tiraderos. Dichas prácticas pueden ser perjudiciales tanto para la salud como para el medio ambiente por la importante cantidad de contaminantes que los lodos contienen. Afortunadamente, con la publicación del proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-004-ECOL-2001 (Diario Oficial de la Federación, 18 de febrero de 2002) que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para el aprovechamiento y depósito de lodos y biosólidos, las plantas de tratamiento de aguas estarán obligadas a cumplir diversos criterios, y tendrán que implantar y desarrollar tecnologías que produzcan biosólidos que puedan ser reutilizados o bien los hagan aptos para su confinamiento.

En la Ciudad de México, los lodos crudos tienen un alto contenido de microorganismos patógenos, con concentraciones de hasta 150 huevos de helmintos (HH)/g ST (Jiménez *et al.*, 1997 y Jiménez *et al.*, 2000), que rebasan, por mucho, los límites máximos permisibles de normas internacionales así como los contemplados en el proyecto de la SEMARNAT. Más aún, el contenido microbiológico es mucho mayor que el de países desarrollados como Estados Unidos, Italia y Francia los cuales reportan concentraciones de 1 a 13 HH/g ST (Lue-Hing *et al.*, 1992; Ghiglietti *et al.*, 1995 y Gaspard *et al.*, 1997).

El tratamiento de lodos con elevado contenido de patógenos es escasamente abordado por la literatura internacional; sin embargo, es sabido que la producción de biosólidos se puede llevar a cabo a través de diversas tecnologías en su mayoría probadas y reconocidas en países desarrollados (US EPA, 1994). Pero algunas de éstas necesitan demostrar su capacidad para reducir o eliminar aquellos microorganismos (en cantidad y tipo) presentes en lodos de países en vías de desarrollo como México.

La estabilización alcalina es una alternativa para el control de patógenos, incluso es reconocida por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (US EPA) como un proceso capaz de reducir significativamente el contenido de microorganismos y producir biosólidos clase B, (US EPA, 1994). En México, la estabilización con cal es utilizada en

algunas plantas de tratamiento. La elevación del pH por la cal reduce el contenido de patógenos (Arkivos *et al.*, 1999; Christy, 2000 y Mignotte-Cadiergues *et al.*, 2001) a niveles muy bajos, pero también provoca que el nitrógeno amoniacal ionizado (NH_4^+) se convierta a gas NH_3 , el cual es fuente de olores desagradables. Girovich, 1996, plantea la reacción.



Por lo general, las plantas de tratamiento al utilizar sistemas abiertos para mezclar la cal con los lodos, permiten la volatilización del amoniaco lo que genera molestias a la población y riesgos de salud en los trabajadores expuestos.

Por otra parte, se ha demostrado que el NH_3 destruye los huevos de helmintos de *Taenia saginata*, *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides* en lodos (Bruce, 1984; Reimers *et al.*, 1986^a; Ghiglietti *et al.*, 1995 y Ghiglietti *et al.*, 1997). También, Allievi *et al.*, 1994, determinaron un efecto bactericida del hidróxido de amonio (NH_4OH) el cual a pH de 13 se transforma en un 99.98% a su forma no ionizada. En consecuencia, el uso de sistemas cerrados para estabilizar lodos con cal podría resolver los problemas de olores e incrementaría la eficiencia del proceso de estabilización que se logra en sistemas abiertos por la retención del NH_3 producido. En este proceso interviene también el calor producido por la reacción de hidratación del óxido de calcio (reacción 2), el cual incrementa la temperatura y favorece la desinfección (Girovich, 1996). Ello ocurre porque cuando la temperatura se incrementa algunos microorganismos, como las bacterias, no se adaptan rápidamente al cambio y mueren.



Otro factor determinante para la eficiencia del proceso es el tiempo de contacto, el cual afecta la remoción de los microorganismos. De hecho, es un parámetro de control de la estabilización alcalina. Generalmente, se utilizan de 2 a 24 horas, en función de la dosis y del pH alcanzado en los lodos (US EPA, 1994).

El capítulo uno de esta tesis se presentan los antecedentes. En él se mencionan las prácticas de manejo de lodos comúnmente utilizadas en el mundo y, por su puesto, en México. Se presenta la producción estimada de lodos por año, su calidad y requerimientos de tratamiento. Además, se comparan algunas tecnologías comúnmente utilizadas para el tratamiento de los lodos, donde resalta la estabilización alcalina como una opción viable.

El segundo capítulo, presenta los aspectos más importantes del proceso de estabilización alcalina de lodos. Se exponen las principales ventajas y desventajas del proceso, la química del mismo así como los requerimientos de CaO para diferentes tipos de lodos. Adicionalmente, se menciona la importancia de la producción de amoníaco en el proceso, lo que da origen a la propuesta “Estabilización alcalina de lodos en sistemas cerrados con recirculación opcional de amoníaco”.

Por otra parte, en el tercer capítulo se presenta la metodología experimental utilizada para la realización de los estudios de estabilización de lodos con amoníaco, óxido de calcio y ambos compuestos. Se presentan con detalle cinco etapas de experimentación diseñadas para alcanzar las metas originalmente planteadas.

El capítulo cuatro presenta los resultados obtenidos de inactivación de microorganismos patógenos para cada una de las etapas de experimentación, mientras que en el capítulo cinco se presentan las conclusiones y las recomendaciones derivadas de este trabajo de tesis.

Finalmente, en lo anexos se incluyen las técnicas analíticas mediante las cuales se cuantificaron los parámetros en cada etapa de experimentación, la totalidad de los resultados de las diferentes etapas experimentales y el análisis estadístico de los resultados obtenidos.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

PAGINACIÓN DISCONTINUA

1 ANTECEDENTES

1.1 Generación, tratamiento y manejo de lodos

Los materiales semisólidos o líquidos producidos durante los procesos de tratamiento de aguas residuales se denominan lodos o lodos residuales. Su volumen y composición depende del proceso de tratamiento que se aplique al agua residual así como de la composición de ésta. Generalmente, los procesos fisicoquímicos generan un volumen mayor al producido en los procesos biológicos, debido a la aplicación de reactivos y a que no reducen el contenido de materia orgánica. Otros factores que influyen son la calidad del agua residual, el grado de dilución con agua de lluvia, el arrastre y erosión de suelos y la recolección de basura. A continuación se presenta la generación de lodos (en base seca) por diversos procesos de tratamiento.

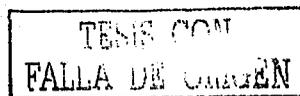
Tabla 1.1 Generación de lodos por diversos procesos de tratamiento de aguas residuales

Proceso	Generación de lodos, kg ST/10 ³ m ³	
	Intervalo	Valor típico
Sedimentación primaria	108-168	150
Tratamiento primario Avanzado (TPA)	185-315	*
Lodos activados	72-96	84
Filtro percolador	60-96	72
Aeración extendida	84-121	96
Remoción de fósforo mediante la adición de cal		
Bajas dosis	241-398	301
Altas dosis	602-1325	795

* Depende de la calidad del agua

Adaptada de: Metcalf and Eddy, 1991 y Jiménez *et al.*, 1998.

En la actualidad los lodos residuales son considerados un producto con potencial benéfico para su reaprovechamiento como fertilizante o mejorador de suelos, principalmente en países desarrollados. No obstante, en algunos países en desarrollo, los lodos no son tratados ni manejados adecuadamente. A continuación se mencionan las prácticas de manejo de lodos más comunes.



1.1.1 Países de la Unión Europea

La producción anual de lodos en estos países es aproximadamente de 7 millones de toneladas (sólidos totales). La Figura 1.1 muestra que Alemania es el primer productor con más de 2 millones de toneladas de lodos secos, seguido por el Reino Unido, Francia, Italia y España, los cuales producen más de 500 000 ton de sólidos totales (ST). Estos países generan cerca del 75% de la producción total de Europa, *European Environment Agency (2001)*. El resto, produce menos de 250 000 ton ST por año cada uno. En realidad, la producción es un reflejo de la población total de cada país.

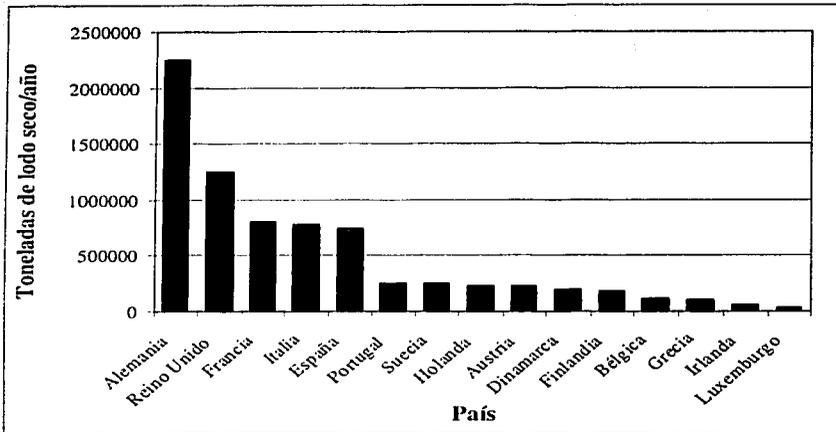


Figura 1.1 Producción de lodos en países de la comunidad Europea

Fuente: European Environment Agency, 2001

Los lodos producidos son sometidos a diversos tratamientos para su posible reaprovechamiento o depósito final. La Tabla 1.2 muestra un análisis de los procesos utilizados hasta 1996. La digestión anaerobia y aerobia representaron la mayor parte de los procesos utilizados. Ante el cambio creciente hacia un mayor uso de los lodos, y debido a la presencia de microorganismos patógenos como los virus en aguas residuales y por tanto en lodos (Mignotte-Cadiergues *et al.*, 2001), ha surgido el interés por la estabilización química

con materiales alcalinos para producir materiales cuyo manejo y depósito no represente riesgos a la salud o al medio ambiente.

Tabla 1.2 Procesos de estabilización de lodos (en porcentaje) empleados en algunos países de la Unión Europea

País	Cantidad (10 ³ ton ST/año)	Métodos de estabilización						Total
		Anaerobia (%)	10 ³ ton ST/año	Aerobia (%)	10 ³ ton ST/año	Alcalina (%)	10 ³ ton ST/año	
Alemania	2750	64	1760	12	330	3 (otras)	83	2173
Bélgica	35	40	14	21	7	nd*		21
Dinamarca	150	40	60	23	34	7	11	105
España	300	45	135	5	15	26	78	228
Francia	900	49	441	17	153	2 (otras)	18	612
Grecia	200	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*
Inglaterra	1500	56	840	2	30	7 (otras)	135	975
Irlanda	23	19	4	8	2	nd*	nd*	6
Italia	800	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*
Luxemburgo	15	nd*	nd*	nd*	nd*	nd	nd*	nd*
Holanda	280	44	123	35	98	19(otras)	53	274
Portugal	200	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*	nd*
Total	7153		3377		669		348	4394

*nd: no existen datos

Adaptado de: Matthews y Linder, 1996

La *European Environment Agency*, 2001, menciona que los lodos producidos en los países de la Comunidad Europea son utilizados o depositados mediante varios métodos; uno de los principales es el reciclado para su reaprovechamiento (Figura 1.2). El reciclado ha incrementado desde 1992 y se prevé sea la opción más utilizada en el futuro. La incineración presenta una tendencia similar; en este caso se reduce significativamente la masa de los lodos y por tanto los costos de transporte, aplicación o depósito, además de que elimina la totalidad de microorganismos patógenos. Sin embargo, una de las principales limitantes de la incineración es su costo, el cual resulta muy elevado comparado con cualquier otra tecnología, por lo tanto, no representa una opción atractiva en términos beneficio/costo para México.

Ante el incremento del reciclado de los lodos, a partir de 1995 el depósito de éstos en rellenos sanitarios se ha reducido para aumentar su vida útil para otros fines. Finalmente, la descarga de lodos en aguas superficiales se redujo a partir de 1998 ya que actualmente esta práctica está prohibida.

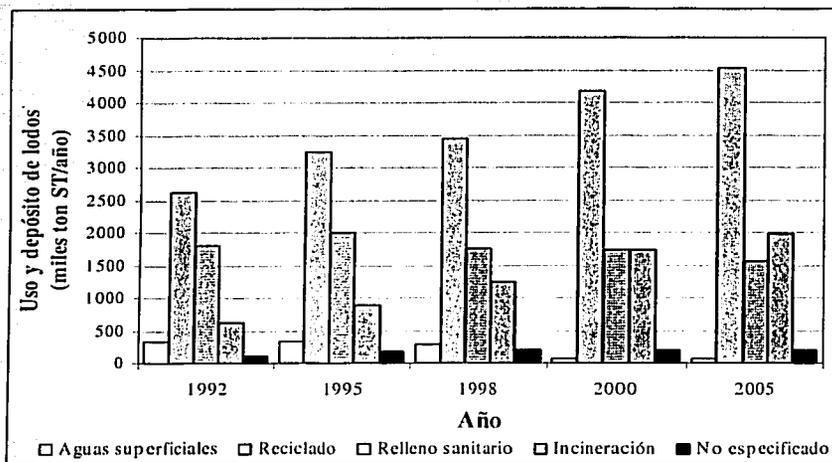


Figura 1.2 Uso y depósito de lodos en la unión europea y proyección al año 2005

Adaptado de: European Environment Agency, 2001

1.1.2 Países de Europa del este

El acceso a la información de producción de lodos en estos países es muy limitado. La Figura 1.3 muestra que la producción de lodos es desde 400 ton en Malta hasta 330 000 ton en Polonia, el cual es el país más poblado (European Environment Agency, 2001).

Aproximadamente, el 50% del total de efluentes producidos en estos países son sometidos a tratamientos de aguas convencionales (tratamiento primario o secundario) y los lodos que se producen sólo son espesados y deshidratados. La mayor parte se envía a rellenos sanitarios y la incineración está prohibida (Lue-Hing *et al.*, 1996). Ciudades como Bratislava con 5.3 millones de habitantes, producen aproximadamente 30,000 ton ST/año (Brtko, 1996). En estos países el aprovechamiento de los lodos es prácticamente nulo.

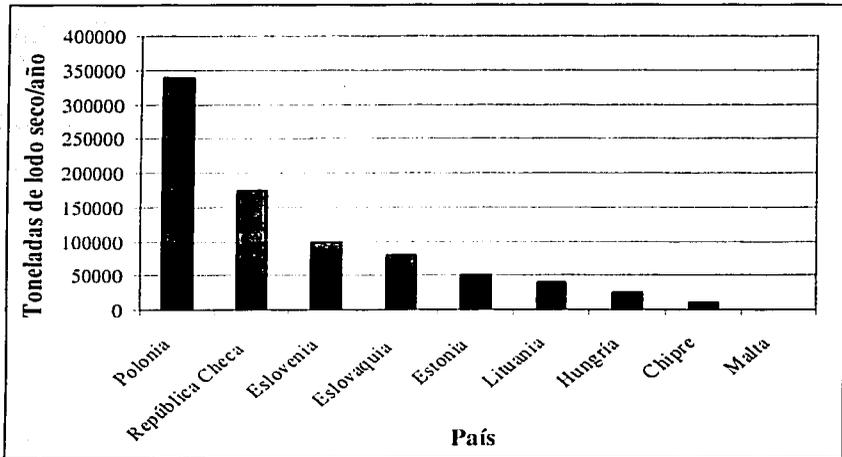


Figura 1.3 Producción de lodos en países de Europa del Este

Adaptado de: European Environment Agency, 2001

1.1.3 Continente Asiático

La información de producción, manejo y depósito de lodos en estos países es limitada, sin embargo, Hsiau y Lo, 2001, mencionan que en Taiwán se producen aproximadamente $2.9 \times 10^7 \text{ m}^3/\text{año}$ (equivalentes a 2.8 ton ST/año) de lodos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. La mayor parte de estos lodos son deshidratados en lechos de secado y confinados principalmente en rellenos sanitarios. En algunas plantas (no se proporcionan más datos) se utiliza la estabilización alcalina para tratar los lodos, debido a la presencia de microorganismos patógenos.

En Japón, la producción anual de lodos es de aproximadamente 1.8 millones de ton ST/año; sólo el 15% se reutiliza como fertilizante y mejorador de suelos después de ser sometida a un tratamiento. Se utiliza como proceso de tratamiento principalmente la elaboración de composta (Ito *et al.*, 2001), la estabilización alcalina y el tratamiento térmico (Watanabe y Maeda, 1996).

En Corea del Sur, las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales producen aproximadamente 1.4 millones de ton de sólidos totales anualmente (Hong *et al.*, 2001). La mayor parte de la producción anual (56.1%) se deposita en rellenos sanitarios. Otras prácticas de manejo utilizadas son las descargas al océano (39.1%), el reciclado (2.4%) y la incineración (1.5%).

1.1.4 Continente Africano

En Túnez se ha estudiado el mejoramiento de suelos salino-sódicos mediante el lavado de los mismos y la aplicación de biosólidos (Bahri, 1998). Los resultados demostraron que los niveles de salinidad y sodio son reducidos considerablemente a niveles tolerados por algunas especies vegetales. De igual forma, se determinó que los riesgos de contaminación por nitratos causados por la aplicación de biosólidos en el suelo agrícola son similares a los que representan la aplicación de fertilizantes comerciales, que contienen concentraciones de nitrógeno equivalentes. La aplicación de biosólidos aumentó la producción de cultivos de sorgo en comparación con la producción con el riego con agua residual tratada.

Sudáfrica es uno de los países donde el reaprovechamiento de los lodos en la agricultura es común. Se desconocen las cifras de generación, tratamiento y reaprovechamiento de lodos; aún cuando en este país existe una normatividad que establece límites de calidad para el uso de lodos en tierras agrícolas, Snyman *et al.*, 1999.

La información con la que se cuenta en el resto del continente es prácticamente nula.

1.1.5 Continente Americano

En los Estados Unidos se produjeron aproximadamente 4.8 ton ST en 1998. La Figura 1.4 muestra que la mayor parte de éstos (60%) fueron usados benéficamente, mientras que el 17% fueron depositados superficialmente (incluso en rellenos sanitarios); la incineración se utilizó en el 22% y un 1% tuvieron un destino no específico (US EPA, 1999).

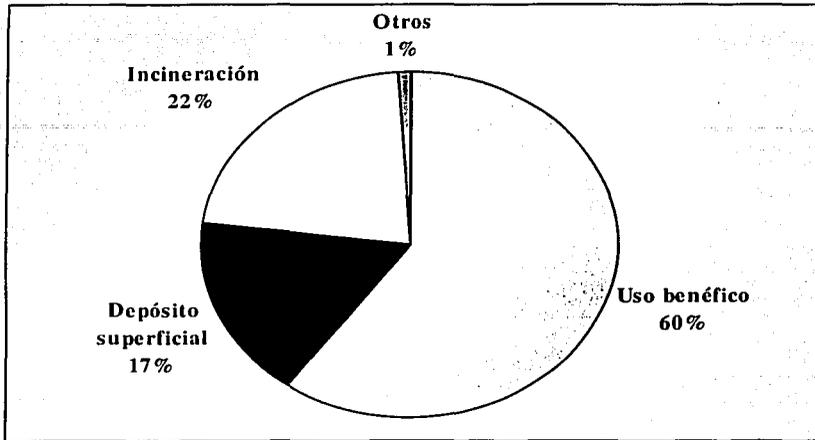
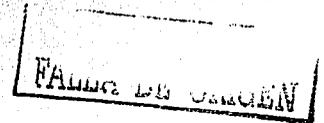


Figura 1.4 Uso y disposición de lodos en los Estados Unidos en 1998
Adaptado de: US EPA, 1999

Al incrementar el volumen de agua residual generada y los avances en los procesos de tratamiento, la producción de lodos experimenta un constante aumento. Una estimación realizada en los Estados Unidos de América indica que la producción de lodos podría llegar a ser de 8.2 toneladas de sólidos secos para el año 2010. Se considera que el confinamiento en rellenos sanitarios debe reducirse ya que disminuye la vida útil de los mismos e incrementa el riesgo de contaminación de acuíferos. Ante esta problemática, los organismos operadores de plantas de tratamiento consideran nuevas alternativas de depósito que sean sostenibles en el futuro, como, por ejemplo, la aplicación de lodos a suelos agrícolas (Kemwater Recycling Process, 1997).



1.2 Problemática de los lodos en México

1.2.1 Infraestructura de tratamiento de aguas residuales en México

En el año 2000 se trataron en México 45.9 m³/s de aguas residuales municipales, correspondientes al 23% del total producido (200 m³/s), mientras que para las aguas residuales industriales se trata sólo el 15% (i.e. 25.3 m³/s de 169 m³/s generados) (CNA, 2001).

En materia de tratamiento de aguas residuales municipales, existen en México 1018 plantas de tratamiento de agua con una capacidad instalada de 75.9 m³/s, de éstas sólo 793 operan. Los procesos de tratamiento para los efluentes municipales son diversos, aunque predominan las lagunas de estabilización y los lodos activados, CNA, 2001. Adicionalmente, la Comisión Nacional del Agua, indica que al cumplir las ciudades mayores de 50,000 habitantes con la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, se tratarían 158 m³/s de aguas residuales, mismos que generarían en nuestro país aproximadamente 0.13 kg ST/m³, es decir, cerca de 640,000 ton secas de lodos por año, CNA, 2000.

Del total de lodos producidos en plantas de tratamiento de aguas residuales, una importante cantidad no es tratada ni adecuadamente manejada. Los lodos contienen una importante cantidad de contaminantes separados de las aguas de origen. Afortunadamente, con la publicación del proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-004-ECOL-2001, Diario Oficial de la Federación, 18 de febrero de 2002, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para el aprovechamiento y disposición de lodos y biosólidos, las plantas de tratamiento de aguas estarán obligadas a cumplir diversos criterios y deberán implantar y desarrollar tecnologías que produzcan biosólidos que puedan ser depositados o reutilizados apropiadamente.

1.2.2 Aspectos normativos

La mayoría de los países desarrollados cuentan con estándares para el manejo adecuado de los biosólidos, por ejemplo, US EPA desarrolló los estándares de calidad de lodos para uso y disposición, conocidos como el apartado 503 del código de regulaciones federales (CFR). En dichos estándares se incluyen límites para metales y parámetros microbiológicos, los cuales han sido establecidos con base en estudios de riesgo para disminuir el impacto al ambiente y a la salud pública. Así se establecen dos clases de lodos en función de su calidad:

- **Clase A** que presenta niveles de coliformes fecales, *Salmonella*, virus y huevos de helmintos por debajo de los límites de detección por lo que pueden ser aplicados sin

restricción en algunos suelos agrícolas, áreas verdes como parques públicos, jardines, etc., con el inconveniente del costo elevado para producirlos, y

- **Clase B** que contiene concentraciones relativamente bajas de microorganismos y que pueden aplicarse en suelos agrícolas, forestales y degradados.

Por su parte, en México se desarrolló el proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-004-ECOL-2001 que establece tres niveles de biosólidos en su última revisión, las clases A, B y C. La Tabla 1.3 presenta los límites máximos permisibles de contaminantes microbiológicos (para ambas normatividades) en lodos y biosólidos de plantas de tratamiento de aguas residuales.

Tabla 1.3 Valores máximos permisibles de microorganismos en biosólidos según la US EPA y el Proyecto NOM-004-ECOL-2001

Parámetros microbiológicos	US EPA		PROY-NOM-004-ECOL-2001		
	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Clase C
Coliformes Fecales	Menor de 1000 NMP/g ST	Menor de 2 X 10 ⁶ NMP/g ST	Menor de 1000 NMP/g ST	Menor de 1000 NMP/g ST	Menor de 2 X 10 ⁶ NMP/g ST
<i>Salmonella</i> spp.	Menor de 3 NMP/4g ST	No aplica	Menor de 3 NMP/g ST	Menor de 3 NMP/g ST	Menor de 300 NMP/g ST
Huevos de Helminetos	Menor de 1 HH/ g de ST	No aplica	Menor de 1 (a) HH/g ST	Menor de 10 HH/g ST	Menor de 35 HH/g ST
Virus entéricos	Menos de 1 V/4g ST	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica

NMP número más probable

(a) Huevos de helmintos viables

Adaptada de US EPA, 1996 y Diario Oficial de la federación, 2002

El contenido de metales también ha sido limitado para poder reutilizar o depositar los lodos, tanto la US EPA como el proyecto NOM-004-ECOL-2001 establecen los límites máximos de metales para dos clases de biosólidos propuestos. La Tabla 1.4 presenta los límites máximos de metales pesados en biosólidos establecidos en ambas normas.

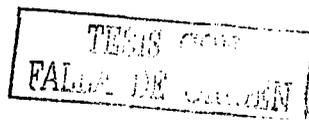


Tabla 1.4 Valores máximos permisibles de metales pesados en biosólidos según la US EPA y el Proyecto NOM-004-ECOL-2001

Parámetro	US EPA		PROY-NOM-004-ECOL-2001	
	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Excelente	Biosólidos Bueno
Arsénico mg/kg	75	75	41	75
Cadmio mg/kg	85	85	39	85
Cobre mg/kg	4300	4300	1500	4300
Cromo mg/kg	No aplica	No aplica	1200	1300
Plomo mg/kg	840	840	300	840
Mercurio mg/kg	57	57	17	57
Molibdeno mg/kg	75	75	No aplica	No aplica
Níquel mg/kg	420	420	420	420
Selenio mg/kg	100	100	No aplica	No aplica
Zinc mg/kg	7500	7500	2800	7500

En el caso de México, el aprovechamiento de los biosólidos, se establece en función del Tipo y Clase, como se especifica en la Tabla 1.5 y su contenido de humedad hasta el 85 %.

Tabla 1.5 Aprovechamiento de biosólidos

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
EXCELENTE	A	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación. • Los establecidos para Clase B y C.
EXCELENTE O BUENO	B	<ul style="list-style-type: none"> • Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación. • Los establecidos para Clase C.
EXCELENTE O BUENO	C	<ul style="list-style-type: none"> • Usos forestales. • Mejoramientos de suelos. • Usos agrícolas.

1.2.3 Calidad de los lodos en México

El depósito final o el uso potencial de los lodos dependen de su calidad, la cual es función del agua residual de origen y del tratamiento aplicado a la misma. Barrios *et al.*, 2001 evaluaron la calidad de lodos de 18 plantas de tratamiento de aguas residuales ubicadas a lo largo del territorio nacional. Los resultados demostraron que la concentración de metales pesados en los

lodos cumple en 16 casos con los límites para biosólidos denominados “buenos” y sólo en dos de los casos la calidad de los lodos en términos de metales pesados fue “Excelente”; de acuerdo con el Proyecto NOM-004-ECOL-2001 (ver Tabla 1.4).

El contenido de metales pesados en lodos de la ciudad de México ha sido determinado en concentraciones muy inferiores a los límites establecidos por la US EPA o la NOM-004-ECOL-2001 y no representan un problema de contaminación (Garcapiña *et al.*, 2000 y Jiménez *et al.*, 1997). La Figura 1.5 presenta el porcentaje en relación con cada concentración de metales pesados; se observa que en ningún caso se rebasó el valor máximo permitido en los metales evaluados (o sea el 100%).

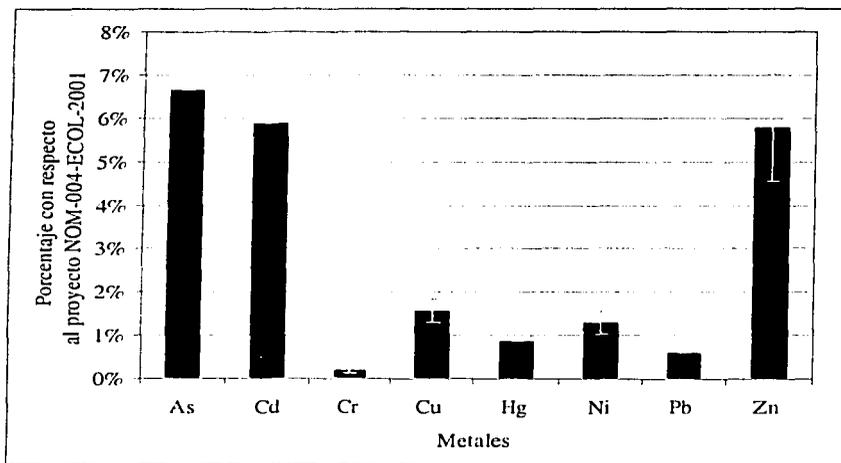
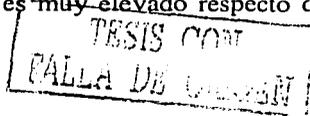


Figura 1.5 Concentración de metales pesados en lodos del Distrito Federal

Adaptada de: Garcapiña *et al.*, 2000 y Jiménez *et al.*, 1997.

1.3 Aspectos microbiológicos

A pesar de que el contenido de metales no representa un problema de contaminación grave de los lodos en México, el contenido de microorganismos patógenos en aguas residuales y por tanto en lodos de la ciudad de México sí lo es. En efecto, éste es muy elevado respecto de



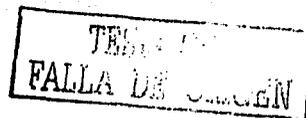
otros países; lo que origina un problema particular para su manejo y depósito (Barrios *et al.*, 2001). La Tabla 1.6 muestra que los coliformes fecales contenidos en lodos crudos de México son desde 2 hasta 5 unidades logarítmicas superiores a las reportadas para países como Estados Unidos, Ghana, Japón y Reino Unido. Asimismo, bacterias como *Salmonella* y *Pseudomona aeruginosa* (patógenas para el hombre) presentan concentraciones superiores en lodos de México con relación a los de Japón y Estados Unidos.

Tabla 1.6 Concentración de microorganismos en lodos crudos (1)

País	Contenido de microorganismos en lodos crudos			Referencia
	Coliformes fecales NMP/g ST	<i>Salmonella spp.</i> NMP/g ST	<i>Pseudomona aeruginosa</i> (NMP/g ST)	
México	6.9×10^9	2.1×10^6	2.4×10^5 a 4.6×10^7	Barrios <i>et al.</i> , 2001 Jiménez <i>et al.</i> , 2001
Australia	SD	1×10^2 a 1×10^3	SD	Sidhu <i>et al.</i> , 2001
Estados Unidos	2×10^7	2.1×10^2	2.8×10^3	Reimers <i>et al.</i> , 1986
Ghana	1.5×10^4	SD	SD	Hall, 2000
Japón	1×10^5	4×10^1	SD	Hays, 1997; Watanabe, 1997
Reino Unido	3.6×10^4 a $.4 \times 10^6$	1.4×10^2 a 4.2×10^4	1.1×10^3 a 1.7×10^5	Crewe, 1984, Michel y Rooksby, 2000

SD: Sin datos

En el caso de los bacteriófagos (indicadores de enterovirus), la Tabla 1.7 muestra que las concentraciones reportadas para México son muy similares con Japón y Estados Unidos (Reimers *et al.*, 1986 y Hays, 1997); sin embargo, en el caso de los protozoarios se han cuantificado concentraciones superiores (2 unidades log) a las reportadas por Estados Unidos (Barrios *et al.*, 2001, Jiménez *et al.*, 2001 y Reimers *et al.*, 1986). Una de las diferencias más notorias es el contenido de huevos de helmintos (gusanos parásitos) entre los que destacan *Ascaris lumbricoides*, *Taenia saginata*, *Trichuris trichiura* y *Strongyloides stercoralis*.



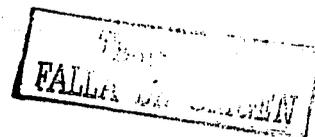
La concentración de estos huevos en algunos lodos crudos de México ha llegado a valores de 177 HH/g ST, que son muy superiores a los reportados en países desarrollados e incluso países en desarrollo como Egipto y Ghana (Jiménez, 2001; Barrios *et al.*, 2001 y Hall, 2000). Dadas las condiciones de estos países, es muy importante mencionar que probablemente los datos reportados atienden a mal aplicación de las técnicas de identificación y cuantificación de estos microorganismos.

Tabla 1.7 Concentración de microorganismos en lodos crudos (2)

País	Contenido de microorganismos en lodos crudos			Referencia
	Bacteriófagos UFP/g ST	Protozos quistes/g ST	Huevos de helmintos huevos /g ST	
México	1 X 10 ³ a 1.9 X 10 ⁶	1.3 X 10 ² a 4.2 X 10 ⁴	73 - 177	Barrios <i>et al.</i> , 2001 Jiménez <i>et al.</i> , 2001
Estados Unidos	3.6 X 10 ³ a 1.4 X 10 ⁶	2.1 X 10 ²	2 - 13	Reimers <i>et al.</i> , 1986
Ghana	SD	SD	76	Hall, 2000
Japón	2 x 10 ³ a 3.2 X 10 ⁴	SD	SD	Hays, 1997; Watanabe, 1997
Reino Unido	SD	SD	< 6	Crewe, 1984, Michel y Rooksby, 2000

SD: Sin datos

Las helmintiasis son enfermedades ligadas a la pobreza, ignorancia e insalubridad, condiciones que prevalecen en países en desarrollo donde los niveles de helmintiasis ascienden al 10% del total de la población (WWD, 2002). En México, el género más frecuente en agua y lodos corresponde a *Ascaris* (Jiménez *et al.*, 2000), el cual, es causante del 4.4% de la morbilidad total y del 8.3% de la mortalidad total del País (SSA, 2000). Este género es uno de los más resistentes a cualquier tipo de proceso de desinfección (Carrington y Harman, 1984).



1.4 Estabilización alcalina de lodos como alternativa de solución

En países como los Estados Unidos y los de la comunidad Europea, los lodos residuales son estabilizados con el objeto de convertirlos en un material seguro para su manejo y depósito (biosólidos); en algunos casos, son reaprovechados en suelos agrícolas como materiales fertilizante (RPD, 1993 y *European Environment Agency*, 2001). Indiscutiblemente, los lodos producidos en México deben ser sometidos a un proceso de estabilización capaz de eliminar el alto contenido de microorganismos patógenos.

La estabilización alcalina de lodos residuales es un proceso económico y sencillo de operar que consiste en la adición de materiales alcalinos (CaO o Ca(OH)_2 , principalmente) a lodos residuales con el fin de crear condiciones de pH y temperatura tales que resulten en la inactivación de los patógenos. Este proceso se ha aplicado con éxito en otros países, como los Estados Unidos y otros de la comunidad europea (Francia, por ejemplo). De igual forma, la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos (US EPA) reconoce a la estabilización alcalina como un proceso capaz de reducir significativamente el contenido de microorganismos y producir biosólidos, US EPA, 1994.

Adicionalmente, la estabilización alcalina es altamente eficiente para inactivar bacterias en comparación con otros procesos comúnmente utilizados. La Tabla 1.8 muestra que dicho proceso es capaz de reducir hasta 7 unidades logarítmicas de coliformes fecales en lodos, mientras que la digestión aerobia reduce sólo 2 log (a 30 °C) y la digestión anaerobia 1.84 log (Westphal y Christensen, 1983). Lo anterior es debido a que estos procesos son aplicados con el objeto de reducir principalmente el contenido de materia orgánica mediante su oxidación (digestión aerobia) o reducción (digestión anaerobia) y no para eliminar microorganismos. La elaboración de composta es un proceso capaz de reducir hasta 4 unidades log de coliformes fecales, y representan una alternativa que, por su potencial, puede competir para ser utilizada en México.

Tabla 1.8 Comparación de la inactivación de bacterias mediante estabilización alcalina, digestión anaerobia, elaboración de composta y digestión aerobia

Proceso	Reducción logarítmica	
	Coliformes fecales	Estreptococos fecales
Digestión anaerobia ^a		
Media	1.84	1.48
Intervalo	1.44-2.33	1.10- 1.94
Elaboración de composta ^b	≥ 4	2.9
Digestión aerobia ^c		
20 °C	1	1
30 °C	2	2
Estabilización alcalina		
Procesos Estándar		
Lodo crudo primario ^d	5.1	3.4
Lodo crudo primario ^e	3.8	3.3
Lodo Primario ^f acondicionado con sales de Fe ³⁺	4.0	2.0
Mezcla de lodo primario y ^g lodo de filtro percolador, 2% de sólidos	7.2	3.4
Mezcla de lodo primario y ^g lodo de filtro percolador, 4% de sólidos	2.6	1.8
Lodos activados ^d	3.2	3.2
Lodos digeridos anaerobiamente ^d	2.6	1.5
Estudio realizado ^h		
Lodo crudo primario	5.1	2.4
Lodos filtrados al vacío	5.8	3.0
Lodos estabilizados con cal en polvo	5.2	2.7

^a Estudios a escala real, con tiempo de retención de 14 a 15 días y temperatura de 35 °C.

^b Estudios a escala real, con tiempo de retención de 9 a 28 días y temperatura de 15 a 70 °C.

^c Estudio de laboratorio, con tiempo de retención de 35 días.

^d Estudio a escala real, con elevación del pH a 12.4, prueba realizada poco después del tratamiento.

^e Estudio a escala real, con elevación del pH a 12.5, prueba realizada poco después del tratamiento.

^f Estudio de laboratorio, con elevación del pH a 12.5, prueba realizada ½ hr después del tratamiento.

^g Estudio de laboratorio, con elevación del pH a 12.4, prueba realizada 1 hr después del tratamiento.

^h Estudio de laboratorio, con pH ≥ 12 durante 2 horas, prueba realizada después del tratamiento.

Los valores mostrados representan el promedio de un total de 6 pruebas realizadas.

Fuente: Westphal y Christensen, 1983

Ante este panorama, la estabilización alcalina representa una alternativa para el tratamiento de los lodos producidos en nuestro país. Por ser el tema central de este estudio, en el capítulo siguiente se presentan los fundamentos teóricos del proceso así como un análisis de su situación actual.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Estabilización alcalina

El uso de la cal se originó en las civilizaciones antiguas. El primer registro que se tiene del empleo de cal es en los campos Romanos, donde se usó en letrinas para mitigar olores de desechos humanos y reducir el peligro de infección provocado por cadáveres. El tratamiento químico de lodos fue probado por primera vez en París en 1740. Pero fue hasta el presente siglo cuando se desarrolló y aplicó en algunos países. Hoy en día, se han desarrollado diferentes metodologías de estabilización, de las cuales, algunas incluso han sido patentadas. Estos métodos emplean principalmente cal deshidratada (viva (CaO)), hidratada (Ca(OH)_2), o cenizas en cantidades suficientes para lograr la estabilización (Girovich, 1996).

La Tabla 2.1 muestra las principales características de la cal viva u óxido de calcio (CaO) así como de la cal hidratada; conocida también como hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) o cal apagada.

Tabla 2.1 Características de la cal viva e hidratada

Características	Cal viva, (CaO)	Cal hidratada, (Ca(OH)_2)
Presentación	Lentejas, hojuelas y pulverizada.	Polvo fino.
Apariencia	Ligeramente grisácea, aspecto no homogéneo.	Polvo blanco, libre de grumos.
Propiedades	Inestable, cáustica e irritante. Se hidrata fácilmente liberando calor (270k-cal/kg). Con el aire forma CaCO_3 .	Cáustica irritante, absorbe agua y CO_2 del aire para formar $\text{Ca(HCO}_3)_2$.
Densidad, kg/m^3	880 a 1200	384 a 640.
Densidad relativa	3.2 a 3.4.	3.2 a 3.4.
Pureza comercial	70 a 95% CaO .	80 a 90% para la Ca(OH)_2 .
Solubilidad en agua	Reacciona para formar entre 1.16 y 1.32 kg de Ca(OH)_2 por kg de CaO .	1.2. kg/m^3 a 21 °C y 0.3 kg/m^3 a 80 °C.

Fuente: US EPA, 1979

En la evolución de los procesos de estabilización alcalina se han realizado modificaciones importantes; principalmente han surgido diferentes opciones de materiales alcalinos e

importantes avances en procesamiento y equipos, dependiendo de los productos finales que se requieran así como sus diferentes usos. En la Tabla 2.2 se presentan los principales materiales utilizados.

Tabla 2.2 Compuestos alcalinos utilizados para la estabilización de lodos

Base	Fórmula	Aplicaciones
Cal viva	CaO	Aumento del pH, control de olores, desinfección, estabilización, mejorar el desaguado
Cal hidratada	Ca(OH) ₂	Aumento de pH, estabilización, control de olores, acondicionamiento
Cal dolomítica	CaO.MgO	Aumento de pH, control de olores
Permanganato de Potasio	KMnO ₄	Aumento de pH, control de olores
Cenizas alcalinas		Aumento de pH, estabilización

Adaptado de Girovich, 1996

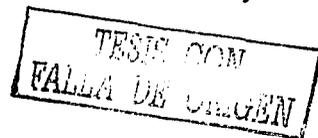
2.2 Objetivos de la estabilización alcalina

Los objetivos de la estabilización alcalina son: reducir sustancialmente el contenido de organismos patógenos y, por ende, minimizar los riesgos a la salud, disminuir la producción de olores de descomposición así como minimizar las condiciones sépticas creadas durante el depósito de lodos (Lue-Hing, 1992).

2.3 Aplicabilidad

La US EPA, 2000, establece que siempre que los costos de los materiales alcalinos que se deseen utilizar no sean relativamente altos y exista facilidad para su adquisición, la estabilización alcalina es la mejor opción en términos económicos. Así, la US EPA propone el uso de la estabilización alcalina en:

- Donde se requiera aplicar un proceso que reduzca los olores de los lodos y su contenido de patógenos.



- Plantas de tratamiento con gastos altamente variables, ya que el proceso puede ajustarse fácilmente a los cambios de flujo.
- Plantas de tratamiento pequeñas que almacenan sus lodos para transporte posterior.

2.4 Ventajas y desventajas de la estabilización alcalina

2.4.1 Ventajas

- Operación relativamente sencilla y flexible (fácil de arranque y paro).
- Eficiente en condiciones de operación controladas.
- Bajos costos de inversión, operación y mantenimiento.
- Facilidad para adquirir los equipos de proceso.
- Bajos requerimientos de área.
- El producto puede ser utilizado en la agricultura, como mejorador de suelos y fertilizante eventualmente.
- El producto es de fácil manejo y aplicación.

Además, los procedimientos, equipos y materiales involucrados pueden ser utilizados sin pagar derechos o permisos por el uso de patentes. Asimismo, las ventajas del uso de los biosólidos son:

- Ser fertilizantes orgánicos o mejoradores de suelos.
- Aportar Ca^{++} en suelos salinos.
- Ser un material de relleno estructural.
- Ser un material para conformar celdas o ser cubierta final de rellenos sanitarios.
- Ayudar a controlar declives ocasionados por la erosión (Girovich, 1996).

2.4.2 Desventajas

- Aumenta la masa de lodos.
- Produce olores.
- Genera altos costos de transportación para el depósito definitivo de los lodos o biosólidos.

2.4.3 Requerimientos de materiales alcalinos

La dosis de cal debe ser capaz de proporcionar al lodo alcalinidad residual de manera que el pH se mantenga sobre cierto valor durante el tiempo antes de su depósito final. La dosis óptima de cal depende de factores como tipo de sólidos (primarios, o de lodos activados, por ejemplo), composición química de las fracciones líquida y sólida, y de la concentración de sólidos. La Tabla 2.3 muestra los requerimientos de cal para mantener un pH de 12 y mantenerlo durante 30 minutos.

Tabla 2.3 Requerimientos de cal para alcanzar un valor de pH de 12 y mantenerlo durante 30 minutos

Tipo de lodo	Concentración de sólidos (%)		Dosis de cal kg Ca(OH) ₂ /kg ST		pH Promedio	
	Intervalo	Promedio	Intervalo	promedio	Inicial	Final
Lodos primarios	3 - 6	4.3	0.06 - 0.17	0.12	6.7	12.7
Lodos activados	1 - 1.5	1.3	0.21 - 0.43	0.30	7.1	12.6
Mezcla de lodos digeridos por vía anaerobia	5 - 7	5.5	0.14 - 0.25	0.19	7.2	12.4
Lodos sépticos	1 - 4.5	2.7	0.09 - 0.51	0.20	7.3	12.7

Fuente: US EPA, 1979

La Tabla 2.4 presenta la dosis de cal recomendada por unidad de masa de sólidos secos para mantener un pH mayor de 11 durante por lo menos 14 días de almacenamiento a 20 °C en diferentes tipos de lodos.

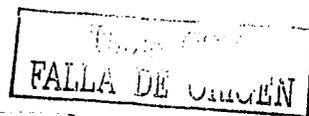


Tabla 2.4 Dosis recomendada de cal para diferentes tipos de lodo

Tipo de lodo	Dosis de cal, Gramos Ca(OH) ₂ /kg ST
Lodos primarios	100 - 200
Lodos sépticos	100 - 300
Lodos activados	300 - 50
Mezcla de lodos primarios con lodos químicos (Al, Fe)	250 - 400
Mezcla de lodos primarios con lodos químicos (cal)	ninguna
Mezcla de lodos de lodos activados con lodos químicos (Al, Fe)	300 - 600
Mezcla de lodos de lodos activados con lodos químicos (cal)	ninguna

Fuente: US EPA, 1979

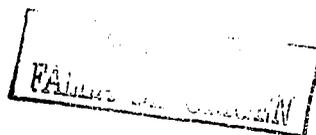
En la Tabla 2.3 y la Tabla 2.4 es posible apreciar que las dosis de cal más altas corresponden a los lodos activados y a los lodos químicos que contienen aluminio y/o hierro, esto se debe a que en general la dosis requerida tiende a ser mayor en lodos diluidos que en los concentrados. La composición química es también un factor importante que afecta la dosis requerida porque pueden formarse compuestos complejos de calcio y aluminio en lodos químicos, la formación de estos compuestos consume parte de la cal aplicada.

Jiménez *et al.*, 1999 reportaron las dosis mínimas de CaO para elevar el pH a más de 12 unidades después de 2 horas de contacto en lodos fisicoquímicos (Tabla 2.5).

Tabla 2.5 Dosis mínimas de cal viva para elevar el pH a más de 12 después de dos horas de contacto en lodos fisicoquímicos

Muestra	% ST en lodo	Dosis de cal viva (% m/m)
1	13.6	20.4
2	14.4	20.4
3	18.6	18.1
4	18.6	19.2
5	19.7	18.5
6	24.7	17.3
7	29.0	16.9

Fuente: Jiménez *et al.*, 1999



2.5 Química de la estabilización alcalina

Las características químicas y físicas de los lodos son afectadas por las reacciones con la cal. La química de los procesos que ocurren en la estabilización alcalina aún no es totalmente comprendida debido al gran número de interferencias no previsibles que pueden existir. A continuación se describen algunas reacciones que intervienen en el proceso.

2.5.1 Generación de calor

La reacción principal del proceso es la del óxido de calcio con el agua, la cual produce hidróxido de calcio y calor (15,300 calorías/g mol). La reacción es:



Existen otras reacciones exotérmicas entre el óxido de calcio y los óxidos de hierro, aluminio y sílice, siempre y cuando estén presentes. Las reacciones teóricas son:



Por otra parte, el bióxido de carbono producido por la descomposición del lodo junto con el de la atmósfera reaccionan con el óxido de calcio para producir carbonato de calcio y calor (43,000 cal/g mol) mediante la siguiente reacción:



Esta reacción es altamente exotérmica, sin embargo, incrementa en menor medida la temperatura de los lodos que la reacción (3) debido a la baja concentración de CO_2 en el lodo y en la atmósfera (Girovich, 1996).

2.5.2 Olores

Los olores en los lodos son producidos principalmente por la descomposición de la materia orgánica. El incremento del pH por la adición de materiales alcalinos puede provocar la emanación de gases; a altos valores de pH (a pH mayor que 10.5) el gas amoniac (N-NH₃) puede liberarse a la atmósfera, Girovich, 1996 y RPD, 1993, según la reacción:



Si el pH de la solución se eleva por arriba de 7, el ión amonio se convierte en amoníaco (NH₃), el cual tiene una densidad menor que la del aire y se volatiliza con facilidad. Las emanaciones producen un olor característico y provocan un problema social y de higiene en las áreas de trabajo. De hecho, este problema es una de las principales desventajas del proceso e incluso puede limitar su uso. La dependencia del porcentaje de conversión de amonio a amoníaco con el pH se presenta en la Figura 2.1; un valor por arriba de 12 durante en el proceso de estabilización, produce que el hidróxido de amonio (NH₄OH) se transforme en un 99.98% a su forma no ionizada.

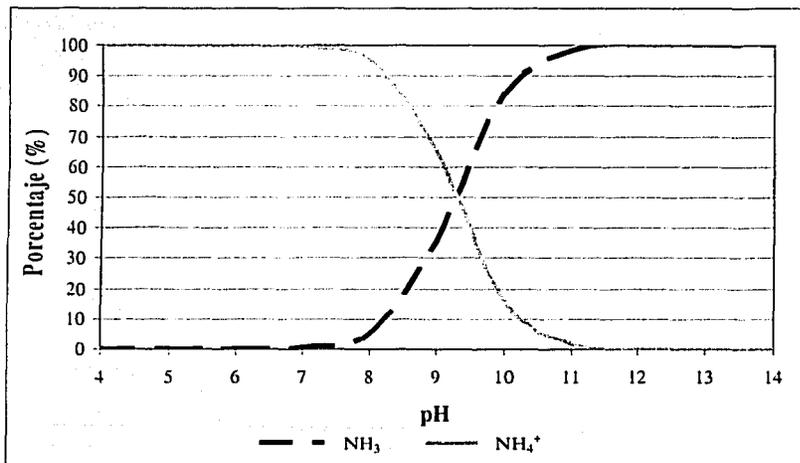


Figura 2.1 Dependencia del porcentaje de conversión de NH₄ a NH₃ con el pH

Fuente: Adaptada de RDP, 1993 y Masters, 1991

La cantidad de amoníaco producido dependerá del contenido de nitrógeno amoniacal originalmente presente en el lodo crudo y del pH alcanzado durante la estabilización alcalina. Mediciones realizadas en un proceso cuya área de estabilización fue confinada, demostraron que pueden existir concentraciones de NH_3 superiores a las 250 ppm, 10 veces superiores al valor de seguridad recomendado por la NOM-010-STPS-1994 (Jiménez *et al.*, 1999), así como por la normatividad internacional TWA, Secretaría del Trabajo y Previsión Social, 1994 y Richardson, 1993.

De manera contraria al amoníaco, la cal aplicada, también reduce la emisión de sulfuros volátiles y ácidos grasos, disminuyendo los malos olores de forma considerable. El incremento de pH impide la liberación del ácido sulfhídrico (H_2S) mediante la captura de gases de azufre como sulfuros según la reacción.



Finalmente, Vázquez, 1999 menciona que la cal reduce el índice de putrefacción de la materia orgánica por la inactivación o destrucción los microorganismos, con lo cual se previenen los malos olores y se controlan las fuentes de infección.

2.5.3 Inmovilización de metales

El alto nivel del pH de los lodos estabilizados origina que los iones de metales solubles (excepto el molibdeno y el selenio) sean precipitados por sus hidróxidos o carbonatos (sales insolubles). La reacción base es



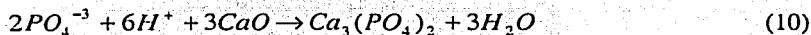
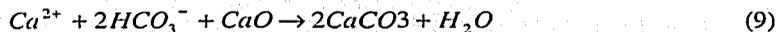
donde

Me: metal

Dicha característica minimiza la retención de los metales en algunas especies vegetales y a su vez, reduce el lixiviado de los mismos a los mantos acuíferos.

2.5.4 *Materia orgánica e inorgánica*

Adicionalmente, Girovich, 1996 menciona que aunque no se conocen con certeza la totalidad de las reacciones del proceso, probablemente las siguientes reacciones entre la cal y los iones orgánicos e inorgánicos pueden ocurrir:



Así mismo, las proteínas son parcialmente hidrolizadas por el alto pH; lo que produce un aumento en la fracción orgánica soluble, Vázquez, 1999.

Finalmente, la estabilización de lodos con $Ca(OH)_2$ o con CaO es altamente confiable para la estabilización de los lodos ya que la acción secante de la cal deshidrata los lodos. Algunos elementos forman compuestos permanentemente estables, los ácidos presentes se neutralizan y los microorganismos patógenos se eliminan.

2.6 **Procesos de estabilización alcalina comúnmente utilizados**

Existen dos grandes grupos de procesos de estabilización alcalina que se caracterizan por llevarla a cabo antes o después de la deshidratación de los lodos. A continuación se mencionan las características generales de éstos.

2.6.1 Pre-estabilización alcalina de lodos

La pre-estabilización alcalina consiste en realizar la adición del material alcalino antes de la etapa de desaguado. Esta tecnología generalmente produce biosólidos clase B, los cuales contienen cierto nivel de microorganismos y pueden aplicarse en suelos donde se restrinja el libre acceso; lo anterior debido a que al adicionarse el material alcalino en lodos con alto contenido de humedad no se promueve un incremento significativo de la temperatura. El proceso se recomienda en plantas de tratamiento de bajas capacidades. La Figura 2.2 muestra el diagrama de flujo de la pre-estabilización.

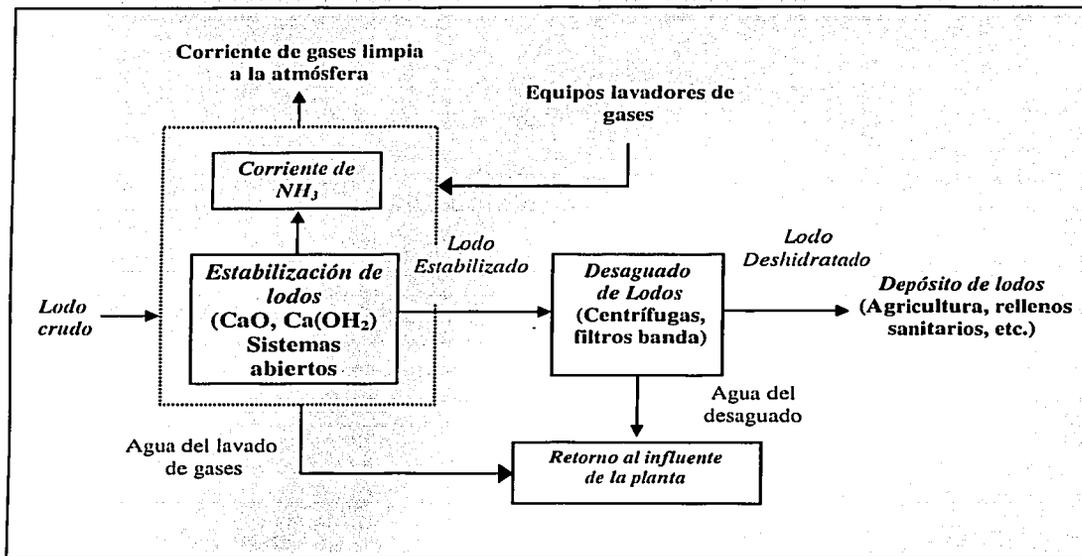


Figura 2.2 Pre - estabilización alcalina de lodos

2.6.2 Post-estabilización alcalina de lodos

La post-estabilización, es un proceso utilizado principalmente en los Estados Unidos, así como en algunos países de la comunidad Europea (Francia, por ejemplo). El lodo residual se

estabiliza con CaO después de haber sido desaguado en filtros banda y/o centrifugas, principalmente.

Este proceso promueve el incremento de la temperatura debido a la reacción de hidratación del óxido de calcio, ver reacción (2), fenómeno que contribuye de manera importante en la destrucción de microorganismos.

Este proceso es capaz de producir biosólidos clase B según la US EPA y el proyecto NOM-004-ECOL-2001, pero de acuerdo con Ritter, 1990, cuando se incrementa la temperatura simultáneamente a 70 °C durante 30 minutos se producen biosólidos de clase A según con la US EPA, mismos que prácticamente no contienen patógenos y no tienen restricciones de aplicación. En la Figura 2.3 se aprecia el diagrama de flujo de la post-estabilización alcalina.

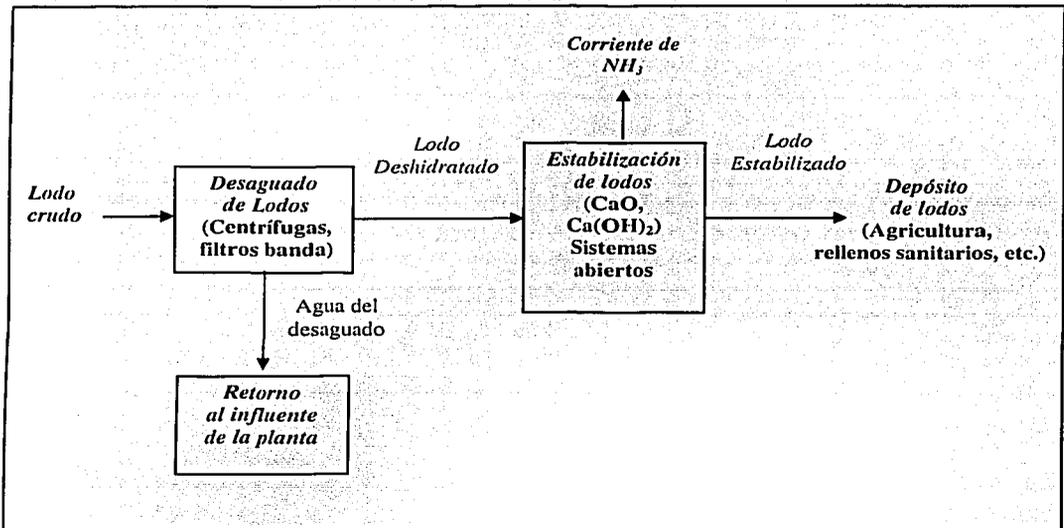


Figura 2.3 Post – estabilización alcalina de lodos

Aún cuando la estabilización alcalina de lodos no es un proceso protegido comercialmente, en Estados Unidos, han sido patentados varios sistemas en los que se han realizado algunas

modificaciones al proceso básico; dichas modificaciones consisten básicamente en usar algunas mezclas de materiales alcalinos así como en usar fuentes externas de calor para reducir los patógenos.

En México, se han identificado algunas plantas de tratamiento que emplean los procesos mencionados para el tratamiento de sus lodos pero su diseño y operación son poco adecuados. En algunos casos, la cal se aplica sin control de la dosis y el tiempo de contacto lo que produce lodos no estabilizados, que al disponerse en rellenos sanitarios o, en algunos casos, en sitios totalmente inapropiados (tiraderos), representan un riesgo a la salud humana así como al ambiente. Además, se utilizan mezcladores abiertos para combinar la cal con los lodos, lo que produce problemas de olores por la volatilización del amoniaco producido. En estas condiciones, puede pensarse que la estabilización alcalina de lodos es un proceso que presenta una desventaja en su aplicación y que genera un problema social importante. Sin embargo, esta situación no debe ser motivo de alarma sino más bien de estudio.

2.7 Importancia de la generación de NH_3

La estabilización alcalina de lodos tiene la propiedad de elevar el pH, la temperatura y producir NH_3 , por lo tanto es un proceso con un alto potencial desinfectante si se opera en forma adecuada. Además, el amoniaco presenta algunas propiedades que pueden ser aprovechadas en beneficio del mismo proceso.

2.7.1 Usos industriales del amoniaco

El NH_3 es conocido como un gas irritante que se licua fácilmente bajo presión. Este gas tiene aplicaciones industriales como son: la fabricación del ácido nítrico sintético y del sulfato de amonio empleado en blanqueo y tintes, la fabricación de colorantes, como base del nutriente nitrógeno para los fertilizantes; así como también en la producción de explosivos y plásticos (Chow, 1998). En la actualidad está siendo utilizado como materia prima para equipos de enfriamiento, ya que se le considera sustituto de los clorofluocarbonos (Instituto Internacional

del Frío, 2000) sustancias que dañan la capa de ozono (Molina, 1997), por ello, su demanda es creciente. Por consiguiente, es importante considerar la recuperación del amoniaco producido en la estabilización alcalina.

2.7.2 Poder desinfectante del amoniaco

Además de tener diversos usos industriales, también, se ha demostrado que el NH_3 inactiva o incluso destruye los huevos de *Taenia saginata*, *Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides* en lodos (Bruce, 1984; Reimers *et al.*, 1986^a; Ghiglietti *et al.*, 1995 y Ghiglietti *et al.*, 1997). Prácticamente, el amoniaco penetra la membrana de los huevos y en el interior desnaturaliza las enzimas responsables del metabolismo del organismo, lo que origina su muerte.

Allievi *et al.*, 1994 también, determinaron un efecto altamente bactericida del hidróxido de amonio (NH_4OH) en su forma no ionizada (NH_3). El aumento del pH hasta niveles de 10, origina que las bacterias no se adapten al cambio rápido de pH y mueran. Así, la actividad inhibidora de los álcalis actúa en los siguientes sitios vulnerables de la célula:

- a) Pared celular
- b) La membrana
- c) La síntesis proteica
- d) El metabolismo de los ácidos nucleicos, y
- e) Las reacciones enzimáticas

Su forma química de acción es desconocida; pero probablemente el amoniaco afecta el plasma de la membrana celular, cambia la permeabilidad de la célula y causa una pérdida de constituyentes citoplasmáticos esenciales, como es el caso del potasio (Tortora *et al.*, 1999).

En general, los álcalis ejercen la actividad antibacteriana a través de sus iones OH^- libres, por la alteración del pH del medio en el que se encuentra naturalmente el microorganismo, por medio de las moléculas no disociadas como el amoniaco y por el incremento de la temperatura. Estos factores desnaturalizan los ácidos nucleicos y originan el rompimiento de sus puentes de hidrógeno. Así, algunos hidróxidos como el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ son más efectivos de lo

que su grado de disociación podría indicar, lo que sugiere que el catión metálico también ejerce una acción tóxica directa sobre el microorganismo, Joklik *et al.*, 1998.

2.7.3 Propuesta para la estabilización alcalina de lodos

Con base en lo anterior, el aprovechamiento de un subproducto de la estabilización alcalina de lodos, como es el NH_3 , en la optimización del mismo proceso (uso de su poder desinfectante), su posible recuperación así como comercialización, son parte de las razones que motivaron este estudio. Por ello, se propuso simular el proceso de estabilización alcalina en un sistema cerrado y la recirculación del amoníaco, con lo cual es posible mejorar el proceso de estabilización alcalina utilizado en las condiciones actuales. Así, se propone el estudio de la estabilización alcalina de lodos en sistemas cerrados con recirculación de amoníaco opcional, cuyo diagrama de flujo se muestra en la Figura 2.4.

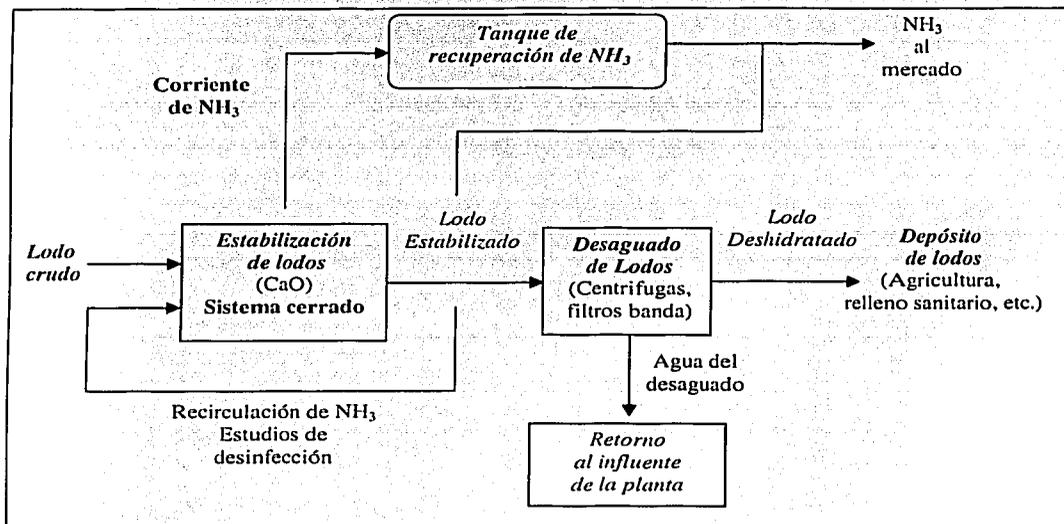


Figura 2.4 Estabilización alcalina de lodos en sistemas cerrados con recirculación de amoníaco

Las principales ventajas que presenta esta tecnología son:

- Promover el contacto directo del NH_3 con los microorganismos, que junto con el CaO , promueven el aumento del pH e incrementan la eficiencia del proceso.
- Disminuir el aumento de la masa de los lodos por el uso de una dosis de CaO menor a la requerida en un sistema abierto, y por lo tanto,
- Disminuir el costo de operación por que reduce los requerimientos de cal y evita los lavadores de gases.
- Reducir el costo de transporte de lodos.
- Evitar problemas sociales (olores), y
- Producir un sub-producto rentable (NH_3).

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Este capítulo presenta los aspectos más relevantes de las actividades realizadas para evaluar al amoníaco como una alternativa de desinfección de lodos así como su posible uso para mejorar el proceso de estabilización alcalina de lodos.

En el desarrollo de la experimentación se tomó en consideración que la eficiencia de la estabilización alcalina depende de varios factores como son la producción de amoníaco, el tiempo de contacto de la cal (y el amoníaco) en los lodos y la temperatura alcanzada por la adición de CaO. Así, las tres primeras etapas de experimentación se realizaron con el objeto de conocer el poder desinfectante del amoníaco en lodos con alto contenido de patógenos así como su efecto combinado con el tiempo de contacto y la temperatura. Demostrados dichos efectos, en la etapa 4 se comprobó que la estabilización es más eficiente siempre que se aproveche el poder desinfectante del amoníaco impidiendo su volatilización. Finalmente, en la quinta etapa se simuló la recirculación del amoníaco dentro del sistema utilizado para el mezclado de los lodos con la cal, con lo cual se evaluó la posibilidad de incrementar la eficiencia del proceso alcalino convencional y reducir los requerimientos de CaO para la estabilización de los lodos.

La metodología de los estudios de estabilización en todas las etapas de experimentación tuvo un fundamento similar en todos los casos. A continuación se mencionan con mayor detalle las etapas generales de los estudios de estabilización.

3.1 Etapas generales de los estudios de estabilización

La Figura 3.1 presenta esquemáticamente la metodología experimental de los estudios de estabilización alcalina de lodos. Esta se compone principalmente de tres aspectos primordiales: 1) *Obtención y caracterización de los lodos por estabilizar*, 2) *Estudios de estabilización con NH_3 , CaO y con recirculación de NH_3* y 3) *Evaluación de la calidad de los lodos estabilizados*.

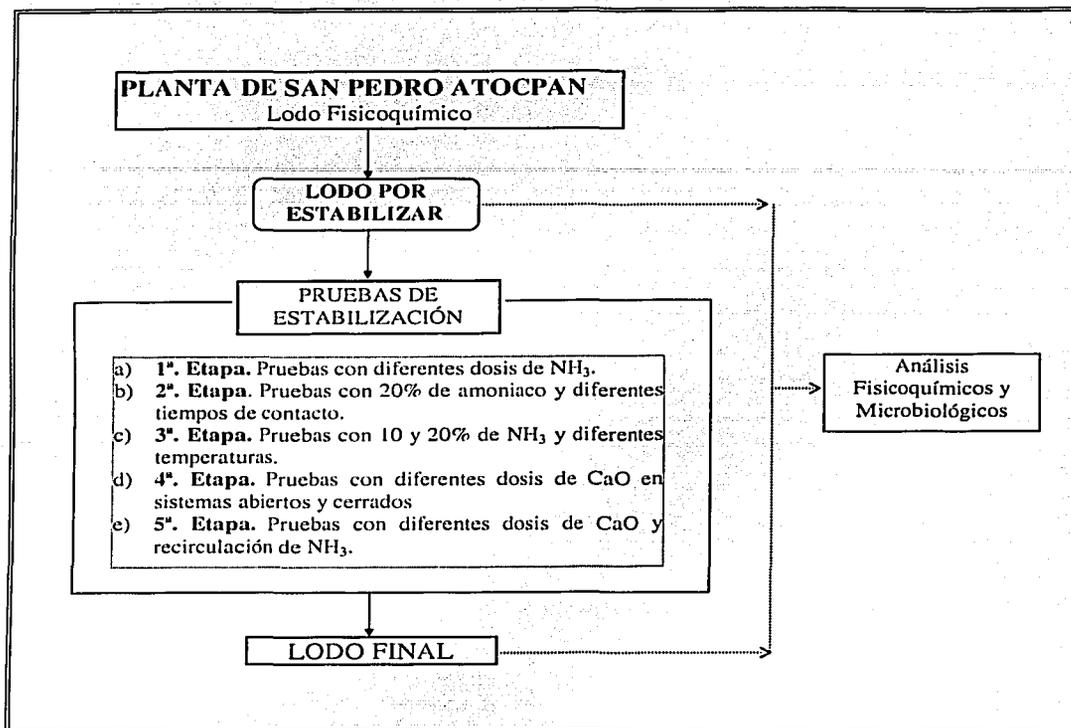


Figura 3.1 Diagrama de obtención de lodos estabilizados

3.1.1 Obtención de los lodos a estabilizar

Los lodos que se utilizaron para los ensayos de estabilización se obtuvieron en muestreos realizados entre los meses de marzo del 2000 a octubre del 2001, en la planta de tratamiento de aguas residuales de San Pedro Atocpan (SPA), la cual está localizada en la delegación Milpa Alta de la ciudad de México, D. F. y tiene un capacidad de operación de 35 L/s; dadas las condiciones del lugar, se considera que el agua residual que recibe esta planta principalmente es de tipo doméstico. En la Tabla 3.1 se aprecian las condiciones de operación de la planta de San Pedro Atocpan.



Tabla 3.1 Condiciones de operación de la planta de San Pedro Atocpan

Tipo de tratamiento	Características
Tratamiento Primario Avanzado (TPA)	Caudal: 35 L/s Coagulante: $Al_2(SO_4)_3$ Dosis estimada: 66 mg/L (sal anhidra) Dos unidades de tratamiento en paralelo. Tratamiento de lodos: Espesamiento y traslado a planta "Cerro de la Estrella" para tratamiento posterior.

En la Figura 3.2 y Figura 3.3 se describen esquemáticamente, el diagrama de flujo y la distribución de la planta de San Pedro Atocpan.

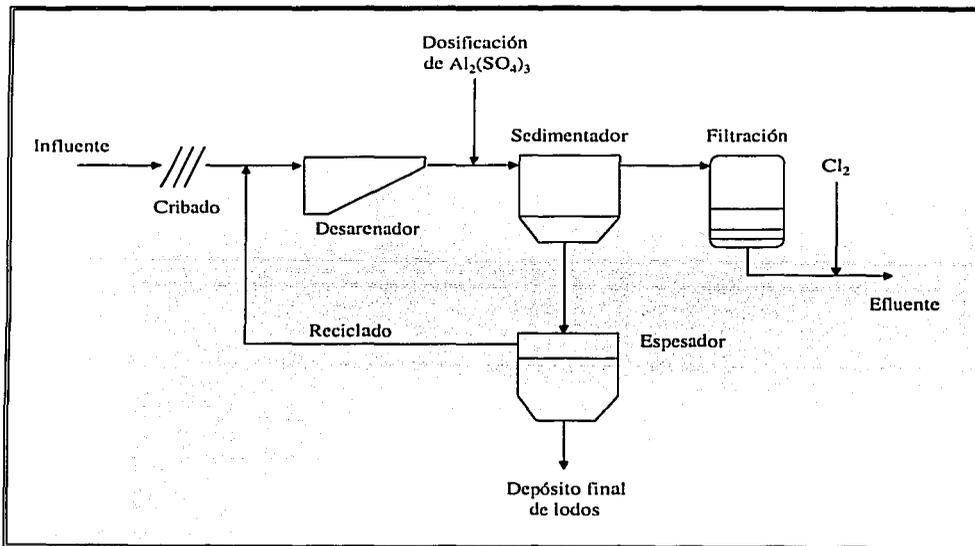
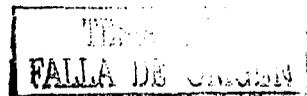


Figura 3.2 Diagrama de flujo de la planta de San Pedro Atocpan



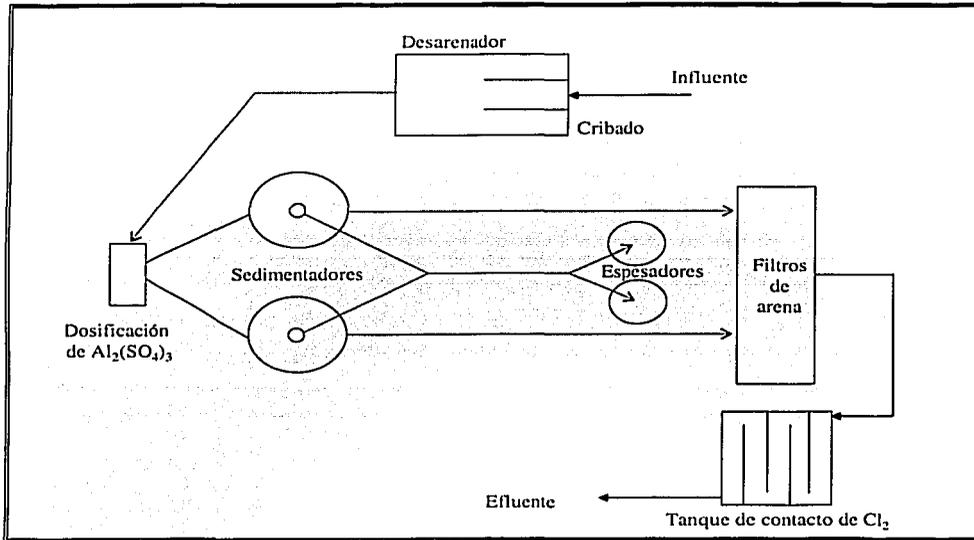
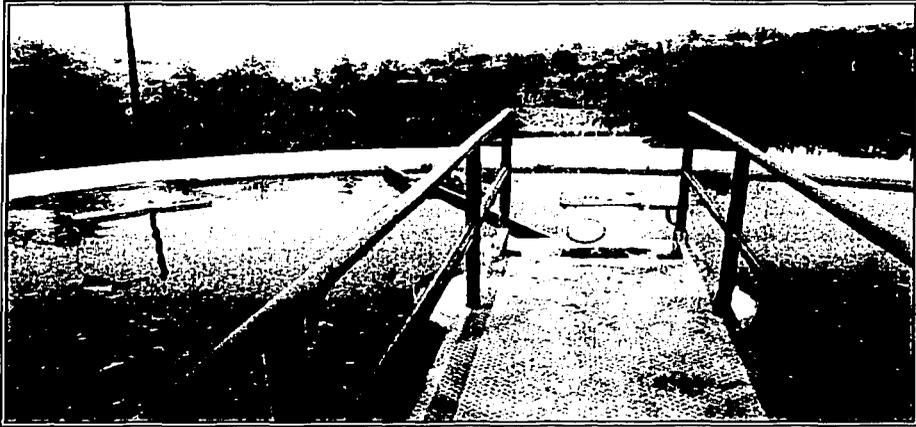
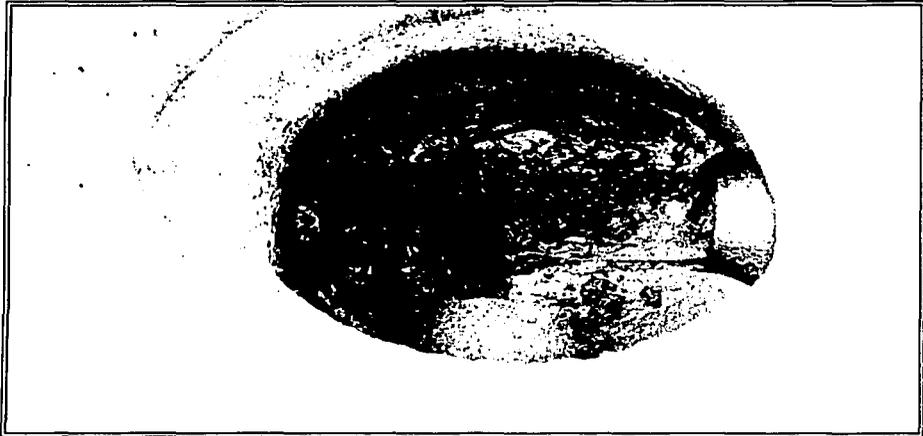


Figura 3.3 Disposición de la planta de San Pedro Atocpan

Los lodos fisicoquímicos fueron extraídos de los sedimentadores de la planta los cuales tienen periodos de purga de aproximadamente 12 h. La obtención de los lodos se realizó 1 hora antes de la purga de éstos, el lodo se dejó fluir a los espesadores aproximadamente 7 minutos antes de la toma de muestras. La Fotografía 3.1 y Fotografía 3.2 muestran una vista de los espesadores de la planta así como del registro del cual se extrajeron los lodos después de la purga. Cabe mencionar que actualmente los espesadores de lodos no operan normalmente por lo que éstos se transportan directamente de los espesadores a la planta de tratamiento Cerro de la Estrella para su tratamiento. Se ha determinado también que los lodos en la mayoría de las ocasiones son descargados al sistema de drenaje sin tratamiento alguno.



Fotografía 3.1 Espesadores de la planta de tratamiento de San Pedro Atocpan



Fotografía 3.2 Registro de extracción de lodos de la planta de San Pedro Atocpan

Los lodos se colectaron en recipientes de plástico cerrados con capacidad de 7 litros y fueron transportados al laboratorio del Instituto de Ingeniería. A los lodos se les determinó los sólidos totales para determinar los requerimientos de amoníaco y CaO según el caso.

3.1.2 Estudios de estabilización alcalina de lodos

Los estudios de estabilización se realizaron para demostrar el efecto desinfectante del amoníaco en lodos y su aprovechamiento en un sistema cerrado de estabilización de lodos con CaO. A continuación se describen las etapas de experimentación realizadas.

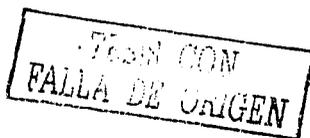
3.1.2.1 Primera etapa: Efecto de la dosis de NH_3 en la estabilización alcalina de lodos

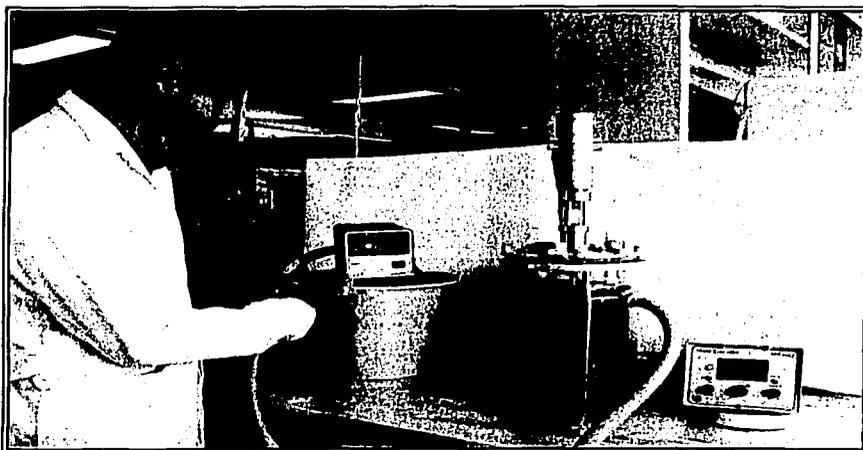
Para la realización de los estudios de estabilización de lodos con NH_3 se utilizó una solución de NH_4OH al 29% vol/vol con pH 13. Es necesario recordar que a un pH de 11 el 99% de amonio (NH_4^+) es convertido a su forma amoniacal (NH_3), RDP, 1993 y que además, Ruseell y Larena, 1994, indicaron que históricamente estas soluciones se han llamado hidróxido de amonio, aún cuando este compuesto nunca se ha separado. Por otra parte, hay pruebas de que no existen en solución moléculas de NH_4OH ; por lo que el sistema es un inmenso complejo que incluye intercambio protónico entre las siguientes especies: H_2O , NH_3 , NH_4^+ , OH^- y H^+ . Lo anterior justifica el uso de una solución comercial de NH_4OH valorada por acidimetría, el método de valoración utilizado se presenta en el inciso 8.6 del anexo B. Cabe mencionar que esta valoración se realizó antes de cada ensayo. La Tabla 3.2 muestra las características del reactivo utilizado.

Tabla 3.2 Características del NH_3 utilizado en los estudios de estabilización

Reactivo	Características
Hidróxido de amonio (NH_4OH)	Concentración: 28 – 30 % Peso molecular: 53.5 g/mol Gravedad específica: 0.902 Apariencia: Pasa la prueba. (Ver anexo B, punto 8.7) Ensayo como NH_3 : Por acidimetría

Las pruebas de esta etapa se realizaron en un fermentador de cierre hermético (utilizado como reactor cerrado) con capacidad de 2 L, marca Applikon. Este sistema permite efectuar un seguimiento de temperatura, pH, presión y tomar de muestras. La Fotografía 3.3 muestra el reactor utilizado.





Fotografía 3.3 Fermentador de cierre hermético “Sistema cerrado”

Se aplicaron dosis de 10, 20, 30, 40 y 50% m/m de NH_3 a los lodos utilizando la solución de NH_4OH con pH de 13. Las muestras y un control se homogenizaron a 200 rpm durante 1 minuto. Transcurrido este tiempo, se aplicó el NH_3 y se incrementó la velocidad de agitación a 300 rpm durante 2 horas. Al final de cada tratamiento se realizó la evaluación microbiológica inmediata para cuantificar el contenido de coliformes fecales y *Salmonella spp.* (APHA, AWWA y WEF, *Standard Methods*, 1995, incisos 8.3 y 8.4 de Anexo B). Además, se midieron los huevos de helmintos viables mediante el método descrito por el proyecto NOM-004-ECOL-2001, el cual se presenta en el Anexo B (apartado 8.5). Los resultados se obtuvieron de cuatro réplicas para cada tratamiento. La Tabla 3.3 muestra los criterios de mezclado utilizados.

Tabla 3.3 Criterios de mezclado empleados para la estabilización de lodos con NH_3

ETAPAS	AGITACIÓN (rpm)	TIEMPO (s)
Mezclado rápido	200	60
Adición de Reactivo	200	60
Tiempo de contacto	300	7200
Toma de muestra	0	15

Durante la experimentación se utilizó un diseño unifactorial por bloques completos. Este diseño se aplicó debido a que la complejidad de los análisis microbiológicos no permitió realizar todos los tratamientos a la vez; y sólo se realizó un tratamiento para cada dosis propuesta en cada semana de muestreo. Así, cada semana de muestreo representó un bloque. En la Tabla 3.4 se observa el diseño experimental utilizado.

Tabla 3.4 Diseño experimental para determinar el efecto de la dosis de NH₃ en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos

Factores	Niveles	Valores
Dosis de NH ₃	5	10, 20, 30, 40 y 50 (% m/m)
Número de tratamientos	4	
Número de muestras por tratamiento	5	
Total de muestras	20	

El objetivo principal de la estabilización es lograr la inactivación de microorganismos patógenos. La variable de respuesta del diseño propuesto para en el caso de los coliformes y la *Salmonella spp.* se calculó en términos de inactivación de microorganismos.

$$I = \text{Log} (C_f/C_o) \quad (13)$$

Donde

I : Inactivación de microorganismos.

C_r : Logaritmo de la concentración final de microorganismos (después de cada tratamiento).

C_o : Logaritmo de la concentración inicial de microorganismos (lodo crudo).

Por su parte, para los huevos de helmintos viables se utilizó la eficiencia (E) como variable de respuesta y se utilizó el método tradicional de cálculo:

$$E = (C_o - C_f)/C_o \times 100 \quad (14)$$

Con el objeto de validar estadísticamente los resultados obtenidos y determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos se realizó el análisis de varianza de los

mismos. El análisis estadístico fue realizado para cada grupo de microorganismos (coliformes fecales, *Salmonella spp.* y huevos de helmintos) de manera independiente.

Los resultados del experimento anterior, permitieron establecer los experimentos siguientes, los cuales se realizaron con la dosis de amoniaco recomendable para la estabilización.

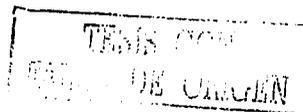
3.1.2.2 Segunda etapa: Efecto del tiempo de contacto en la estabilización de lodos con amoniaco

La experimentación se realizó con el objeto de evaluar el efecto del tiempo de contacto en la desinfección con amoniaco. Para ello, un control y las muestras fueron agitadas a 200 rpm durante 1 minuto. Posteriormente, se aplicó a 2 litros de lodo una dosis de 20% m/m de NH_3 (dosis recomendable obtenida en la primera etapa) y se incrementó la velocidad de agitación a 300 rpm. Se tomaron muestras después de cuatro tiempos equidistantes (0.5, 1, 1.5 y 2 h) para su análisis microbiológico inmediato. La Tabla 3.3 muestra los criterios de agitación utilizados. Nuevamente, se seleccionó el diseño unifactorial por bloques completos de forma análoga a la primera etapa. Se consideraron a los muestreos realizados como los bloques del experimento y las variables de respuestas fueron la inactivación de coliformes fecales y *Salmonella spp.* y la eficiencia de inactivación de huevos de helmintos. El análisis de varianza de los resultados obtenidos se realizó para cada microorganismo de manera independiente. La Tabla 3.5 presenta el diseño experimental utilizado.

Tabla 3.5 Diseño experimental para determinar el efecto del tiempo de contacto en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos

Factores	Niveles	Valores
Tiempo de contacto	4	0.5 h, 1h, 1.5 h y 2 h
Número de tratamientos	4	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	12	

Adicionalmente, con el objeto de conocer el efecto del NH_3 en la inactivación de huevos de helmintos y en el posible recrecimiento bacteriano (coliformes fecales y *Salmonella spp.*) en



tiempos de contacto mayores, se evaluó el efecto del amoniaco en tiempos de contacto de 1, 7, 14, 21 y 28 días. Al cabo de cada uno de estos tiempos se realizó la caracterización microbiológica del lodo. Esta prueba se realizó aplicando a los lodos una dosis de 20% de NH_3 , misma que se agitó con los criterios de mezclado de la Tabla 3.3 durante dos horas. Al final del tratamiento, se dejaron los vasos a la sombra en un lugar seco y a temperatura ambiente hasta el tiempo deseado. Al término de cada tiempo se tomaron muestras en recipientes esterilizados para su evaluación microbiológica.

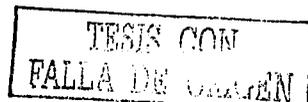
3.1.2.3 Tercera etapa: Efecto de la temperatura en la estabilización de lodos con amoniaco

Para realizar las pruebas con diferentes temperaturas se utilizó el reactor hermético utilizado en las etapas anteriores haciendo pasar agua precalentada a través de la zona de transferencia de calor con que cuenta. Se adicionaron dosis de 10 y 20% m/m de NH_3 y los tratamientos se realizaron a 20, 30, 40 y 50 °C durante dos horas. Transcurrido este tiempo, se realizó la evaluación microbiológica de las muestras.

Con un procedimiento similar a las etapas anteriores, el control y las muestras fueron sometidos a los mismos criterios de agitación de la Tabla 3.3. En esta etapa se utilizó un diseño factorial de dos factores (temperatura y dosis de NH_3) y se realizaron tres réplicas para cada combinación de tratamientos. Como en los diseños anteriores la variable de respuesta fue la inactivación de coliformes fecales y *Salmonella spp.* así como la eficiencia de remoción de huevos de helmintos viables. El diseño utilizado se resume en la Tabla 3.6. Con los resultados obtenidos se realizaron los análisis de variancia de manera independiente.

Tabla 3.6 Diseño experimental para determinar el efecto de la temperatura en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos

Factores	Niveles	Valores
Temperatura	4	20, 30, 40 y 50 °C
Dosis de NH_3	2	10 y 20% m/m
Número de tratamientos	8	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	24	



3.1.2.4 Cuarta etapa: Comparación de la estabilización alcalina de lodos en sistemas abiertos y cerrados

La cuarta etapa de experimentación se realizó con el objeto de comparar las eficiencias de remoción de microorganismos indicadores y patógenos en sistemas abiertos y cerrados para estabilizar lodos con cal y corroborar así, que los sistemas cerrados son más eficientes que los abiertos.

El CaO (llamado también "cal viva") utilizado para los ensayos de estabilización, fue donado por la empresa "Caleras Beltrán" S.A. de C.V., la cual además entregó el producto con la caracterización correspondiente. En la Tabla 3.7 se observa la composición de la cal viva utilizada.

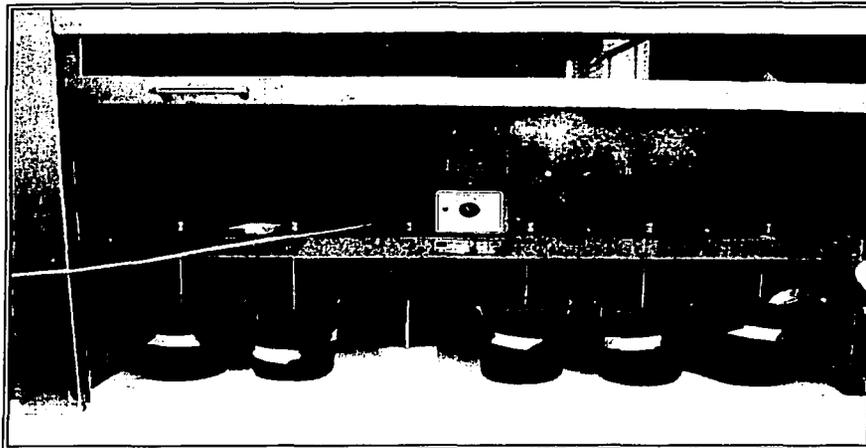
Tabla 3.7 Composición de la cal viva utilizada en los estudios de estabilización

Descripción	Fracción	Porcentaje (%)
CaO	0.8150	81.50
CaCO ₃	0.1748	17.48
SiO ₂	0.0510	5.10

El producto utilizado tenía un tamaño de partícula muy alto, de hecho, sólo el 47.6 % del producto pasó por una malla de 3/4", de tal modo que fue necesario someter el producto a una molienda previa a su uso. Esta se realizó en un molino de tornillo sin fin para pulverizar la piedra de cal.

La simulación del proceso de estabilización en sistemas abiertos se realizó en un equipo de agitación PHIPPS & BIRD, modelo 7790-400 (prueba de jarras). El peso del soporte para los agitadores es de 10 kg y las paletas de agitación miden aproximadamente 10 x 2.5 cm. Las jarras empleadas para estas pruebas fueron vasos de precipitado de plástico Nalgene con capacidad para 2 litros. La Fotografía 3.4 presenta el equipo utilizado durante las pruebas de estabilización de lodos con CaO en sistemas abiertos. Es necesario mencionar también que los

ensayos se llevaron a cabo dentro de la campana de extracción debido a los olores que se producen por el NH_3 volatilizado.



Fotografía 3.4 Equipo de Jarras “Sistemas abiertos”

Las pruebas en sistemas cerrados se realizaron en el mismo reactor de cierre hermético utilizado en las etapas de experimentación anteriores.

Los tratamientos se realizaron utilizando el mismo lodo de las etapas anteriores aplicando 5, 10, 15, 20, 30 y 40% m/m de CaO. El control y las muestras fueron sometidos a los criterios de mezclado de la Tabla 3.3, al final de cada tratamiento se tomaron las muestras para su análisis inmediato. Para esta etapa se utilizó un diseño factorial con dos factores en diferentes niveles (Tabla 3.8). Ambos procesos fueron evaluados en términos de inactivación de coliformes fecales y *Salmonella spp.* así como la eficiencia de inactivación de huevos de helmintos. Con los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza para cada variable de respuesta de manera independiente.

Tabla 3.8 Diseño de experimentos para determinar el efecto de la dosis de CaO y el tipo de sistema en la estabilización alcalina de lodos.

Factores	Niveles	Valores
Concentración de CaO	6	5, 10, 15, 20, 30 y 40% m/m
Tipo de sistema	2	Abierto y Cerrado
Número de tratamientos	12	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	36	

3.1.2.5 Quinta etapa: Evaluación del efecto de la recirculación de NH₃ en el proceso de estabilización con CaO

Esta etapa tuvo por objeto incorporar NH₃ al proceso de estabilización de lodos con CaO para determinar su influencia en la estabilización de lodos con cal así como la factibilidad de incrementar la eficiencia mediante la recirculación del NH₃. Tanto el amoniaco como el óxido de calcio utilizados fueron los mismos de las etapas 1 y 4, respectivamente.

Las dosis de CaO utilizadas fueron, la dosis recomendable (20%) y tres dosis inferiores (5, 10 y 15%). A cada una de éstas, se añadieron de 5, 10 y 15% m/m de NH₃, que son cantidades inferiores a la recomendable (20%). Los criterios de mezclado utilizados fueron los mismos utilizados en las etapas anteriores (Tabla 3.3). Al término del mezclado las muestras fueron tomadas para su análisis microbiológico inmediato. Además, se analizó una muestra de lodo crudo como blanco de comparación.

Al igual que en la primera etapa de experimentación, se utilizó un diseño unifactorial por bloques completos para evaluar el efecto de la mezcla CaO/NH₃ en la inactivación de microorganismos. Los bloques fueron representados por cada muestreo de lodos realizado semanalmente mientras que el factor en estudio fue la mezcla de CaO/NH₃. La Tabla 3.9 muestra el diseño experimental utilizado.

Tabla 3.9 Diseño experimental para determinar el efecto de la incorporación de NH₃ en la estabilización con CaO de lodos fisicoquímicos

Factores	Niveles	Valores % m/m
Mezcla de CaO/NH ₃	12	5/5, 5/10, 5/15 10/5, 10/10, 10/15 15/5, 15/10, 15/15 20/5, 20/10, 20/15
Número de tratamientos	12	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	36	

El proceso se evaluó comparando la inactivación de coliformes fecales y *Salmonella spp.* y la eficiencia de inactivación de huevos de helmintos independientemente.

3.1.3 Evaluación de la calidad de los lodos estabilizados

Finalmente, fue evaluada la calidad de los lodos estabilizados en cada una de las etapas descritas. Los parámetros fueron establecidos con base en la parte 503 de la US EPA, “Estándares para el uso o disposición de lodos residuales” y el proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-004-ECOL-2001 “Protección Ambiental – **Lodos y Biosólidos** - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final”.

Los métodos de análisis se efectuaron según APHA, AWWA y WEF (1995). Por referirse a las variables de respuesta de los experimentos realizados, los parámetros microbiológicos fueron evaluados en las cinco etapas de experimentación; mientras que los parámetros fisicoquímicos fueron evaluados en la etapa 4 donde fue importante evaluar los procesos en sistemas abiertos y cerrados para explicar las diferencias en los resultados obtenidos. La Tabla 3.10 muestra la lista de parámetros analizados, los métodos de determinación y la frecuencia de evaluación para cada caso.

Tabla 3.10 Parámetros de evaluación

Físicos	Unidad	Método	Frecuencia
pH		Potenciométrico	Rutinario ***
Temperatura	°C	Termopar	Rutinario (E-4)**
Sólidos Totales	% m/m	2540 B Standard Methods (SM)	Rutinario (E-4)*
Sólidos Totales Volátiles	% m/m	2540 E SM	Rutinario (E-4)*
Sólidos Totales Fijos	% m/m	2540 E SM	Rutinario (E-4)*
Químicos	Unidad	Método	Frecuencia
Nitrógeno amoniacal	mg/kg lodo	4500 - Norg B SM	Rutinario (E-4)*
Microbiológicos	Unidad	Método	Frecuencia
Coliformes fecales	NMP/g ST	9221 E SM	Rutinario **
<i>Salmonella spp.</i>	NMP/g ST	9221 B SM	Rutinario **
Huevos de Helminetos	HH/g ST	NOM-004-ECOL-2001	Rutinario **

* (E-4): Etapa 4

** Realizado en la totalidad de las réplicas de cada experimento.

*** Realizado en las etapas 1^{ra} a 4^a.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4 RESULTADOS

A continuación se presenta el análisis de los resultados obtenidos en las cinco etapas de experimentación, la totalidad de los mismos son presentados en el anexo A.

4.1 Primera etapa de experimentación: Efecto de la dosis de NH_3 en la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos

4.1.1 Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 10, 20, 30, 40 y 50 % m/m de NH_3

4.1.1.1 pH

La aplicación de diferentes dosis de amoníaco produjo un incremento en el pH de los lodos como se aprecia en la Tabla 4.1. El pH promedio para el lodo crudo fue de 5.53, el cual aumentó conforme mayor fue la dosis aplicada. El mayor incremento, Δ pH de 4.21, se alcanzó con la dosis menor (10%) con la que se alcanzó un pH de 9.74; si bien el amoníaco aplicado tenía un pH de 13, el pH final no es tan elevado debido a que el agua contenida en los lodos actúa como un ácido que neutraliza al amoníaco (base fuerte) y promueve la formación de iones de amonio. Con dosis mayores, el aumento de pH fue menor debido a la capacidad amortiguadora (acidez en este caso) de los lodos hasta alcanzar un máximo de 10.74 después de la aplicación de la mayor dosis de amoníaco (50% m/m). Es importante mencionar que a estos niveles de pH, la mayor parte (97% para la mayor dosis) del NH_4OH se disocia en $\text{NH}_3 + \text{OH}^-$, incrementando su efecto desinfectante sobre los microorganismos.

Tabla 4.1 Valores de pH alcanzados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH_3

Dosis de NH_3 (m/m)	pH promedio final	Desviación Estándar
0%	5.53	0.21
10%	9.74	0.21
20%	10.30	0.33
30%	10.45	0.28
40%	10.62	0.33
50%	10.74	0.32

4.1.1.2 Coliformes fecales

Para evaluar el efecto del amoníaco en la estabilización de lodos se realizaron pruebas de desinfección con diferentes dosis de NH_3 . La Figura 4.1 muestra que la concentración inicial de coliformes fecales fue de 7.6 unidades log y que la reducción de coliformes fecales fluctuó desde 4.0 hasta 7.5 log cuando se aplicaron desde 10 hasta 50% de NH_3 , produciendo biosólidos que cumplen con el límite US EPA para clase A con respecto a este parámetro. Sin embargo, la desviación estándar (0.8 log) indica que para producir este tipo de biosólidos, más de 10% deben ser adicionados para asegurar concentraciones inferiores a este límite. Concentraciones $\geq 20\%$ m/m de NH_3 redujeron la densidad de coliformes fecales hasta un promedio de menos de 1 Log.

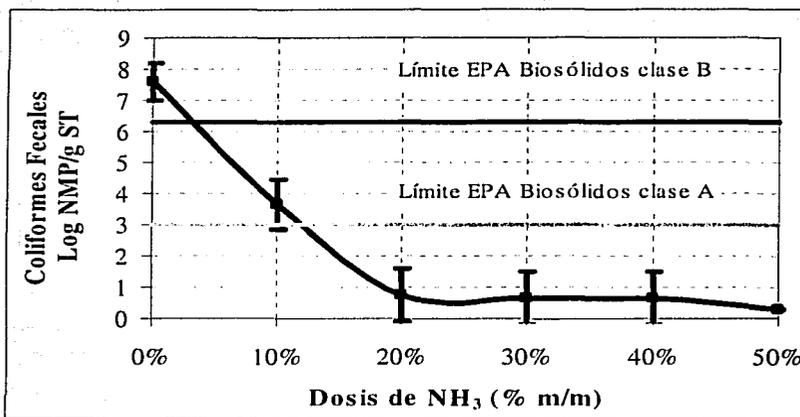


Figura 4.1 Remoción de coliformes fecales en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3

Con base en el análisis gráfico fue posible apreciar que la dosis aplicada de NH_3 afecta directamente la concentración de coliformes fecales en lodos, lo que comprueba el poder desinfectante del NH_3 sobre estos microorganismos en lodos. Sin embargo, un análisis más riguroso de resultados para probar las diferencias entre los tratamientos es el análisis de varianza, mismo que se presenta en la sección 9.1.1 del anexo C.

A partir de la prueba de intervalos múltiples de Duncan (apartado 9.1.2) se determinó que todas las dosis probadas (desde 10 a 50%) tienen una diferencia significativa con el tratamiento 1 (0% de amoníaco), lo anterior es debido al efecto desinfectante del amoníaco, el cual, al ser adicionado reduce de manera significativa los coliformes fecales. También se determinó la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos 6 y 2, 5 y 2, 4 y 2 y 3 y 2, es decir, los tratamientos con 20, 30, 40 y 50% m/m de NH_3 tienen diferencias significativas con la dosis de 10% m/m de NH_3 esto se debe a que dichos tratamientos inactivaron entre 6.85 y 7.3 unidades log, mientras que el tratamiento con 10% sólo inactivó 3.92 log. Al no existir diferencias significativas entre las dosis $\geq 20\%$ m/m de NH_3 , la selección de la dosis recomendable para los lodos en estudio depende en este caso del factor económico, por lo tanto, es posible recomendar la dosis de 20% m/m de amoníaco la cual garantiza el cumplimiento del límite US EPA para biosólidos clase A al menor costo.

4.1.1.3 *Salmonella spp.*

Para determinar el efecto del NH_3 en la estabilización de lodos residuales, se evaluó también la *Salmonella spp.*

Debido a que los coliformes fecales son microorganismos indicadores, la *Salmonella spp.* respondió a la adición de amoníaco con la misma tendencia (Figura 4.2). Las concentraciones iniciales fueron del orden de 10^6 NMP/g ST (6 log) mismas que fueron reducidas 4 log cuando se usó 10% NH_3 . Con la aplicación de dosis de 20% y mayores, las concentraciones fueron reducidas 6 log, es decir, por debajo del límite de detección (< 3 NMP/g ST) cumpliendo con el límite para biosólidos clase A para este parámetro.

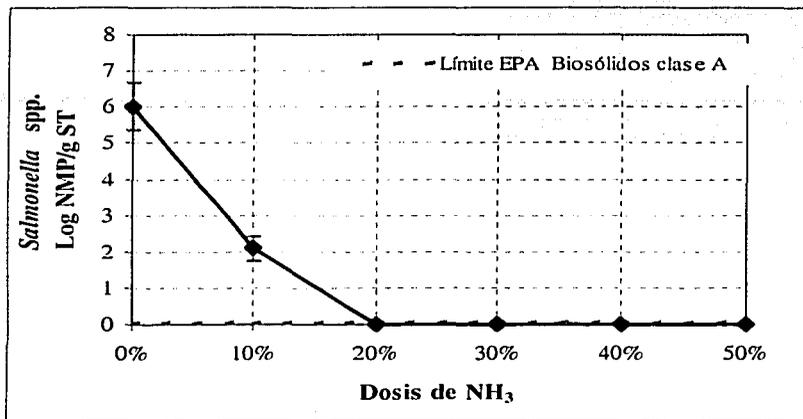


Figura 4.2 Remoción de *Salmonella* spp. en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH₃

Nuevamente, el análisis gráfico indica un efecto del amoníaco sobre la *Salmonella* spp. (microorganismos patógenos, en este caso). Sin embargo, con el objetivo de dar validez estadística a los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza, mismo que se presenta en el inciso 9.1.3 del anexo C. Para calcular las diferencias entre los tratamientos se realizó (al igual que en el primer caso) la comparación entre las medias de los tratamientos utilizando la prueba de intervalos múltiples de Duncan (apartado 9.1.4).

Al igual que en el primer caso puede concluirse que los tratamientos a partir de 10% y hasta 50% de amoníaco tienen diferencias significativas con el tratamiento 1 (o blanco), lo que indica que este gas fue capaz de remover microorganismos patógenos desde la primera dosis aplicada. Además, existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos 6 y 2, 5 y 2, 4 y 2 y 3 y 2, esto puede explicarse porque el tratamiento 2 (con 10%) de NH₃ logró en promedio una inactivación de 3.93 log, mucho menor a los tratamientos con dosis de 20, 30 40 y 50% m/m de NH₃, los cuales tuvieron una inactivación promedio de 5.72 log que cumplió en todos los casos con el límite establecido por la US EPA para biosólidos clase A. La selección de la dosis recomendable entonces se realizó a partir del factor económico y por supuesto,

nuevamente la dosis de 20% m/m fue la que cumplió con los límites establecidos al menor costo.

4.1.1.4 Huevos de helmintos

Estudios previos a este proyecto han mostrado el alto contenido de huevos de helmintos, particularmente *Ascaris spp.* en lodos generados en México comparados con países desarrollados y la aplicabilidad de los procesos alcalinos para reducir su concentración (Jiménez *et al.*, 2000). En este estudio el género predominante fue también *Ascaris spp.* el cual representó el 88% del total de huevos encontrados. Otros géneros como *Trichuris spp.*, *Hymenolepis spp.* y *Toxocara spp.* fueron encontrados en mucho menores concentraciones. La Tabla 4.2 presenta el número y la distribución de géneros.

Tabla 4.2 Géneros de huevos de helmintos determinados en lodos fisicoquímicos crudos

Género	HH viables/g ST (promedio)	Porcentaje (%)
<i>Ascaris spp.</i>	93	88
<i>Trichuris spp.</i>	7	6
<i>Hymenolepis spp.</i>	5	5
<i>Toxocara spp.</i>	1	1
Total	106	100

La Figura 4.3 presenta los resultados del comportamiento de huevos de helmintos viables totales después de la adición de amoníaco. Es claro el efecto incluso de la menor dosis aplicada (10%) en el número de huevos de helmintos contabilizados después de dos horas de tiempo de contacto; su concentración se redujo desde un promedio de 106 hasta 33 huevos viables/g ST (69% de reducción). Cuando mayor fue la dosis de amoníaco aplicada, las eficiencias aumentaron, alcanzando un máximo de 94% cuando se aplicaron a los lodos 50% de NH₃. Es importante mencionar que cuando se agregaron dosis de 20% de amoníaco los huevos viables de géneros diferentes a *Ascaris spp.* fueron totalmente inactivados.

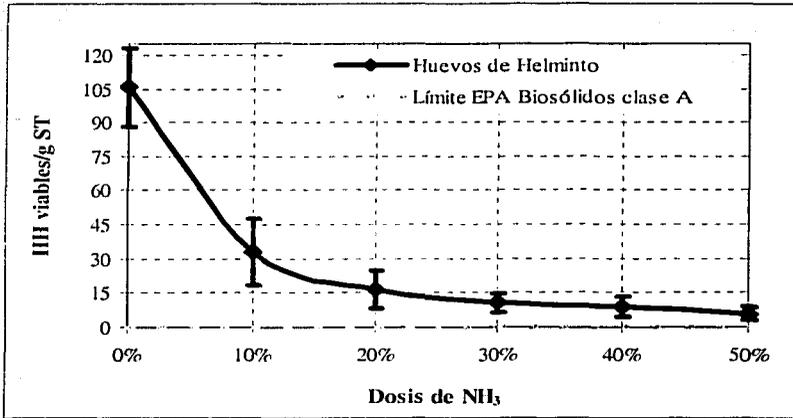


Figura 4.3 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3

Tomando en cuenta el efecto del amoníaco en los huevos de helmintos, la inactivación de los mismos es debida a la concentración de amoníaco adicionado y no sólo al pH de los lodos después de cada adición. Esto basado en estudios reportados por Allievi *et al.*, (1994) que demostraron que el NH_4OH es mucho más eficiente que otras bases tales como el KOH, cuando los tratamientos fueron realizados al mismo valor controlado de pH (10.5). También, Reimers *et al.*, (1986) reportaron que el efecto del amoníaco en la estabilización de los lodos depende de la forma en la cual el compuesto fue adicionado y el cambio de pH después de la adición. Además, mencionan la aplicación de amoníaco anhidro a los lodos no requiere la adición de otro álcali para incrementar el pH, contrariamente a la adición de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, la cual requirió la adición posterior de NaOH para convertir el amonio en amoníaco.

Para validar estadísticamente los resultados obtenidos fue realizado el análisis de varianza correspondiente (Anexo C, apartado 9.1.5). El procedimiento para calcular las diferencias entre los tratamientos fue similar al utilizado anteriormente. La identificación de las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos se presenta en el inciso 9.1.6 del Anexo C.

Los resultados muestran que los tratamientos a partir de de la dosis 10% y hasta 50% tienen diferencias significativas con el tratamiento 1 (0%), lo cual corrobora que al adicionar amoníaco a los lodos crudos, éste ejerce su poder desinfectante e inactiva los huevos de helmintos. Por otra parte las medias de los tratamientos tienen diferencias significativas en las combinaciones 6 y 2, 5 y 2, 4 y 2 y 3 y 2, lo que revela que los tratamientos con dosis $\geq 20\%$ m/m presentan diferencias significativas con el tratamiento que utilizó 10% y, por otra parte, éstos no presentan diferencias significativas entre ellos. Como se mencionó anteriormente, no fue posible cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A con ninguna de las dosis aplicadas y al no haber diferencias significativas entre los tratamientos con dosis mayores de 20%, puede recomendarse la misma como dosis de tratamiento para las etapas de experimentación posteriores.

Adicionalmente, fue posible cuantificar el total de géneros presentes en los lodos. A continuación se presentan los resultados obtenidos para la remoción de géneros de huevos de helmintos con diferentes dosis de NH_3 . La Figura 4.4 presenta los resultados obtenidos para *Ascaris spp.*

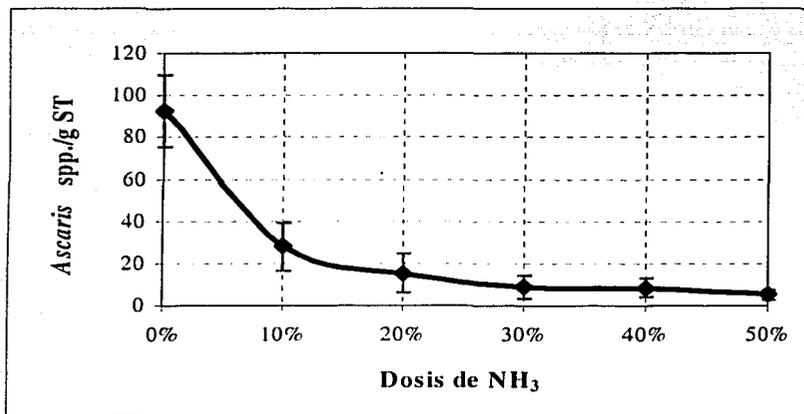


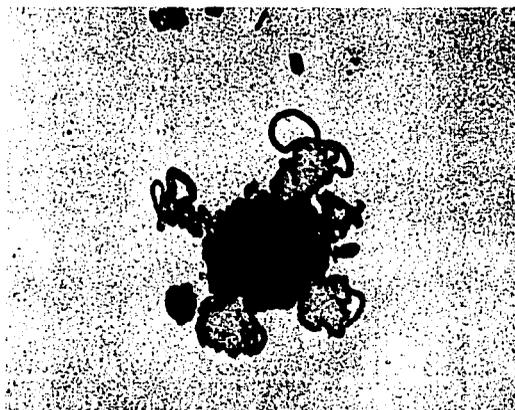
Figura 4.4 Remoción de *Ascaris spp.* en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3

Por ser el género más abundante (88%), *Ascaris spp.* tuvo un comportamiento similar al del total de huevos de helmintos. Su concentración inicial fue reducida desde un promedio de 92 hasta 28 HH/g de ST (70% de eficiencia de inactivación); mientras mayor fue la dosis de amoniaco aplicada, mayor fue la eficiencia de inactivación, obteniendo hasta un 94% de cuando 50% m/m de NH_3 fue aplicado al lodo crudo. Los resultados corroboran el buen efecto desinfectante del amoniaco en géneros abundantes y de alta resistencia como *Ascaris spp.* (Ghiglietti *et al.*, 1997).

En la Fotografía 4.1 se observa el efecto de 10% de amoniaco sobre los huevos de *Ascaris spp.* La membrana se observa claramente afectada, de hecho, los mamelones que la conforman fueron destruidos parcialmente, además se aprecia la afectación de la estructura nuclear, misma que aunque no fue total, fue suficiente para impedir el desarrollo del microorganismo. A su vez, la Fotografía 4.2 presenta el efecto de una dosis superior (15%), en este caso la membrana del huevo sufrió un daño significativo que permitió incluso la salida del material citoplasmático y nuclear del huevo.



Fotografía 4.1 Efecto de la dosis de 10% de NH_3 en *Ascaris spp.*



Fotografía 4.2 Efecto de la dosis de 15% de amoniaco en *Ascaris spp.*

El resto de los géneros representan aproximadamente el 10% del total de huevos cuantificados. El efecto del NH_3 en su inactivación se muestra en la Figura 4.5. Las concentraciones iniciales de los géneros *Trichuris spp.*, *Hymenolepis spp.* y *Toxocara spp.* fueron 7, 5 y 1.5 HH/g ST, respectivamente. La aplicación de 10% m/m de amoníaco a los lodos, inactivó totalmente al género *Toxocara spp.*, mientras que los huevos de *Trichuris spp.* e *Hymenolepis spp.* disminuyeron su concentración a 3.5 y 3 HH/g ST, respectivamente. Después de aplicar 20% de NH_3 estos géneros fueron destruidos en su totalidad, en consecuencia, el resto de las dosis aplicadas resultaron excesivas.

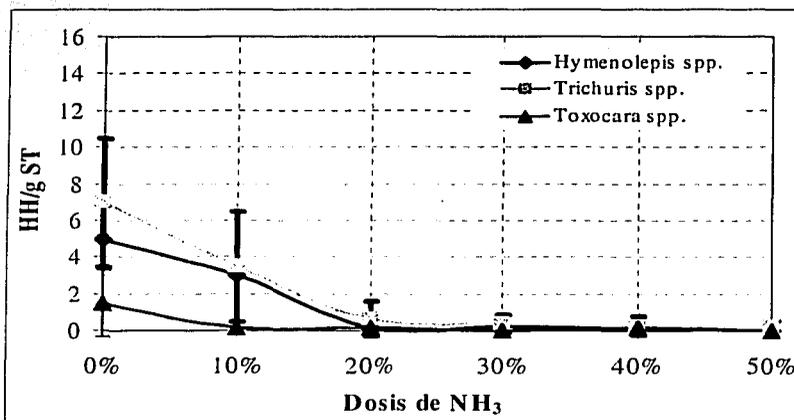


Figura 4.5 Remoción de otros géneros de huevos de helmintos viables en lodos de San Pedro Atocpan tratados con diferentes dosis de NH_3

De lo anterior puede decirse que el mayor problema por presencia de huevos de helmintos en lodos de la ciudad de México se debe a la abundante concentración de *Ascaris spp.*, la cual además es muy resistente a los procesos de estabilización.

4.1.2 Discusión de Resultados (Primera etapa)

La Tabla 4.3 presenta de manera resumida los resultados obtenidos en esta etapa. Es evidente que el nitrógeno amoniacal tiene un alto poder desinfectante en microorganismos presentes en

lodos; dicha acción desinfectante se debe principalmente a la forma molecular (NH_3) y no a la forma iónica (NH_4^+) ya que los porcentajes de conversión de amonio a amoniaco fueron muy elevados y fluctuaron desde el 75% para la dosis mínima aplicada hasta un 96.7% con 50% m/m. Así, mientras mayor sea la cantidad de amoniaco molecular presentes en los lodos, mayor será la inactivación de microorganismos.

Tabla 4.3 Resumen de resultados de la primera etapa de experimentación

Dosis de NH_3 (% m/m)	pH promedio final	Dosis mg/L	% NH_3 convertido *	NH_3 molecular	Coliformes fecales Log(N/No)	<i>Salmonella</i> spp. Log(N/No)	Huevos de Helminthos No-N/No X 100
0%	5.53	0	0.00	0.00	0.0	0.0	0.0
10%	9.74	4700	75.12	3530.69	- 3.9	- 3.9	68.6
20%	10.30	9400	91.64	8614.24	- 6.9	- 5.7	83.2
30%	10.45	14100	93.93	13244.71	- 6.9	- 5.7	89.9
40%	10.62	18800	95.82	18013.55	- 6.9	- 5.7	91.4
50%	10.74	23500	96.79	22746.66	- 7.3	- 5.7	94.3

* Obtenido a partir de $\text{Fracción de } \text{NH}_3 = \frac{1}{1 + 1.82 \times 10^{(9-\text{pH})}} \times 100$, Masters, 1991

En este caso, los principales factores que llevan a la inactivación son la dosis de amoniaco y el pH. Como se aprecia, el mayor incremento de pH, ocurre con la dosis más baja aplicada (10% NH_3); lo cual provocó una inactivación de 3.9 unidades log para el caso de coliformes fecales y *Salmonella* spp. y consiguió una inactivación de huevos de helmintos del 69%, aproximadamente. Con el aumento de la primera dosis en un 100% (20% aplicado), correspondiente a 8614 mg/L de NH_3 , el pH tuvo un ligero incremento de 0.56 unidades, sin embargo, la inactivación de microorganismos fue significativamente superior que la alcanzada con la primera dosis. Dosis superiores incrementaron de manera gradual pero ligera el pH alcanzado al final de cada tratamiento. En este caso, la inactivación de coliformes fecales y *Salmonella* spp. no tuvo un incremento significativo simplemente por que no existían concentraciones residuales de microorganismos que inactivar en los lodos. Para los huevos de helmintos, la eficiencia de inactivación presentó un aumento constante mientras mayor fue la dosis aplicada. Si bien ambos factores son de gran importancia, los resultados descritos

sugieren que la inactivación de microorganismos, principalmente de huevos de helmintos, se debe en su más a la cantidad de amoniaco molecular que al pH alcanzado. Allievi *et al.*, 1994 y Ghiglietti *et al.*, 1997, determinaron un efecto similar en estreptococos fecales y huevos de *Ascaris suum* respectivamente.

Definir el mecanismo exacto de inactivación de bacterias y de huevos de helmintos en pH alcalinos no es tarea simple, por ello, aún no está totalmente definido, Dilworth y Glenn, 1999 (citados en Wiley & Sons, 1999). No obstante, en el proceso interviene el pH, el cual, incrementa la presión osmótica y causa hipertensión en la pared celular, además, la pared celular, que se caracteriza por ser altamente permeable (Piatkin y Krivoshein, 1981), se comporta como una capa semipermeable al paso de la molécula de NH_3 , de acuerdo con Beer, 2003, los desinfectantes eléctricamente neutros, pueden ser capaces de difundirse a través de la pared celular y una vez dentro pueden alterar las reacciones enzimáticas (responsables del metabolismo) y provocar la muerte del microorganismo, Figura 4.6.

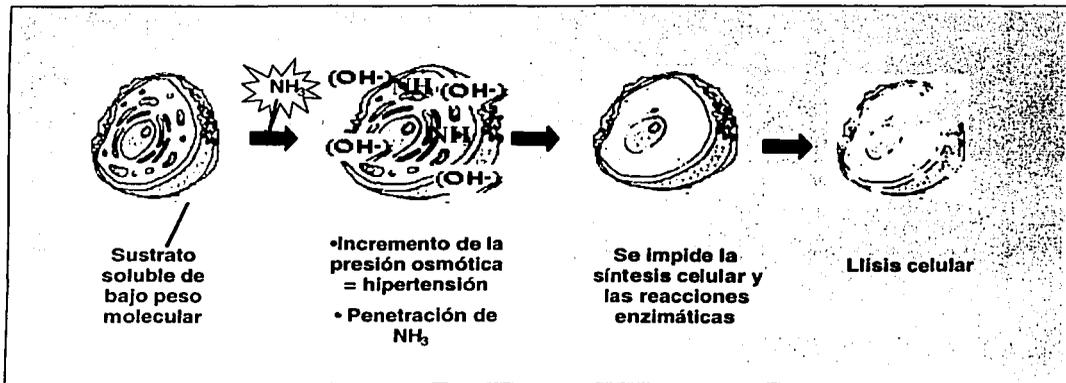


Figura 4.6 Posible mecanismo de inactivación de bacterias por el amoniaco

Finalmente, con los resultados obtenidos fue posible estimar la dependencia de la inactivación de los microorganismos en estudio con la dosis de amoniaco, a través de sus constantes de velocidad de inactivación. Las ecuaciones de modelación obtenidas indican que los microorganismos se inactivan de manera exponencial y siguen un modelo de primer orden

(con respecto a la dosis) similar al propuesto por Hom, mismo que es una variante del propuesto por Chick – Watson (Ec. 15), American Water Works, 1990.

$$\text{Ln} \frac{N}{N_0} = -k C^n t \quad (15)$$

Donde

N_0 : Concentración inicial de microorganismos

N : Concentración de microorganismos sobrevivientes en el tiempo t

K : Constante de inactivación de pseudo primer orden

C : Concentración de reactivo, g/L

n : Coeficiente de dilución, que es un factor empírico frecuentemente asumido como la unidad, Pernitsky *et al.*, 1995. y

t : Tiempo de contacto, min.

Hom introdujo al modelo anterior una constante empírica (m) que determina las desviaciones del modelo de Chick–Watson.

$$\text{Ln} \frac{N}{N_0} = -k C^n t^m \quad (16)$$

Este tipo de ecuación cinética puede ser utilizada para evaluar las constantes de velocidad de inactivación a una concentración de desinfectante constante y el modelo puede simplificarse de la siguiente manera:

$$\text{Ln} \frac{N}{N_0} = -k * t^m \quad (17)$$

En esta etapa, la evaluación de la dependencia de la inactivación de microorganismos con la concentración de desinfectante aplicado se realizó utilizando un tiempo de contacto constante (2 h) por lo que el modelo el modelo de Hom fue aplicado sustituyendo el término t por el término D .

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k^* D^n \quad (18)$$

Donde

D: Dosis de amoniac, g/L

Nótese que k^* es un término que asocia a la constante k y al tiempo t^m .

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.4. Debe mencionarse también, que las constantes de inactivación obtenidas corresponden a la concentración de amoniac molecular real que actuó sobre los microorganismos, por lo que los requerimientos de amoniac deben estimarse a partir de la Tabla 4.3.

Tabla 4.4 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom obtenidos en la primera etapa de experimentación

Microorganismo	K^*	n	R^2
Coliformes fecales	7.585	0.2669	0.90
<i>Salmonella spp.</i>	8.033	0.1940	0.84
Huevos de helmintos	0.741	0.4370	0.85

Los valores de K^* muestran valores elevados para el caso de bacterias, no así en el caso de huevos de helmintos. Lo anterior se debe a que la inactivación de coliformes fecales y *Salmonella spp.* es total incluso con dosis inferiores a la máxima aplicada (22.7 g/L), mientras que los huevos de helmintos fueron inactivados de manera gradual conforme la dosis fue mayor pero la inactivación no fue total (se alcanzó un máximo de 94%).

A partir de la ecuación propuesta (18) y sus correspondientes constantes de inactivación puede estimarse la primera variable de control (dosis de amoniac) para el diseño, el aseguramiento de la inactivación de los principales patógenos presentes en lodos y la correcta operación de un proceso de estabilización de lodos con amoniac.

Es importante mencionar que las constantes de inactivación determinadas fueron obtenidas a partir de ensayos realizados en lodos fisicoquímicos, mismos que, por su origen presentan una composición extremadamente compleja. Aunque con cierta reserva, también pueden ser utilizados como punto de partida para la determinación de los requerimientos de amoniaco en lodos biológicos en los que probablemente se reduzcan las dosis de amoniaco. Necesariamente deberán realizarse estudios particulares en diferentes tipos de lodos.

Así, concluye la primera etapa de experimentación, en la que se puede proponer al NH_3 como una alternativa de tratamiento para lodos con alto contenido de patógenos. En este caso, se seleccionó a la dosis de 20% m/m de NH_3 (correspondiente a 8614 mg/L) como la dosis recomendable para el tratamiento de los lodos en estudio, con lo que se justifica su uso en las etapas de experimentación siguientes.

4.2 Segunda etapa de experimentación: Efecto del tiempo de contacto en la estabilización de lodos fisicoquímicos con amoniaco

A continuación se presentan los resultados del efecto del tiempo de contacto en las pruebas de estabilización de lodos con 20% de NH_3 .

4.2.1 Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 20% de NH_3 y tiempos de contacto de 0.5, 1, 1.5 y 2 h

4.2.1.1 Coliformes fecales

La aplicación de 20% de NH_3 disminuyó la concentración de coliformes fecales desde 7.3 log en el lodo crudo hasta 2.5 log después de 30 min de tiempo de contacto (Figura 4.7), concentración que en promedio, cumplió con el límite US EPA para biosólidos clase A. A pesar de ello, la desviación estándar obtenida demuestra que más de treinta minutos deben ser utilizados cuando se aplican a los lodos 20% m/m de amoniaco. Con tiempos de contacto ≥ 60 minutos se obtuvieron concentraciones de coliformes fecales que cumplen con el límite internacional utilizado (< 3 NMP/g ST) para biosólidos clase A, con 2 h como el tiempo de

contacto que mayor eficiencia logró en promedio (87%). De hecho, el valor ideal se encuentra entre 30 y 60 minutos.

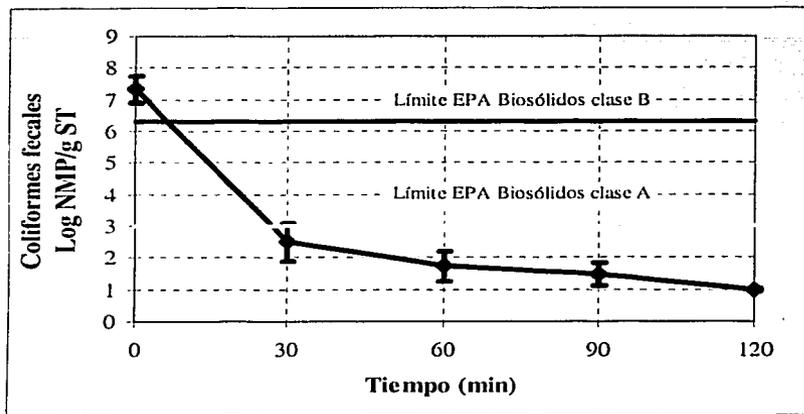


Figura 4.7 Efecto de tiempo de contacto en la remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con 20% de NH_3

Con base en el anterior análisis gráfico, es posible considerar que el tiempo de contacto es un factor que tiene un efecto sobre la remoción de coliformes fecales con amoníaco. Para conocer si el factor en estudio tiene un efecto estadísticamente significativo y si existen diferencias entre las medias de los tratamientos se realizó el análisis de varianza de los resultados, (Anexo C, Sección 9.2.1). Con el objeto de identificar las diferencias significativas entre los diferentes tiempos de contacto se realizó la comparación entre las medias de los mismos con la prueba de intervalos múltiples de Duncan. El procedimiento completo se puede consultar en el apartado 9.2.2 del Anexo C.

Las comparaciones realizadas indican que existen diferencias significativas de los tratamientos con 2, 3, 4, y 5 con el tratamiento 1, es decir, todos los tiempos a partir de 30 minutos difieren con el tratamiento con tiempo cero, es decir con el lodo crudo; esto se explica debido a inmediatamente después de ser aplicado el amoníaco al lodo, éste actúa sobre los microorganismos presentes. El efecto del gas difiere ligeramente durante los demás tiempos evaluados ya que se determinó la existencia de diferencia significativas entre los tratamientos

5 (2 h) y 2 (0.5 h) únicamente, las parejas de tratamientos 2 y 3 (1 h) y 2 y 4 (1.5 h) no presentan una diferencia significativa entre ellos y podrían utilizarse indistintamente, sin embargo, se demostró que el segundo tratamiento (0.5 h) no fue capaz de cumplir el límite US EPA para biosólidos clase A (debido a su desviación estándar), en consecuencia, el tratamiento 2 (1 h) y 3 (1.5 h) tampoco son recomendables para utilizarse en el tratamiento de lodos; en cambio, el tratamiento 5 (2 h), sí presentó una diferencia significativa con todos los tratamientos anteriores y puede utilizarse para el tratamiento de los lodos.

4.2.1.2 *Salmonella spp.*

La concentración de *Salmonella spp.* redujo su valor desde 5.0 log en el lodo sin tratamiento hasta 1.7 log después de 30 minutos de contacto con 20% de amoníaco (Figura 4.8). Concentraciones inferiores al límite de detección fueron determinadas con tiempos de 60, 90 y 120 minutos utilizando la misma dosis.

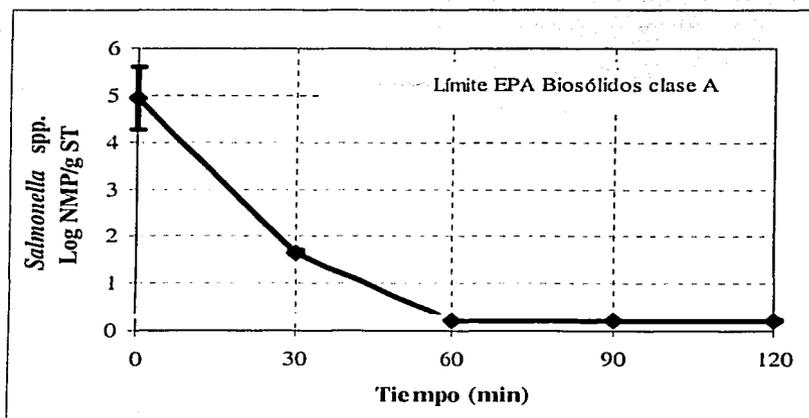


Figura 4.8 Efecto de tiempo del contacto en la remoción de *Salmonella spp.* en lodos fisicoquímicos tratados con 20% de NH_3

Gráficamente, es posible determinar el efecto del tiempo de contacto cuando el lodo fue tratado con 20% de amoníaco; se aprecia que tiempo mayores que 30 minutos son necesarios

para la remoción de *Salmonella spp.* La validación estadística de los resultados exige el análisis de varianza correspondiente, para ello se planteó el procedimiento del inciso 9.2.3 mostrado en el Anexo C.

Los resultados indican que existen diferencias significativas de todos los tratamientos mayores o igual a 0.5 h con respecto al tratamiento 1 (0 h), básicamente, esto se debe a que una vez adicionado el amoníaco al lodo, la concentración de microorganismos decrece de manera importante. Por otra parte, también se detectaron diferencias entre los tratamientos con tiempos de 1 h o mayores con el tratamiento 2 (0.5 h), ya que este último sólo redujo en promedio 3.28 log de *Salmonella spp.* mientras que el resto de los tratamientos prácticamente removieron la totalidad de estos microorganismos. La tendencia obtenida no es exactamente igual a la encontrada en los coliformes fecales, en los que se requieren hasta 2 h de tiempo de contacto, esto puede explicarse debido a que la concentración de *Salmonella spp.* en los lodos crudos fue 2.5 log inferior a la concentración de coliformes fecales. El tiempo recomendable para destruir estos microorganismos es 1 h, sin embargo, la selección de un tiempo de contacto recomendable para el tratamiento de los lodos tratados con 20% de amoníaco dependerá de los resultados obtenidos con todos los microorganismos en estudio.

4.2.1.3 Huevos de helmintos

El número de huevos de helmintos viables se redujo de 67 a 16 HH viables/g ST (77% de eficiencia) al cabo de los primeros 30 minutos (Figura 4.9), en general, la eficiencia de remoción de HH se incrementó cuando el tiempo de contacto fue mayor, aunque se alcanzó una eficiencia promedio máxima de 96% con dos horas, nuevamente no fue posible alcanzar el límite establecido por la US EPA para biosólidos clase A. No obstante, los resultados demostraron que el amoníaco actúa como un buen desinfectante en tiempos de contacto relativamente cortos y puede producir biosólidos clase B.

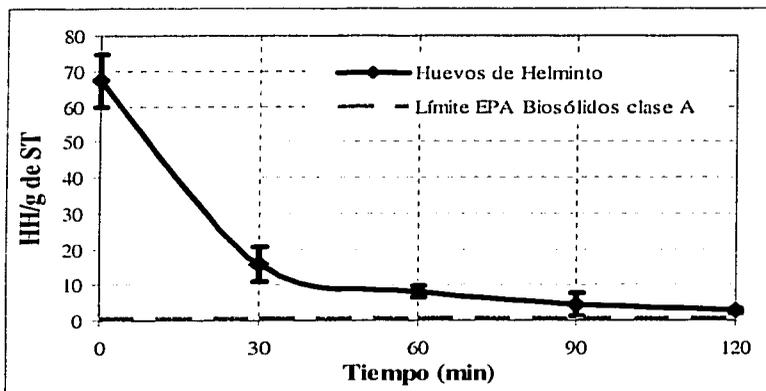
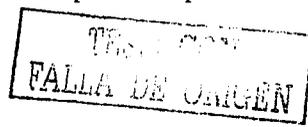


Figura 4.9 Efecto del tiempo de contacto en huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con 20% de NH_3

Los resultados expuestos reflejan un efecto significativo del tiempo de contacto en la inactivación de huevos contenidos en lodos tratados con 20% m/m de amoníaco, la validación de los mismos se realizó mediante el análisis de la varianza presentado en el anexo C (sección 9.2.5).

Los resultados demostraron también la existencia de diferencias entre los tratamientos, es decir, entre los diferentes tiempos de contacto utilizados. Para conocer la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos y poder recomendar un tiempo de contacto se realizó la prueba de Duncan, la cual se presenta en el punto 9.2.6 del Anexo C.

Al igual que en los casos anteriores, las comparaciones realizadas indican que existen diferencias significativas entre el tiempo de contacto 0.5 h y mayores, con el tiempo de contacto 0 h (tratamiento 1). En general se determinaron diferencias significativas en varias parejas de tratamientos con tiempos de contacto superiores a 1 h, pero es importante mencionar que ningún tratamiento logró cumplir el límite US EPA debido a lo riguroso del mismo ($< 1 \text{ HH}/4 \text{ g ST}$) y fue el tratamiento con 2 horas el que más se acercó a éste con una concentración final de 2.6 HH/g de ST. Las diferencias encontradas en estos tiempos representan los resultados de las pruebas realizadas en esta etapa de experimentación;



obviamente se recomienda el uso de 2 h de tiempo de contacto para el tratamiento de los lodos con 20% de NH_3 , pero también se recomienda no disponer el lodo inmediatamente después de haber sido tratado para aprovechar así el poder residual del NH_3 .

4.2.1.4 Estudios de recrecimiento

Como parte complementaria de los estudios del efecto del tiempo de contacto en lodos tratados con 20% de amoníaco, se llevó a cabo un estudio de recrecimiento bacteriano (para coliformes fecales y *Salmonella* spp.), y de evaluación de remoción (en huevos de helmintos) con tiempos de contacto mayores. Las pruebas de estabilización se realizaron con una dosis de 20% de NH_3 y los criterios de mezclado expuestos en la Tabla 3.3, con la modificación lógica de los tiempos para la toma de muestras. Los lodos tratados fueron dejados en reposo a temperatura ambiente en vasos de precipitado de 1 L, aunque no permanecieron cerrados herméticamente, si se protegieron de alguna posible contaminación externa y su evaluación microbiológica se realizó a los 1, 7, 14, 21 y 28 días.

En los lodos sin tratamiento, las concentraciones de coliformes fecales y de *Salmonella* spp. fueron de 7.3 y 5.0 log respectivamente; después de ser sometidos a las condiciones de estabilización antes mencionadas, se obtuvieron concentraciones de estos microorganismos por debajo del límite de detección, es decir, > 3 NMP/g de ST en todos los tiempos de contacto evaluados. Estos resultados no se presentan gráficamente por que el valor resultante para cada tiempo de contacto (excepto el lodo crudo) se encuentra en valores muy cercanos a cero. Los resultados indican que en lodos estabilizados con NH_3 no existirá recrecimiento bacteriano a menos que éste se realice por contaminación exterior.

En este experimento, los huevos de helmintos viables mantuvieron el mismo nivel, sin diferencias significativas, por lo que se concluye que no hay efecto alguno. Los resultados se muestran en la Figura 4.10.

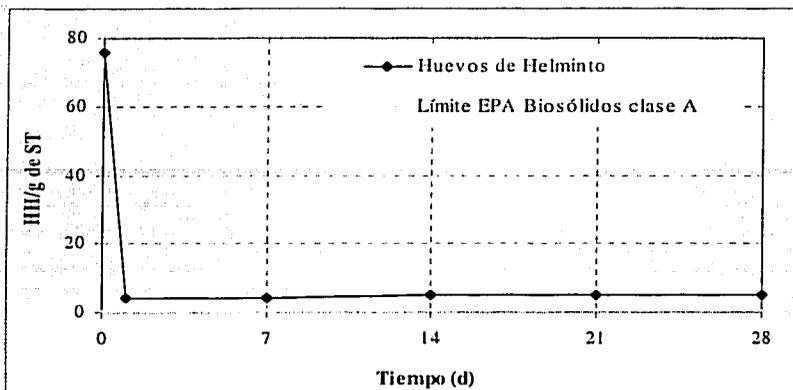


Figura 4.10 Efecto de tiempos de contacto prolongados en la remoción de huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos estabilizados con 20% de NH_3

La concentración de huevos de helmintos en los lodos sin tratamiento fue reducida desde 76 HH viables/g de ST en el lodo crudo, hasta 4 HH viables/g de ST después de un tiempo de contacto de 1 día, es decir, la concentración se redujo en un 95%; los tiempos de contacto posteriores a 1 día no tuvieron diferencias significativas con respecto del primer día, por lo tanto, la principal remoción de huevos viables se llevó a cabo en las primeras 24 horas del tratamiento.

Los resultados anteriormente descritos indican que en lodo tratado con una dosis de 20% m/m de amoníaco no existirá recrecimiento bacteriano, a menos que exista contaminación exterior, y que los huevos de helmintos serán removidos hasta en un 95% después del primer día de tratamiento. Es importante recordar que la eficiencia obtenida fue muy similar a la encontrada con 2 h de tiempo de contacto (96%), que al no tener una diferencia significativa con 24 h, es el tiempo recomendado para el tratamiento de los lodos, siempre que el lodo sea tratado en condiciones similares a las anteriormente descritas. Además se recomienda disponer el lodo inmediatamente después de tratado y sólo en caso necesario se realizará el almacenamiento de los mismos.

4.2.2 Discusión de resultados (segunda etapa)

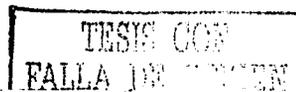
Los resultados obtenidos en esta etapa se resumen en la Tabla 4.5, en ella se aprecia que para lograr una inactivación significativa de los tipos de microorganismos estudiados, el tiempo requerido va desde una hora (para coliformes y *Salmonella spp.*) hasta dos horas para huevos de helmintos. Lo anterior indica que el amoniaco no actúa en tiempos extremadamente cortos como es el caso de algunos desinfectantes ácidos. En efecto, Barrios *et al.*, 2001 demostraron que el ácido peracético alcanza valores de inactivación del orden de 4.5 y 4 unidades log para coliformes fecales y *Salmonella spp.* respectivamente, con dosis de 550 ppm en 5 minutos de tratamiento; en condiciones similares, los huevos de helmintos fueron inactivados desde 120 hasta 6 HH/g ST. En contraste, el amoniaco ejerce su poder desinfectante en tiempos más prolongados, como se aprecia en la Tabla 4.5 son necesarios al menos 60 minutos de contacto para alcanzar valores de inactivación superiores a 5 unidades log, requeridos para cumplir con los límites máximos permitidos. Por otra parte, los huevos de helmintos fueron inactivados en un 96% en tiempos de contacto de 2 horas, lo anterior sirve de base para establecer la dependencia de la inactivación de microorganismos patógenos con el tiempo.

Tabla 4.5 Resumen de resultados de la segunda etapa de experimentación

Tiempo de contacto (min)	Dosis de NH ₃ (% m/m)	pH promedio final	Dosis mg/L	% NH ₃ convertido *	NH ₃ molecular	Coliformes fecales Log(C/Co)	<i>Salmonella spp.</i> Log(C/Co)	Huevos de Helmintos Co-C/Co X 100
0	0.0	5.53	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	20%	10.30	9400	91.64	8614.24	-4.8	-3.3	76.9
60	20%	10.30	9400	91.64	8614.24	-5.6	-4.5	88.1
90	20%	10.30	9400	91.64	8614.24	-5.8	-4.5	93.8
120	20%	10.30	9400	91.64	8614.24	-6.4	-4.5	96.0

* Obtenido a partir de $\text{Fracción de NH}_3 = \frac{1}{1 + 1.82 \times 10^{(9-\text{pH})}} \times 100$, Masters, 1991

Cabe mencionar que los resultados obtenidos de inactivación atienden a una dosis constante (8614 mg/L ó 20% m/m) de amoniaco y la inactivación de los microorganismos pudo describirse mediante un modelo de primer orden (Hom) descrito previamente. El modelo



utilizado fue el definido en la ecuación (17) pero la constante k fue asociada en este caso a la dosis de amoniaco por lo que se obtuvo K^{**} , ya que K^* fue obtenida en la primera etapa. Las constantes de inactivación se presentan en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom obtenidos en la segunda etapa de experimentación

Microorganismo	K^{**}	m	R^2
Coliformes fecales	5.859	0.1893	0.84
<i>Salmonella spp.</i>	3.953	0.2128	0.92
Huevos de helmintos	0.211	0.5741	0.94

De manera análoga a la primera etapa de experimentación, los valores de k^{**} para las bacterias, fueron elevados por que su inactivación total fue relativamente rápida, requirió sólo una hora, mientras que para los huevos de helmintos ($k^* = 0.211$) la inactivación no es tan rápida y necesitó el doble de tiempo para alcanzar un 96% de eficiencia.

Con los resultados obtenidos en la primera y segunda etapa de experimentación, pudo identificarse la dependencia de los microorganismos evaluados en términos de la dosis y el tiempo de contacto. El valor de la constante k del modelo de Hom puede obtenerse a partir de las siguientes ecuaciones.

En la etapa 1 (tiempo de contacto constante y dosis de amoniaco variable).

A partir de la ecuación (18)

$$k^* = k t^m \quad (19)$$

Por lo que

$$k = \frac{k^*}{t^m} \quad (20)$$

El valor del coeficiente m se obtuvo en la segunda etapa de experimentación y se utilizó en este caso.

Por su parte, en la etapa 2 (Dosis de amoniaco constante y tiempo de contacto variable).

$$k^{**} = k C^n \quad (21)$$

Por lo que

$$k = \frac{k^{**}}{C^n} \quad (22)$$

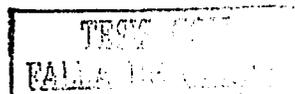
El valor del coeficiente n fue obtenido la primera etapa de experimentación. Así, fue posible calcular el valor para la constante k para cada grupo de microorganismos evaluados en ambas etapas, los resultados se presentan a continuación.

Tabla 4.7 Valor de la constante k del modelo de Hom obtenida en la primera y segunda etapa de experimentación

Microorganismo	Primera etapa	Segunda etapa
	k	k
Coliformes fecales	3.17	3.28
<i>Salmonella spp.</i>	2.88	2.61
Huevos de helmintos	0.0474	0.0823

Aunque los resultados obtenidos para la constante k de cada microorganismo no fueron los mismos en ambas etapas, estos si fueron muy similares; el valor exacto para la constante k de cada microorganismo se encuentra entre los intervalos observados en la Tabla 4.7. Estos efectos pueden atribuirse a que las etapas experimentales fueron realizadas en tiempos distintos, no obstante, la similitud de estos valores asegura la confiabilidad de los datos.

Por otra parte, los resultados obtenidos en tiempos de contacto mayores, 7, 14, 21 y 28 días, indican que no existirá recrecimiento bacteriano posterior al tratamiento de los lodos en las condiciones ya descritas debido a que en las dos primeras horas se inactivan concentraciones elevadas de microorganismos hasta niveles muy bajos (menos de 1 log para Coliformes fecales e inferiores al límite de detección para *Salmonella spp.*), lo que asegura su inactivación total en tiempos mayores. En cuanto a los huevos de helmintos, la eficiencia obtenida después de 2 h de tiempo de contacto fue muy elevada y no aumentó en tiempos superiores, lo anterior



se debe a las condiciones experimentales utilizadas, en las que el lodo fue dejado en reposo sin estar cerrado herméticamente, en estas condiciones el amoníaco redujo considerablemente su concentración por volatilización y por ende las eficiencias no variaron significativamente.

Finalmente, con el objeto de obtener los valores exactos para las constantes k de inactivación, se recomiendan estudios simultáneos con diferentes dosis de amoníaco y tiempos de contacto. Los resultados obtenidos permiten recomendar 120 min. de contacto para el tratamiento de lodos fisicoquímicos.

Hasta ahora ha sido demostrado el efecto desinfectante del amoníaco y el efecto de su poder a través del tiempo. La siguiente etapa de experimentación se realizó con el objeto de evaluar el efecto desinfectante del amoníaco en combinación con diferentes temperaturas ya que estos dos factores son de gran importancia en la estabilización de lodos con cal y su efecto combinado puede aprovecharse para el mejoramiento del proceso. Los resultados se presentan a continuación.

4.3 Tercera etapa de experimentación: Efecto de la temperatura en la estabilización de lodos con amoníaco

4.3.1 Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con 20 % de NH_3 a 20, 30, 40 y 50 °C

4.3.1.1 Coliformes fecales

Los coliformes fecales (Figura 4.11) fueron reducidos desde 7.9 log, en el lodo crudo, hasta 1.2 log con 20% de amoníaco y 20 °C. Con un temperatura de 30 °C fueron eliminados hasta 0.9 log, temperaturas de 40 °C o mayores, redujeron el contenido total de estos microorganismos; por otra parte, el uso de una dosis menor (10%) disminuyó la concentración inicial hasta 3.6 log a 20 °C, una remoción similar se obtuvo a 30 °C, sin embargo, con 40 °C se obtuvo un valor (1.5 log) que cumplió el límite US EPA para biosólidos clase A, mientras que con 50 °C la totalidad de los coliformes fecales fueron eliminados.

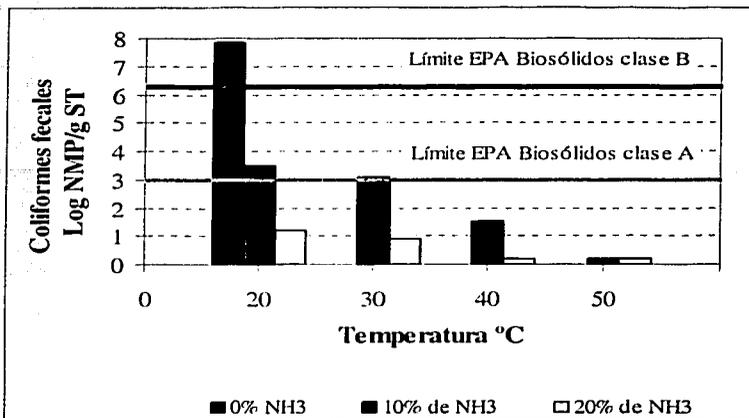
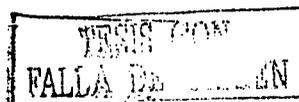


Figura 4.11 Efecto de la temperatura en la remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH_3

Los resultados sugieren que el NH_3 incrementa su poder desinfectante cuando mayor es la temperatura, para validar los resultados estadísticamente se realizó el análisis de varianza presentado en el Anexo C (apartado 9.3.1). De éste análisis se corroboró que la temperatura tiene un efecto significativo en la inactivación de coliformes fecales, además, se demostró también un claro efecto de la dosis de amoníaco, incluso con un F_0 mayor al obtenido con la temperatura, lo que confirma el experimento de la primera etapa y sugiere un mayor efecto de ésta factor en la variable de respuesta (inactivación).

Como auxiliar en la interpretación de los resultados conviene hacer la representación de las respuestas (inactivación) promedio de cada combinación de tratamiento, en la Figura 4.12 se observa que las curvas de respuesta para ambas dosis de amoníaco no son paralelas, lo cual indica que existe una interacción significativa, en general, a mayor temperatura mayor inactivación de coliformes fecales. Como se observa, la aplicación de una dosis menor a 20% (dosis recomendada) es capaz de inactivar la totalidad de los coliformes fecales. También, se aprecia que a mayor dosis de amoníaco mayor inactivación de coliformes fecales, independientemente de la temperatura, con excepción para los tratamientos con 50 °C, donde con 20%, los coliformes fecales se inactivaron por completo desde el tratamiento con 40 °C y



evidentemente no se incrementó la inactivación; contrariamente, en el caso del tratamiento con 10% la inactivación se incrementó hasta un máximo (por debajo del límite de detección). Lo anterior demuestra un efecto significativo de los dos factores evaluados y su interacción, por lo que la selección de los niveles recomendados de cada factor se deberá realizar mediante una comparación de sus valores promedio.

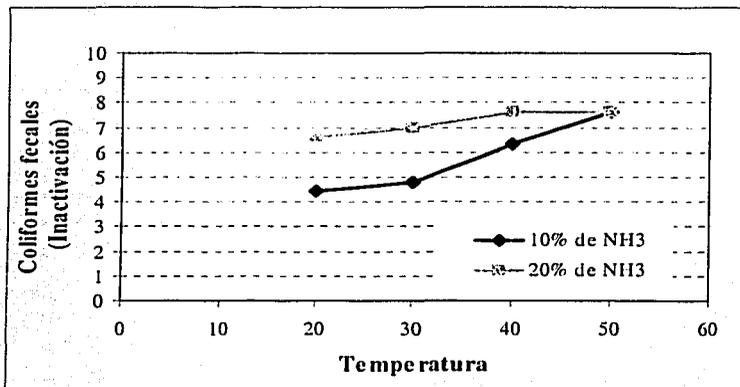


Figura 4.12 Inactivación de coliformes fecales (respuesta) contra temperatura

Además, cuando la interacción entre factores es significativa, conviene aplicar la prueba de intervalos múltiples de Duncan fijando uno de los factores en un nivel específico y aplicar la prueba a las medias del otro factor en ese nivel. Dicho proceso se aprecia en el título 9.3.2 del anexo C.

En el primer caso dosis de amoníaco fija en 10%, los resultados indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos 4 y 1, 4 y 2 y 4 y 3, lo anterior debido a que el tratamiento 4 (50 °C) obtuvo concentraciones por debajo del límite de detección, mientras que los otros tratamientos obtuvieron concentraciones de entre 1.5 y 3.5 log. Otros tratamientos que obtuvieron diferencias significativas fueron 3 (40 °C) y 1 y 3 con 2, sin embargo es importante mencionar que los tratamientos 1 (20 °C) y 2 (30 °C) no cumplieron con el límite que establece la US EPA y por lo tanto deben descartarse para el tratamiento de los lodos con 10% de NH₃. Por otra parte, los tratamientos 3 y 4, cumplieron con el límite de referencia y

TESIS COM
FALLA DE
LEN

aunque se determinó una diferencia significativa entre ellos, ambos pueden ser recomendados para el tratamiento de los lodos con 10% de NH_3 . En este caso el tratamiento recomendado es, **10% de amoníaco y 40 °C**, debido a que el incremento de la temperatura hasta 50 °C incrementa el costo del tratamiento.

Para el segundo caso (factor dosis fijo en 20%), se identificaron diferencias significativas entre los tratamientos 4 y 1 (50 y 10 °C), 4 y 2 (20 °C), 3 (30 °C) y 1 y 3 y 2. Estas diferencias son producidas simplemente por los diferentes niveles de inactivación obtenidos en cada tratamiento. Sin embargo, es muy importante observar que aunque el tratamiento 1 (20 °C) tuvo diferencias significativas con los tratamientos 3 y 4, este fue suficiente para cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A y debido a los costos que representa incrementar la temperatura de los lodos hasta niveles de 40 ó 50 °C, es el tratamiento que se recomienda con **20% de amoníaco**.

Los resultados de las pruebas de Duncan realizadas para los dos niveles del factor B (dosis de amoníaco) indican que existen dos opciones viables para el tratamiento de los lodos, estas son: el tratamiento con **10% de amoníaco y 40 °C** y el tratamiento con **20% de NH_3 y 20 °C** (temperatura ambiente en las pruebas realizadas). Se recomienda el uso de la segunda opción ya que no demanda costos de diseño, instalación, operación y mantenimiento de equipos que incrementen la temperatura de los lodos por arriba de 40 °C.

Los resultados demostraron que la temperatura es un factor que afecta la reducción de los coliformes fecales en presencia de amoníaco y que el incremento de ésta en combinación con el amoníaco puede lograr reducciones de microorganismos superiores a las alcanzadas a temperatura ambiente.

4.3.1.2 *Salmonella* spp.

La concentración de *Salmonella* spp. en los lodos crudos fue de 5.2 log (Figura 4.13). Valores inferiores al límite de detección (< 3 NMP/g ST) se contabilizaron después de aplicar 20% de NH_3 , independientemente de la temperatura del tratamiento. Después de la adición de 10% de

NH₃, la concentración de *Salmonella* spp. fue determinada en 1.7 log, para el tratamiento a 20 °C; con 30 °C fueron contabilizados resultados muy similares. Sin embargo, el incremento de la temperatura a 40 °C o mayores, produjo la inactivación total de estos microorganismos.

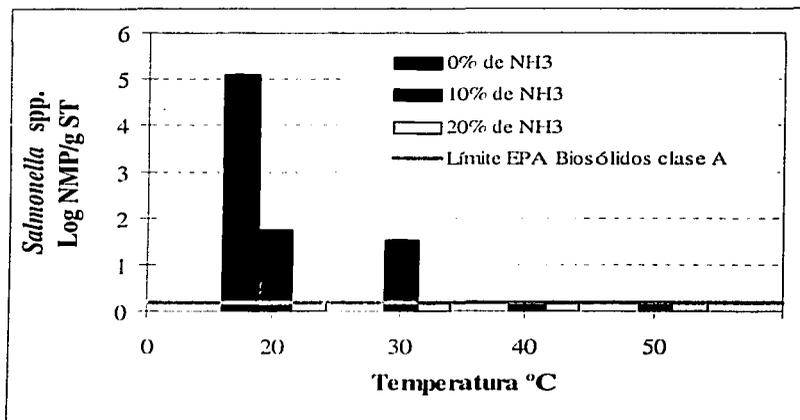


Figura 4.13 Efecto de la temperatura en la inactivación de *Salmonella* spp. en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH₃

La validación estadística de los resultados se muestra en el Anexo C, inciso 9.3.3. Al igual que con los coliformes fecales, las interacciones entre las temperaturas y las dosis de NH₃ resultaron significativas. Esto se debe a que la respuesta del experimento no presenta una tendencia paralela en las diferentes temperaturas evaluadas (Figura 4.14), incluso la dosis de 10% alcanzó los mismos niveles de inactivación (con 40 y 50 °C) que la dosis de 20%, lo que demostró nuevamente el incremento del poder desinfectante de amoníaco con temperaturas elevadas.

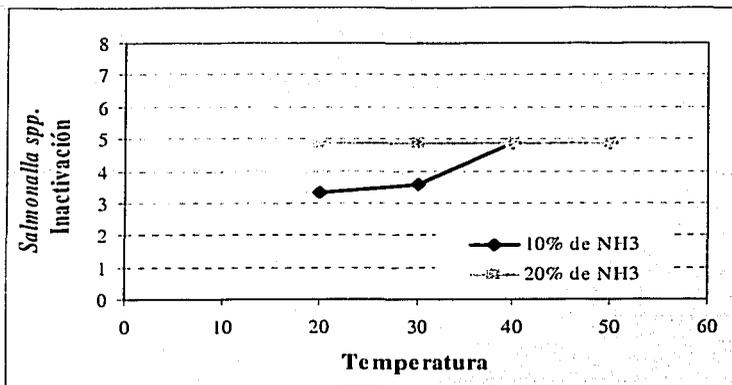


Figura 4.14 Inactivación de *Salmonella spp.* (respuesta) contra temperatura

Una vez demostrado el efecto de la interacción entre la dosis de amoníaco y la temperatura del tratamiento se realizó la prueba de intervalos de Duncan (sección 9.3.4, anexo C). para la selección del tratamiento recomendado.

Con base en los resultados de la prueba con la dosis de amoníaco fija en 10%, existen diferencias significativas entre los tratamientos 4 y 1 y 4 y 2, lo anterior se explica ya que el tratamiento 4 (50 °C y 10%) logró disminuir la concentración de *Salmonella spp.* por debajo del límite de detección mientras que los tratamientos 1 y 2 (20 y 30 °C) inactivaron alrededor de 3.5 log la concentración inicial, lo que no fue suficiente para cumplir el límite US EPA para biosólidos clase A. Una tendencia similar se presentó con los tratamientos 3 y 1 y 3 y 2, donde también se determinaron diferencias significativas, de igual forma el tratamiento 3 (40 °C) cumplió con el límite de referencia. Por ello, los tratamientos 1 y 2 deben descartarse para el tratamiento de los lodos con 10% de NH₃. Por su parte, los tratamientos 3 y 4 cumplieron con el límite internacional y debido a que no existen diferencias significativas entre ambos, se recomienda el tratamiento con 10% de amoníaco y 40 °C para el tratamiento de los lodos, ya que los costos para incrementar la temperatura hasta 40 °C son menores que los requeridos para incrementarla hasta 50 °C.

Los resultados obtenidos para el segundo caso (Dosis de amoníaco fijo en 20%), demostraron que no existen diferencias entre todos los tratamientos con 20% de NH_3 y las diferentes temperaturas ya que los tratamientos inactivaron la *Salmonella spp.* hasta niveles inferiores del límite de detección ($< 3 \text{ NMP/g ST}$). La selección del tratamiento recomendado se basó en los costos de cada tratamiento, por lo que, se recomienda tratar el lodo con **20% de amoníaco a 20 °C**.

Finalmente, existen dos alternativas para el tratamiento de los lodos, que son **10% de NH_3 a 40 °C y 20% a 20 °C**; éste último es el tratamiento recomendado ya que no implica costos relacionados con el incremento de la temperatura.

4.3.1.3 Huevos de helmintos

Al igual que en los casos anteriores, el uso de temperaturas superiores a 40 °C incrementó la eficiencia de los tratamientos con NH_3 (Figura 4.15). Cuando se aplicó 20% de NH_3 a 20 °C, el número de huevos en los lodos crudos fue reducido desde 83 hasta 15 HH viables/g ST (82% de eficiencia); eficiencias similares se obtuvieron con los tratamientos con 30 y 40 °C (78 y 82%, respectivamente); la única ocasión en que fue posible inactivar la totalidad de HH viables, y se cumplió con el límite US EPA para biosólidos clase A, fue con el tratamiento a 50 °C. Ello demuestra que a altas temperaturas (50 °C) y en combinación con el NH_3 es posible la eliminación de los huevos viables presentes en lodos fisicoquímicos. Con el uso de 10% de amoníaco se obtuvieron resultados donde las eficiencias de remoción fueron mayores cuando la temperatura fue ≥ 40 °C.

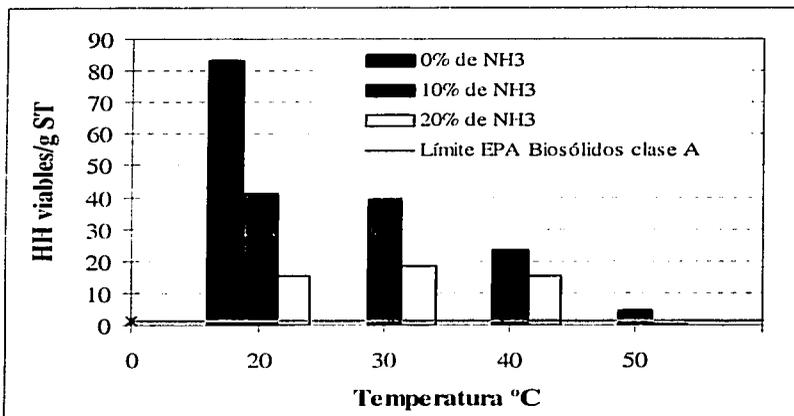


Figura 4.15 Efecto de la temperatura en huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de NH₃

El análisis estadístico de los resultados expuestos se realizó partiendo de las hipótesis planteadas en el inciso 9.3.5. El análisis de varianza corroboró el efecto de la temperatura, así como de la dosis de amoníaco y la interacción entre ambos. Con un procedimiento similar a los anteriores, se realizó la prueba de Duncan (sección 9.3.6, Anexo C) para determinar los tratamientos con diferencias significativas.

Las comparaciones de los tratamientos con la dosis fija en 10% de amoníaco mostraron diferencias significativas entre el tratamiento 4 (50 °C) y los tratamientos 1 (20 °C), 2 (30 °C) y 3 (40 °C), ya que el tratamiento mencionado tuvo una eficiencia del 94%, muy superior a las obtenidas con los tratamientos 1, 2 y 3 (50, 52 y 71%, respectivamente). El tratamiento 3 tuvo también diferencias significativas con los tratamientos 1 y 2, sin embargo, los resultados obtenidos en estos tratamientos no rebasan el 71% de eficiencia, por lo que no es recomendable su uso. Como se mencionó anteriormente, ningún tratamiento logró cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A, no obstante el tratamiento con 50 °C fue el más eficiente y el más cercano a este límite por lo que, de los cuatro tratamientos con 10% de NH₃, es el más recomendable.

En el segundo caso, las comparaciones realizadas pusieron en evidencia diferencias significativas entre el tratamiento 4 (50 °C) y los tratamientos 2 (30 °C), 3 (40 °C) y 1 (20 °C). Esto debido a que dicho tratamiento tuvo una eficiencia de inactivación de 99.5% y logró cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A. Estadísticamente, los resultados obtenidos muestran que el tratamiento recomendado es la aplicación de **20%** de amoníaco con una temperatura de **50 °C**. Los costos relacionados con el incremento de la temperatura de los lodos por arriba de 50 °C podrían representar un proceso no viable para un país como México. Otra opción es el empleo de **20% de NH₃ a 20 °C**, ya que el experimento con diferentes tiempos de contacto (segunda etapa de experimentación) demostró que estas condiciones de operación pueden lograr hasta el 96% de eficiencia.

4.3.2 Discusión de resultados (tercera etapa)

Los tratamientos con amoníaco a diferentes temperaturas demostraron que ésta es un factor que afecta significativamente la inactivación de microorganismos contenidos en lodos fisicoquímicos. Es muy importante mencionar que en esta etapa no se evaluó el efecto de la temperatura de manera independiente, ya que la aplicación de calor es un proceso de desinfección conocido y el objetivo de esta etapa fue evaluar su efecto combinado con el amoníaco ya que ambas variables se producen en el proceso de estabilización con cal.

También, resulta notorio que los resultados de los análisis de varianza realizados para cada microorganismo, demostraron que la dosis de amoníaco, es altamente significativa en su inactivación, incluso los valores del estadístico de prueba F_0 fueron mayores que los obtenidos para el factor temperatura, lo que sugiere un efecto mayor de ésta en el proceso. Lo anterior se explica ya que en los tres casos, los tratamientos con temperaturas de 20 y 30 °C tuvieron un efecto mucho menor para las dosis de 10% comparados con los de 20% de amoníaco. En general, la inactivación de microorganismos fue mayor cuando mayor fue la dosis y sólo la combinación de 10% de NH₃ con temperaturas mayores de 40 °C logró niveles similares de estabilización a los alcanzados con la dosis superior.

El aumento de la inactivación de microorganismos en las pruebas con amoníaco y diferentes temperaturas puede atribuirse a que ésta incrementa la permeabilidad de la pared celular, Booth 1999, permitiendo así con mayor facilidad el paso del amoníaco a través de la membrana celular; así mismo, como es conocido, la temperatura acelera las reacciones químicas. Por su parte Allievi *et al.*, 1994, demostraron que aún la temperatura ambiente (18 °C) puede tener un efecto de al menos 1 unidad log de inactivación de estreptococos fecales que un tratamiento con una dosis similar (la requerida para alcanzar un pH de 10) a 5 °C. Además, Ghiglietti *et al.*, 1995, determinaron que una temperatura de 30 °C, con una dosis de amoníaco capaz de elevar el pH de lodos biológicos a 11, fue suficiente para inactivar más del 90% de huevos de *Ascaris sumn* y *Ascaris lumbricoides*.

Veschetti *et al.*, 2003, relacionaron la inactivación de microorganismos tales como coliformes fecales, *E. Coli*, así como Estreptococos fecales, como un efecto combinado del tiempo de contacto y la dosis de desinfectante (ácido peracético). Los resultados indicaron que la inactivación de microorganismos es proporcional a los diferentes valores del producto CT, y definió a la inactivación como una función lineal dependiente del producto de estos parámetros.

De forma análoga, los resultados obtenidos en esta etapa indican una relación de la dosis de amoníaco y las diferentes temperaturas evaluadas con la inactivación de los microorganismos evaluados (en tiempos de contacto 2 h). Los resultados obtenidos de un total de 27 ensayos pudieron representarse mediante el modelo de primer orden establecido por Hom (Ec. 16), Pernitsky *et al.*, 1995.

En dicho modelo, el tiempo queda implícito en k^* y el cambio de dosis queda asociado con los cambios de temperatura; la constante m^* fue introducida para contabilizar las desviaciones del modelo de Chick – Watson frecuentemente encontradas en la práctica. Para determinar la dependencia de la inactivación con el producto D (dosis de amoníaco) T (Temperatura), el modelo de Hom fue expresado de la siguiente manera:

$$\text{Log} \frac{N}{N_0} = -k^* (DT)^{m^*} \quad (23)$$

Donde

D: Dosis de amoniaco, g/L

T: Temperatura, °C

Los demás parámetros fueron definidos anteriormente en la ecuación (15).

Los resultados obtenidos demostraron que la inactivación de microorganismos como función del producto combinado de la dosis de amoniaco y la temperatura (en tiempo de contacto de dos horas) sigue una tendencia similar a una cinética de primer orden similar al modelo propuesto por Hom. La Tabla 4.8 presenta los resultados de coeficientes cinéticos del modelo de Hom donde se evaluó la dependencia de la inactivación de microorganismos con el producto DT. Los valores obtenidos de la constante k^* en ambos casos muestran que la inactivación se lleva a cabo gradualmente con el incremento del producto DT y que los huevos de helmintos, presentan mayor resistencia que las bacterias al producto de las variables utilizadas. Es necesario mencionar que dada la naturaleza de la k^* obtenida en este etapa, en la que se incorporó a la temperatura, ésta no puede ser comparada con las k^* y k^{**} obtenidas en las etapas anteriores.

Tabla 4.8 Resumen de la estimación de parámetros cinéticos para el modelo de Hom

Microorganismo	K^*	M^*	R^2
Coliformes fecales	1.524	0.2765	0.93
Huevos de helmintos	0.00924	1.011	0.67

Nota: para los huevos de helmintos se utilizó $\ln(N/N_0)$ para evaluar la inactivación.

En este caso el coeficiente m^* representa las desviaciones que presentan los resultados con respecto al modelo lineal propuesto por Chick-Watson (Ec.15). Puede observarse que el valor de m^* para la inactivación de coliformes fecales se aleja considerablemente de la unidad por lo

que su tendencia presenta desviaciones definidas por Hom como “colas”, lo que sugiere una inactivación gradual conforme el producto DT incrementa su valor, la temperatura no incrementa de manera significativa la destrucción bacteriana debido a que los coliformes fecales son termotolerantes, de hecho, para su desarrollo y posterior cuantificación se requiere su incubación a 44 °C. Este efecto no pudo ser medido para *Salmonella spp.* debido a que la dosis de 8.61 g/L (20% m/m) inactivó totalmente estos microorganismos. Por su parte, en la inactivación de huevos de helmintos, la temperatura si tuvo un efecto muy importante que incrementó significativamente la eficiencia, debido a eso la inactivación se comportó de manera similar a lo establecido por el modelo de Chick-Watson ($m \approx 1$), Kiff, *et al.*, 1984, mencionan que en medios controlados (agua destilada) sin mayores interferencias, los huevos de helmintos de *Ascaris* son totalmente inactivados a 50, 55 y 60 °C. en tan sólo dos minutos; por ello, en esta etapa, ambas dosis aplicadas, 3.53 y 8.61 g/L (10 y 20% m/m) con 50 °C alcanzan eficiencias muy elevadas, 96 y 100% respectivamente.

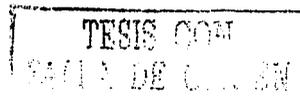
Los coeficientes presentados en la Tabla 4.8 (obtenidos a partir de datos experimentales) pueden ser sustituidos en la ecuación (19) para predecir la inactivación de microorganismos por las variables independientes propuestas (dosis de amoníaco y temperatura), y es muy importante mencionar que las mismas variables son *dependientes* de la dosis de CaO, frecuentemente utilizado para estabilizar los lodos, y cuyo estudio se presenta a continuación en la cuarta etapa de experimentación de este estudio.

4.4 Cuarta etapa de experimentación: Comparación de la estabilización alcalina de lodos fisicoquímicos en sistemas abiertos y cerrados

4.4.1 Lodos físicoquímicos de San Pedro Atocpan estabilizados con 5, 10, 15, 20, 30 y 40 % m/m de CaO en sistemas abiertos y cerrados

4.4.1.1 Coliformes fecales

Como se muestra en la Figura 4.16, cuando se aplicó 5% de CaO la concentración de coliformes fecales en lodos crudos fue reducida desde 7.4 a 6 log en el sistema abierto y a 4.5 log en el sistema cerrado. La dosis de 10% redujo hasta 3.9 log en sistemas abiertos y hasta



3.0 log en los cerrados. Un efecto similar fue presentado con dosis de 15% donde en el sistema abierto se logró una concentración final de 3.5 log, y en el cerrado de 2.7 log. La dosis de 20% también obtuvo una diferencia importante (más de 1 log) entre ambos sistemas. Dosis mayores de 25% no mostraron una clara diferencia entre ambos sistemas obteniendo concentraciones menores de 1 log en ambos tratamientos.

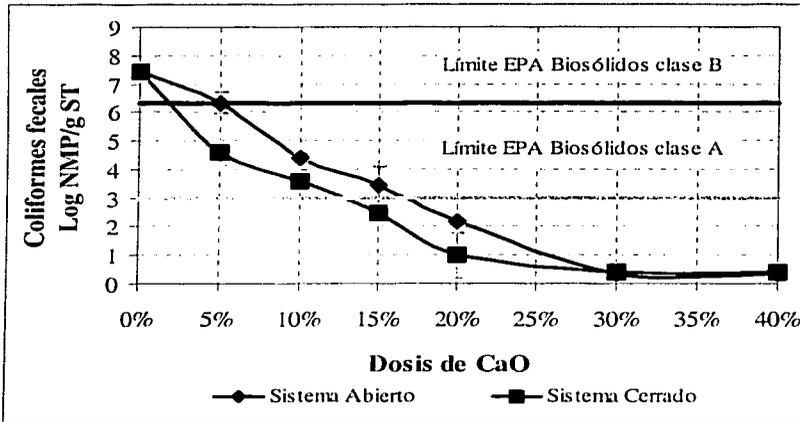
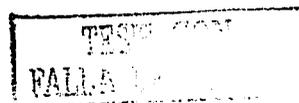


Figura 4.16 Remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Aparentemente, con bajas dosis de CaO ($\leq 20\%$), el uso de un sistema cerrado incrementa la eficiencia del proceso, y por tanto puede usar una dosis menor para obtener el mismo grado de estabilización. La validación estadística del diseño factorial propuesto se presenta en el apartado 9.4.1 del Anexo C. Una forma de comprender los resultados obtenidos es la representación gráfica de la respuesta (inactivación) con las diferentes dosis de CaO. La Figura 4.17 muestra que las respuestas del experimento se comportan con una tendencia clara a dos líneas paralelas hasta la dosis de 30%, en la cual se han eliminado la totalidad de los coliformes fecales y no es posible establecer una diferencia entre ambos sistemas.



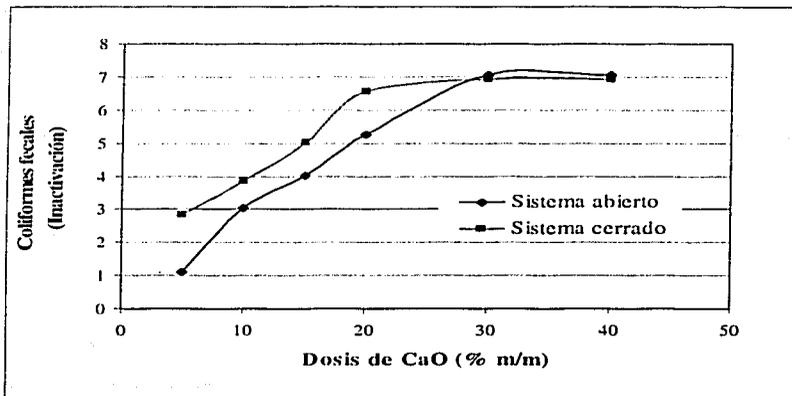


Figura 4.17 Inactivación de coliformes fecales (respuesta) contra dosis de CaO

Es claro que en el sistema cerrado se presentaron valores de inactivación mayores que en el abierto. Incluso, los resultados demuestran que en todas las dosis aplicadas (siempre que no se hayan eliminado la totalidad de los microorganismos) es más eficiente el sistema cerrado, el cual deberá ser recomendado para estabilizar lodos con CaO.

Con el objeto de evaluar las diferencias entre las medias de los tratamientos y de establecer los niveles convenientes de cada factor se realizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan, ver sección 9.4.2 del anexo C.

Las comparaciones demostraron diferencias significativas entre los tratamientos realizados en sistemas abiertos. El tratamiento 6 (40% CaO) tuvo diferencias significativas con los demás tratamientos excepto con el tratamiento 5 (30%). El resto de los tratamientos utilizados tuvieron diferencias significativas entre ellos, exceptuando los tratamientos 2 y 3 (10 y 15%) y 4 y 4(15 y 20%), las dosis que cumplieron el límite US EPA para biosólidos clase B fueron los tratamientos desde 10% de CaO en adelante, siendo este último el tratamiento recomendado. Por otra parte, los tratamientos 4, 5 y 6 (20, 30 y 40%) cumplieron con el límite US EPA para biosólidos clase A. Se recomienda la dosis de 20% para el tratamiento de los lodos en un sistema abierto.

Las comparaciones realizadas para el caso del ensayo en el sistema cerrado tuvieron como resultado la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos 6 (40%) y 5 (30%) con los tratamientos 1, 2 y 3 (5, 10 y 15%), debido a la gran diferencia entre la inactivación promedio obtenida. El tratamiento 3 a su vez, tuvo diferencias significativas con los tratamientos 4, 5 y 6, aunque de hecho, los cuatro cumplieron el límite para biosólidos clase A de la US EPA. Debido al aspecto económico, la dosis de 15% de CaO es el tratamiento recomendado para un sistema cerrado.

En resumen, los resultados indican que el uso de sistemas cerrados permite reducir hasta un 5% la dosis de CaO requerida para alcanzar un mismo grado de estabilización de lodos.

4.4.1.2 *Salmonella spp.*

El uso de ambos sistemas para la estabilización alcalina también produjo diferencias significativas en la inactivación de *Salmonella spp.* La Figura 4.18 muestra que su concentración fue reducida desde 5.5 log, para lodo crudo, hasta 3.9 log en el sistema abierto y hasta 2.6 log en el cerrado cuando se aplicó 5% de CaO. Nuevamente, las diferencias entre los tratamientos fueron cercanas a 1.5 log hasta dosis de 20% donde la concentración fue menor al límite de detección en ambos casos. Dosis mayores de 20% mantuvieron la concentración de *Salmonella spp.* inferior a 3 NMP/g ST. Así, el sistema cerrado resultó más eficiente que el abierto, ya que redujo hasta en 5% la dosis para cumplir con el límite para biosólidos clase A de la US EPA.

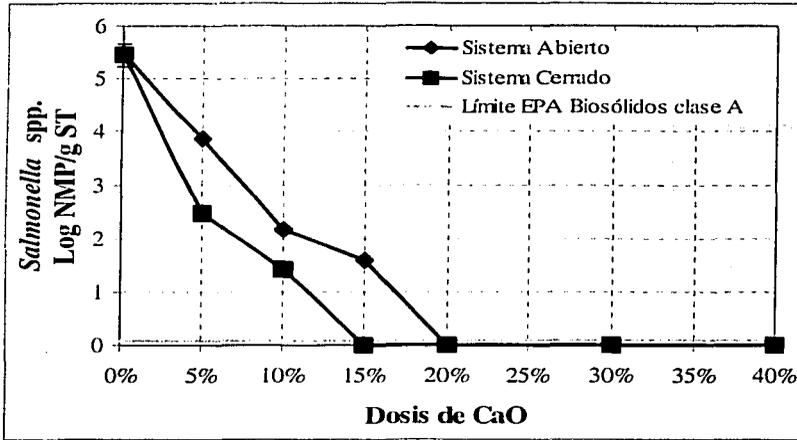
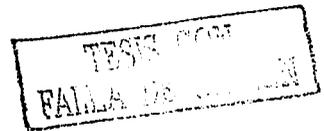


Figura 4.18 Remoción de *Salmonella spp.* en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Para evaluar el diseño factorial propuesto se realizó el análisis de varianza correspondiente (sección 9.4.3 Anexo C). En él se corrobora que las variables en estudio tiene un efecto significativo en la variable de respuesta.

En la Figura 4.19 se observa que el comportamiento de la inactivación de *Salmonella spp.* en los dos tipos de sistemas utilizados no corresponde a dos líneas paralelas, lo que explica la interacción significativa. Con el sistema cerrado se obtuvieron los mejores resultados en dosis de hasta 20%, donde la totalidad de *Salmonella spp.* fue inactivada por completo.



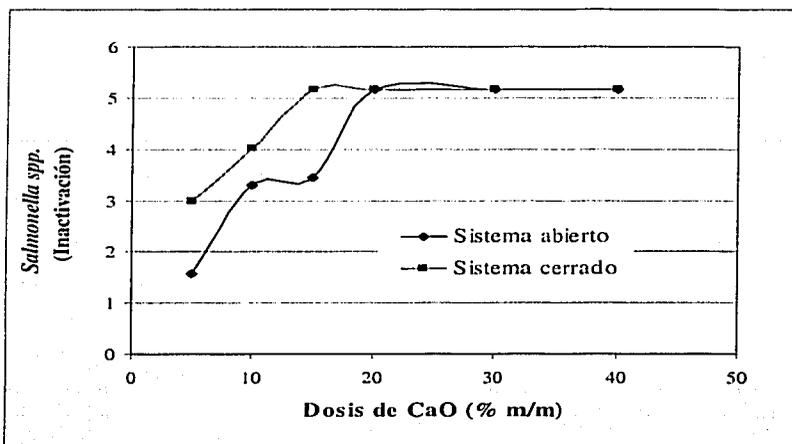


Figura 4.19 Inactivación de *Salmonella* spp. (respuesta) contra dosis de CaO

Para identificar las diferencias significativas entre los tratamientos utilizados se realizó la prueba de Duncan, la cual se presenta en su totalidad en el punto 9.4.4 del Anexo C.

Las comparaciones realizadas indicaron que los tratamientos 4, 5 y 6 (20, 30 y 40%) tienen diferencias significativas con los tratamientos 1, 2 y 3 (5, 10 y 15%), debido a que los tratamientos con dosis $\leq 15\%$ inactivaron la *Salmonella* spp. hasta concentraciones que no cumplen con el límite para biosólidos clase A, mientras que los tratamientos con dosis de 20% o mayores, redujeron la concentración por debajo de 3 NMP/g ST. Así, no existió diferencia significativa entre los tratamientos con dosis superiores a 20% y por lo tanto, este valor es el recomendado para tratar los lodos en un sistema abierto.

Para el segundo caso (sistema cerrado) se determinó que los tratamientos 3, 4, 5 y 6 (15, 20, 30 y 40% de CaO) tienen diferencias significativas con los tratamientos 1 y 2 (5 y 10%). Debido a que los tratamientos con 5 y 10% no inactivaron la totalidad de la *Salmonella* spp. En cambio, los tratamientos con dosis $\geq 15\%$ de CaO inactivaron *Salmonella* spp. hasta niveles inferiores al límite de detección (< 3 *Salmonella* spp./g ST). La selección del tratamiento recomendado se basa, en el aspecto económico, por lo que la dosis de 15% es el tratamiento recomendado.

Al igual que con los coliformes fecales, con el uso de sistemas cerrados fue posible reducir la dosis de CaO en un 5% para cumplir con el límite para biosólidos clase A según la US EPA.

4.4.1.3 Huevos de helmintos

En la Figura 4.20 se observa que la concentración promedio inicial de huevos de helmintos viables fue 90 HH/g ST. Después del tratamiento con 5% de CaO, los lodos presentaron 45 HH/g ST (45% de eficiencia) en ambos sistemas. Con dosis de hasta 20% los resultados muestran una diferencia en las eficiencias de inactivación que favorecen al sistema cerrado. Con dosis mayores de 25% no se detectaron diferencias significativas.

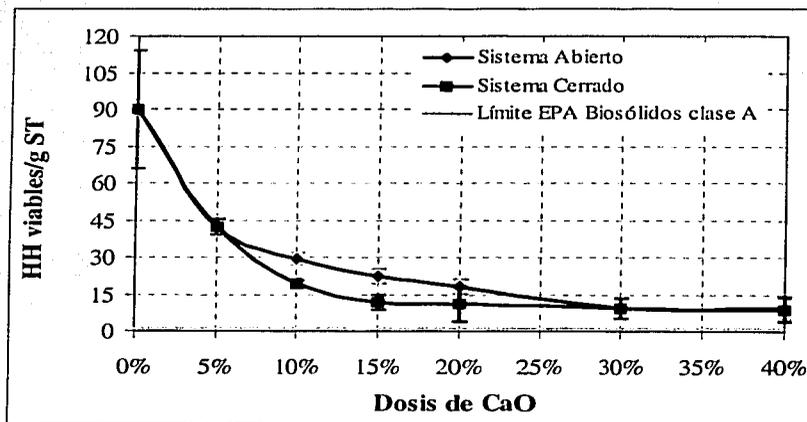


Figura 4.20 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Como en los casos anteriores, el análisis de la varianza validó el experimento; el procedimiento completo está incluido en el anexo C (sección 9.4.5).

La Figura 4.21 presenta la eficiencia de los tratamientos para cada dosis de CaO. Los resultados indican que los sistemas cerrados son capaces de producir eficiencias mayores en dosis de hasta 30%.

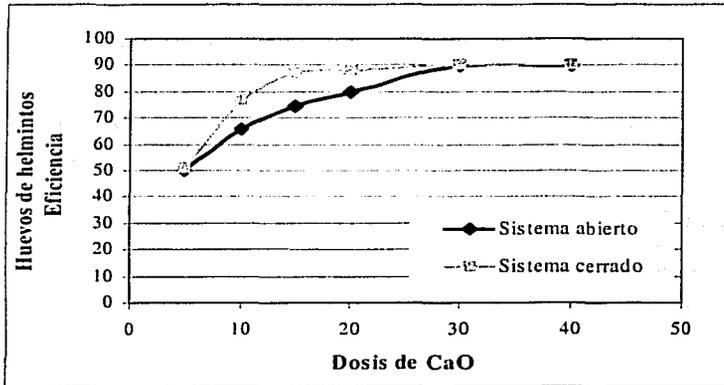


Figura 4.21 Eficiencia de inactivación de huevos de helmintos (respuesta) contra dosis de CaO

Así, es conveniente recomendar aquellos niveles de los tratamientos que presenten los resultados más favorables en la variable de respuesta. Para el caso de la dosis de CaO el tratamiento recomendado es la dosis de 30% de CaO, la cual alcanzó el 90% de eficiencia independientemente del sistema utilizado. Por otra parte, el sistema que se recomienda para el tratamiento de los lodos es el cerrado, pues con dosis desde 5 hasta 20% presentó mayores eficiencias. En este caso no fue posible cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A (< de 1 HH/4 g ST), debido a lo riguroso del mismo; lo anterior resalta la necesidad de establecer límites acorde con la situación de México.

Por otra parte, los resultados obtenidos atienden a pruebas de pre-estabilización (5% de ST), lo que dificulta aún más el incremento de la temperatura de los lodos, lo que contribuyó a no alcanzar el límite de referencia.

Adicionalmente, se cuantificó el total de géneros de huevos de helmintos. La Tabla 4.9 presenta el total de géneros contabilizados.

Tabla 4.9 Géneros de huevos de helmintos viables determinados en lodos de San Pedro Atocpan en los experimentos con diferentes dosis de CaO

Género	HH/g ST	Porcentaje (%)
<i>Ascaris spp.</i>	75	90
<i>Trichuris spp.</i>	4	5
<i>Hymenolepis spp.</i>	3	4
<i>Toxocara spp.</i>	1	1
Total	83	100

El género *Ascaris spp.* fue el más abundante, representando el 90% del total de huevos contabilizados en los lodos, este es un organismo conocido por su resistencia a los procesos de desinfección y por su alta concentración (comparada con los otros géneros), puede decirse que esta muy bien adaptado a las condiciones de los lodos estudiados. La Figura 4.22 presenta los resultados obtenidos con diferentes dosis de CaO.

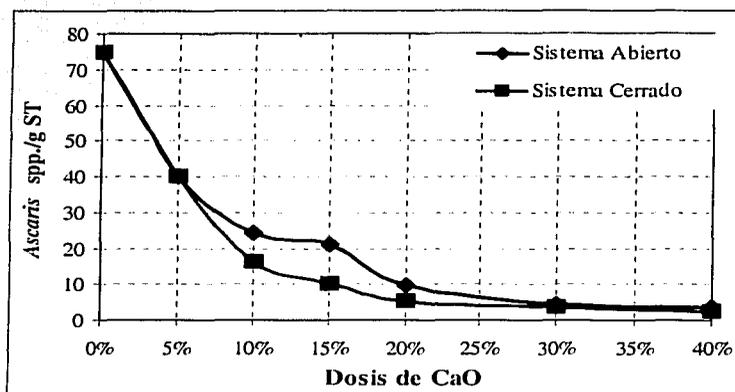
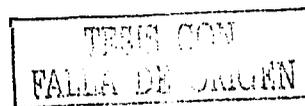


Figura 4.22 Remoción de *Ascaris spp.* en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

En términos generales, se obtuvieron resultados con tendencia semejante a la obtenida en el total contabilizado. Se demostró que este género puede removerse en mayor medida en el sistema cerrado con dosis de hasta 20%. Con dosis superiores no se reportaron diferencias entre ambos sistemas.



En la Figura 4.23 se aprecia el efecto de la adición de 10% de CaO en huevos de *Ascaris spp.* En estas condiciones los huevos sufren adelgazamiento de su membrana y permiten el paso de agentes externos que dañan el núcleo del huevo y lo hacen infértil. En la Figura 4.24 se observa el severo daño causado por la aplicación de 15% de CaO; el daño causado al huevo es significativo e incluso se logran fragmentar todos los componentes.



Figura 4.23 Efecto de la dosis de 10% de CaO en *Ascaris spp.*

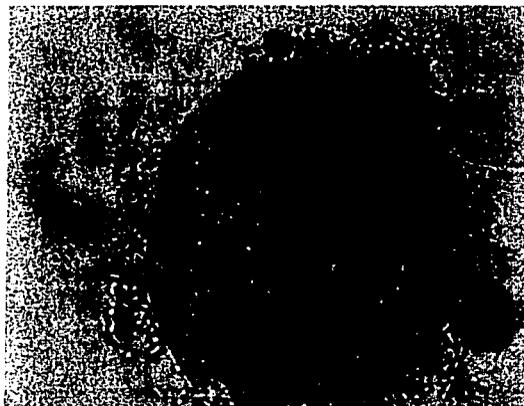


Figura 4.24 Efecto de la dosis de 15% de CaO en *Ascaris spp.*

El óxido de calcio actúa de la misma manera que el amoníaco pero su acción desinfectante no está únicamente determinada por los grupos hidroxilo, sino también por el ión metálico (Ca^{+2}). Tortora *et al.*, 1999 reportaron que el ión metálico del álcali puede ser altamente tóxico y así incrementa el efecto microbicida que por sí sólo tienen los grupos hidroxilo. Además, otros factores también intervienen en la inactivación de microorganismos como la temperatura, la deshidratación de los lodos y la producción de amoníaco.

Por otra parte, los demás géneros presentes representaron el 10% de los huevos totales. En la Figura 4.25 se presenta la remoción de éstos.

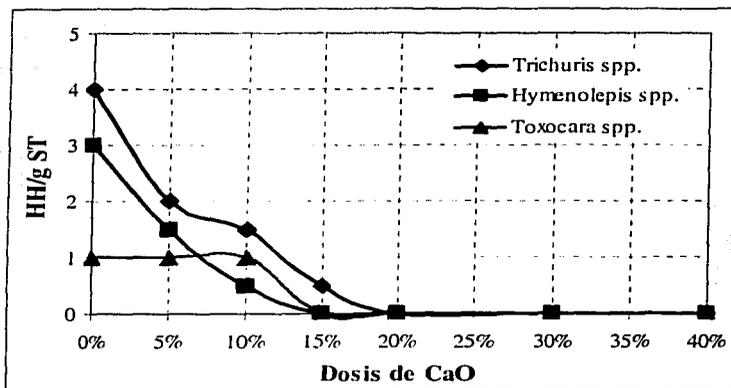


Figura 4.25 Remoción de otros géneros de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

El resto de los géneros cuantificados en los análisis de huevos de helmintos, se compuso de *Trichuris spp.*, *Hymenolepis spp.* y *Toxocara spp.*, cuyas concentraciones promedio fueron 4, 3 y 1 HH/g ST respectivamente. Estos géneros fueron reducidos a menos de 1 HH/g ST después de la aplicación de 15% de CaO, independientemente del tipo de sistemas utilizado. Esto se explica debido a que estos géneros representaron apenas el 10% del contenido total de huevos de helmintos en los lodos estabilizados con CaO, además demostraron tener vulnerabilidad al tratamiento alcalino. Los huevos no inactivados después de esta dosis fueron del género *Ascaris spp.* que, de los evaluados, es el más abundante y resistente a la estabilización alcalina.

Para evaluar con más rigor los resultados obtenidos en los tratamientos con CaO en ambos sistemas, se realizó la evaluación fisicoquímica de los lodos, los resultados se presentan a continuación.

TESIS 2015
FALLA 100%

4.4.1.4 pH

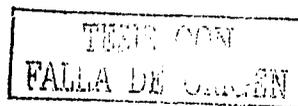
Los resultados obtenidos de pH al final de los tratamientos en ambos sistemas se muestran en la Tabla 4.10. Es posible apreciar la tendencia con la que el pH se incrementó mientras mayor fue la dosis de CaO. Los lodos sin tratamiento obtuvieron un pH promedio de 5.52, mismo que incrementó su valor hasta 12.49 después de la aplicación de 40% en el sistema abierto. En el sistema cerrado por su parte, el pH se incrementó hasta 12.53. En general, el pH tubo un mayor incremento en los sistemas cerados, aunque los resultados no presentaron diferencias significativas.

Tabla 4.10 Valores de pH alcanzados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Dosis de NH ₃ (m/m)	Sistema Abierto		Sistema cerrado	
	pH promedio Final	Desviación Estándar	pH promedio Final	Desviación Estándar
0%	5.52	0.22	5.52	0.22
5%	8.90	0.42	8.95	0.35
10%	10.53	0.25	10.64	0.08
15%	11.48	0.11	11.70	0.14
20%	12.19	0.21	12.27	0.15
30%	12.44	0.07	12.48	0.09
40%	12.49	0.05	12.53	0.10

4.4.1.5 Temperatura

La temperatura mostró un incremento ligeramente más alto en el sistema cerrado debido a que éste permaneció aislado de las condiciones atmosféricas y mantuvo mejor (dentro del sistema) el calor producido por la reacción de hidratación de la cal viva. De hecho, el sistema abierto mostró un $\Delta T = 1.0$ °C, mientras que en el sistema cerrado se obtuvo un máximo $\Delta T = 5.2$ °C. La Figura 4.26 presenta los perfiles de temperatura obtenidos en los tratamientos.



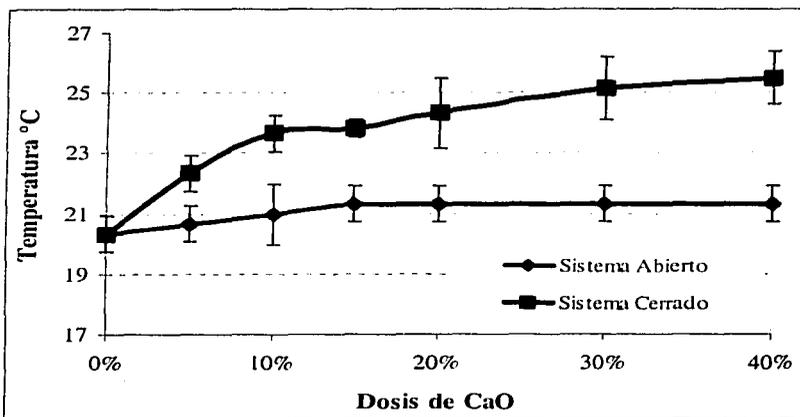


Figura 4.26 Temperatura obtenida en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Como se demostró anteriormente, el factor temperatura tiene un efecto significativo en la reducción de microorganismos patógenos e indicadores presentes en los lodos. Es posible que el incremento de ésta en el sistema cerrado haya contribuido a la mejor eficiencia alcanzada en el mismo.

4.4.1.6 Nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$)

La Figura 4.27 muestra que el nitrógeno amoniacal redujo su concentración en el lodo debido a que el incremento del pH produce la conversión del ión amonio en amoniaco y este se volatiliza. Sin embargo, debido a que el pH aumenta, la concentración de amoniaco tóxico aumenta en los biosólidos comparado con los lodos crudos. Una cantidad mayor de este amoniaco fue volatilizada en el sistema abierto y puesto que en el cerrado se mantiene una mayor concentración; la eficiencia también fue mayor.

Además, existe una relación entre el amoniaco y la temperatura que tiene un efecto en la estabilización de lodos (Ghiglietti *et al.*, 1995). Considerando las eficiencias obtenidas y las diferencias en los requerimientos de CaO para alcanzar similares grados de estabilización, es

posible considerar la posibilidad de mejorar el proceso de estabilización alcalina cerrando los reactores y manteniendo el amoníaco en solución. Otra opción es reutilizar el amoníaco generado en el proceso, reciclándolo dentro del mismo reactor. La siguiente etapa de experimentación se enfocará a evaluar dicha modificación al proceso convencional de estabilización.

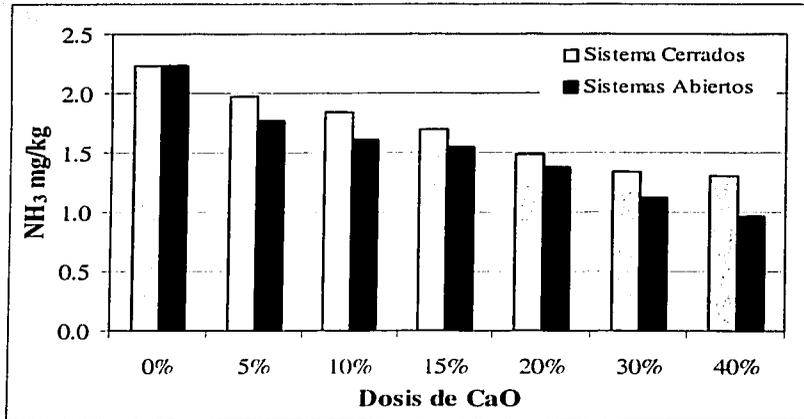


Figura 4.27 Nitrógeno amoniacal en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Adicionalmente, se evaluó la concentración de metales en lodos crudos y tratados con CaO, los resultados se presentan a continuación.

4.4.1.7 Metales Pesados

Como parte de la evaluación de la calidad de los lodos estabilizados con CaO, fue posible determinar las concentraciones de metales pesados presentes en los lodos, (Tabla 4.11). Los análisis fueron realizados para la dosis 10, 20, 30 y 40 % m/m de CaO.



Tabla 4.11 Metales pesados determinados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO

Dosis de CaO	Metales (mg/kg)							
	As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
0 %	5.0	5.0	8.53	86.28	0.5	7.52	5.0	549.3
10 %	5.0	5.0	5.0	68.52	0.5	5	5.0	512.4
20 %	5.0	5.0	5.1	66.94	0.5	5	5.0	410.2
30 %	5.0	5.0	5.0	55.75	0.5	5	5.0	358.4
40 %	5.0	5.0	5.0	59.9	0.5	5	5.0	341.5
Promedio	6.67 %	5.88 %	0.19 %	1.57 %	0.88 %	1.31 %	0.60 %	5.79 %
Desv. Std.	0.00 %	0.00 %	0.05 %	0.27 %	0.00 %	0.27 %	0.00 %	1.23 %
Límite US EPA	75	85	3000	4300	57	420	840	7500

Las concentraciones de metales pesados determinadas en los lodos crudos y tratados con diferentes dosis de CaO no rebasaron en absoluto los límites establecidos por la US EPA. De hecho, las concentraciones fueron inferiores al 7% (Figura 4.28) del valor límite para cada uno de los metales analizados. Lo anterior demuestra que el contenido de metales de los lodos de la ciudad de México (al menos de los lodos analizados) no representa un problema de contaminación que limite su depósito o reaprovechamiento.

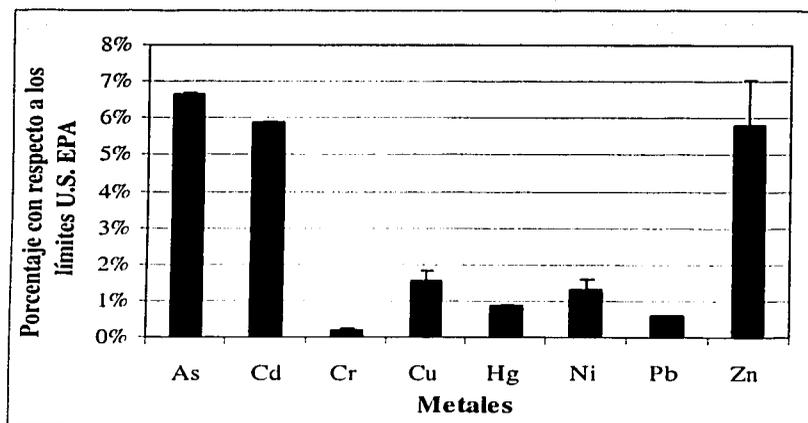
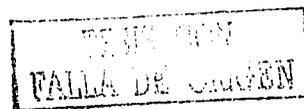


Figura 4.28 Metales pesados determinados en lodos fisicoquímicos tratados con diferentes dosis de CaO



4.4.2 Discusión de resultados (cuarta etapa)

En la Tabla 4.12 se presenta un resumen de los datos obtenidos en esta etapa; la cuantificación de NH_3 , pH y temperatura durante los ensayos de estabilización de lodos con CaO permitieron obtener las concentraciones reales de amoníaco que actuaron sobre los microorganismos presentes; fue posible por tanto, obtener el valor para el producto DT (NH_3 , temperatura) en cada una de las dosis aplicadas en ambos sistemas. Los valores del producto DT fueron notoriamente inferiores a los probados en la etapa tres donde se aplicaron de manera controlada condiciones particulares de DT. Lo anterior debido a que en esta ocasión, este producto fue totalmente dependiente de la dosis de CaO aplicada y no se adicionaron dosis extras de amoníaco o calor para incrementar la temperatura de los lodos.

Tabla 4.12 Resumen de resultados de la cuarta etapa de experimentación

Dosis de CaO	N-NH ₃ (g/L)	N-NH ₃ (g/L)	pH	pH	Dosis real g/L	Dosis real g/L	Temp. °C	Temp. °C	DT g/L °C	DT g/L °C
	SA	SC	SA	SC	SA	SC	SA	SC	SA	SC
0%	0.12	0.12	5.52	5.52	0	0	20.3	20.3	0	0
5%	0.10	0.11	8.9	8.95	0.03	0.04	20.7	22.3	0.64	0.84
10%	0.10	0.11	10.53	10.64	0.09	0.11	21.0	23.7	1.99	2.51
15%	0.10	0.11	11.48	11.70	0.10	0.11	21.3	23.8	2.16	2.66
20%	0.10	0.10	12.19	12.27	0.10	0.10	21.3	24.3	2.05	2.42
30%	0.09	0.10	12.44	12.48	0.09	0.10	21.3	25.2	1.87	2.58
40%	0.08	0.11	12.49	12.53	0.08	0.11	21.3	25.5	1.77	2.77

SA Sistemas abiertos; SC sistemas cerrados

La aplicación de diferentes dosis de cal viva a los lodos redujo la concentración de coliformes fecales hasta un máximo de 7 unidades log (por debajo del límite de detección). Como se demostró en la tercera etapa, la condiciones que originan el producto DT tienen un efecto sobre microorganismos presentes en lodos; para estimar el efecto de dicho producto en cada dosis de CaO aplicada, se sustituyó el valor de DT obtenido en el modelo expresado en la ecuación (23), los coeficientes cinéticos utilizados para cada microorganismo, fueron los presentados en la Tabla 4.8. Los resultados se presentan en la Tabla 4.13 y Tabla 4.14.

Tabla 4.13 Relación de la inactivación de coliformes fecales de la estabilización alcalina con la inactivación producida por el producto (DT)

Dosis de CaO	DT		Log N/No coliformes fecales por (DT)	Log N/No coliformes fecales por (DT)	Log N/No coliformes fecales (total)	Log N/No coliformes fecales (total)	Δ I total - I (DT)	Δ I total - I (DT)
	SA	SC	SA	SC	SA	SC	SA	SC
0%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5%	0.64	0.84	-1.34	-1.45	-1.11	-2.86	-0.23	1.41
10%	1.99	2.51	-1.84	-1.97	-3.03	-3.85	1.19	1.88
15%	2.16	2.66	-1.89	-2.00	-4.02	-5.02	2.14	3.02
20%	2.05	2.42	-1.86	-1.95	-5.27	-6.55	3.41	4.61
30%	1.87	2.58	-1.81	-1.98	-7.08	-6.93	5.27	4.95
40%	1.77	2.77	-1.79	-2.02	-7.08	-6.93	5.29	4.91

I = inactivación = Log (N/No)

Los resultados sugieren que las condiciones producidas por la dosis de amoníaco y la temperatura (producto DT) fueron capaz de inactivar entre uno y dos unidades log de coliformes fecales en las condiciones experimentales utilizadas; con la menor dosis de CaO (5%), la inactivación teórica en el sistema abierto fue ligeramente (no significativa) superior a la inactivación reportada, lo cual puede explicarse a que el valor del pH (8.9) no fue suficiente para ejercer un poder desinfectante importante. En el resto de los casos, la inactivación calculada de DT fue inferior a la inactivación total obtenida, lo que indica que en el proceso, pueden interferir el producto DT y además el pH. El hecho de que los sistemas cerrados sean más eficientes que los abiertos se debe principalmente al valor superior de este producto por que los niveles de pH son similares en ambos sistemas. Es importante mencionar que el producto DT encontrado naturalmente en estos casos es capaz de inactivar más del 90% de los coliformes fecales, lo que resalta su importancia para ser tomado en cuenta como variable de diseño, operación y control. Adicionalmente; no fue posible establecer el efecto de este producto en la inactivación de *Salmonella spp.* como antes fue mencionado. Para efectos de control y en todo caso de operación o diseño, los resultados obtenidos para coliformes fecales son una medida segura de su total inactivación ya que su concentración se mantiene permanentemente de 1.5 a 2 log superior.

TESIS COM
FALLA DE CALIDAD

Tabla 4.14 Relación de la inactivación de huevos de helmintos de la estabilización alcalina con la inactivación producida por el producto (DT)

Dosis de CaO	DT		N-No Huevos de helmintos por (DT)		N-No Huevos de helmintos (total)		Δ I total - I (DT)	
	SA	SC	SA	SC	SA	SC	SA	SC
0%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5%	0.64	0.84	-0.53	-0.69	-47.33	-47.67	46.80	46.98
10%	1.99	2.51	-1.65	-2.08	-60.67	-70.67	59.02	68.59
15%	2.16	2.66	-1.79	-2.2	-67.67	-78.00	65.88	75.80
20%	2.05	2.42	-1.7	-2.01	-71.67	-79.00	69.97	76.99
30%	1.87	2.58	-1.55	-2.14	-80.67	-80.67	79.12	78.53
40%	1.77	2.77	-1.47	-2.3	-80.67	-81.00	79.20	78.70

Por su parte, los huevos de helmintos siguieron una tendencia similar a los coliformes, pero fue muy notorio el mínimo efecto del producto DT obtenido para la inactivación de los huevos; mientras que para los coliformes fecales las eficiencias sugeridas por el producto fueron del orden de 90% o mayores, para los huevos de helmintos la eficiencias apenas rebasaron el 2%, lo que indica que los huevos de helmintos son mas resistentes a pequeñas concentraciones de amoniaco (no mayores a 0.04 g/L) y a incrementos de temperatura ligeros (apenas superiores a 27 °C). Estos resultados indican que la resistencia de los huevos de helmintos al efecto combinado del amoniaco y temperatura es mayor, ya que son estructuras más resistentes que por su ciclo de vida soportan condiciones ambientales adversas y pueden mantener su infectividad durante meses o incluso varios años en el suelo, Zaman, 1979. Naturalmente, en su inactivación interviene también el drástico cambio de pH y el contenido de humedad.

La dependencia de la inactivación de los diferentes microorganismos con la dosis de CaO siguió la tendencia del modelo de primer orden de Hom simplificado para un tiempo de contacto constante de 120 minutos (Ec. 18).

En la Tabla 4.15 se resumen los valores de las constantes cinéticas determinadas, para las tres clases de microorganismos evaluados, en general, los valores de las constantes de inactivación

son superiores en los sistemas cerrados, lo que sugiere que la inactivación se lleva a efecto con menores dosis de CaO, lo que comprueba los efectos de DT citados anteriormente.

Tabla 4.15 Resumen de la estimación de parámetros cinéticos para el modelo de Hom (cuarta etapa)

Microorganismo	Sistema abierto			Sistema cerrado		
	K^*	n	R^2	K^*	n	R^2
Coliformes fecales	2.202	0.6833	0.91	4.826	0.4172	0.89
<i>Salmonella spp.</i>	3.431	0.4383	0.89	6.551	0.2209	0.90
Huevos de helmintos	0.4329	0.57	0.90	0.7546	0.4057	0.85

Aunque en esta ocasión se analizó el efecto de la dosis de cal a un tiempo constante, de manera similar la primera etapa (usando NH_3), el hecho de que las dosis (g/L) de ambos reactivos no fueran exactamente las mismas (reacuérdesse que el amoniaco cambia su concentración en los lodos, Tabla 4.3) no permitió una comparación directa entre los valores de las constantes cinéticas resultantes, sin embargo, los resultados indican que ambos reactivos tienen una fuerte influencia en la inactivación de bacterias y que los huevos de helmintos son más resistentes a ambos tratamientos.

Finalmente, aunque el mecanismo exacto de inactivación de bacterias y de huevos de helmintos en pH alcalinos no está plenamente definido, Dilworth y Glenn, 1999 (citados en Wiley & Sons, 1999). Puede mencionarse que en la inactivación (Figura 4.29) intervienen de manera conjunta el pH, el cual, incrementa la presión osmótica y causa hipertensión en la pared celular; la temperatura, que se incrementa por la reacción exotérmica del óxido de calcio y que incrementa la permeabilidad de las paredes celulares, permitiendo el paso de moléculas eléctricamente neutras como el amoniaco, el cual altera sus funciones enzimáticas y genera la muerte del microorganismo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

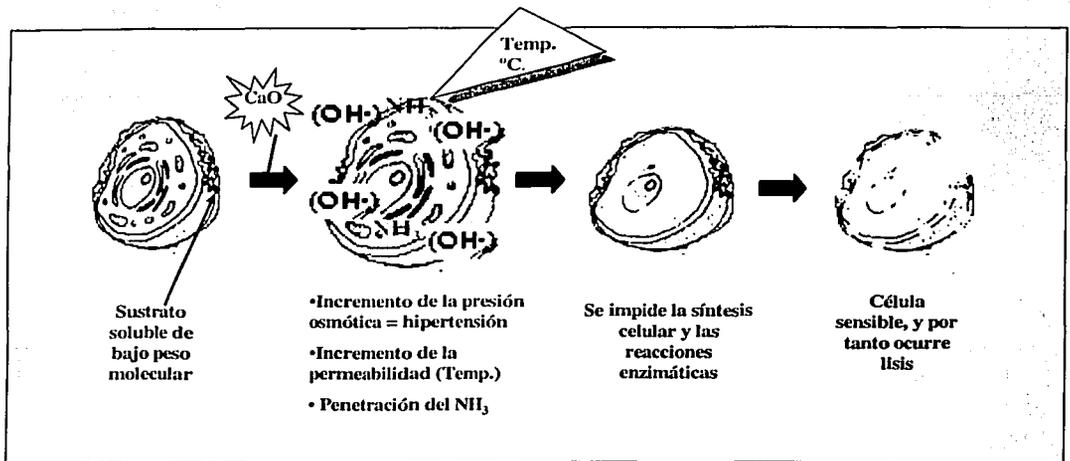


Figura 4.29 Posible mecanismo de inactivación de bacterias por el CaO

Resumiendo, la combinación de los efectos de las variables dosis de amoníaco y temperatura tiene un efecto directo en la remoción de microorganismos presentes en lodos; estas variables son dependientes de la dosis de CaO utilizada en el proceso alcalino y puede aprovecharse para incrementar la eficiencia del mismo, por medio de la medición y/o manipulación de las variables mencionadas. Indiscutiblemente, deben ser utilizados mezcladores que eviten la libre volatilización del amoníaco.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.5 Quinta etapa de experimentación: Evaluación del efecto de la recirculación de NH_3 en el proceso de estabilización con CaO

4.5.1 Lodos de San Pedro Atocpan estabilizados con CaO y recirculación de NH_3

4.5.1.1 Coliformes fecales

La Figura 4.30 muestra que la concentración de coliformes fecales en los lodos crudos fue de 7.75 unidades log, misma que redujo su valor 1.92 log después de la aplicación de 5% m/m de CaO . La simulación de recirculación de 5% de amoníaco no produjo ningún cambio en la inactivación inicial, sin embargo, cuando se aplicó 10% de NH_3 la inactivación aumentó y se redujeron 3.36 log de la concentración inicial. Finalmente, la adición de 15% de NH_3 logró cumplir con los límites US EPA biosólidos clase A con 2.59 unidades log al final del tratamiento.

Con la adición de 10% de CaO se contabilizaron 3.8 log de coliformes fecales, en cambio, con 5% de amoníaco este valor se redujo a 3.4 log. La adición de 10 y 15% de NH_3 aumentó la inactivación del proceso y logró concentraciones menores a 2 log que cumplieron con el límite US EPA.

La dosis de 15% de CaO obtuvo una concentración final de 2.49 unidades log (5.26 log de inactivación), la cual cumplió con el límite para biosólidos clase A, cuando se simuló la recirculación de NH_3 , la inactivación se incrementó, incluso hasta concentraciones < 3 NMP/g ST para los ensayos con recirculación de 10% de amoníaco o mayores. Una tendencia similar se obtuvo con 20% de CaO y sus respectivas dosis de NH_3 . En general, la adición de amoníaco a los lodos estabilizados con CaO incrementó la inactivación de coliformes fecales obtenida al final del tratamiento convencional.

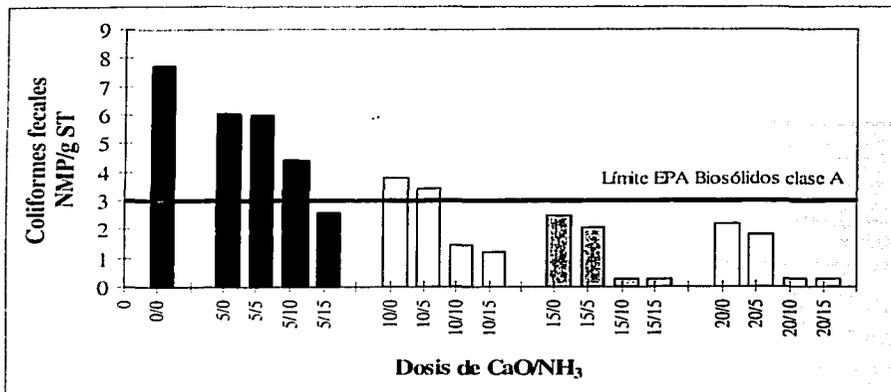


Figura 4.30 Remoción de coliformes fecales en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH₃

La validación estadística de los resultados (sección 9.5.1, Anexo C) corroboró el efecto significativo de la mezcla CaO/NH₃ en la inactivación de coliformes fecales, lo que demuestra que estas bases deben ser aprovechadas para alcanzar mejores resultados en la operación del proceso en sistemas que permiten la volatilización del amoníaco. Para seleccionar el o los tratamientos recomendables, se realizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan (en el inciso 9.5.2 del Anexo C se presenta el procedimiento).

Para hacer las conclusiones de las comparaciones realizadas se establecerá un orden de acuerdo con la Figura 4.30. Los tratamientos 1, 2 y 3 (5/5, 5/10 y 5/15% CaO/NH₃) tienen diferencias significativas entre ellos, siendo el tratamiento 3, el que cumplió con el límite para biosólidos clase A, por lo que, de los tratamientos que utilizaron 5% de CaO es el recomendable.

Los tratamientos que utilizaron 10% de CaO fueron los tratamientos 4, 5 y 6 (10/5, 10/10 y 10/15% CaO/NH₃). Sus comparaciones demostraron que la eficiencia del tratamiento se incrementó cuando fue simulada la recirculación del amoníaco. Lo anterior ya que en que el tratamiento en el que no fue aplicado el amoníaco, los coliformes fecales redujeron su

concentración desde 7.75 log hasta 3.8 log, con la aplicación del 5% de amoníaco se obtuvo una reducción apenas superior, llegando hasta 4.41, sin embargo, el tratamiento 5 redujo la concentración hasta 1.43 log que además de cumplir con el límite de la US EPA, representó una diferencia significativa entre los tratamientos 4 y 5. Por otra parte, el tratamiento 5 no tuvo una diferencia significativa con el tratamiento 6 y debido a que ambos cumplieron con el límite de referencia, se recomienda este tratamiento (10/10% CaO/NH₃).

La aplicación de 15% de CaO redujo la concentración de coliformes fecales hasta niveles de 2.49 log, y cumplió con el límite para biosólidos clase A. Los tratamientos que simularon la recirculación de amoníaco (7, 8 y 9) incrementaron en todos los casos la eficiencia del tratamiento inicial y hubo diferencias significativas entre el tratamiento 7 (15/5% CaO/NH₃) y los tratamientos 8 y 9 (15/10 y 15/15%). No obstante, en este caso no se recomienda la recirculación del amoníaco para este parámetro.

La aplicación de 20% de CaO y sus respectivos tratamientos con amoníaco presentaron una tendencia similar. En el tratamiento en que no se aplicó amoníaco se contabilizaron un total de 2.2 log, suficiente para cumplir con el límite para biosólidos clase A; nuevamente, los tratamientos con recirculación de amoníaco incrementaron en todos los casos la eficiencia del proceso original, existiendo diferencias significativas entre el tratamiento 10 (20/5%) y los tratamientos 11 y 12 (20/10 y 20/15%). Para el caso de los coliformes fecales no se recomienda la recirculación del amoníaco.

Los resultados anteriores muestran que la recirculación del amoníaco incrementa la inactivación de coliformes fecales conseguida con la CaO y se alcanzan grados de estabilización similares con dosis inferiores. Por lo tanto, es posible considerar la recirculación del amoníaco (producido en el proceso), como una alternativa que aumenta la eficiencia del proceso de estabilización alcalina.

4.5.1.2 *Salmonella spp.*

El proceso de estabilización con mezcla de CaO y NH₃ también se evaluó en términos de inactivación de *Salmonella spp.* la Figura 4.31 presenta los efectos de la recirculación de NH₃.

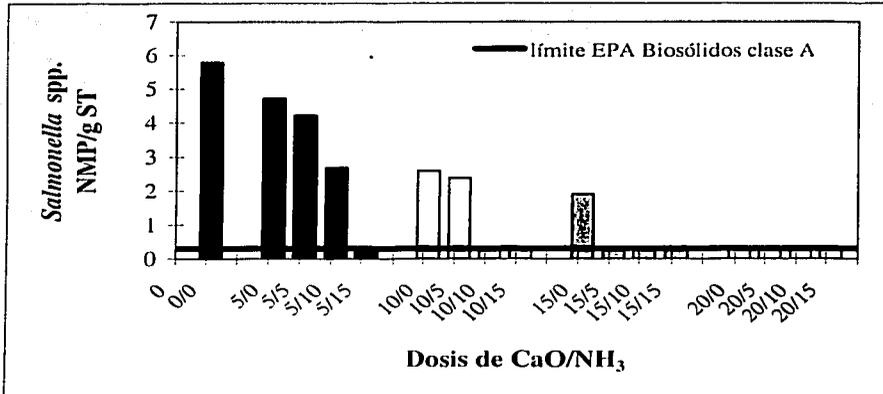


Figura 4.31 Remoción de *Salmonella spp.* en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH₃

La concentración de *Salmonella spp.* se redujo desde 5.8 log en los lodos crudos, hasta 4.7 log después de la aplicación de 5% de CaO. La adición de diferentes dosis de amoníaco incrementó la inactivación del tratamiento con cal, cumpliendo con el límite para biosólidos clase A con el tratamiento de 5/15% (CaO/NH₃). Cuando se aplicó a los lodos 10% de CaO la concentración de *Salmonella spp.* fue determinada en 2.6 log, una ligera reducción (2.4 log) se alcanzó con la adición de 5% de amoníaco, en cambio, cuando se simuló la recirculación de 10 y 15% de NH₃, la concentración se redujo significativamente y mantuvo su valor por debajo del límite de detección. La dosis de 15% de CaO y 0% de amoníaco disminuyó de manera importante la concentración de *Salmonella spp.* (1.9 log al final del tratamiento), sin cumplir con el límite para biosólidos clase A, pero con la adición de amoníaco, incluso la dosis menor (5%) cumplió en todos los casos con el límite US EPA. Finalmente, el único tratamiento que alcanzó el límite internacional sin la aplicación de amoníaco, fue el que utilizó una dosis de 20% de CaO, por lo que la aplicación de amoníaco en este caso fue innecesaria.

Al igual que en el primer caso, los resultados sugieren que la eficiencia del proceso aumenta con la recirculación del amoníaco al proceso con cal, la validación estadística se presenta en el inciso 9.5.3 del Anexo C. Para determinar las condiciones de operación recomendables se realizó la prueba de intervalos múltiples de Dunca, la cual se presenta en la sección 9.5.4 de dicho Anexo.

Con la misma mecánica utilizada con los coliformes fecales, el análisis de las comparaciones realizadas se realizó de acuerdo con la Figura 4.31. Puede apreciarse que los tratamientos 1, 2 y 3 (5/5, 5/10 y 5/15) incrementaron la eficiencia del tratamiento sin recirculación de amoníaco, además presentaron diferencias significativas entre ellos. El tratamiento que se recomienda en este caso es el 3, ya que cumplió con el límite para biosólidos clase A. En los tratamientos con 10% de CaO, se determinaron diferencias significativas entre los tratamientos 4 (10/5%) y 5 y 6 (10/10 y 10/15%). Los tratamientos 5 y 6 fueron los que lograron mantener la concentración de *Salmonella spp.* debajo de 3 NMP/g ST, valor suficiente para cumplir el límite US EPA, y al no existir diferencia significativa entre ellos, se recomienda el tratamiento con 10/10% CaO/NH₃ para el tratamiento de los lodos. Nuevamente se logró alcanzar un estándar internacional con bajas dosis de CaO. Cuando se adicionó 15% de CaO más amoníaco, la eficiencia del proceso original se incrementó hasta alcanzar el límite para biosólidos clase A en los tres casos (tratamientos 7, 8 y 9), mismos en lo que no se presentaron diferencias significativas. La dosis superior de CaO utilizada (20%) redujo la totalidad de *Salmonella spp.* sin necesidad de aplicar amoníaco, debido a esto no se observó efecto alguno, naturalmente no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y la recirculación de amoníaco resulto innecesaria. Los resultados indican que la producción de biosólidos puede llevarse a cabo con dosis bajas de CaO, siempre y cuando se aproveche un subproducto de la estabilización como el amoníaco.

4.5.1.3 Huevos de helmintos

El efecto de la recirculación de NH_3 en el proceso de estabilización alcalina también fue evaluado en término de remoción de huevos de helmintos viables. La Figura 4.32 indica las remociones obtenidas con diferentes dosis de CaO y NH_3 .

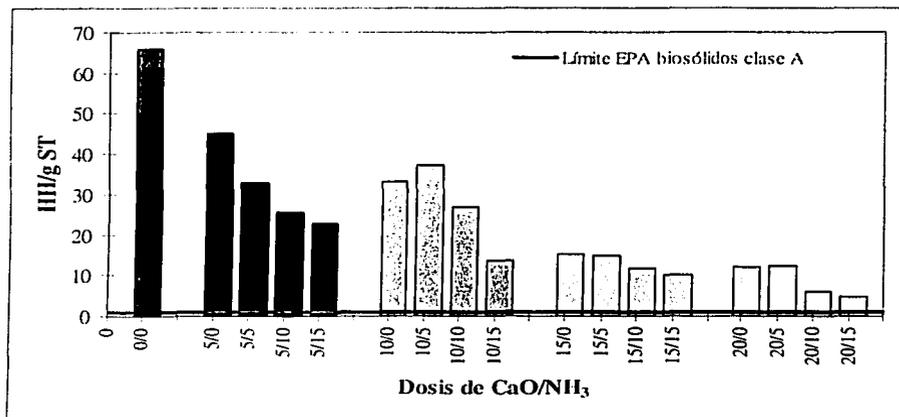


Figura 4.32 Remoción de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos tratados con CaO y NH_3

El contenido de huevos de helmintos viables en lodos crudos fue reducido desde 66 hasta 45 h/g ST después aplicar 5% de CaO . La aplicación de diferentes dosis de amoníaco a esta dosis de CaO incrementó la eficiencia del tratamiento hasta un valor máximo de 66% con la aplicación de 15% de amoníaco. Cuando se aplicó a los lodos 10% de CaO se cuantificaron 33 huevos/g ST al final del tratamiento (50% de eficiencia). Una dosis de amoníaco de 5% no redujo el contenido total de huevos, por el contrario la eficiencia se redujo a 44%. Un efecto contrario se obtuvo al adicionar 10% de NH_3 , donde se presentó una eficiencia superior a la inicial de 60%, de igual forma el tratamiento con 15% de amoníaco incrementó significativamente los resultados obtenidos. La dosis de 15% de CaO disminuyó de manera importante la concentración de huevos viables (15 HH/g ST al final del tratamiento), con la adición de amoníaco se redujo en todos los casos dicha concentración. La mayor eficiencia obtenida con los tratamientos con CaO fue de 82% (obtenida con 20% de CaO), esta eficiencia se incrementó hasta un máximo de 93% con el tratamiento que empleó 15% de amoníaco y se

redujo hasta 81% con 5% de amoníaco. En ningún caso se consiguió cumplir con el límite US EPA para biosólidos clase A.

Al igual que en los casos anteriores, la recirculación del amoníaco al proceso de estabilización con cal incrementó su eficiencia en la mayoría de los casos, la validación estadística se realizó con el planteamiento de las hipótesis presentadas en el apartado 9.5.5. El análisis realizado demostró el efecto significativo del factor en estudio e hizo necesaria la selección de condiciones de operación mediante la identificación de diferencias significativas. El procedimiento se muestra en la sección 9.5.6.

Con el objeto de hacer más sencillo el análisis de las comparaciones realizadas, se tomó como referencia la Figura 4.32. En ésta se aprecia que los tratamientos en que se aplicó 5% de CaO más amoníaco (tratamientos 1, 2 y 3), incrementaron la eficiencia del proceso; existiendo diferencias significativas entre ellos, sin embargo, aunque el efecto de la recirculación de amoníaco es apreciable en la eficiencia del proceso, en estos casos no se cumplió con el límite para biosólidos clase A, por lo que el tratamiento recomendado es el tratamiento 3 (5/15%) que obtuvo la máxima eficiencia.

Los tratamientos que utilizaron 10% de CaO con recirculación de amoníaco consiguieron, en general, incrementar la eficiencia del proceso (excepto en el tratamiento 4), existiendo diferencias significativas entre ellos, como en el primer caso se recomienda el tratamiento 6 (10/15%) que obtuvo la máxima eficiencia (80%). Una tendencia similar se obtuvo en los tratamientos con 15% de CaO más amoníaco. La eficiencia se incrementó y hubo sólo diferencias significativas entre los tratamientos 7 y 9 (15/5 y 15/15), por ello, se recomienda el noveno tratamiento en este caso.

Finalmente, el uso de 20% de CaO más recirculación de NH_3 produjo elevadas eficiencias de remoción de huevos de helmintos. El tratamiento 10 (20/5%) presentó diferencias significativas con los tratamientos 11 y 12 (20/10 y 20/15) debido a que su eficiencia (81%) fue inferior a las obtenidas con los otros tratamientos (91 y 93%, respectivamente). Estos dos últimos tratamientos no presentaron diferencias entre ellos, por lo que, desde el punto de vista

estadístico, su uso es indistinto. No obstante, ya que el amoníaco adicionado puede producirse en el mismo proceso y debido a la naturaleza infectiva de los huevos viables, se recomienda usar el tratamiento 12.

4.5.2 *Discusión de resultados (quinta etapa)*

Los resultados derivados de esta etapa corroboraron los efectos mencionados y evaluados en la tercera y cuarta etapa de experimentación, efectivamente, la recirculación de amoníaco hizo más eficiente al proceso de estabilización con cal; desafortunadamente, en este caso no fue posible medir las temperaturas obtenidas en cada uno de los tratamientos y por lo tanto no se cuantificó el efecto del producto DT. Aún así, el efecto general (incremento de la eficiencia) por la recirculación de amoníaco pudo ser predecible antes de realizados los ensayos.

4.5.3 *Aspectos económicos*

Adicionalmente, en la Tabla 4.16 se presenta el costo de los procesos estudiados así como de la opción “estabilización alcalina de lodos con recirculación de amoníaco”. El costo aproximado del óxido de calcio en el mercado es de \$600.00, por lo que su uso representa \$120.00/ton ST. El uso del amoníaco para la estabilización de los lodos implicaría más del 500% de incremento en el costo (únicamente por concepto de reactivo), lo que lo convierte en una alternativa no viable. Sin embargo, ya que el amoníaco es producido en el proceso de estabilización con cal, su recuperación y recirculación al proceso, reducirán los costos por una reducción de la dosis de cal requerida; así, el proceso con recirculación de amoníaco producirá su propio reactivo y puede reducir en un 25% el costo por consumo de CaO.

Tabla 4.16 Consumo de reactivos para los procesos evaluados

Reactivo	Dosis recomendada ton/ton ST	Costo/ton (\$)	Costo del tratamiento/ton ST (\$)
CaO	0.20	600.00	120.00
NH ₃	0.20	4,025.00	805.00
CaO/NH ₃	0.15/0.15	600.00	90.00

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos se concluye que la aplicación de amoníaco en la desinfección de lodos es una alternativa que reduce significativamente no sólo el alto contenido de bacterias sino también de huevos de helmintos viables en lodos fisicoquímicos con dosis de 20%. Este tratamiento tiene la ventaja de no incrementar la masa del lodo, lo que reduce los costos de manejo y transporte; además, al final del tratamiento, alcanza niveles similares de microorganismos a los que se obtienen en la estabilización con cal y no permite recrecimiento bacteriano.

Como resultado de las pruebas con diferentes tiempos de contacto se puede concluir que éste afecta significativamente la inactivación de los microorganismos presentes en los lodos residuales. Es necesario mantener un tiempo de contacto mínimo de por lo menos 2 h para alcanzar las máximas eficiencias en el tratamiento con amoníaco; este parámetro puede ser utilizado como parámetro de control del proceso de estabilización de lodos.

La elevación de la temperatura incrementa el poder desinfectante del NH_3 , en combinación con éste (producto DT) se logra alcanzar hasta 99% eficiencia de remoción de huevos de helmintos. Sin embargo, debido a los costos energéticos que representa calentar los lodos, es recomendable utilizar esta alternativa de tratamiento con temperatura ambiente y dejar que el amoníaco actúe en tiempos de contacto mayores a 1.5 horas.

Como producto de la comparación de los sistemas abiertos y cerrados en la estabilización de lodos usando cal, es claro que las mejores eficiencias son obtenidas en los sistemas cerrados debido a que éstos mantienen el amoníaco producido y el calor generado en la reacción de hidratación del óxido de calcio (el producto DT es superior en los sistemas cerrados). En el proceso cerrado se requiere hasta 5% menos cal para cumplir con los límites para biosólidos clase A.

Los sistemas cerrados pueden ayudar a reducir o eliminar los problemas de olores producidos en las condiciones actuales, incrementando también la destrucción de bacterias y la inactivación de huevos de helmintos y disminuyen el requerimiento de compuestos alcalinos.

En los procesos alcalinos estudiados (NH_3 y CaO), la inactivación de microorganismos presentes en lodos puede describirse mediante el modelo de Hom. En general, las constantes cinéticas obtenidas indican que las bacterias son más sensibles al efecto de las bases mientras que los huevos de helmintos presentan más resistencia. Es posible, por tanto, utilizar los datos obtenidos para éstos como una medida de diseño, operación y control.

Finalmente, al recuperar y recircular el amoníaco generado, puede manipularse el producto combinado de amoníaco y temperatura producido en el sistema para incrementar la destrucción de bacterias y la inactivación de huevos del helmintos además de reducir los requerimientos de compuestos alcalinos; es factible, por tanto, desarrollar una tecnología de estabilización alcalina acorde con la situación de los lodos producidos en México.

5.2 Investigaciones futuras

Como producto de la primera y segunda etapa de experimentación se obtuvieron los intervalos de los valores para las constantes k del modelo Hom en cada microorganismo evaluado; por lo que se sugiere un estudio simultáneo de dosis de amoníaco y tiempos de contactos variables para obtener el valor exacto de dicha constante.

Las condiciones de tratamiento de lodos con amoníaco y CaO fueron obtenidas para lodos con alto contenido de agua ($\approx 95\%$). Se sugiere aplicar una metodología similar con lodos previamente deshidratados (pruebas de post – estabilización).

Será necesario también realizar investigación a nivel piloto ya que los resultados fueron obtenidos a nivel laboratorio, para ello debe diseñarse y construirse un dispositivo que permita la retención del amoníaco y el calor producidos.

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron y los esperados en las pruebas de post estabilización, se recomienda el estudio de la aplicación de los lodos estabilizados para mejorar suelos o incluso para evaluar su poder fertilizante en suelos poco productivos (por ejemplo los tepetates).

De acuerdo con la calidad de los lodos evaluados, deben realizarse estudios comparativos con otros procesos de estabilización como la elaboración de composta, que es capaz de remover microorganismos patógenos, la digestión anaeróbica termofílica e incluso la estabilización ácida. Lo anterior para determinar la alternativa o alternativas más viables para el tratamiento de los lodos en la ciudad de México.

CAPÍTULO 5

REFERENCIAS

6 REFERENCIAS

Allievi, L., Colombi, A., Calcaterra, E. y Ferrari, A., (1994). Inactivation of Fecal Bacteria in Sewage Sludge by Alkaline Treatment. *Bioresource Technology*, Vol. 49, pp. 25-30.

American Water Works, (1990). *Water Quality and Treatment*. McGraw-Hill, USA, 1194 p.

APHA-AWWA-WEF Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, (1995). 19ª edición, Washington DC, USA.

Arkivos, J., Mamais, D., Katsara, K. y Andreadakis, A., (1999). Agricultural Utilisation of Lime Treated Sewage Sludge. Proceedings of the IAWQ Specialized Conference on Disposal and Utilisation of Sewage Sludge: Treatment Methods and Application Modalities. *International Association on Water Quality*. Atenas, Grecia, pp. 393-400.

Barrios, J. A., Jiménez, B. E, Rodríguez, A., González, A. y Maya, C., (2001). Application of Peracetic Acid to Physicochemical Sludge to Reduce its Microbial Content. Proceedings Aqua Enviro/CIWEM 6th European Biosolids and Organic Conference, Volume 1, *Aqua Enviro*, Wakielfiend, Nov 2001. ISB 0 95369679-3-X. pp 1-8.

Barrios, J. A., Rodríguez, A., González A., Jiménez B. y Maya C., (2001). Quality of Sludge Generated in Wastewater Treatment Plants in México: Meeting the Proposed Regulation. Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilisation and Disposal, *International Water Association*, Acapulco, México. pp. 54-61.

Beer, C., (2003). Recreational Water Disinfection by Copper/Silver ions. Disponible en [www. Clearwaterpoolsystem.com/waterdis.html](http://www.Clearwaterpoolsystem.com/waterdis.html).

Booth, I. R. (1999). The Regulation of Intracellular pH in Bacteria. In: Bacterial Responses to pH. *Novartis Foundation Symposium 221*. Wiley & Sons, J UK, pp. 19-37.

Brtko, J., (1996). Slovakia. En: A Global Atlas of Wastewater Sludge and Biosolids: Use and Disposal. (Ed.) Matthews P. Reporte científico y técnico No. 4. *IAWQ*, UK. pp. 123-124.

Bruce, A. M., (1984). Sewage Sludge Stabilization and Disinfection. (Ed.) Ellis Horwood Limited, UK, pp. 320-340.

Carrington, E. G. y Harman, S. A., (1984). The Effect of Anaerobic Digestion Temperature and Retention Period on the Survival of Salmonella and Ascaris ova. In: Sewage sludge stabilization and disinfection, A. Bruce (Ed.), Ellis Horwood Limited, UK, pp. 369-380.

Christy, P., (2000). Alkaline Stabilization of Biosolids. Sludge Lime Mixing Experiences within the United States. Proceedings of the Joint *CIWEM* Aqua Enviro Consultancy Services 5th European Biosolids and Organic Residuals Conference. Published by Aqua Enviro Consultancy Services. (Ed.) Lowe, P. y Hudson, J., Seminar 8, paper 68, Wakefield, UK, pp. 1-3.

Hsiau, P. C. y Lo, S. L., (2001). Characteristics of Heavy Metals in Cement- Treated and Cement/Sodium Silicate-Treated Sewage Sludge. Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilisation and Disposal. *International Water Association*, Acapulco, México. pp. 70-76.

Chow, P. S., (1998). Petroquímica y Sociedad. La ciencia desde México. Fondo de Cultura Económica, No. 49. México. pp. 48-49.

Crewe, W., (1984). Transmission of *Taenia Saginata* in Britain. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, Vol. 78, pp. 249-251.

Comisión Nacional del Agua, (2000). Lodos que se generarán por cumplimiento de NOM-001-ECOL-1996. Gerencia de Ingeniería Básica y Normas Técnicas. Comisión Nacional del Agua. México, 19 p.

Comisión Nacional del Agua (CNA), (2001). Programa Nacional Hidráulico 2001-2006. Primera edición. México. 128 p.

Diario Oficial de la Federación, (2002). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-004-ECOL-2001. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final, México, 34 p.

Dilworth y Glenn, (1999). Problem of Adverse pH and Bacterial Strategies to Combat It. In: Bacterial Responses to pH. *Novartis Foundation Symposium 221*. Wiley & Sons, J UK, pp. 4-18.

European Environment Agency, (2001). Indicator Fact Sheet Signals 2001- Chapter Waste: Sewage sludge – a future waste problem?, 7 p.

Garciapiña, T., Jiménez, B., Barrios, J. y Garibay, A., (2000). Application of Limed Biosolids to Improve Saline-Sodic Soils from Northern Mexico. Proceedings of the Joint *CIWEM* Aqua Enviro Consultancy Services 5th European Biosolids and Organic Residuals Conference. Published by Aqua Enviro Consultancy Services. (Ed.) P. Lowe and J. Hudson, Seminar 3, paper 25, Wakefield, UK, pp. 1-6.

Gaspard, P., Wiart, J. y Schwartzbrod, J., (1997). Parasitological Contamination of Urban Sludge Used for Agricultural Purposes. *Waste Management and Research*, Vol. 15, pp. 429-436.

Ghiglietti, R., Genchi, C., Di Mateo, L., Calcaterra, E., y Colombi, A., (1997). Survival of *Ascaris Suum* in Ammonia-Treated Wastewater Sludges. *Bioresource Technology*, Vol. 59, pp. 195-198.

- Ghiglietti, R., Rossi, P., Ramsan, M., y Colombi, A., (1995). Viability of *Ascaris Suum*, *Ascaris Lumbricoides* and *Trichuris Muris* Eggs to Alkaline pH and Different Temperatures. *Parasitology*, Vol. 37, pp. 229-232.
- Girovich, M. J., (1996). *Biosolids Treatment and Management*. (Ed.) Marcel Dekker Inc. Cap. 7. N. Y., USA, pp. 343-388.
- Hall, J., (2000). Sludge Management in Developing Countries. Proceedings of the Joint *CIWEM* Aqua Enviro Consultancy Services 5th European Biosolids and Organic Residuals Conference. Published by Aqua Enviro Consultancy Services, (Ed.) Lowe, P. and Hudson, J. Seminar 1, paper 3, Wakefield, UK. pp 1-8.
- Hays, B. D., (1977). Potential for Parasitic Disease Transmission with Land Application of Sewage Plant Effluents and Sludges. *Water Research*. Vol. 11, pp. 583-595.
- Hong, A. K., Young, P. K., Lee, Y., Kyu, M. S., Hyuk, H., J., Woo, L. J., Guen, S. K. y Yeom, T., (2001). Ozonation of Wastewater Sludge for Reduction and Recycling. Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilisation and Disposal. *International Water Association*, Acapulco, México, pp. 101-108.
- Instituto Internacional del Frío, (2000). El amoniaco como refrigerante. Editorial A. Madrid Vicente, España, 180 p.
- Jiménez, B., Maya, C., Sánchez, E., Romero, A. y Lira, L., (2001). Comparison of the Quantity and Quality of the Microbiological Content of Sludge in Countries with Low and High Content of Pathogens. Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilisation and Disposal. *International Water Association*, Acapulco, México, pp. 526-533.
- Jiménez, B., Barrios, J. A. y Maya, C., (2000). Class B Biosolids Production from Wastewater Sludge with High Pathogenic Content Generated in an Advanced Primary Treatment. *Water Science and Technology*, Vol. 42, No. 9, pp. 103-110.
- Jiménez, B., Chávez, A. Barrios J., Santos, S. y Méndez, C., (1999). Evaluación del origen de los principales problemas de operación así como del impacto por olores de la planta de Aguas Blancas en Acapulco, Guerrero. Informe final elaborado para la Comisión Nacional del Agua. 167 p.
- Jiménez, B., Barrios, J. A. y Garciapiña, T. (1998). Apoyo para la integración del documento "Factibilidad de reúso de biosólidos provenientes de un TPA estabilizados con cal en Ciudad Juárez". Informe final elaborado para la Universidad de las Naciones Unidas. 39 p.
- Jiménez, B., Muñoz, A. M. y Barrios, J. A., (1997). Estudio para fundamentar la propuesta de norma oficial mexicana en materia de tratamiento y disposición de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas municipales. Reporte final elaborado para la Comisión Nacional del Agua, México. 107 p.

- Joklik, W. K., Willett, H. P., y Amos, B., (1998). Zinsser Microbiología. Editorial Medica Panamericana, Argentina, 1696 p.
- Kemwater Recycling Process, (1997). A New Process Technology for Reducing Sludge Disposal Volumes, Recovering Phosphorus and Precipitation Chemicals in Order to Save Resources and Create a Sustainable Waste Sludge Cycle. Kemira Kemi AB, Kemwater. Helsinborg, Sweden, 26 p.
- Kiff, R. J. y Lewis-Jones, R., (1984). Factors that Govern the Survival of Selected Parasites in Sewage Sludges. In: Sewage Sludge Stabilization and Disinfection. Bruce, A.M. (ed.), Ellis Horwood Limited, pp. 426-439.
- Lue-Hing, C., Zenz, D. R., y Kuchenrither, R., (1992). Municipal Sewage Sludge Management: Processing, Utilization and Disposal. (Ed.) Technomic Publishing Company, Inc., USA, 661 p.
- Lue-Hing, C., Matthew P., Namer, J., Okuno N. y Spinosa, L., (1996). Sludge Management in Highly Urbanized Areas. En: A Global Atlas of Wastewater Sludge and Biosolids: Use and Disposal. (Ed.) Matthews, P. Reporte científico y técnico No. 4. IAWQ, UK.
- Mathews, P., y Linder, H.K., (1996). European Union. En: A Global Atlas of Wastewater Sludge and Biosolids: Use and Disposal. (Ed.) Matthews, P. Reporte científico y técnico No. 4 IAWQ, UK.
- Masters, G. M., (1991). Introduction to Environmental Engineering and Science. Prentice Hall Inc., USA, Cap. 2, pp. 64-65.
- Metcalf and Eddy Inc., (1991). Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse. McGraw-Hill, USA, 1334 p.
- Michel, I. y Rooksby, F., (2000). A Continuous Discharge-Batch Pasteurization Process for the Treatment of Sewage Sludges. Proceedings of the Joint CIWEM Aqua Enviro Consultancy Services 5th European Biosolids and Organic Residuals Conference. Published by Aqua Enviro Consultancy Services. (Ed.) Lowe, P. y Hudson, J.. Seminar 6, paper 46. Wakefield, UK, pp. 1-10.
- Mignotte-Cadiergues, B., Grantzer, C. y Schwartzbrod, L., (2001). Evaluation of Bacteriophages During the Treatment of Sludge. Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilisation and Disposal. *International Water Association*, Acapulco, México, pp. 358-365.
- Molina, M., (1997). Los Clorofluocarbonos y el ozono estratosférico, un problema global. *Ciencia Hoy*, Vol. 6, No. 36, Argentina, pp. 65-70.
- Montgomery Douglas C., (1991). Diseño y Análisis de Experimentos. 1a. Edición, Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V., México, Cap. 3, 5 y 7, pp. 45-222.

Pernitsky, D. J., Gordon, R. F. y Huck, P. M., (1995). Disinfection Kinetics of Heterotrophic Plate Count Bacteria in Biologically Treated Potable Water. *Water Research*, Vol. 29, No. 5, pp. 1235-1241.

Piatkin, K. y Krivoshein, Y., (1981). Microbiología. (Ed.) Mir. México. Cap. 1 pp. 30 – 264.

RDP, Company, (1993). Sludge/Lime Mixing. USA, 10 p.

Reimers, R., McDonell, D., y Little, M., (1986)a. Chemical Inactivation of Pathogens in Municipal Sludges. In: Control of Sludge Pathogens, (Ed.) C.A. Sorber. Water Pollution Control Federation, Washington, D.C. USA, pp. 1-23.

Reimers, R. S., McDonell, D. B., Little, M. D., Bowman, D. D., Englande, A. J. y Henriques, W. D., (1986). Effectiveness of Wastewater Sludge Treatment Processes to Inactivate Parasites. *Water Science and Technology*, Vol. 18, pp. 397-405.

Richardson, M. L., (1993). The Dictionary of Substances and Their Effects. Royal Society of Chemistry. USA, 110 p.

Ritter, D. F., (1990). Gravity Belt Thickening and Lime Stabilization. *Water Environment and Technology*, Vol. 12, pp. 58-63.

Russell, J.B. y Larena A. (1994). Química. Mc Graw Hill, México, pp. 614.

Schuh, R., Philipp, W. y Strauch, D. (1985). Influence of sewage sludge with and without lime treatment on the development of *Ascaris suum* eggs. In: Inactivation of Microorganisms in Sewage Sludge by Stabilization Processes, (Ed.) Strauch P., Havelaar A. H., L'Hermite P., Elsevier Applied Science, pp. 100-113.

Secretaría del Trabajo y Previsión Social, (1994). Norma Oficial Mexicana: NOM-010-STPS-1994. México, 39 p.

Sidhu, J., Gibbs, R. A., Ho, G. E. y Unkovich, I., (2001). The Role of Indigenous Microorganisms in Suppression of *Salmonella* Regrowth in Composted Biosolids. *Water Research*, Vol. 35, No. 4, pp. 913-920.

Snyman, H. G., Terblanch, J. S. y Van der Westhuizen, J. L., (1999). Management of Land Disposal and Agricultural Reuse of Sewage Sludge within the Framework of the Current South African Guidelines. Proceedings of the IAWQ Specialized Conference on Disposal and Utilisation of Sewage Sludge: Treatment Methods and Application Modalities. *International Association on Water Quality*. Atenas, Grecia, pp. 32-39.

Stien J. L., (1989). Oeufs d'helminthes et environnement: le modèle oeufs d'*Ascaris*. Thèse Université de Metz, Francia, 160 p.

SSA, (2000). Secretaría de Salud, Morbilidad y Mortalidad 2000, Coordinación General de Planeación Estratégica. Dirección general de Evaluación e Información Epidemiológica. 12 p.

Tay J., Catrejón, O., Aguilera R. y Quiroz, M., (1991). *Parasitología Médica*. Editorial Méndez Cervantes, Cap. 6. pp. 327.

Tortora, J. G., Case, C. y Funke, B., (1995). *Microbiology*, Editorial Benjamin/Cummings Publishing Company, Canada, 832 p.

US EPA, (2000). *Biosolids Tecnology Fact Sheet, Alkaline Stabilization of Biosolids*. US EPA/832/F-00-052, 9 p.

US EPA, (1999). *Biosolids Generation, Use, and Disposal in the United States*. US EPA/530/R-99-009, 74 p.

US EPA, (1994). *A Plain English Guide to the EPA, Part 503 Biosolids Rule*. US EPA/832/R-93-003, 25 p.

US EPA, (1992). *Guidelines for Water Reuse*. Office of Wastewater Enforcement and Compliance. US EPA/625/R-92/004.

US EPA, (1979). *Process Design Manual. Sludge Treatment and Disposal*. EPA 625/1-82-014. 1135 p.

Vázquez, A. M., (1999). *Cal en tratamiento de aguas y lodos residuales*. *Teorema*. México, pp. 34 - 35.

Veschetti, E., Cutilli, D., Bonadonna, L., Briancesco, C., Martini, C., Cecchini, G., Anastasi, P. and Ottaviani, M. (2003) *Pilot-Plant Study of Peracetic Acid and Sodium Hypochlorite Wastw Water Disinfection*. *Water Research*. Vol. 37, pp. 78-94.

Watanabe, H., Tomokazu, K., Ochi, S. y Ozaki, M., (1997). *Inactivation of Pathogenic Bacteria under Mesophilic and Thermophilic Conditions*. *Water Science and Technology*. Vol. 36, No. 6-7, pp. 25-32.

Watanabe, H. y Maeda, M., (1996) *Japan: Tokyo*. En: *A Global Atlas of Wastewater Sludge and Biosolids: Use and Disposal*. (Ed.) Matthews, P. Reporte científico y técnico No. 4 IAWQ, UK.

Wiley & Sons, J., (1999). *Bacterial Responses to pH*. Novartis Foundation Symposium 221. UK, 264 p.

Westphal, P. A. y Christensen, G. L., (1983). *Lime Stabilization: Effectiveness of Two Process Modifications*. *Journal Water Pollution Control Federation*, Vol. 55, No. 11, pp. 1381-1386.

WWD. (2002). *Disease fact sheet: Ascariasis*. Written for World Water Day. Reviewed by staff and experts from the cluster on Communicable Diseases (CDS) and Water, Sanitation and Health unit (WSH), World Health Organization (WHO). 3 p.

Zaman, V., (1979). Atlas de Parasitología Clínica. Editorial panamericana. Cuarta edición. pp. 131-146, 210, 223.

ANEXO A

BESES DE DATOS

7 Anexo A. "Bases de datos"

7.1 Resultados de la primera etapa de experimentación

Tabla 7.1 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con amoniaco

Fecha	Dosis de NH ₃ (% m/m)					
	0%	10%	20%	30%	40%	50%
8/22/2000	9.30E+7	9.10E+3	1.10E+2	1.10E+2	1.10E+2	3.00E+0
8/28/2000	2.30E+6	2.30E+3	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0
9/5/2000	1.10E+8	9.30E+3	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0
9/19/2000	9.30E+7	2.40E+3	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0	3.00E+0
Media geom.	3.85E+7	4.65E+03	7.38E+0	7.38E+00	7.38E+00	3.00E+00

Tabla 7.2 Resultados de *Salmonella spp.* en lodos estabilizados con amoniaco

Fecha	Dosis de NH ₃ (m/m)					
	0%	10%	20%	30%	40%	50%
8/22/2000	8.40E+5	2.10E+2	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0
8/28/2000	2.10E+4	4.30E+1	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0
9/5/2000	9.40E+6	2.80E+2	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0
9/19/2000	7.20E+6	9.30E+1	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0
Media geom.	1.05E+6	1.24E+2	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0	1.00E+0

Tesis de
 BARRA DE CALZADA
 DE CALZADA

Tabla 7.3 Resultados de huevos de helmintos en lodos tratados con amoniaco

Fecha	Dosis de NH ₃											
	0%		10%		20%		30%		40%		50%	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
22/08/2000	121	24	50	53	7	29	6	24	5	30	4	30
28/08/2000	92	9	18	50	18	21	11	23	11	28	5	32
05/09/2000	121	11	24	21	14	25	16	33	14	22	10	24
19/09/2000	89	16	40	17	27	27	9	70	6	34	5	18
Media Arit.	105.75	15.00	33.00	35.25	16.50	25.50	10.50	37.50	9.00	28.50	6.00	26.00

7.2 Resultados de la segunda etapa de experimentación

Tabla 7.4 Resultados de coliformes fecales con 20 % de NH₃ y diferentes tiempos de contacto

Fecha	Tiempos de Contacto				
	20% NH ₃				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
3/13/2001	1.10E+8	2.30E+2	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
10/2/2001	9.30E+6	3.60E+2	2.80E+2	1.20E+2	2.00E+1
10/3/2001	9.30E+6	3.60E+2	2.80E+2	1.20E+2	2.00E+1
Media geom.	2.12E+7	3.10E+2	5.39E+1	3.07E+1	9.28E+0

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 FALTA DE CARGEN

Tabla 7.5 Resultados de *Salmonella* spp. con 20 % de NH₃ y diferentes tiempos de contacto

Fecha	Tiempos de Contacto				
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
3/13/2001	7.30E+5	1.00E+2	4.00E+0	4.00E+0	4.00E+0
10/2/2001	2.90E+4	3.00E+1	1.10E+0	1.10E+0	1.10E+0
10/3/2001	2.90E+4	3.00E+1	1.10E+0	1.10E+0	1.10E+0
Media Geo	8.50E+4	4.48E+1	1.69E+0	1.69E+0	1.69E+0

Tabla 7.6 Resultados de huevos de helmintos con 20% de NH₃ y diferentes tiempos de contacto

Fecha	Tiempos de contacto (h)									
	0.0		0.5		1.0		1.5		2.0	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
3/13/2001	76	23	19	38	9	51	8	20	3	8
10/2/2001	63	6	18	36	9	37	3	30	3	30
10/3/2001	63	6	10	31	6	47	2	37	2	31
Media Arit.	67.33	11.67	15.67	35.00	8.00	45.00	4.33	29.00	2.67	23.00

VALORES EN CIENTOS

7.3 Resultados de la tercera etapa de experimentación

Tabla 7.7 Resultados de coliformes fecales con diferentes dosis de NH_3 y diferentes temperaturas

Fecha	Lodo crudo	Temperaturas							
		20 °C		30 °C		40 °C		50 °C	
		0%	10%	20%	10%	20%	10%	20%	10%
3/19/2001	7.50E+7	4.60E+3	1.25E+1	2.30E+3	1.20E+0	1.00E+2	1.20E+0	1.20E+0	1.20E+0
10/7/2001	7.30E+7	2.40E+3	2.00E+1	9.00E+2	2.00E+1	2.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
10/8/2001	7.30E+7	2.40E+3	2.00E+1	9.00E+2	2.00E+1	2.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
Media Geom.	7.37E+7	2.98E+3	1.71E+1	1.23E+3	7.83E+0	3.42E+1	1.69E+0	1.69E+0	1.69E+0

Tabla 7.8 Resultados de *Salmonella spp.* con diferentes con NH_3 y diferentes temperaturas

Fecha	Lodo crudo	Temperaturas							
		20 °C		30 °C		40 °C		50 °C	
		0%	10%	20%	10%	20%	10%	20%	10%
3/19/2001	2.00E+5	3.98E+1	1.20E+0	4.00E+1	1.20E+0	1.20E+0	1.20E+0	1.20E+0	1.20E+0
10/7/2001	9.50E+4	4.30E+1	2.00E+0	3.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
10/8/2001	9.50E+4	9.30E+1	2.00E+0	3.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
Media Geom.	1.22E+5	5.42E+1	1.69E+0	3.30E+1	1.69E+0	1.69E+0	1.69E+0	1.69E+0	1.69E+0

REVISADO POR
 MARIA DEL CARMEN
 10/10/2001

Tabla 7.9 Resultados de huevos de helmintos en lodos tratados con NH₃ y diferentes temperaturas

Fecha	Lodo crudo		Temperaturas															
			20 °C				30 °C				40 °C				50 °C			
	0%		10%		20%		10%		20%		10%		20%		10%		20%	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
19-03-01	89	11	45	28	30	30	46	27	33	39	28	38	20	37	8	54	0.5	49
09-10-01	80	9	40	25	10	26	39	34	20	31	21	34	18	30	1	38	0.25	42
10-10-01	80	9	39	20	6	20	33	34	3	30	22	28	8	31	5	36	0.5	40
Media Arit.	83.00	9.67	41.33	24.33	15.33	25.33	39.33	31.67	18.67	33.33	23.67	33.33	15.33	32.67	4.67	42.67	0.42	43.67

7.4 Resultados de la cuarta etapa de experimentación.

Tabla 7.10 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos

Fecha	Dosis de CaO (m/m)						
	0%	5%	10%	15%	20%	30%	40%
4/3/2000	1.10E+8	9.90E+6	2.38E+4	2.90E+3	3.00E+2	3.00E+0	3.00E+0
10/16/2000	4.30E+7	9.00E+5	9.30E+3	2.00E+3	3.00E+1	2.00E+0	2.00E+0
11/6/2000	4.30E+6	1.10E+6	7.50E+4	3.00E+3	3.60E+2	2.00E+0	2.00E+0
Media geom.	2.73E+7	2.14E+6	2.55E+4	2.59E+3	1.48E+2	2.29E+0	2.29E+0

Tabla 7.11 Resultados de coliformes fecales en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados

Fecha	Dosis de CaO (m/m)						
	0%	5%	10%	15%	20%	30%	40%
4/3/2000	1.10E+8	2.00E+5	5.88E+3	3.00E+2	3.00E+0	8.00E+0	8.00E+0
10/16/2000	4.30E+7	9.00E+3	2.30E+3	2.00E+2	3.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
11/6/2000	4.30E+6	3.00E+4	4.30E+3	3.00E+2	1.10E+2	2.00E+0	2.00E+0
Media geom.	2.73E+7	3.78E+4	3.88E+3	2.62E+2	9.97E+0	2.00E+0	2.52E+0

PALESTRA
 DE
 CIENCIAS

Tabla 7.12 Resultados de *Salmonella spp.* en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos

Fecha	Dosis de CaO (m/m)						
	0%	5%	10%	15%	20%	30%	40%
4/3/2000	1.50E+5	6.90E+3	3.95E+1	1.50E+2	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
10/16/2000	9.50E+5	7.90E+3	2.50E+2	5.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
11/6/2000	1.60E+5	7.40E+3	3.00E+2	4.00E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
Media geom.	2.84E+5	7.39E+3	1.44E+2	6.69E+1	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0

Tabla 7.13 Resultados de *Salmonella spp.* en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados

Fecha	Dosis de CaO (m/m)						
	0%	5%	10%	15%	20%	30%	40%
4/3/2000	1.50E+5	3.00E+2	7.89E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
10/16/2000	9.50E+5	3.00E+2	5.00E+1	1.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
11/6/2000	1.60E+5	3.00E+2	5.00E+1	1.00E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0
Media geom.	2.84E+5	3.00E+2	2.70E+1	1.26E+0	2.00E+0	2.00E+0	2.00E+0

Tabla 7.14 Resultados de huevos de helmintos en lodos estabilizados con CaO en sistemas abiertos

Fecha	Dosis de CaO													
	0%		5%		10%		15%		20%		30%		40%	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
04/04/2000	104	34	44	32	29	25	26	28	33	20	14	36	14	30
16/10/2000	62	10	39	28	27	8	19	30	11	13	5	23	5	28
06/11/2000	104	25	45	11	32	20	22	42	11	22	9	32	9	25
Media Arit.	90.00	23.00	42.67	23.67	29.33	17.67	22.33	33.33	18.33	18.33	9.33	30.33	9.33	27.67

TESIS COM
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 7.15 Resultados de huevos de helmintos en lodos estabilizados con CaO en sistemas cerrados

Fecha	Dosis de CaO													
	0%		5%		10%		15%		20%		30%		40%	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
04/04/2000	104	34	44	30	19	50	18	40	19	80	13	75	14	108
16/10/00	62	10	38	27	21	8	6	45	6	31	4	37	5	17
06/11/2000	104	25	45	30	18	12	12	39	8	22	11	40	8	20
Media Arit.	90.00	23.00	42.33	29.00	19.33	23.33	12.00	41.33	11.00	44.33	9.33	50.67	9.00	48.33

7.5 Resultados de la quinta etapa de experimentación

Tabla 7.16 Resultados de coliformes fecales para las pruebas de recirculación de NH₃

Fecha	Lodo crudo	Combinación de dosis de CaO / NH ₃											
		5/5	5/10	5/15	10/5	10/10	10/15	15/5	15/10	15/15	20/5	20/10	20/15
3/26/2001	9.10E+8	1.50E+5	4.30E+3	9.30E+2	2.00E+3	2.00E+0	2.00E+0	1.50E+2	2.00E+0	2.00E+0	1.10E+2	2.00E+0	2.00E+0
10/15/2001	1.40E+7	2.40E+6	9.30E+4	2.50E+2	2.40E+3	1.00E+2	5.00E+1	1.00E+2	2.00E+0	2.00E+0	5.00E+1	2.00E+0	2.00E+0
10/16/2001	1.40E+7	2.40E+6	3.60E+4	2.50E+2	3.60E+3	1.00E+2	5.00E+1	1.00E+2	2.00E+0	2.00E+0	5.00E+1	2.00E+0	2.00E+0
Media geom.	5.63E+7	9.52E+5	2.43E+4	3.87E+2	2.59E+3	2.71E+1	1.71E+1	1.14E+2	2.00E+0	2.00E+0	6.50E+1	2.00E+0	2.00E+0

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 7.17 Resultados de *Salmonella spp.* para las pruebas de recirculación de NH₃

Fecha	Lodo crudo	Combinación de dosis de CaO / NH ₃												
		5/5	5/10	5/15	10/5	10/10	10/15	15/5	15/10	15/15	20/5	20/10	20/15	
3/26/2001	4.60E+6	2.40E+4	2.00E+2	2.00E+0	2.00E+2	2.00E+0								
10/15/2001	2.30E+5	1.40E+4	7.30E+2	2.00E+0	4.20E+2	2.00E+0								
10/16/2001	2.30E+5	1.40E+4	7.30E+2	2.00E+0	1.60E+2	2.00E+0								
Media geom.	6.24E+5	1.68E+4	4.74E+2	2.00E+0	2.38E+2	2.00E+0								

Tabla 7.18 Resultados de huevos de helmintos para las pruebas de recirculación de NH₃

Fecha	Lodo crudo		Combinación de dosis de CaO / NH ₃											
	0		5/5		5/10		5/15		10/5		10/10		10/15	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
26/06/2001	72	6	38	21	29	31	26	17	39	12	28	19	12	19
10/15/2001	63	14	28	22	21	30	21	21	35	31	25	26	13	24
10/16/2001	63	14	32	27	27	26	21	33	38	34	27	28	16	28
Media geom.	66.0	11.3	32.7	23.3	25.7	29.0	22.7	23.7	37.3	25.7	26.7	24.3	13.7	23.7

Tabla 7.19 Resultados de *Salmonella spp.* para las pruebas de recirculación de NH₃ (Continuación)

Fecha	Combinación de dosis de CaO / NH ₃											
	15/5		15/10		15/15		20/5		20/10		20/15	
	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV	HV	HNV
26/06/2001	13	18	11	28	12	21	14	23	6	25	5	22
10/15/2001	14	24	12	37	8	23	12	25	6	30	5	25
10/16/2001	17	27	12	33	10	31	11	30	6	28	4	28
Media geom.	14.7	23.0	11.7	32.7	10.0	25.0	12.3	26.0	6.0	27.7	4.7	25.0

FALLA DE CUBIEN

ANEXO B

TÉCNICAS ANALÍTICAS

8 Anexo B “Técnicas analíticas”

8.1 Sólidos Totales en muestras semisólidas (APHA, AWWA Y WEF 2540B)

Para determinar la concentración de sólidos totales se utiliza el siguiente método gravimétrico.

8.1.1 Procedimiento

Preparar una cápsula de evaporación a peso constante en una estufa a 105 °C por 24 horas; posteriormente dejarla enfriar en el desecador por un período de 30 minutos. Pesar la cápsula obteniendo el peso 1 (P₁).

Agregar una alícuota de 2 a 5 gramos de muestra, pesar la cápsula con la muestra para obtener el peso 2 (P₂). Introducir la cápsula en la estufa a 105 °C durante 24 horas hasta la evaporación total del agua. Después retirar la cápsula y dejarla enfriar en el desecador por espacio de 30 minutos y pesarla para obtener el peso 3 (P₃).

8.1.2 Cálculos:

Con los pesos obtenidos aplicar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Sólidos Totales} = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \times 100$$

8.2 Sólidos Volátiles Totales (APHA, AWWA Y WEF 2540E)

8.2.1 Procedimiento:

Los residuos producidos durante la ignición del método 2540 B (de sólidos totales) se colocan en una mufla a temperatura de 550 °C por espacio de 2 horas. Una vez cumplido el tiempo se saca la cápsula y se coloca en un desecador en atmósfera seca. Esperar media hora hasta que la cápsula se enfríe y pesarla para obtener el peso 4 (P₄).

8.2.2 Cálculos:

$$\% \text{ Sólidos Volátiles Totales} = \frac{P_3 - P_4}{P_3 - P_1} \times 100$$

8.3 Método para la cuantificación de coliformes fecales en lodos (9221 E SM)

El presente método establece la técnica para llevar a cabo la cuantificación del grupo coliforme fecal en lodos, con el fin de evaluar la calidad y la eficiencia de los diferentes tratamientos de los mismos, y es aplicable para la evaluación de la calidad de lodos crudos y estabilizados.

8.3.1 Principio del método

Este método de análisis se basa en los siguientes principios:

Las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas uniformemente distribuidas.

A través de diluciones sucesivas de la muestra se obtienen inóculos de, al menos, una célula para obtener crecimiento en el medio de cultivo (tubos positivos), y otros que al sembrarse dan resultado en, por lo menos, un tubo de la serie.

La combinación de resultados positivos y negativos permite realizar una estimación de la concentración bacteriana por medio de cálculos de probabilidad.

La técnica seleccionada permite el estudio de un volumen de muestra suficiente para obtener resultados significativos, considerando la alta turbidez que la muestra pudiera presentar a causa de la gran cantidad de material acumulado. En caso de aplicar técnicas como filtro de membrana se correría el riesgo de un cálculo de coliformes fecales inferior al real.

8.3.2 Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra

El muestreo constituye una parte integral y fundamental de cualquier programa de evaluación de calidad de lodo, por lo cual, éste deberá efectuarse de acuerdo a la NMX-AA-003-1980 y NMX-BB-014-1973 referidas en el punto 2 de esta Norma.

La muestra deberá ser tomada en frascos de 500 mL de capacidad, de boca ancha y previamente esterilizados.

Las muestras serán colocadas en hieleras con bolsas refrigerantes o hielo tan pronto como sea posible.

Los tiempos de conservación en refrigeración y transporte deben reducirse al mínimo.

A la muestra, antes de ser procesada, se le determinará el contenido de sólidos totales (ST) (% m/m) y posteriormente se obtendrá el peso en fresco que corresponda a 4 g de ST.

A partir de su toma y hasta antes de ser procesada, la muestra debe estar en refrigeración y no transcurrir más de 48 horas.

8.3.3 Reactivos y materiales

8.3.3.1 Reactivos:

- Alcohol etílico.
- Caldo lauril-triptosa con púrpura de bromocresol (C.L.T.).
- Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (C.L.).
- Medio EC.
- Fosfato monopotásico.
- Cloruro de magnesio.
- Hidróxido de sodio.
- Agua destilada.
- Materiales.
- Asa de inoculación.
- Barras magnéticas.
- Bulbo de goma.
- Espátula.
- Frascos de 500 mL de capacidad con tapa de cierre hermético, boca ancha y con capacidad de esterilización en autoclave.
- Gradillas y canastillas de acero inoxidable.
- Guantes de látex.
- Mechero de Bunsen, lámpara de alcohol o similar.
- Pipetas graduadas de vidrio de 1, 5 y 10 mL.
- Portapipeteros de acero inoxidable.
- Tapabocas.
- Tapones de acero inoxidable para tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o de 12 mm x 120 mm).
- Tubos de Durham (7 mm x 4,5 mm o de 5 mm x 4 mm).
- Tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o 12 mm x 120 mm).
- Tubos de rosca (13 mm x 100 mm).

8.3.3.2 Aparatos e instrumentos

- Autoclave a una presión de 1,05 kg/cm² y una temperatura de 121°C.
- Balanza analítica con intervalo de medición de 0,000 g a 10,00 g.
- Balanza granataria con intervalo de medición de 0.1 a 100 g.
- Baño de agua (con agitación) con capacidad para operar a una temperatura de 44,5°C ± 0,2 °C.
- Estufa de esterilización con capacidad para medir temperatura de 170°C ± 10°C.
- Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de 37°C ± 0,2°C.
- Parrilla con agitación y calentamiento.
- Potenciómetro con intervalo de medición de 6.9°C ± 0,2°C.
- Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura entre 2 y 4°C ± 0,2°C.

8.3.4 Procedimiento

Los siguientes puntos describen la secuencia del método de prueba, el cual debe realizarse conforme a lo descrito, con el fin de minimizar sesgos en los datos obtenidos.

Preparación de medios de cultivo y soluciones

8.3.4.1 Caldo lauril-triptosa con púrpura de bromocresol (C.L.T.)

Fórmula:

Triptosa	20.00 g
Lactosa	05.00 g
Fosfato dipotásico (K_2HPO_4)	02.75 g
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	02.75 g
Cloruro de sodio (NaCl)	05.00 g
Lauril sulfato de sodio	00.10 g
Púrpura de bromocresol	00.01 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver los ingredientes o 35.6 g del medio que se encuentra en forma deshidratada en el mercado y 0.01 g de púrpura de bromocresol, con la ayuda de una parrilla de agitación, en 1 L de agua destilada. Verificar que el pH sea de 6.8 ± 0.2 , en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Distribuir en volúmenes de 10 mL en tubos de ensayo. Tapar con tapones de acero inoxidable y esterilizar en autoclave a $121^\circ C$, durante 15 minutos. El volumen final no debe variar más de 0.1 mL. El medio ya una vez preparado puede almacenarse a temperatura ambiente, en un lugar limpio y libre de polvo, durante no más de una semana.

8.3.4.2 Caldo lactosado con púrpura de bromocresol (C.L.)

Fórmula:

Extracto de carne	06,00 g
Peptona	10,00 g
Lactosa	10,00 g
Púrpura de bromocresol	0,01 g
Agua destilada	1 000,00 mL

Disolver los ingredientes o 13.0 g del medio C.L. que se encuentra en forma deshidratada en el mercado y 0.01 g de púrpura de bromocresol, con la ayuda de una parrilla de agitación, en 1 L de agua destilada. Verificar que el pH sea de 6.9 ± 0.2 , en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Distribuir volúmenes de 10 mL del medio en tubos de ensayo. Tapar con tapones de acero inoxidable y esterilizar en autoclave a $121^\circ C$, durante 15 minutos. El volumen final no debe variar más de 0.1 mL.

El medio ya preparado puede almacenarse a temperatura ambiente, en un lugar limpio y libre de polvo, durante no más de una semana.

8.3.4.3 Medio líquido A-1

Fórmula:

Lactosa	5.00 g
Triptosa	20.00 g
Cloruro de sodio (NaCl)	5.00 g
Salicina	0.50 g
Eter p-isooctilfenil de Polietilenglicol (Tritón X-100 y Haas., o equivalente)	01.00 mL
Agua destilada	1 000.00 mL

Calentar hasta la disolución de los ingredientes sólidos. Añadir el éter p-isooctifenil de polietilenglicol. Verificar que el pH sea de $6,9 \pm 0,1$, en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Distribuir volúmenes de 10 mL en tubos de ensayo con campana de Durham, tapar con tapones de aluminio. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 minutos.

Este medio se debe conservar en oscuridad a temperatura ambiente durante no más de 7 días.

8.3.4.4 Medio EC

Fórmula:

Triptosa o tripticasa	20.00 g
Lactosa	05.00 g
Mezcla de sales biliares	1.50 g
Fosfato dipotásico (K_2HPO_4)	4.00 g
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	1.50 g
Cloruro de sodio (NaCl)	5.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver los ingredientes o 37,0 g del medio EC que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, con la ayuda de una parrilla de agitación, en 1 L de agua destilada. Verificar que el pH sea de $6,9 \pm 0,2$, en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Distribuir volúmenes de 10 mL del medio en tubos de ensayo, conteniendo en su interior tubos de Durham invertidos, tapar con tapones de acero inoxidable y esterilizar en autoclave a 121°C , durante 15 minutos. El volumen final no debe variar más de 0.1 mL.

El medio ya preparado puede almacenarse a temperatura ambiente, en un lugar limpio y libre de polvo, durante no más de una semana.

8.3.4.5 Solución madre de tampón A:

Fórmula:

Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	34.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver el fosfato monopotásico en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.2 con la solución de hidróxido de sodio 1 N y aforar a 1 L de agua destilada. Esterilizar en autoclave a 121 °C, durante 15 minutos y almacenar en refrigeración (entre 2 y 4 °C). La solución es estable durante meses. Desechar cuando se observe turbiedad.

8.3.4.6 Solución madre de tampón B:

Fórmula:

Cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	8.10 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver el cloruro de sodio de magnesio en 500 mL de agua destilada y aforar a 1 000 mL con agua destilada, posteriormente esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración (entre 2 y 4 °C). La solución es estable durante meses, desechar cuando haya turbiedad.

8.3.4.7 Solución tampón de fosfatos (agua de dilución)

Adicionar 1.25 mL de la solución madre de tampón A y 5 mL de la solución madre de tampón B y aforar a 1 L con agua destilada. Distribuir volúmenes de 9.2 mL y 36 mL en tubos de rosca y frascos con tapa de cierre hermético, respectivamente. Esterilizar en autoclave a 121 °C, durante 15 minutos y almacenar a temperatura ambiente.

8.3.4.8 Solución de hidróxido de sodio 0.,1 N

Fórmula:

Hidróxido de sodio (NaOH)	04.00 g
Agua recién destilada	1 000.00 mL

Pesar 4.0 g de hidróxido de sodio y disolver en 1 000 mL de agua recién destilada y libre de CO_2 para abatir la carbonatación de la solución. Almacenar en frasco con tapón de rosca.

8.3.4.9 Solución de hidróxido de sodio 1 N

Fórmula

Hidróxido de sodio (NaOH) 40.00 g
Agua recién destilada 1 000.00 ml

Pesar 40 g de hidróxido de sodio y disolver en 1 000 ml de agua recién destilada y libre de CO₂ para abatir la carbonatación de la solución. Almacenar en frasco con tapón de rosca.

8.3.5 Calibración de aparatos

Todos los equipos utilizados deben ser calibrados o ajustados de acuerdo a las especificaciones del fabricante o bien contra equipos certificados.

8.3.6 Seguridad

Durante el procesado de la muestra se debe utilizar guantes de látex y cubrebocas, para evitar cualquier riesgo de infección.

Se debe lavar y desinfectar el área de trabajo, así como el material utilizado por el analista, antes y después del ensayo.

8.3.7 Manejo de residuos

Todos los residuos de la muestra analizada y sobrantes serán esterilizados en autoclave antes de su desecho.

8.3.8 Preparación de la muestra

- a) Suspender X g de materia fresca que correspondan a 4 g de sólidos totales en 36 mL de agua de dilución y así obtener una dilución de 10^{-1}
- b) Mezclar durante 2 o 3 minutos, con ayuda de una parrilla de agitación, a velocidad baja (800 r/min), hasta la completa disolución.

8.3.9 Preparación de diluciones

Por el origen de las muestras se requieren inóculos menores a 1 mL, utilizando diluciones seriadas de submúltiplos de 10.

- a) Se preparan diluciones decimales seriadas a partir del homogeneizado resultante (10^{-1}) lo antes posible, reduciendo al mínimo la sedimentación. Transferir 1

mL en 9 mL de agua de dilución (10⁻²) y así sucesivamente hasta obtener la dilución deseada.

b) Cada dilución debe ser homogeneizada perfectamente agitando 25 veces en 7 segundos, haciendo un arco con la muñeca de 30 cm de arriba abajo o con un sistema de agitación que proporcione resultados equivalentes. Es importante efectuar la agitación siempre de la misma manera, para obtener resultados comparables.

c) Se debe utilizar una pipeta estéril diferente, para cada una de las diluciones decimales subsecuentes. Para aforar el líquido de la pipeta, deberá aplicarse la punta de ésta en el interior del cuello manteniéndola en posición vertical, inclinando el tubo. Nunca se debe introducir, a la muestra, más de la tercera parte de la pipeta.

d) Si una muestra o un lote de muestras va a ser analizado por primera vez, utilizar al menos cuatro series de tres (o cinco) tubos cada una, posteriormente tres series de tres tubos serán suficientes.

8.3.10 Determinación de coliformes fecales

8.3.10.1 Prueba directa (medio A-1)

La prueba directa del medio líquido A-1 es un método de un solo paso que no requiere confirmación. Sin embargo, su uso representa un mayor costo ya que este medio no se encuentra en forma deshidratada, siendo necesario prepararlo a partir de sus ingredientes básicos.

a) Adicionar por triplicado 1 mL de cada una de las diluciones preparadas en tubos conteniendo líquido A-1 correctamente etiquetados. Incubar durante 3 horas a $35 \pm 0,5$ °C.

b) Una vez transcurrido el tiempo los tubos se transfieren a un baño de agua a una temperatura de 44.5 ± 0.2 °C y se incuban durante otras 21 ± 2 horas.

c) La presencia de gas en cualquier cultivo en medio A-1 a las 24 horas o menos de incubación es una reacción positiva que indica la existencia de coliformes de origen fecal.

8.3.11 Cálculos

El NMP de coliformes fecales se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el medio EC o en A-1. Si se inoculan tres series de tres tubos y se utilizan volúmenes decimales diferentes a los indicados en la tabla, se obtienen el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{NMP} = (\text{NMP de tablas}) \times (10/\text{mayor volumen inoculado})$$

Por ejemplo: en medio EC se obtuvo el código 3/3 para la serie de la dilución 0.01; 2/3 para la serie de la dilución 0.001 y 1/3 para la serie de la dilución 0.0001.

El código es de 3, 2, 1; el índice de coliformes en tabla es de 150, por lo que el resultado es:

$$\text{NMP/g ST} = (150) \times (10/0.01) = 150\ 000$$

$$\text{NMP/g ST} = 1.5 \times 10^5 \text{ coliformes fecales}$$

Cuando se inoculan más de tres volúmenes decimales, para la composición del código se utilizan los resultados positivos correspondientes a tres series consecutivas inoculadas.

En ocasiones algunos de los posibles resultados de tubos múltiples son omitidos de las tablas del NMP. Así los códigos como 0-0-3, 0-0-4 y 0-0-5 junto con muchos otros, no están incluidos. Ello se debe a que la probabilidad de su ocurrencia es muy baja. Si en un laboratorio dichos resultados improbables aparecen con una frecuencia mayor de 1%, es posible que se deban a procedimientos equivocados en el mismo, por lo que deben ser revisados. Cuando el código del NMP no aparezca en tablas, se utilizará la siguiente fórmula:

$$\text{NMP} = \frac{\text{Número de tubos positivos} \times 100}{\sqrt{[(\text{mL muestra tubos neg.}) \times (\text{mL muestra total})]}}$$

La frecuencia de obtención de resultados que no se encuentren en las tablas debe ser baja (<1%), de otra forma se tendrá que revisar y confirmar el procedimiento de la prueba.

8.3.12 Expresión de resultados

La densidad de los coliformes fecales se expresa como NMP de coliformes por g de materia seca o ST, el cual se obtiene a partir de tablas ya establecidas, las cuales incluyen los límites de confianza al 95% para cada una de las combinaciones de tres (o cinco) series de tubos positivos posibles. Para su utilización se proporcionan códigos formados por tres algoritmos correspondientes al número de tubos con resultados positivos en tres series consecutivas.

8.4 Método para la cuantificación de *Salmonella* spp. en lodos (9221 B SM)

El presente método establece la técnica para llevar a cabo la cuantificación de *Salmonella* mediante la técnica de tubos múltiples o número más probable (NMP) en lodos, con el fin de evaluar su calidad y la eficiencia de los tratamientos de los mismos. Este método es aplicable para la evaluación de la calidad de los lodos residuales y estabilizados.

8.4.1 Principio del método

Este método de análisis se basa en los siguientes principios:

A partir de un enriquecimiento con medios selectivos, que contienen sustancias inhibitoras, se favorece la multiplicación de *Salmonella*, reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y, de igual forma, impidiendo el desarrollo de bacterias coliformes asociadas.

Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas uniformemente distribuidas, a través de diluciones sucesivas de la muestra.

La aplicación de pruebas bioquímicas que permiten conocer el perfil bioquímico de las cepas en estudio para compararlo, con el que generalmente exhiben las cepas del género *Salmonella*.

8.4.2 Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra

El muestreo constituye una parte integral y fundamental de cualquier programa de evaluación de calidad de lodo, por lo cual, éste deberá efectuarse de acuerdo a la NMX-AA-003-1980 y NMX-BB-014-1973 referidas en el punto 2 de esta Norma.

La muestra deberá ser tomada en frascos de 500 mL de capacidad, de boca ancha y previamente esterilizados.

Las muestras serán colocadas en hieleras con bolsas refrigerantes o hielo tan pronto como sea posible.

Los tiempos de conservación en refrigeración y transporte deben reducirse al mínimo.

A la muestra, antes de ser procesada, se le determinará el contenido de sólidos totales (ST) en por ciento en peso y posteriormente se obtendrá el peso en fresco que corresponda a 4 g de ST.

A partir de su toma y hasta antes de ser procesada, la muestra debe estar en refrigeración y no transcurrir más de 48 horas.

8.4.3 Reactivos y materiales

8.4.3.1 Reactivos

- Agar Hierro Lisina (LIA).
- Agar Sulfito de Bismuto.
- Agar Triple Azúcar Hierro (TSI).
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).
- Alcohol etílico.
- Caldo de Selenito Cistina.
- Caldo de Tetracionato.
- Cloruro de magnesio.
- Cristales de yodo.
- Fosfato monopotásico.
- Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.
- Solución de hidróxido de sodio 1 N.
- Solución tampón de fosfatos (agua de dilución).
- Verde brillante.
- Yoduro de potasio.

8.4.3.2 Materiales

- Barras magnéticas.
- Bulbo de goma.
- Cajas Petri estériles (100 x 15 mm).
- Espátula.
- Frascos de 100 mL de capacidad con tapa de cierre hermético y capacidad de esterilizado en autoclave.
- Frascos de 1 L de capacidad con tapa de cierre hermética.
- Gradillas y canastillas de acero inoxidable matraces Erlenmeyer de vidrio, de 1 y 2 L de capacidad.
- Guantes de látex.
- Matraz aforado de 1 L.
- Mechero de Bunsen, lámpara de alcohol o similar.
- Pipetas graduadas de vidrio de 1, 5 y 10 mL.
- Portapipeteros de acero inoxidable.
- Tapabocas.
- Tapones de acero inoxidable para tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o 12 mm x 120 mm).
- Tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o de 12 mm x 120 mm).
- Tubos de rosca (13 mm x 100 mm).

8.4.4 Aparatos e instrumentos

- Autoclave a una presión de $1,05 \text{ kg/cm}^2$, y una temperatura de 121°C .
- Balanza analítica con intervalo de medición de 0,000 1 a 10,00 g.
- Balanza granataria con intervalo de medición de 0,1 a 100 g.
- Baño de agua (con agitación) con capacidad para operar a una temperatura de $44,5^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$.
- Estufa u horno con capacidad para operar a una temperatura de $180 \pm 10^\circ\text{C}$.
- Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de $37^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$.
- Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de $41^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$.
- Parrilla con agitación y calentamiento.
- Potenciómetro con intervalo de medición de 6,5 a $7,5 \pm 0,2 \text{ pH}$.
- Refrigerador con capacidad para operar entre $2 \text{ y } 4^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$.

8.4.5 Procedimiento

Los siguientes puntos describen la secuencia del método de prueba, el cual debe realizarse conforme a lo descrito, con el fin de minimizar sesgos en los datos obtenidos.

Preparación de medios de cultivo y soluciones.

8.4.5.1 *Caldo tetrionato*

Fórmula:

Proteosa peptona o triptona	05.00 g
Sales biliares	01.00 g
Carbonato de calcio	10.00 g
Tiosulfato de sodio	30.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver los ingredientes o 16 g del medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en agua destilada y calentar hasta ebullición, posteriormente distribuir en volúmenes de 100 mL en recipientes estériles y conservar entre 5 y 8 °C. Antes de usar el medio, agregar 2 mL de solución de yodo yoduro y 1 mL de solución de verde brillante 1:1 000 por cada 100 mL de caldo, a cada recipiente.

Una vez que la solución de yodo yoduro ha sido adicionada al medio, éste deberá ser utilizado de forma inmediata. Nunca se debe volver a calentar.

8.4.5.2 *Caldo selenito cistina*

Fórmula:

Triptona o polipeptona	05.00 g
Lactosa	04.00 g
Fosfato disódico	10.00 g
Selenito ácido de sodio	04.00 g
L- Cistina	00.01 g
Agua destilada	1 000,00 mL

Preparación:

Disolver los ingredientes o 23 g del medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en agua destilada. Calentar hasta ebullición durante 10 minutos en un baño de agua y distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos de ensayo, para esterilizar 10 minutos por arrastre de vapor. Verificar que el pH sea de 7.0 ± 0.2 , en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. El medio se debe utilizar el mismo día de su preparación.

8.4.5.3 *Agar sulfito de bismuto*

Fórmula:

Extracto de carne de res	05.00 g
Peptona	10.00 g
Glucosa	05.00 g
Fosfato disódico (anhidro)	04.00 g
Sulfato ferroso (anhidro)	00.30 g
Sulfito de bismuto	08.00 g
Verde brillante	00.025 g

Agar	20.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Suspender los ingredientes o 52 g del medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada, calentar hasta su disolución completa, agitando frecuentemente. Verificar que el pH sea de $7,6 \pm 0,2$, en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N. Enfriar a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y distribuir en cajas de Petri estériles. El medio no debe esterilizarse en autoclave, el sobrecalentamiento afecta su selectividad.

8.4.5.4 Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD)

Fórmula:

Xilosa	03.75 g
L Lisina	05.00 g
Lactosa	07.50 g
Sacarosa	07.50 g
Cloruro de sodio	05.00 g
Extracto de levadura	03.00 g
Rojo de fenol	00.08 g
Agar	15.00 g
Tiosulfato de sodio	06.80 g
Desoxicolato de sodio	02.50 g
Citrato de hierro y amonio	00.80 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Suspender los ingredientes o 52 g del medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada. Agitar frecuentemente y dejar que hierva durante 1 minuto, evitar un sobrecalentamiento, si bien, su reacción puede ser satisfactoria, las colonias tienden a ser muy pequeñas. El medio nunca se debe esterilizar en autoclave.

Verificar que el pH sea de $6,9 \pm 0,2$, en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Enfriar a no menos de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pero abajo de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y vaciar en cajas Petri estériles.

8.4.5.5 Agar verde brillante (VB)

Fórmula:

Extracto de levadura	03.00 g
Proteosa peptona número 3 polipeptona	10.00 g
Cloruro de sodio	05.00 g
Lactosa	10.00 g
Sacarosa	10.00 g

Rojo de fenol	00.08 g
Verde Brillante	00.012 5 g
Agar	20.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Preparación:

Suspender los ingredientes o lo indicado por el medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada, mezclar bien y calentar hasta ebullición. Verificar que el pH sea de 6.9 ± 0.1 en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Esterilizar en autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 minutos, cualquier sobrecalentamiento del medio disminuye su selectividad. Enfriar a no menos de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pero debajo de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y distribuir en cajas de Petri estériles.

8.4.5.6 Agar S.S.

Fórmula:

Extracto de carne	05.00 g
*Polipeptona	05.00 g
Lactosa 1	0.00 g
Sales biliares	08.50 g
Citrato de sodio	08.50 g
Tiosulfato de sodio	08.05 g
Citrato férrico	01.00 g
Agar	13.50 g
Verde brillante Solución al 0,1%	00.33 g
Rojo neutro	00.25 g
Agua destilada	1 000.00 mL

* La polipeptona se puede sustituir por 2.5 g de peptona de caseína y 2.5 g de peptona de carne.

Suspender los ingredientes o 60 g del medio que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada y calentar a ebullición hasta disolución completa. No esterilizar en autoclave. Posteriormente verificar que el pH sea de 7.0 ± 0.2 , en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Enfriar a no menos de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pero debajo de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y distribuir en cajas Petri estériles.

8.4.5.7 Agar nutritivo**

Fórmula:

Extracto de carne	03.00 g
Peptona	05.00 g
Agar	15.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

** Se puede sustituir por agar infusión cerebro-corazón o similar

Suspender los ingredientes en agua, dejar reposar entre 5 y 10 minutos, calentar a ebullición hasta su completa disolución, para posteriormente verificar que el pH sea de 6.8 ± 0.2 , en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N y esterilizar a 121°C por 15 minutos. Dejar enfriar a no menos de 50°C y debajo de 60°C y distribuir en cajas Petri estériles.

8.4.5.8 Agar triple azúcar hierro (TSI)

Fórmula:

Polipeptona	20.00 g
Cloruro de sodio	05.00 g
Lactosa	10.00 g
Sacarosa	10.00 g
Glucosa	01.00 g
Sulfato ferroso amónico	00.20 g
Tiosulfato de sodio	00.20 g
Rojo de fenol	00.025 g
Agar	13.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Suspender los ingredientes o 65 g del medio, que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada; mezclar perfectamente y calentar a ebullición, agitando ocasionalmente hasta su completa disolución. Verificar que el pH sea de 6.9 ± 0.2 , en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Enfriar a 60°C y distribuir en volúmenes de 4 mL en tubos de rosca y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Los tubos se inclinan, de manera que el medio de cultivo en el fondo alcance una altura de 3 cm y una parte inclinada de 2 a 3 cm.

8.4.5.9 Agar hierro lisina (LIA)

Fórmula:

Peptona o gelisato	05.00 g
Extracto de levadura	03.00 g
Glucosa	01.00 g
L Lisina	10.00 g

Citrato férrico amónico	00.50 g
Tiosulfato de sodio	00.04 g
Púrpura de bromocresol	00.02 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Suspender los componentes o según indicaciones del medio que se encuentra en forma deshidratada en el mercado, en 1 L de agua destilada, y calentar hasta ebullición con agitación frecuente. Verificar que el pH sea de 6.7 ± 0.2 , en caso contrario ajustar con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Enfriar a no menos de 50 °C pero debajo de 60 °C y distribuir en volúmenes de 4 mL en tubos de rosca, para esterilizar en presión a 121 °C por 12 minutos. Posteriormente dejar enfriar los tubos en posición inclinada, de tal modo que se obtengan columnas de medio de 3 cm y una parte inclinada de 2 cm.

8.4.5.10 Solución madre de tampón A:

Fórmula:

Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	34.00 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver el fosfato monopotásico en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.2 con la solución de hidróxido de sodio 1 N y aforar a 1 000 mL con agua destilada y esterilizar en autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² y una temperatura de 121 °C, durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración ente 2 y 4 °C. La solución es estable durante meses, pero se debe desechar cuando se observe turbiedad.

8.4.5.11 Solución madre de tampón B:

Cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	81.10 g
Agua destilada	1 000.00 mL

Disolver el cloruro de sodio de magnesio en 500 mL de agua destilada y aforar a 1 000 mL con agua destilada y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración entre 2 y 4 °C. La solución es estable durante meses, pero se debe desechar cuando se observe turbiedad.

8.4.5.12 Solución tampón de fosfatos (agua de dilución)

Adicionar 1.25 mL de la solución patrón A y 5 mL de la solución patrón B y aforar a 1 L con agua destilada, para distribuir volúmenes de 9.2 mL y 36 mL en tubos de rosca y frascos con tapa de cierre hermético, respectivamente, y esterilizar en autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² y una temperatura de 121 °C, durante 15 minutos. Almacenar a temperatura ambiente.

8.4.5.13 Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

Fórmula:

Hidróxido de sodio (NaOH)	04.00 g
Agua recién destilada	1 000.00 mL

Preparación:

Pesar 4,0 gramos de hidróxido de sodio y disolver en 1 000 mL de agua recién destilada y libre de CO₂ para abatir la carbonatación de la solución y almacenar en frasco con tapón de rosca.

8.4.5.14 Solución de hidróxido de sodio 1 N

Fórmula:

Hidróxido de sodio (NaOH)	40.00 g
Agua recién destilada	1 000.00 mL

Preparación:

Pesar 40,0 g de hidróxido de sodio y disolver en 1 000 mL de agua recién destilada y libre de CO₂ para abatir la carbonatación de la solución, almacenar en frasco con tapón de rosca.

8.4.5.15 Solución de yodo yoduro

Fórmula:

Cristales de yodo	06.00 g
Yoduro de potasio	06.00 g
Agua destilada	20.00 mL

Disolver el yoduro de potasio en el agua destilada y agregar lentamente los cristales de yodo hasta su completa disolución y almacenar en oscuridad.

8.4.6 Calibración de aparatos

Todos los equipos utilizados deben ser calibrados o ajustados de acuerdo a las especificaciones del fabricante o bien contra equipos certificados.

8.4.7 Seguridad

Durante el procesado de la muestra se debe utilizar guantes de látex y cubrebocas, para evitar cualquier riesgo de infección.

Se debe lavar y desinfectar el área de trabajo, así como el material utilizado por el analista, antes y después del ensayo.

8.4.8 Manejo de residuos

Todos los residuos de la muestra analizada y sobrantes serán esterilizados en autoclave antes de su desecho.

8.4.9 Preparación de la muestra

- a) Suspender X gramos de materia fresca que correspondan a 4 gramos de sólidos totales en 36 mL de agua de dilución y así obtener una dilución de 10^{-1} .
- b) Mezclar durante 2 o 3 minutos, con ayuda de una parrilla de agitación, a velocidad baja (800 r/min), hasta la completa disolución.

8.4.10 Enriquecimiento

- a) Suspender X g de materia fresca que correspondan a 4 g de sólidos totales en 36 mL de caldo de tetracionato, obteniendo una dilución de 10^{-1} .
- b) Mezclar durante 2 o 3 minutos, con la ayuda de una parrilla de agitación, a baja velocidad (800 r/min) hasta la completa disolución.
- c) Incubar durante 22 ± 2 horas a $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$

8.4.11 Preparación de diluciones

- a) Una vez transcurrido el tiempo de incubación, preparar las diluciones decimales seriadas transfiriendo 1 mL de caldo de tetracionato en 9 mL de agua de dilución (10^{-2}) y así sucesivamente hasta obtener la dilución deseada.
- b) En cada dilución se debe homogeneizar perfectamente agitando 25 veces en 7 segundos, haciendo un arco con la muñeca de 30 cm de arriba a abajo o con un sistema de agitación que proporcione resultados equivalentes. Es importante efectuar la agitación siempre de la misma manera, para obtener resultados comparables y utilizar una pipeta estéril diferente, para cada una de las diluciones decimales subsecuentes.
- c) Adicionar por triplicado 1 mL de cada una de las diluciones preparadas en tubos conteniendo caldo selenito cistina correctamente etiquetados. Para aforar el líquido de la pipeta, deberá aplicarse la punta de ésta en el interior del cuello manteniéndola en posición vertical, inclinando el tubo. Nunca se debe introducir en la muestra, más de la tercera parte de la pipeta.
- d) Incubar durante 24 ± 2 horas a $41 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$
- e) Realizar la observación del virado de coloración, considerando un color anaranjado intenso como positivo de la prueba correspondiente.

8.4.12 Aislamiento e identificación bioquímica de *Salmonella*

- a) El aislamiento y la identificación no son indispensables para la cuantificación de *Salmonella*, pero son necesarios como control para el laboratorio de que las bacterias fueron correctamente identificadas.
- b) A partir de un cierto número de tubos positivos (con virado anaranjado), con la ayuda de un asa, sembrar por estría para obtener colonias aisladas sobre la superficie de placas de alguno de los medios diferenciales selectivos. Los medios utilizados pueden ser agar verde brillante, agar sulfito de bismuto, agar XLD, agar SS.
- c) Incubar a 35°C durante 24 horas.
- d) Observar los cultivos para identificar las colonias sospechosas para *Salmonella* como sigue:
 - agar verde brillante: colonias rojas o rosas rodeadas del medio rojo.
 - agar bismuto de sulfito: colonias negras con o sin brillo metálico, rodeadas de un halo café que posteriormente se transforma en negro.
 - agar XLD: colonias rojas, generalmente presentan el centro negro.
 - agar SS: colonias translúcidas, transparentes u opacas y algunas veces con centro negro.
- e) Para la identificación bioquímica se seleccionan al menos 2 colonias típicas sospechosas de cada placa, que se encuentren bien aisladas.
- f) Tocar con un asa recta cada colonia e inocular por estría en una placa conteniendo agar nutritivo (u otro medio similar). Incubar a 35 °C ± 0.2 °C por 24 horas.
- g) A partir de colonias perfectamente aisladas inocular 2 tubos, uno con agar triple azúcar y hierro (TSI) y otro con agar hierro lisina (LIA), por estría en la superficie inclinada y por picadura en el fondo. Incubar a 35 °C durante 24 horas.
- h) Observar el crecimiento en los tubos y considerar positivas las colonias que den las siguientes reacciones:
 - agar TSI: en el fondo del tubo se observa virado color amarillo debido a la fermentación de la glucosa, en la superficie del medio se intensifica el color rojo. En la mayoría de los casos se observa coloración negra a lo largo de la picadura, debido a la producción de H₂S.
 - agar LIA: se observa coloración púrpura en todo el tubo, en ocasiones se observa la producción de H₂S, con ennegrecimiento a lo largo de la picadura.
- i) Existen pruebas alternas cualitativas, aunque de mayor costo, que pueden ser empleadas como es el caso de la prueba miniaturizada API-20E y la confirmación serológica que permiten identificar la especie y el serotipo respectivamente.
- j) Si el laboratorio lo prefiere es factible utilizar el caldo de selenito cistina como medio de enriquecimiento y el caldo de tetrionato como medio selectivo.

8.4.13 Cálculos

El NMP de *Salmonella* se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el caldo de selenito cistina. Si se inoculan tres series de tres tubos y se utilizan volúmenes decimales diferentes a los indicados en tablas, se obtienen el código formado por el

número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{NMP} = (\text{NMP de tablas}) \times (10/\text{mayor volumen inoculado})$$

Por ejemplo: en medio selenito cistina se obtuvo el código 3/3 para la serie de la dilución 0.1; 2/3 para la serie de la dilución 0.01 y 1/3 para la serie de la dilución 0.001.

El código es de 3, 2, 1 al consultar en las tablas obtenemos un valor de 150, el resultado es:

NMP/g ST=	(150) X (10/0,1)= 15 000	(2)
-----------	--------------------------	-----

NMP/g ST=	1,5 x 10 ⁴ <i>Salmonella</i>	(3)
-----------	---	-----

Cuando se inoculan más de tres volúmenes decimales, para la composición del código se utilizan los resultados positivos correspondientes a tres series consecutivas inoculadas.

En ocasiones algunos de los posibles resultados de tubos múltiples son omitidos de las tablas del NMP. Así los códigos como 0-0-3, 0-0-4 y 0-0-5 junto con muchos otros, no están incluidos. Ello se debe a que la probabilidad de su ocurrencia es muy baja. Si en un laboratorio dichos resultados improbables aparecen con una frecuencia mayor de 1%, es posible que se deban a procedimientos equivocados en el mismo, por lo que deben ser revisados. Cuando el código del NMP no parezca en tablas, se utilizará la siguiente fórmula:

$$\text{NMP} = \frac{\text{Número de tubos positivos} \times 100}{\sqrt{[(\text{mL muestra tubos neg.}) \times (\text{mL muestra total})]}}$$

La frecuencia de obtención de resultados que no se encuentren en las tablas debe ser baja (menor 1%), de otra forma se tendrá que revisar y confirmar el procedimiento de la prueba.

8.4.14 Expresión de resultados

La densidad de *Salmonella* se expresa como NMP de coliformes por g de materia seca o ST, el cual se obtiene a partir de tablas ya establecidas, las cuales incluyen los límites de confianza al 95% para cada una de las combinaciones de tres (o cinco) series de tubos positivos posibles.

Para su utilización se proporcionan códigos formados por tres algoritmos correspondientes al número de tubos con resultados positivos en tres series consecutivas.

8.4.15 Informe de prueba

El informe de prueba incluye especificar los siguientes puntos:



- a) Todos los datos necesarios para la identificación completa de la muestra.
- b) Los resultados, expresados de acuerdo con lo establecido en el inciso 8.
- c) Cualquier suceso particular observado durante el curso del análisis, así como cualquier operación no especificada en el método, o considerada opcional, que pueda haber influido en los resultados.

8.5 Método para la cuantificación de huevos de helmintos en lodos (de anexo de PROY-NOM-004-ECOL-2001)

El presente método tiene por objeto establecer la técnica para la detección, enumeración, determinación y de la viabilidad, en caso requerido, de huevos de helminto en muestras de lodo crudo y estabilizado, azolves y descargas de fosas sépticas, con el fin de evaluar la calidad de estos subproductos y la eficiencia de los sistemas de tratamiento a los que están sujetos.

Este método es aplicable para la evaluación de muestras de suelo, de lodo provenientes del desazolve, de los sistemas de alcantarillado urbano y municipal, de las plantas potabilizadoras y del tratamiento de las aguas residuales.

8.5.1 Principio

La prueba se basa en el siguiente principio:

Por medio de lavados continuos, combinados con diversas etapas de filtración y flotación se logra la separación de los huevos de helminto del resto de las partículas de mayor y menor tamaño, así como su concentración.

Permite, en caso de ser requerido, determinar la viabilidad de los huevos de helminto y con ello confirmar la calidad de diversos procesos de estabilización en lodos.

8.5.2 Muestreo, preparación y acondicionamiento de la muestra

El muestreo constituye una parte integral y fundamental de cualquier programa de evaluación de calidad del lodo, por lo cual, éste deberá efectuarse de acuerdo con la NMX-AA-003-1980 y NMX-BB-014-1973 referidas en el punto 2 de la Norma NOM-004-ECOL-2001.

Preparar recipientes de plástico inerte de 100 a 500 mL, de boca ancha y de cierre hermético, previamente desinfectados con cloro comercial, lavados con agua potable a chorro y enjuagados con agua destilada.

A la muestra, antes de ser procesada, se le determinará el contenido de sólidos totales (ST) en por ciento en peso para, posteriormente, tomar en los recipientes el peso en fresco (X) que corresponda a 2 g de ST, para todo tipo de lodos.

Mantener la muestra a una temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta su llegada al laboratorio.

A partir de su toma y hasta antes de ser procesada, la muestra debe estar en refrigeración hasta su análisis.

8.5.3 Reactivos y materiales

8.5.3.1 Reactivos

- Acetato de etilo ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OCOOCH}_3$) (opcional).
- Acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (opcional).
- Ácido acético (CH_3COOH) (opcional).
- Ácido sulfúrico 0,1 N (H_2SO_4).
- Alcohol etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).
- Agua destilada.
- Eter etílico.
- Hipoclorito de sodio 10% (NaClO).
- Formaldehído 37% (opcional).
- Sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
- Tween 80 al 0,1%.
- Materiales
- Agitadores de plástico o espátula de teflón.
- Barras magnéticas.
- Bulbo de goma.
- Embudo de plástico con diámetro de 20 cm.
- Espátula.
- Gradillas para tubos de centrifuga 50 mL.
- Guantes de látex.
- Manguera para conexión de matraz.
- Matraces aforados Erlenmeyer de 1 L de capacidad.
- Matraz Kitazato de 4 L.
- Pipetas de 10 ml de plástico.
- Piceta de plástico de 1 L.
- Probetas graduadas de 10 mL, 50 mL y de 1 L.
- Recipientes de cierre hermético de 1 a 3 L de capacidad.
- Recipientes de plástico inerte con paredes internas lisas de 3 L de capacidad.
- Recipientes de plástico inerte, boca ancha, de 500 mL de capacidad y susceptibles de ser esterilizados en autoclave.
- Tamiz de 20 μm (micras) de poro (opcional).
- Tamiz de 150 a 170 μm (micras) de poro.

- Tapabocas.
- Tubos de centrífuga cónicos, de plástico 50 y 200 mL (o de mayor capacidad).

8.5.3.2 Aparatos y/o instrumentos

- Agitador de tubos con control de velocidad y adaptable a tubos de diferentes tamaños.
- Autoclave capaz de operar a una presión de 1.05 kg/cm^2 y una temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Balanza granataria con intervalo de medición de 2.0 a $800 \text{ g} \pm 0.2 \text{ g}$.
- Bomba de vacío con control de velocidad de succión.
- Cámara de Sedgwich-Rafter o disco Doncaster.
- Campana de extracción.
- Centrífuga, capaz de mantener los intervalos de operación de $660 \pm 300 \text{ g}$.
- Densímetro (hidrómetro), con intervalo de medición de 1.0 a 1.4 g/cm^3 .
- Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de $26 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Licuadora con contenedor de plástico inerte, paredes lisas y con capacidad de 2 L.
- Mascarilla antigas con carbón activado o similar.
- Microscopio óptico equipado para hacer iluminación (Köhler), campo claro, con objetivos de 10 a 100 X, y platina móvil removible.
- Parrilla con agitación magnética.
- Potenciómetro con intervalo de medición de 0 a 14 y ± 0.2 unidades de precisión.
- Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura de $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$.

8.5.4 Procedimiento

Los siguientes puntos describen la secuencia del método de prueba, el cual debe realizarse conforme a lo descrito, con el fin de minimizar sesgos en los datos obtenidos.

Preparación de soluciones

Solución ácido alcohol, homogeneizar 650 mL de ácido sulfúrico 0.1 N con 350 mL de alcohol etílico. Almacenar la solución en un recipiente hermético.

Solución de formalina al 0.5%, añadir 5 mL de formaldehído al 37% y aforar a 1 000 mL con agua destilada. Homogeneizar y almacenar en recipiente hermético.

Solución patrón de aceto-acético, agregar 15 g de acetato de sodio trihidratado, 3.6 mL de ácido acético y aforar a 1 000 mL de agua destilada. Homogeneizar y almacenar en frasco hermético durante 2 a 3 meses.

Solución de sulfato de zinc (ZnSO_4) con gravedad específica de 1.3. Disolver 800 g de sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en 1 000 mL de agua destilada, mezclar en la parrilla magnética hasta homogeneizar totalmente. Medir la densidad con el densímetro y, según sea el caso, ajustar la densidad a 1.3 agregando sulfato de zinc o agua destilada, según se requiera. Almacenar en recipiente hermético y verificar densidad cada mes.

Tween 80 al 0.1%, añadir 1 mL del reactivo en 999 mL de agua destilada y homogeneizar en parrilla de agitación hasta su completa disolución. Almacenar en recipiente hermético durante 2 a 3 meses.

8.5.5 Calibración de aparatos

Todos los equipos deben ser calibrados o ajustados de acuerdo con las especificaciones del fabricante, o bien, contra equipos certificados.

8.5.6 Seguridad

Durante el procesado de la muestra se debe utilizar guantes de látex y cubreboca, para evitar cualquier riesgo de infección.

Se debe lavar y desinfectar el área de trabajo, así como el material utilizado por el analista, antes y después del ensayo.

La agitación de las soluciones con éter deberá realizarse en sitios ventilados o dentro de una campana de extracción, considerando su inflamabilidad. Evitar la inhalación, el contacto con los ojos, piel o ropa, ya que es un reactivo sumamente tóxico.

8.5.7 Manejo de residuos

Todos los residuos de la muestra analizada serán esterilizados en autoclave antes de su desecho.

Aquel material que sea reutilizado, pero que no pueda ser esterilizado en autoclave deberá ser colocado en hipoclorito de sodio (10%), durante un día, antes de ser lavado.

8.5.8 Concentración y separación de los huevos de helminto

La recuperación de los huevos de helminto de la muestra se realizará efectuando los siguientes pasos:

- a) Por 1 minuto y con la ayuda de una licuadora homogeneizar el peso en freso que corresponda a 2 g de ST. Utilizar para ello 200 mL de una solución de Tween 80 al 0.1%, integrando los enjuagues del recipiente que originalmente contenía la muestra.
- b) Recuperar homogeneizado y enjuagues del vaso de la licuadora en un recipiente de plástico de 2 L, utilizar para ello 800 mL de la solución de Tween 80 al 0.1%.
- c) Dejar sedimentar la muestra al menos durante 3 horas.

- d) Aspirar el sobrenadante por vacío y filtrar el sedimento a través del tamiz de poro seleccionado (150 a 170 μm). Enjuagar recipiente y tamiz con 1 L de agua destilada, para lo cual se recomienda utilizar una piceta. El filtrado y los enjuagues se recuperan en el recipiente de plástico de 2 L.
- e) Dejar sedimentar al menos durante 3 horas.
- f) Aspirar el sobrenadante por vacío y recuperar sedimento y enjuagues, con agua destilada, en un tubo de centrifuga de 200 mL o mayor capacidad.
- g) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- h) Aspirar el sobrenadante por vacío y desecharlo. Resuspender la pastilla en 150 mL de la solución de sulfato de zinc. Homogeneizar la pastilla con ayuda de un agitador de tubos y, sólo en caso de ser necesario, utilizar aplicadores de plástico o espátula de teflón para lograr su completa disolución.
- i) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- j) En caso de contar con un tamiz de 20 μm de poro se recomienda efectuar un segundo filtrado, cuya finalidad es remover el detritus de menor tamaño y facilitar la lectura de los huevos de helminto en el sedimento final al microscopio. Para ello, filtrar el sobrenadante y recuperar la película que ha quedado retenida sobre la malla con el volumen de agua destilada que sea necesario (utilizar piceta), en un tubo de 200 mL de centrifuga, desechar filtrado y pasar al inciso i. En caso contrario verter el sobrenadante en un recipiente de 2 L y romper la densidad con 1 L de agua destilada.
- k) Sedimentar al menos durante 3 horas.
- l) Una vez transcurrido el tiempo de sedimentación aspirar el sobrenadante por vacío y recuperar el sedimento resultante en un tubo de centrifuga de 200 mL o mayor capacidad, incluir los enjuagues del recipiente.
- m) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- n) Aspirar el sobrenadante por vacío y resuspender el sedimento por agitación, con ayuda de un agitador de tubos (si es necesario, utilizar aplicadores). La solución resultante se recupera en un tubo cónico de centrifuga de 50 mL, incluyendo el agua destilada de enjuague.
- o) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- p) Aspirar el sobrenadante y con ayuda de un agitador de tubos resuspender la pastilla en 15 mL de la solución de alcohol-ácido (u opcionalmente, el patrón de acetoacético) y, posteriormente, agregar 10 mL de éter (o acetato de etilo, que es menos tóxico). Agitar suavemente y, de vez en cuando, destapar para dejar escapar el gas que se desprenda. Por seguridad, realizar todo este proceso dentro de la campana de extracción (en el laboratorio) o con mascarilla de protección antigás (en campo).
- q) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- r) Aspirar el sobrenadante, hasta 2 mm por arriba de la parte cónica del tubo de 50 mL (aproximadamente 5 mL). Realizarlo bajo las mismas condiciones de seguridad (en el laboratorio) dentro de la campana de extracción o (en campo) con mascarilla de protección antigás.
- s) Efectuar un primer enjuague agregando H_2SO_4 0,1 N (o formalina 0.5%).
- t) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- u) Aspirar el sobrenadante, dejando 5 mL y realizar un segundo enjuague agregando H_2SO_4 0,1 N (o formalina 0.5%).

- v) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- w) Aspirar el sobrenadante dejando 5 mL del mismo.

8.5.9 Determinación de viabilidad y lectura al microscopio

- a) Si no es necesario determinar la viabilidad, proceder a la cuantificación, en caso contrario, incubar el tubo con la muestra durante 4 semanas a $26^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Dejar la tapa del tubo floja para que entre aire y, por lo menos una vez por semana, verificar que el nivel del líquido no disminuya. Si es necesario, agregar agua destilada.
- b) Una vez transcurrido el tiempo de incubación, homogenizar la pastilla y proceder a la cuantificación de los huevos. Para la lectura verter el sedimento final en una celda de Sedgwich Rafter o Disco Doncaster. En caso necesario, y para evitar la sobreposición de estructuras y del detritus no eliminado, distribuir en alícuotas y homogeneizar con agua destilada. Sólo aquellos huevos donde se observe la larva se consideran viables.
- c) Como paso opcional, y antes de realizar la lectura al microscopio, añadir hipoclorito de sodio (10%) en igual volumen al sedimento final y dejar reposar durante 10 minutos. Aforar con agua destilada.
- d) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos y decantar hasta dejar 5 mL del sobrenadante.
- e) Realizar un segundo enjuague con agua destilada y centrifugar bajo las mismas condiciones.
- f) Lo anterior permite una mayor claridad en el contenido interno de los huevos (especialmente de *Ascaris* y *Trichuris*), una mejor diferenciación y en consecuencia un conteo más rápido.
- g) Aspirar sobrenadante hasta 5 mL del volumen final.

8.5.10 Cálculos

La fórmula para calcular g es:

$$g = \frac{r \times r / \text{min}}{k}$$

Donde:

g = fuerza relativa de centrifugación

k = constante cuyo valor es 89, 456

r = radio de la centrifuga en cm

rpm = revoluciones por minuto

Para el cálculo del por ciento de sólidos totales (ST), se utiliza el % de humedad como sigue:

$$\% \text{ de sólidos totales} = 100\% - \% \text{ de humedad}$$

8.5.11 Expresión de resultados

Expresar los resultados en número de huevos 2 g de sólidos totales (volumen de muestra analizada).

$$H/2g \text{ ST}$$

Donde:

H= número de huevos leídos en la muestra
g ST= gramos de sólidos totales de la muestra analizados

8.5.12 Interferencias

La sobreposición de estructuras y/o de tritos no eliminados en el sedimento puede dar una evaluación errónea al dificultar la lectura. En tal caso, es importante diluir con agua destilada y hacer las alcúotas que se consideren necesarias para que en cada una se realice el conteo.

La falta de experiencia en la identificación de géneros es un elemento común de sobreconteo.

En caso de que la muestra presente la formación de hongos durante el proceso de incubación se recomienda reemplazar el H_2SO_4 0,1 N por una solución de formalina 0,5%.

8.5.13 Informe de prueba

El informe de la prueba incluye especificar los siguientes puntos:

- a) Todos los datos necesarios para la identificación completa de la muestra.
- b) Los resultados, expresados de acuerdo con lo establecido en el inciso 8.5.11.
- c) Cualquier suceso particular observado durante el curso del análisis, así como cualquier operación no especificada en el método, o considerada opcional, que pueda haber influido en los resultados.

8.6 Ensayo para valorar una solución de Hidróxido de amonio

1. Tarar un matraz Erlenmeyer de capacidad con tapón esmerilado que contenga 15 mL de agua. Rápidamente adicionar aproximadamente 2 mL de Solución de NH_4OH , tapar y pesar con precisión. Titular con ácido clorhídrico 1 N utilizando rojo de metilo como indicador.

2 Cálculos:

$$\% \text{NH}_3 = \frac{(\text{mL HCL} * N \text{ de HCL})(0.017)(100)}{\text{muestra (g)}}$$

8.7 Apariencia de la solución de Hidróxido de amonio

1. Mezclar el material en el contenedor original, tomar 10 mL de solución y depositarlos en un tubo de ensayo y compararlo con agua destilada contenida en un tubo similar. El líquido debe ser igualmente claro y libre de materia suspendida.

2. Mirar a través de las dos columnas (tubos de ensayo con los líquidos) haciendo pasar un haz de luz no debe observarse diferencia aparente entre los dos líquidos.

ANEXO C
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

9 Anexo C. "Análisis estadístico de datos"

9.1 Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la primera etapa de experimentación

9.1.1 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales con amoníaco

El análisis estadístico fue realizado a partir de las siguientes hipótesis.

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con NH_3 .

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Para realizar el análisis de varianza, del experimento de bloques aleatorizados, se seleccionó como variable de respuesta la inactivación de coliformes fecales; los resultados se observan en la Tabla 9.1. Con los resultados obtenidos fue posible construir el análisis de varianza correspondiente, ANOVA, mismo que se presenta en la Tabla 9.2.

Tabla 9.1 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con NH_3

Dosis de NH_3 (Factor)	Semanas (bloques)				Y_i
	1	2	3	4	
0%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%	4.01	3.00	4.07	4.59	15.67
20%	5.93	6.06	7.74	7.67	27.40
30%	5.93	6.06	7.74	7.67	27.40
40%	5.93	6.06	7.74	7.67	27.40
50%	7.67	6.06	7.74	7.67	29.14
$Y_{.j}$	29.46	27.24	35.03	35.26	$Y_{..} = 126.99$

Tabla 9.2 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes dosis de NH_3

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (Dosis)	164.54	5.00	32.91	122.78
Bloques (semanas)	8.11	3.00	2.70	
Error	4.02	15	0.27	
Total	176.67	23.00		

Se asignó al experimento un 95% de confianza, es decir, $\alpha = 0.05$. Así, el valor crítico de F es $F_{0.05, 5, 15} = 2.90$ que comparado con $F_0 = 122.78$, entonces $157.86 > 2.90$ y se puede concluir que el amoníaco tiene un alto poder desinfectante y que el factor dosis es altamente significativo y afecta directamente al contenido de coliformes fecales. Obviamente, debe rechazarse la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ y se aceptarse la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$.

Ahora bien, los resultados obtenidos fueron validados estadísticamente por el análisis de varianza y debido al efecto significativo de factor dosis de NH_3 , se determinó también que existen diferencias entre las medias aritméticas de los tratamientos, por lo que fue necesario obtener un valor de la dosis de NH_3 recomendada para el tratamiento de los lodos. Una forma de realizarlo fue la comparación entre las medias de los tratamientos.

Un procedimiento usado ampliamente para comparar todas las parejas de medias es la prueba de intervalos múltiples de Duncan, en la que se disponen en orden ascendente los a promedio de los tratamientos y se determina el error estándar de cada promedio. Así pueden estimarse intervalos significativos con los que se realizan comparaciones entre las medias de cada tratamiento y se determinan las parejas de tratamientos que tienen diferencias significativas (Montgomery, 1991). A continuación se describe la metodología utilizada.

9.1.2 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoníaco en la remoción de coliformes fecales

Se recordará que la media de cuadrados del error fue $MS_E = 0.27$, $N = 24$, $n = 4$ y que el error tuvo 15 grados de libertad. Organizando los promedios de los tratamientos en orden ascendente se tiene.

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	3.92
\bar{Y}_3	=	6.85
\bar{Y}_4	=	6.85
\bar{Y}_5	=	6.85
\bar{Y}_6	=	7.28

El error estándar de cada promedio es $S_{y_i} = \sqrt{MS_E / n}$, es decir, $S_{y_i} = \sqrt{0.27 / 4} = 0.26$ para 15 grados de libertad y $\alpha = 0.05$, los intervalos significativos son $r_{.05}(2,15) = 3.01$, $r_{.05}(3,15) = 3.16$, $r_{.05}(4,15) = 3.25$, $r_{.05}(5,15) = 3.31$, y $r_{.05}(6,15) = 3.36$. Así, los intervalos mínimos significativos son:

$$\begin{aligned}
 R_2 &= r_{.05}(2,15) S_{y_i} = (3.01)(0.26) = 0.78 \\
 R_3 &= r_{.05}(3,15) S_{y_i} = (3.16)(0.26) = 0.82 \\
 R_4 &= r_{.05}(4,15) S_{y_i} = (3.25)(0.26) = 0.85 \\
 R_5 &= r_{.05}(5,15) S_{y_i} = (3.31)(0.26) = 0.86 \\
 R_6 &= r_{.05}(6,15) S_{y_i} = (3.36)(0.26) = 0.87
 \end{aligned}$$

A partir de las comparaciones realizadas entre los promedios de los tratamientos se obtuvo:

*	6 vs. 1 : $7.28 - 0.00 = 7.28 > 0.87 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $7.28 - 3.92 = 3.36 > 0.86 (R_5)$
	6 vs. 3 : $7.28 - 6.85 = 0.43 < 0.85 (R_4)$
	6 vs. 4 : $7.28 - 6.85 = 0.43 < 0.82 (R_3)$
	6 vs. 5 : $7.28 - 6.85 = 0.43 < 0.78 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $6.85 - 0.00 = 6.85 > 0.86 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $6.85 - 3.92 = 2.93 > 0.85 (R_4)$
	5 vs. 3 : $6.85 - 6.85 = 0.00 < 0.82 (R_3)$
	5 vs. 4 : $6.85 - 6.85 = 0.00 < 0.78 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $6.85 - 0.00 = 6.85 > 0.85 (R_4)$
*	4 vs. 2 : $6.85 - 3.92 = 2.93 > 0.82 (R_3)$
	4 vs. 3 : $6.85 - 6.85 = 0.00 < 0.78 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $6.85 - 0.00 = 6.85 > 0.82 (R_3)$
*	3 vs. 2 : $6.85 - 3.92 = 2.93 > 0.78 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $3.92 - 0.00 = 3.92 > 0.78 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.1.3 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de *Salmonella spp.* con amoníaco

Las hipótesis planteadas para el análisis de los resultados fueron las siguientes.

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con NH_3 .

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Al igual que en el primer caso, la variable de respuesta del experimento de bloques aleatorizados fue la inactivación de *Salmonella spp.* Los resultados para todos los tratamientos se muestran en la Tabla 9.3; mientras que el análisis de la varianza de los resultados (ANOVA) se presenta en la Tabla 9.4.

Tabla 9.3 Inactivación de *Salmonella spp.* obtenidas en los tratamientos de lodos con NH_3

Dosis de NH_3 (Factor)	Semanas (bloques)				Y_i
	1	2	3	4	
0%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%	3.60	2.69	4.53	4.89	15.71
20%	5.62	4.02	6.67	6.56	22.87
30%	5.62	4.02	6.67	6.56	22.87
40%	5.62	4.02	6.67	6.56	22.87
50%	5.62	4.02	6.67	6.56	22.87
$Y_{.j}$	26.10	18.77	31.21	31.11	$Y_{..} = 107.20$

Tabla 9.4 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de *Salmonella spp.* con diferentes dosis de NH_3

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (Dosis)	106.03	5	21.21	84.65
Bloques (semanas)	17.17	3	5.72	
Error	3.76	15	0.25	
Total	126.96	23		

Se otorgó nuevamente al experimento un 95% de confiabilidad ($\alpha = 0.05$), así se obtiene un valor crítico para F de $F_{0.05,5,15} = 2.90$, de la Tabla 9.4 se observa que $F_0 = 84.65$, entonces $84.65 > 3.26$ y se concluye que el factor dosis de amoniaco es significativo en la remoción de *Salmonella spp.* naturalmente, debe rechazarse la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ y aceptarse la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$.

Para calcular las diferencias entre los tratamientos se realizó (al igual que en el primer caso) la comparación entre las medias de los tratamientos utilizando la prueba de intervalos múltiples de Duncan. El procedimiento es el siguiente.

9.1.4 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción de *Salmonella spp.*

En este caso se tiene una media de cuadrados del error $MS_E = 0.25$, $N = 24$, $n = 4$ y 15 grados de libertad para el error. Organizando los promedios de los tratamientos en orden ascendente se tiene:

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	3.93
\bar{Y}_3	=	5.72
\bar{Y}_4	=	5.72
\bar{Y}_5	=	5.72
\bar{Y}_6	=	5.72

Así, el error estándar de cada promedio es $S_{y_i} = \sqrt{0.25/4} = 0.25$ para 15 grados de libertad y $\alpha = 0.05$, los intervalos significativos son $r_{.05}(2,15) = 3.01$, $r_{.05}(3,15) = 3.16$, $r_{.05}(4,15) = 3.25$, $r_{.05}(5,15) = 3.31$ y $r_{.05}(6,15) = 3.36$, los intervalos mínimos pueden calcularse a partir de:

$$R_2 = r_{.05}(2,15) S_{y_i} = (3.01)(0.25) = 0.75$$



$$R_3 = r_{.05}(3, 15) S_{yi} = (3.16)(0.25) = 0.79$$

$$R_4 = r_{.05}(4, 15) S_{yi} = (3.25)(0.25) = 0.81$$

$$R_5 = r_{.05}(5, 15) S_{yi} = (3.31)(0.25) = 0.83$$

$$R_6 = r_{.05}(6, 15) S_{yi} = (3.36)(0.25) = 0.84$$

A partir de las comparaciones realizadas entre los promedios de los tratamientos se obtuvo:

*	6 vs. 1 : $5.72 - 0.00 = 5.72 > 0.84 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $5.72 - 3.93 = 1.79 > 0.83 (R_5)$
	6 vs. 3 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.81 (R_4)$
	6 vs. 4 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.79 (R_3)$
	6 vs. 5 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.75 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $5.72 - 0.00 = 5.72 > 0.83 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $5.72 - 3.93 = 1.79 > 0.81 (R_4)$
	5 vs. 3 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.79 (R_3)$
	5 vs. 4 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.75 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $5.72 - 0.00 = 5.72 > 0.81 (R_4)$
*	4 vs. 2 : $5.72 - 3.93 = 1.79 > 0.79 (R_3)$
	4 vs. 3 : $5.72 - 5.72 = 0.00 < 0.75 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $5.72 - 0.00 = 5.72 > 0.79 (R_3)$
*	3 vs. 2 : $5.72 - 3.93 = 1.79 > 0.75 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $3.93 - 0.00 = 3.93 > 0.75 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.1.5 Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos con amoniaco

Las hipótesis nula y alterna fueron similares a las de los casos anteriores.

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con NH_3 .

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i al menos uno de los tratamientos es diferente.

La eficiencia de remoción de huevos de helmintos viables fue la variable de respuesta que se consideró para la realización del análisis de varianza, los resultados se presentan en la Tabla 9.5; con éstos, se elaboró el análisis de varianza (ANOVA) presentado en la Tabla 9.6 del mismo Anexo.

Tabla 9.5 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con NH₃

Dosis de NH ₃ (Factor)	Semanas (bloques)				Y _i
	1	2	3	4	
0%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10%	58.68	80.43	80.17	55.06	274.33
20%	94.21	80.43	88.43	69.66	332.74
30%	95.04	88.04	86.78	89.89	359.75
40%	95.87	88.04	88.43	93.26	365.60
50%	96.69	94.57	91.74	94.38	377.38
Y _{.j}	440.50	431.52	435.54	402.25	Y_{..} = 1709.80

Tabla 9.6 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de huevos de helmintos con diferentes dosis de NH₃

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos (Dosis)	26058.83	5	5211.77	92.75
Bloques (semanas)	147.89	3	49.30	
Error	842.90	15	56.19	
Total	27049.62	23		

Al fijar en 95% de confianza al experimento se tiene $\alpha = 0.05$ y por lo tanto el valor crítico de F es $F_{.05,5,15} = 2.90$, partiendo de que $F_0 = 92.75$ (ver Tabla 9.6), entonces $92.75 > 2.90$ y, al igual que en los casos anteriores, se puede concluir que el factor dosis de amoniaco afecta significativamente los de huevos del helmintos. la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ debe ser rechazada y la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$ al menos para un tratamiento, debe ser aceptada.

Para identificar las diferentes entre las medias de los tratamiento y seleccionar el tratamiento recomendable se realizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

9.1.6 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en la remoción de huevos de helmintos

Se tomará como base que $MS_E = 56.19$, $N = 24$, $n = 4$ y los grados de libertad son 15. A continuación se presentan los promedios de los tratamientos en orden ascendente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	68.58
\bar{Y}_3	=	83.19
\bar{Y}_4	=	89.94
\bar{Y}_5	=	91.40
\bar{Y}_6	=	94.34

El error estándar para todos los tratamientos es $S_{yi} = \sqrt{56.19/4} = 3.75$, con 15 grados de libertad y con una confianza del 95% ($\alpha = 0.05$), los intervalos significativos son $r_{.05}(2,15) = 3.01$, $r_{.05}(3,15) = 3.16$, $r_{.05}(4,15) = 3.25$, $r_{.05}(5,15) = 3.31$ y $r_{.05}(6,15) = 3.36$, los intervalos mínimos pueden calcularse a partir de:

$$R_2 = r_{.05}(2,15) S_{yi} = (3.01)(3.75) = 11.29$$

$$R_3 = r_{.05}(3,15) S_{yi} = (3.16)(3.75) = 11.85$$

$$R_4 = r_{.05}(4,15) S_{yi} = (3.25)(3.75) = 12.19$$

$$R_5 = r_{.05}(5,15) S_{yi} = (3.31)(3.75) = 12.41$$

$$R_6 = r_{.05}(6,15) S_{yi} = (3.36)(3.75) = 12.60$$

Y las comparaciones entre los promedios de los tratamientos fueron:

*	6 vs. 1 : $94.34 - 0.00 = 94.34 > 12.60 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $94.34 - 68.58 = 25.76 > 12.41 (R_5)$
	6 vs. 3 : $94.34 - 83.19 = 11.15 < 12.19 (R_4)$
	6 vs. 4 : $94.34 - 89.94 = 4.40 < 11.85 (R_3)$
	6 vs. 5 : $94.34 - 91.40 = 2.94 < 11.29 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $91.40 - 0.00 = 91.40 > 12.41 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $91.40 - 68.58 = 22.82 > 12.19 (R_4)$
	5 vs. 3 : $91.40 - 83.19 = 8.21 < 11.85 (R_3)$
	5 vs. 4 : $91.40 - 89.94 = 1.46 < 11.29 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $89.94 - 0.00 = 89.94 > 12.19 (R_4)$
*	4 vs. 2 : $89.94 - 68.58 = 21.36 > 11.85 (R_3)$
	4 vs. 3 : $89.94 - 83.19 = 6.75 < 11.29 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $83.19 - 0.00 = 83.19 > 11.85 (R_3)$
*	3 vs. 2 : $83.19 - 68.58 = 14.61 > 11.29 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $68.58 - 0.00 = 68.58 > 11.29 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.2 Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la segunda etapa de experimentación

9.2.1 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con amoníaco y diferentes tiempos de contacto

Para este caso las hipótesis planteadas fueron:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con diferentes tiempos de contacto.

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

La variable de respuesta que se utilizó en el experimento aleatorio unifactorial de bloques fue la inactivación de coliformes fecales. Los resultados se observan en la Tabla 9.7. Con éstos se realizó el análisis de varianza correspondiente. Los resultados se presentan en la Tabla 9.8.

Tabla 9.7 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto

Tiempo de contacto (Factor)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
0 min.	0.00	0.00	0.00	0.00
30 min.	5.68	4.41	4.41	14.50
60 min.	7.74	4.52	4.52	16.78
90 min.	7.74	4.89	4.89	17.52
120 min.	7.74	5.67	5.67	19.08
$Y_{.j}$	28.90	19.49	19.49	$Y_{..} = 67.88$

Tabla 9.8 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes tiempos de contacto

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (tiempo de contacto)	80.41	4	20.10	36.10
Bloques (semanas)	11.81	2	5.90	
Error	4.46	8	0.56	
Total	96.68	14		

Con un 95% de confianza en el experimento se tiene que $\alpha = 0.05$, y el valor crítico de F es $F_{0.05,4,8} = 3.84$ y de la Tabla 9.8 $F_0 = 36.10$; por lo tanto $36.10 > 3.84$ y se puede concluir que el factor tiempo de contacto tiene un efecto significativo a en la inactivación de coliformes fecales con NH_3 , lógicamente la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ se rechaza y se acepta la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$.

9.2.2 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoníaco en la remoción coliformes fecales

En el análisis de varianza se obtuvo una $MS_E = 0.56$, $N = 15$, $n = 3$ y que el error tuvo 8 grados de libertad. Así, los promedios de cada tratamiento organizados en orden ascendente quedaron:

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	4.83
\bar{Y}_3	=	5.59
\bar{Y}_4	=	5.84
\bar{Y}_5	=	6.36

El error estándar de cada promedio fue $S_{y_i} = \sqrt{0.56/3} = 0.43$, para 8 grados de libertad y $\alpha = 0.05$, los intervalos significativos fueron $r_{.05}(2,8) = 3.26$, $r_{.05}(3,8) = 3.39$, $r_{.05}(4,8) = 3.47$, y $r_{.05}(5,8) = 3.52$ por lo que los intervalos mínimos significativos son:

$$R_2 = r_{.05}(2,8) S_{y_i} = (3.26)(0.43) = 1.40$$

$$R_3 = r_{.05}(3,8) S_{y_i} = (3.39)(0.43) = 1.46$$

$$R_4 = r_{.05}(4,8) S_{y_i} = (3.47)(0.43) = 1.49$$

$$R_5 = r_{.05}(5,8) S_{y_i} = (3.52)(0.43) = 1.51$$

Las comparaciones entre los tratamientos se presentan a continuación

*	5 vs. 1 : $6.36 - 0.00 = 6.36 > 1.51 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $6.36 - 4.83 = 1.53 > 1.49 (R_4)$
	5 vs. 3 : $6.36 - 5.59 = 0.77 < 1.46 (R_3)$
	5 vs. 4 : $6.36 - 5.84 = 0.52 < 1.40 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $5.84 - 0.00 = 5.84 > 1.49 (R_4)$
	4 vs. 2 : $5.84 - 4.83 = 1.01 < 1.46 (R_3)$
	4 vs. 3 : $5.84 - 5.59 = 0.25 < 1.40 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $5.59 - 0.00 = 5.59 > 1.46 (R_3)$
	3 vs. 2 : $5.59 - 4.83 = 0.76 < 1.40 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $4.83 - 0.00 = 4.83 > 1.40 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.2.3 *Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de Salmonella spp. en lodos tratados con amoníaco y diferentes tiempos de contacto*

Se plantearon las hipótesis nula y alterna correspondientes.

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tiempos de contacto.

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

La Tabla 9.9 presenta los resultados de las eficiencias de remoción (variable de respuesta del experimento) obtenidas con cada tiempo de contacto. Los resultados mostrados sirvieron de base para la elaboración del análisis de varianza, ver Tabla 9.10.

Tabla 9.9 Inactivación de *Salmonella spp.* obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto

Tiempo de contacto (Factor)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
0 min.	0.00	0.00	0.00	0.00
30 min.	3.86	2.99	2.99	9.83
60 min.	5.56	4.16	4.16	13.89
90 min.	5.56	4.16	4.16	13.89
120 min.	5.56	4.16	4.16	13.89
$Y_{.j}$	20.55	15.47	15.47	$Y_{..} = 51.49$

Tabla 9.10 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de *Salmonella spp.* con diferentes tiempos de contacto

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (tiempo de contacto)	48.29	4	12.07	96.85
Bloques (semanas)	3.44	2	1.72	
Error	1.00	8	0.12	
Total	52.73	14		

Como en los casos anteriores, se asignó el 95% de confianza al experimento ($\alpha = 0.05$), por lo tanto, el valor crítico de F es $F_{0.05,4,8} = 3.84$ y partiendo de que $F_0 = 96.85$, se tiene $96.85 > 3.84$ y se puede concluir que el factor tiempo de contacto es significativo, rechazándose la hipótesis

nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ y aceptándose la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$ al menos para un tratamiento. Para realizar la comparación entre las medias de los tratamientos (prueba de Duncan) e identificar las diferencias significativas entre los tratamientos se siguió un procedimiento similar al ya descrito anteriormente.

9.2.4 *Determinación de las pruebas de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en inactivación de Salmonella spp. a diferentes tiempos de contacto*

Para realizar la prueba de Duncan se tienen los siguientes datos: $MS_E = 0.12$, $N = 15$, $n = 3$ y 8 grados de libertad para el error. Los promedios de cada tratamiento en orden ascendente quedaron como a continuación se indica.

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	3.28
\bar{Y}_3	=	4.63
\bar{Y}_4	=	4.63
\bar{Y}_5	=	4.63

El error estándar de cada promedio fue $S_{yi} = \sqrt{0.12/3} = 0.2$, para 8 grados de libertad y $\alpha = 0.05$, los intervalos significativos fueron $r_{.05}(2,8) = 3.26$, $r_{.05}(3,8) = 3.39$, $r_{.05}(4,8) = 3.47$, y $r_{.05}(5,8) = 3.52$ por lo que los intervalos mínimos significativos son:

$$R_2 = r_{.05}(2,8) S_{yi} = (3.26)(0.2) = 0.65$$

$$R_3 = r_{.05}(3,8) S_{yi} = (3.39)(0.2) = 0.68$$

$$R_4 = r_{.05}(4,8) S_{yi} = (3.47)(0.2) = 0.69$$

$$R_5 = r_{.05}(5,8) S_{yi} = (3.52)(0.2) = 0.70$$

Las comparaciones entre los tratamientos se presentan a continuación:

- * 5 vs. 1 : $4.63 - 0.00 = 4.63 > 0.70 (R_5)$
- * 5 vs. 2 : $4.63 - 3.28 = 1.35 > 0.69 (R_4)$
- 5 vs. 3 : $4.63 - 4.63 = 0.00 < 0.68 (R_3)$
- 5 vs. 4 : $4.63 - 4.63 = 0.00 < 0.65 (R_2)$
- * 4 vs. 1 : $4.63 - 0.00 = 4.63 > 0.69 (R_4)$
- * 4 vs. 2 : $4.63 - 3.28 = 1.35 > 0.68 (R_3)$
- 4 vs. 3 : $4.63 - 4.63 = 0.00 < 0.65 (R_2)$
- * 3 vs. 1 : $4.63 - 0.00 = 4.63 > 0.68 (R_3)$
- * 3 vs. 2 : $4.63 - 3.28 = 1.35 > 0.65 (R_2)$
- * 2 vs. 1 : $3.28 - 0.00 = 3.28 > 0.65 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.2.5 *Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con amoníaco y diferentes tiempos de contacto*

Para desarrollar el análisis de la varianza de los resultados obtenidos se partió de las siguientes hipótesis:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tiempos de contacto.

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i tratamientos es diferente.

La variable de respuesta utilizada fue la eficiencia de remoción de Huevos de helminto, en la Tabla 9.11 se observan los resultados obtenidos. Así mismo, el análisis de varianza correspondiente se presenta en la Tabla 9.12.

Tabla 9.11 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes tiempos de contacto

Tiempo de contacto (Factor)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
0 min.	0.00	0.00	0.00	0.00
30 min.	75.00	71.43	84.13	230.56
60 min.	88.16	85.71	90.48	264.35
90 min.	89.47	95.24	96.83	281.54
120 min.	96.05	95.24	96.83	288.12
$Y_{.j}$	348.68	347.62	368.25	$Y_{..} = 1064.56$

Tabla 9.12 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos con diferentes tiempos de contacto

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (tiempo de contacto)	19551.20	4	4887.80	526.23
Bloques (semanas)	53.99	2	27.00	
Error	74.31	8	9.29	
Total	19679.50	14		

Con una confianza del 95% ($\alpha = 0.05$) se tiene un valor crítico para F de $F_{0.05,4,8} = 3.84$ y si $F_0 = 526.23$, se observa un efecto altamente significativo del tiempo de contacto en la remoción de huevos de helmintos ya que 526.23 es muy superior a 3.84; debe rechazarse la hipótesis

nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$, y aceptarse la hipótesis alterna $H_1: \tau_1 \neq 0$ al menos para un tratamiento.

Para conocer la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos y recomendar un tiempo de contacto se realizó la prueba de Duncan, presentada a continuación.

9.2.6 Determinación de las prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación del amoniaco en inactivación de huevos de helmintos a diferentes tiempos de contacto

Para realizar la prueba de intervalos múltiples de Duncan deben retomarse los siguientes datos: $MS_E = 9.29$, $N = 15$, $n = 3$ y 8 grados de libertad para el error. Los promedios de los tratamientos en orden ascendente quedaron de la siguiente forma:

\bar{Y}_1	=	0.00
\bar{Y}_2	=	76.85
\bar{Y}_3	=	88.12
\bar{Y}_4	=	93.85
\bar{Y}_5	=	96.04

El error estándar de cada promedio fue $S_{y_i} = \sqrt{9.29/3} = 1.76$. con $\alpha = 0.05$ (95% de confianza) y 8 grados de libertad del error, los intervalos significativos fueron los siguientes : $r_{.05}(2,8) = 3.26$, $r_{.05}(3,8) = 3.39$, $r_{.05}(4,8) = 3.47$, y $r_{.05}(5,8) = 3.52$ por lo que los intervalos mínimos significativos son:

$$R_2 = r_{.05}(2,8) S_{y_i} = (3.26)(1.76) = 5.74$$

$$R_3 = r_{.05}(3,8) S_{y_i} = (3.39)(1.76) = 5.97$$

$$R_4 = r_{.05}(4,8) S_{y_i} = (3.47)(1.76) = 6.11$$

$$R_5 = r_{.05}(5,8) S_{y_i} = (3.52)(1.76) = 6.20$$

Las comparaciones entre los tratamientos quedaron:

- * 5 vs. 1 : $96.04 - 0.00 = 96.04 > 6.20 (R_5)$
- * 5 vs. 2 : $96.04 - 76.85 = 19.19 > 6.11 (R_4)$
- * 5 vs. 3 : $96.04 - 88.12 = 7.92 > 5.97 (R_3)$
- * 5 vs. 4 : $96.04 - 93.85 = 2.19 < 5.74 (R_2)$
- * 4 vs. 1 : $93.85 - 0.00 = 93.85 > 6.11 (R_4)$
- * 4 vs. 2 : $93.85 - 76.85 = 17.00 > 5.97 (R_3)$
- * 4 vs. 3 : $93.85 - 88.12 = 5.73 < 5.74 (R_2)$
- * 3 vs. 1 : $88.12 - 0.00 = 88.12 > 5.97 (R_3)$
- * 3 vs. 2 : $88.12 - 76.85 = 11.27 > 5.74 (R_2)$
- * 2 vs. 1 : $88.12 - 0.00 = 88.12 > 5.74 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.3 Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la tercera etapa de experimentación

9.3.1 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con amoníaco y diferentes temperaturas

El análisis se realizó a partir de las siguientes hipótesis:

Para las temperaturas:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todas las temperaturas utilizadas.

H_1 : al menos una $\tau_i \neq 0$

Para las dosis de amoníaco:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_b = 0$ es decir, no existe diferencia en todas las dosis de amoníaco utilizadas.

H_1 : Para al menos un $\beta_j \neq 0$

Para la interacción entre los dos factores (temperatura y dosis de NH_3):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de temperaturas y dosis de amoníaco utilizadas.

H_1 : al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Para realizar el análisis de varianza se utilizó a la inactivación de coliformes fecales como variable de respuesta del experimento, los resultados para todos los tratamientos se presentan en la siguiente Tabla.

Tabla 9.13 Inactivación de coliformes fecales obtenida en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH_3 y diferentes temperaturas

Temperatura (factor A)	B dosis de NH_3 (factor B)				Y _{i.}
	10%		20%		
20 °C	4.21	4.48	6.78	6.56	33.08
	4.48		6.56		
30 °C	4.51	4.91	7.80	6.56	35.25
	4.91		6.56		
40 °C	5.88	6.56	7.80	7.56	41.92
	6.56		7.56		
50 °C	7.80	7.56	7.80	7.56	45.84
	7.56		7.56		
Y_{.j.}	69.43		86.66		Y ... = 156.09

El análisis de varianza realizado (Tabla 9.14) muestra que la temperatura (factor A) tiene un efecto significativo en la inactivación de coliformes fecales ya que el valor crítico F es $F_{.05,3,16}$

= 3.24 que es menor a $F_0 = 57.20$. Así, se rechaza la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ y se acepta la hipótesis alterna $H_1: \tau_i \neq 0$.

Tabla 9.14 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con 10 y 20% de NH_3 y diferentes temperaturas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos A (Temp.)	17.40	3	5.80	57.20
Tratamientos B (Dosis)	12.37	1	12.37	122.02
Interacción AB	4.96	3	1.65	16.30
Error	1.62	16	0.10	
Total	36.36	23		

Los resultados indican también un claro efecto de la dosis de amoníaco, incluso con un F_0 mayor al obtenido con la temperatura, lo que confirma el experimento de la primera etapa en el que se evaluó este parámetro de manera independiente y sugiere un mayor efecto de ésta factor en la variable de respuesta (inactivación). Además, la interacción AB resulta ser también significativa, ya que $F_0 = 16.30 > F_{0.05,3,16} = 3.24$, y por lo tanto deben aceptarse las hipótesis alternas para las dosis ($\beta_j \neq 0$) y las interacciones ($(\tau\beta)_{ij} \neq 0$).

9.3.2 Determinación de las prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la inactivación de coliformes fecales a diferentes temperaturas

Inicialmente, se fijó el factor B, dosis de amoníaco, en 10% y la prueba se aplicó con las diferentes temperaturas, posteriormente, se realizó la prueba de Duncan fijando el factor la dosis de amoníaco en su nivel 2 (20%) y se comparó con las diferentes temperaturas (factor A). El procedimiento completo se presenta a continuación.

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 10%.

Los promedios de las cuatro temperaturas organizadas en orden ascendente fueron:

$$\begin{aligned} \bar{Y}_{11} &= 4.39 \\ \bar{Y}_{21} &= 4.78 \\ \bar{Y}_{31} &= 6.33 \\ \bar{Y}_{41} &= 7.64 \end{aligned}$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para este caso, $MS_E = 0.10$, $N = 24$, $n = 3$ y 16 grados de libertad para el error. El error estándar de estos promedios fue $S_{y_{ii}} = \sqrt{0.10/3} = 0.2$, los intervalos significativos se calcularon con un 95% de confianza y 16 grados de libertad del error, quedando: $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$, $r_{.05}(4,16) = 3.23$, y los intervalos mínimos significativos fueron:

$$\begin{aligned} R_2 &= r_{.05}(2,16) S_{y_{ii}} = (3.00)(0.2) = 0.60 \\ R_3 &= r_{.05}(3,16) S_{y_{ii}} = (3.15)(0.2) = 0.63 \\ R_4 &= r_{.05}(4,16) S_{y_{ii}} = (3.23)(0.2) = 0.65 \end{aligned}$$

Las comparaciones entre los tratamientos se presentan a continuación.

$$\begin{aligned} * & \quad 4 \text{ vs. } 1 : 7.64 - 4.39 = 3.25 > 0.65 (R_4) \\ * & \quad 4 \text{ vs. } 2 : 7.64 - 4.78 = 2.86 > 0.63 (R_3) \\ * & \quad 4 \text{ vs. } 3 : 7.64 - 6.33 = 1.31 > 0.60 (R_2) \\ * & \quad 3 \text{ vs. } 1 : 6.33 - 4.39 = 1.94 > 0.63 (R_3) \\ * & \quad 3 \text{ vs. } 2 : 6.33 - 4.78 = 1.55 > 0.60 (R_2) \\ & \quad 2 \text{ vs. } 1 : 4.78 - 4.39 = 0.39 < 0.60 (R_2) \end{aligned}$$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 20%.

Los promedios de las cuatro temperaturas, en orden ascendente fueron:

$$\begin{aligned} \bar{Y}_{12} &= 6.63 \\ \bar{Y}_{22} &= 6.97 \\ \bar{Y}_{32} &= 7.64 \\ \bar{Y}_{42} &= 7.64 \end{aligned}$$

Nuevamente, el error estándar de estos promedios fue $S_{y_{ii}} = \sqrt{0.10/3} = 0.2$, los intervalos significativos son: $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$ y $r_{.05}(4,16) = 3.23$, los intervalos mínimos significativos quedaron de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} R_2 &= r_{.05}(2,16) S_{y_{ii}} = (3.00)(0.2) = 0.60 \\ R_3 &= r_{.05}(3,16) S_{y_{ii}} = (3.15)(0.2) = 0.63 \\ R_4 &= r_{.05}(4,16) S_{y_{ii}} = (3.23)(0.2) = 0.65 \end{aligned}$$

Y las comparaciones entre los tratamientos fueron:

$$\begin{aligned} * & \quad 4 \text{ vs. } 1 : 7.64 - 6.63 = 1.01 > 0.65 (R_4) \\ * & \quad 4 \text{ vs. } 2 : 7.64 - 6.97 = 0.67 > 0.63 (R_3) \\ & \quad 4 \text{ vs. } 3 : 7.64 - 7.64 = 0.00 < 0.60 (R_2) \\ * & \quad 3 \text{ vs. } 1 : 7.64 - 6.63 = 1.01 > 0.63 (R_3) \\ * & \quad 3 \text{ vs. } 2 : 7.64 - 6.97 = 0.67 > 0.60 (R_2) \\ & \quad 2 \text{ vs. } 1 : 6.97 - 6.63 = 0.34 < 0.60 (R_2) \end{aligned}$$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.3.3 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de *Salmonella* spp. en lodos tratados con amoníaco y diferentes temperaturas

Hipótesis planteadas:

Para las temperaturas:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, no existen diferencias en todas las temperaturas empleadas.

H_1 : al menos una $\tau_i \neq 0$

Para las dosis de NH_3 :

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 0$ no existe diferencia en todas las dosis de amoníaco utilizadas

H_1 : al menos un $\beta_j \neq 0$...

Para la interacción entre los dos factores (temperatura y dosis de NH_3):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las temperaturas y dosis de amoníaco utilizadas.

H_1 : al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

La variable de respuesta utilizada en el experimento fue la inactivación de *Salmonella* spp. misma que sirvió para realizar el análisis de varianza correspondiente, los resultados se presentan en las Tabla 9.15 y Tabla 9.16.

Tabla 9.15 Inactivación de *Salmonella* spp. obtenida en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH_3 y diferentes temperaturas

Temperatura (factor A)	B dosis de NH_3 (factor B)				Y _{i.}
	10%		20%		
20 °C	3.70	3.34	5.22	4.68	24.63
	3.01		4.68		
30 °C	3.70	3.50	5.22	4.68	25.28
	3.50		4.68		
40 °C	5.22	4.68	5.22	4.68	29.15
	4.68		4.68		
50 °C	5.22	4.68	5.22	4.68	29.15
	4.68		4.68		
Y _{.j.}	49.90		58.30		Y... = 108.21

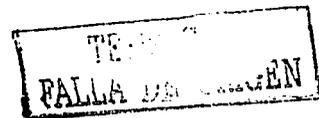


Tabla 9.16 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de *Salmonella spp.* en lodos tratados con 10 y 20% de NH_3 y diferentes temperaturas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos A (Temp.)	2.97	3	0.99	10.90
Tratamientos B (Dosis)	2.94	1	2.94	32.32
Interacción AB	2.97	3	0.99	10.90
Error	1.45	16	0.09	
Total	10.34	23.00		

Los resultados del análisis de varianza demostraron que el valor crítico F fue $F_{.05,3,16} = 3.24$, mucho menor que el $F_0 = 10.90$ resultante, por lo que, al igual que en el primer caso, debe rechazarse la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ y aceptarse la hipótesis alterna $H_1: \tau_i \neq 0$. Los resultados también presentaron un efecto importante de la dosis de amoníaco. Además, la interacción AB resultó también significativa ($F_0 = 10.90 > F_{.05,3,16} = 3.24$) y por lo tanto deben aceptarse las hipótesis alternas para las dosis ($\beta_j \neq 0$) y las interacciones ($(\tau\beta)_{ij} \neq 0$).

9.3.4 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la inactivación de *Salmonella spp.* a diferentes temperaturas

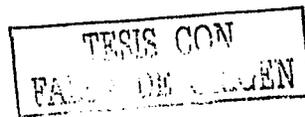
En el primer caso se fijó el factor B, dosis de NH_3 , en 10% y se comparó con las diferentes temperaturas; posteriormente, se fijó la dosis en 20% y de igual forma se realizaron las comparaciones entre las medias de los tratamientos.

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 10%.

Los promedios de las cuatro temperaturas fueron organizados en orden ascendente.

$$\begin{aligned} \bar{Y}_{11} &= 3.35 \\ \bar{Y}_{21} &= 3.57 \\ \bar{Y}_{31} &= 4.86 \\ \bar{Y}_{41} &= 4.86 \end{aligned}$$

El error estándar de los promedios se calculó con los siguientes datos, $MS_E = 0.09$, $N = 24$, $n = 3$ y 16 grados de libertad para el error. Así, $S_{y11} = \sqrt{0.09/3} = 0.17$. Los intervalos significativos fueron, $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$, $r_{.05}(4,16) = 3.23$ y con ellos se estimaron los intervalos mínimos significativos.



$$R_2 = r_{.05}(2,16) S_{yi} = (3.00)(0.17) = 0.51$$

$$R_3 = r_{.05}(3,16) S_{yi} = (3.15)(0.17) = 0.54$$

$$R_4 = r_{.05}(4,16) S_{yi} = (3.23)(0.17) = 0.55$$

Las comparaciones entre los cuatro tratamientos (10% de amoníaco y diferentes temperaturas) quedaron:

- * 4 vs. 1 : $4.86 - 3.35 = 1.51 > 0.55 (R_4)$
- * 4 vs. 2 : $4.86 - 3.57 = 1.29 > 0.54 (R_3)$
- 4 vs. 3 : $4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.51 (R_2)$
- * 3 vs. 1 : $4.86 - 3.35 = 1.51 > 0.54 (R_3)$
- * 3 vs. 2 : $4.86 - 3.57 = 1.29 > 0.51 (R_2)$
- 2 vs. 1 : $3.57 - 3.35 = 0.22 < 0.51 (R_2)$

*Diferencia significativa entre los tratamientos

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 20%.

La prueba de Duncan se aplicó también fijando el factor B (dosis de NH_3) en su nivel 2 (20% de amoníaco), realizándose las comparaciones entre los tratamientos con diferentes temperaturas. El orden ascendente de los promedios de las cuatro temperaturas fue el siguiente.

$$\bar{Y}_{12} = 4.86$$

$$\bar{Y}_{22} = 4.86$$

$$\bar{Y}_{32} = 4.86$$

$$\bar{Y}_{42} = 4.86$$

Con $MS_E = 0.09$, $N = 24$, $n = 3$ y 16 grados de libertad para el error, el error estándar fue $S_{yi} = \sqrt{0.09/3} = 0.17$. Los intervalos significativos fueron, $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$, $r_{.05}(4,16) = 3.23$ y los intervalos mínimos significativos quedaron:

$$R_2 = r_{.05}(2,16) S_{yi} = (3.00)(0.17) = 0.51$$

$$R_3 = r_{.05}(3,16) S_{yi} = (3.15)(0.17) = 0.54$$

$$R_4 = r_{.05}(4,16) S_{yi} = (3.23)(0.17) = 0.55$$

Las comparaciones fueron las siguientes.

$$4 \text{ vs. } 1 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.55 (R_4)$$

$$4 \text{ vs. } 2 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.54 (R_3)$$

$$4 \text{ vs. } 3 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.51 (R_2)$$

$$3 \text{ vs. } 1 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.54 (R_3)$$

$$3 \text{ vs. } 2 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.51 (R_2)$$

$$2 \text{ vs. } 1 : 4.86 - 4.86 = 0.00 < 0.51 (R_2)$$

9.3.5 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de huevos de helmintos en lodos tratados con amoníaco y diferentes temperaturas

Hipótesis planteadas para este experimento:

Para las temperaturas:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, no existen diferencias en todas las temperaturas probadas

H_1 : al menos un $\tau_i \neq 0$ es decir, al menos un tratamiento es diferente.

Para las dosis de NH_3 :

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_b = 0$ es decir, no existe diferencia en los resultados de todas las dosis de amoníaco utilizadas.

H_1 : al menos una $\beta_j \neq 0$

Para la interacción entre los dos factores (temperatura y dosis de NH_3):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, no existe diferencia en todas las temperaturas y dosis de amoníaco utilizadas.

$H_1: (\tau\beta)_{ij} \neq 0$ Para al menos un i , al menos una de las interacciones propuestas es diferente.

La Tabla 9.17 incluye las eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en todos los tratamientos y la Tabla 9.18 contiene los resultados del análisis de varianza correspondiente.

Tabla 9.17 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con 10 y 20% de NH_3 y diferentes temperaturas

Temperatura (factor A)	B dosis de NH_3 (factor B)				Y _{i..}
	10%		20%		
20 °C	49.44	50.00	66.29	87.50	396.98
	51.25		92.50		
30 °C	48.31	51.25	62.92	75.00	392.49
	58.75		96.25		
40 °C	68.54	73.75	77.53	77.50	459.82
	72.50		90.00		
50 °C	91.01	98.75	99.44	99.69	582.01
	93.75		99.38		
Y.j.	807.30		1023.99		Y... = 1831.30

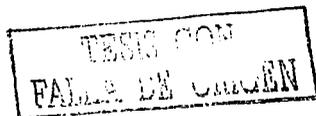


Tabla 9.18 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con 10 y 20% de NH₃ y diferentes temperaturas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos A (Temp.)	3899.60	3	1299.87	17.84
Tratamientos B (Dosis)	1956.42	1	1956.42	26.85
Interacción AB	715.82	3	238.61	3.27
Error	1165.85	16	72.87	
Total	7737.70	23		

Con base en el análisis de varianza se demostró que el valor crítico de F es $F_{0.05,3,16} = 3.24$ y como $F_0 = 17.84$, se corrobora el efecto significativo de la temperatura. La hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ debe ser rechazada y la hipótesis alterna $H_1: \tau_i \neq 0$ (al menos para un tratamiento) debe ser aceptada. Además, el análisis de varianza muestra que existe un efecto significativo de la dosis de amoníaco y de la interacción AB, ya que ambos son > 3.24 .

9.3.6 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la temperatura en la remoción de huevos de helmintos a diferentes temperaturas

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 10%.

El Factor B fue fijado en su nivel 1 (10% de NH₃) y se realizaron las comparaciones entre las cuatro temperaturas. Los promedios para estos tratamientos fueron colocados en orden ascendente.

$\bar{Y}_{11.}$	=	50.23
$\bar{Y}_{21.}$	=	52.77
$\bar{Y}_{31.}$	=	71.60
$\bar{Y}_{41.}$	=	94.50

En este caso se tiene $MS_E = 72.87$, $N = 24$, $n = 3$ y 16 grados de libertad para el error. Por lo que el error estándar se calculó a partir de $S_{y_{i1.}} = \sqrt{72.87/3} = 4.93$. Con $\alpha = 0.05$, los intervalos significativos fueron: $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$, $r_{.05}(4,16) = 3.23$, y los intervalos mínimos significativos fueron los siguientes:

$$R_2 = r_{.05}(2,16) S_{y_{i1.}} = (3.00)(4.93) = 14.79$$

$$R_3 = r_{.05}(3,16) S_{y_{i1.}} = (3.15)(4.93) = 15.52$$

$$R_4 = r_{.05}(4,16) S_{y_{i1.}} = (3.23)(4.93) = 15.92$$

TESIS CON
FALLA DE CUBRIR

Las comparaciones entre los cuatro tratamientos (10% de amoníaco y diferentes temperaturas) quedaron:

$$\begin{array}{ll}
 * & 4 \text{ vs. } 1 : 94.50 - 50.23 = 44.27 > 15.92 (R_4) \\
 * & 4 \text{ vs. } 2 : 94.50 - 52.77 = 41.73 > 15.52 (R_3) \\
 * & 4 \text{ vs. } 3 : 94.50 - 71.60 = 22.90 > 14.79 (R_2) \\
 * & 3 \text{ vs. } 1 : 71.60 - 50.23 = 21.37 > 15.52 (R_3) \\
 * & 3 \text{ vs. } 2 : 71.60 - 52.77 = 18.83 > 14.79 (R_2) \\
 & 2 \text{ vs. } 1 : 52.77 - 50.23 = 2.54 < 14.79 (R_2)
 \end{array}$$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

Prueba de Duncan con el factor B (dosis de amoníaco) fijo en 20%.

Para realizar la prueba de Duncan con los tratamientos con 20% de NH_3 y diferentes temperaturas se organizaron en orden ascendente los promedios obtenidos.

$$\begin{array}{ll}
 \bar{Y}_{22} & = & 78.06 \\
 \bar{Y}_{32} & = & 81.68 \\
 \bar{Y}_{12} & = & 82.10 \\
 \bar{Y}_{42} & = & 99.50
 \end{array}$$

Con $MS_E = 72.87$, $N = 24$, $n = 3$ y 16 grados de libertad para el error, el error estándar se calculó a partir de $S_{y_i2} = \sqrt{72.87/3} = 4.93$, los intervalos significativos fueron: $r_{.05}(2,16) = 3.0$, $r_{.05}(3,16) = 3.15$, $r_{.05}(4,16) = 3.23$ y los intervalos mínimos significativos quedaron:

$$R_2 = r_{.05}(2,16) S_{y_i} = (3.00)(4.93) = 14.79$$

$$R_3 = r_{.05}(3,16) S_{y_i} = (3.15)(4.93) = 15.52$$

$$R_4 = r_{.05}(4,16) S_{y_i} = (3.23)(4.93) = 15.92$$

Las comparaciones fueron las siguientes.

$$\begin{array}{ll}
 * & 4 \text{ vs. } 2 : 99.50 - 78.06 = 21.44 > 15.92 (R_4) \\
 * & 4 \text{ vs. } 3 : 99.50 - 81.68 = 17.82 > 15.52 (R_3) \\
 * & 4 \text{ vs. } 1 : 99.50 - 82.10 = 17.40 > 14.79 (R_2) \\
 & 1 \text{ vs. } 2 : 82.10 - 78.06 = 4.04 < 15.52 (R_3) \\
 & 1 \text{ vs. } 3 : 82.10 - 81.68 = 0.42 < 14.79 (R_2) \\
 & 3 \text{ vs. } 2 : 81.68 - 78.06 = 3.62 < 14.79 (R_2)
 \end{array}$$

* Diferencias significativas entre los tratamientos

9.4 Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la cuarta etapa de experimentación

9.4.1 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados

Las siguientes hipótesis fueron planteadas para la realización del análisis de varianza.

Para las dosis de CaO:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, no existen diferencias en todas las dosis probadas

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i al menos uno de los tratamientos con CaO es diferente.

Para los tipos de sistemas utilizados:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_b = 0$ no existe diferencia en los dos tipos de sistemas utilizados.

$H_1: \beta_j \neq 0$

Para la interacción entre los dos factores (dosis de CaO y tipo de sistema):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, no existe diferencia en todas las dosis de CaO y tipos de sistema.

$H_1: \text{al menos una } (\tau\beta)_{ij} \neq 0$

El diseño factorial propuesto produjo los resultados presentados en la Tabla 9.19, Así mismo, la Tabla 9.20 muestra el análisis de varianza correspondiente.

Tabla 9.19 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Dosis de CaO (factor A)	Tipo de sistema (factor B)				Y _{i..}
	Abierto		Cerrado		
5%	1.05	1.68	2.74	3.68	11.89
	0.59		2.16		
10%	3.66	3.66	4.27	4.27	20.63
	1.76		3.00		
15%	4.58	4.33	5.56	5.33	27.12
	3.16		4.16		
20%	5.56	6.16	7.74	7.33	35.46
	4.08		4.59		
30%	7.56	7.33	7.14	7.33	42.03
	6.33		6.33		
40%	7.56	7.33	7.14	7.33	42.03
	6.33		6.33		
Y_{.j.}	82.73		96.44		Y_{... = 179.17}

Tabla 9.20 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas Abiertos y Cerrados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos A (Dosis)	123.87	5	24.77	32.02
Tratamientos B (Sistema)	5.22	1	5.22	6.75
Interacción AB	4.43	5	0.89	1.14
Error	18.57	24	0.77	
Total	152.09	35		

Como producto del análisis de varianza realizado, puede concluirse que la dosis de CaO es significativa en la inactivación de coliformes fecales, ya que $F_{0.05,5,24} = 2.62$. También, el factor B (tipo de sistema) tiene un efecto significativo en el proceso y por lo tanto, deben rechazarse todas las hipótesis nulas (H_0) realizadas, excepto la hipótesis para la interacción.

9.4.2 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de evaluación de la inactivación de coliformes fecales en la estabilización con cal

Prueba de Duncan con el factor B (tipo de sistema) fijo en "abierto"

La prueba se aplicó a los tratamientos realizados fijando el factor B en su nivel 1 (sistema abierto). El orden ascendente de los tratamientos fue el siguiente.

$\bar{Y}_{11.}$	=	1.11
$\bar{Y}_{21.}$	=	3.03
$\bar{Y}_{31.}$	=	4.02
$\bar{Y}_{41.}$	=	5.27
$\bar{Y}_{51.}$	=	7.08
$\bar{Y}_{61.}$	=	7.08

El error estándar se calculó con $MS_E = 0.77$, $N = 36$, $n = 3$ y 24 grados de libertad del error. Así, $S_{y_{i1.}} = \sqrt{0.77/3} = 0.51$. Los intervalos significativos fueron $r_{.05}(2,24) = 2.93$, $r_{.05}(3,24) = 3.08$, $r_{.05}(4,24) = 3.17$, $r_{.05}(5,24) = 3.23$ y $r_{.05}(6,24) = 3.29$ y los intervalos mínimos significativos fueron los siguientes:

$$R_2 = r_{.05}(2,24) S_{y_{i1.}} = (2.93)(0.51) = 1.48$$

$$R_3 = r_{.05}(3,24) S_{y_{i1.}} = (3.08)(0.51) = 1.56$$

$$R_4 = r_{.05}(4,24) S_{y_i} = (3.17)(0.51) = 1.61$$

$$R_5 = r_{.05}(5,24) S_{y_i} = (3.23)(0.51) = 1.64$$

$$R_6 = r_{.05}(6,24) S_{y_i} = (3.29)(0.51) = 1.67$$

Las comparaciones entre los cuatro tratamientos (10% de amoniaco y diferentes temperaturas) quedaron:

*	6 vs. 1 : $7.08 - 1.11 = 5.97 > 1.67 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $7.08 - 3.03 = 4.05 > 1.64 (R_5)$
*	6 vs. 3 : $7.08 - 4.02 = 3.06 > 1.61 (R_4)$
*	6 vs. 4 : $7.08 - 5.27 = 1.81 > 1.56 (R_3)$
	6 vs. 5 : $7.08 - 7.08 = 0.00 < 1.48 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $7.08 - 1.11 = 5.97 > 1.64 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $7.08 - 3.03 = 4.05 > 1.61 (R_4)$
*	5 vs. 3 : $7.08 - 4.02 = 3.06 > 1.56 (R_3)$
*	5 vs. 4 : $7.08 - 5.27 = 1.81 > 1.48 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $5.27 - 1.11 = 4.16 > 1.61 (R_4)$
*	4 vs. 2 : $5.27 - 3.03 = 2.24 > 1.56 (R_3)$
	4 vs. 3 : $5.27 - 4.02 = 1.25 < 1.48 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $4.02 - 1.11 = 2.91 > 1.56 (R_3)$
	3 vs. 2 : $4.02 - 3.03 = 0.99 < 1.48 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $3.03 - 1.11 = 1.92 > 1.48 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

Prueba de Duncan con el factor B (tipo de sistema) fijo en “cerrado”.

La prueba de Duncan se aplicó también a los tratamientos realizados en sistemas cerrados. Los promedios de los tratamientos en orden ascendente fueron:

$\bar{Y}_{12.}$	=	2.86
$\bar{Y}_{22.}$	=	3.85
$\bar{Y}_{32.}$	=	5.02
$\bar{Y}_{42.}$	=	6.55
$\bar{Y}_{52.}$	=	6.93
$\bar{Y}_{62.}$	=	6.93

Al igual que en el caso anterior $S_{y_{i2}} = \sqrt{0.77/3} = 0.51$. Los intervalos significativos fueron $r_{.05}(2,24) = 2.93$, $r_{.05}(3,24) = 3.08$, $r_{.05}(4,24) = 3.17$, $r_{.05}(5,24) = 3.23$ y $r_{.05}(6,24) = 3.29$ y los intervalos mínimos significativos fueron:

$$R_2 = r_{.05}(2,24) S_{y_i} = (2.93)(0.51) = 1.48$$

$$R_3 = r_{.05}(3,24) S_{y_i} = (3.08)(0.51) = 1.56$$

$$R_4 = r_{.05}(4,24) S_{yi} = (3.17)(0.51) = 1.61$$

$$R_5 = r_{.05}(5,24) S_{yi} = (3.23)(0.51) = 1.64$$

$$R_6 = r_{.05}(6,24) S_{yi} = (3.29)(0.51) = 1.67$$

Las comparaciones entre los tratamientos (sistema cerrado y diferentes dosis de cal) fueron las siguientes.

*	6 vs. 1 : $6.93 - 2.86 = 4.07 > 1.67 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $6.93 - 3.85 = 3.08 > 1.64 (R_5)$
*	6 vs. 3 : $6.93 - 5.02 = 1.91 > 1.61 (R_4)$
	6 vs. 4 : $6.93 - 6.55 = 0.38 < 1.56 (R_3)$
	6 vs. 5 : $6.93 - 6.93 = 0.00 < 1.48 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $6.93 - 2.86 = 4.07 > 1.64 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $6.93 - 3.85 = 3.08 > 1.61 (R_4)$
*	5 vs. 3 : $6.93 - 5.02 = 1.91 > 1.56 (R_3)$
	5 vs. 4 : $6.93 - 6.55 = 0.38 < 1.48 (R_2)$
*	4 vs. 1 : $6.55 - 2.86 = 3.69 > 1.61 (R_4)$
*	4 vs. 2 : $6.55 - 3.85 = 2.70 > 1.56 (R_3)$
*	4 vs. 3 : $6.55 - 5.02 = 1.53 > 1.48 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $5.02 - 2.86 = 2.16 > 1.56 (R_3)$
	3 vs. 2 : $5.02 - 3.85 = 1.17 < 1.48 (R_2)$
	2 vs. 1 : $3.85 - 2.86 = 0.99 < 1.48 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.4.3 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de *Salmonella spp.* en lodos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados

Para realizar el análisis estadístico de los resultados, se realizó el planteamiento de las hipótesis siguientes.

Para las Dosis de CaO:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existen diferencias en todas las dosis de CaO.

$H_1: \text{al menos una dosis es diferente, } \tau_i \neq 0.$

Para los tipos de sistemas utilizados:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_b = 0$ es decir, no existe diferencia en los resultados de los dos tipos de sistemas utilizados.

$H_1: \beta_j \neq 0$ Para al menos un j Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (dosis de CaO y tipo de sistema):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, no existe diferencia en todas las dosis de CaO y tipos de sistema utilizados.

H_1 : al menos una es diferente $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$.

Para evaluar el diseño factorial propuesto se utilizó la inactivación de *Salmonella spp.* como variable de respuesta, la Tabla 9.21 muestra los resultados obtenidos. Además, en la Tabla 9.22 se muestran los resultados del análisis de varianza.

Tabla 9.21 Inactivación de *Salmonella spp.* obtenida en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en ambos sistemas

Dosis de CaO (factor A)	Tipo de sistema (factor B)				Yi..
	Abierto		Cerrado		
5%	1.34	2.08	2.78	3.43	13.69
	1.33		2.73		
10%	3.58	3.58	4.28	4.28	21.95
	2.73		3.51		
15%	2.78	3.98	4.88	5.68	25.81
	3.60		4.90		
20%	4.88	5.68	4.88	5.68	30.91
	4.90		4.90		
30%	4.88	5.68	4.88	5.68	30.91
	4.90		4.90		
40%	4.88	5.68	4.88	5.68	30.91
	4.90		4.90		
Y.j.	71.36		82.82		Y ... = 154.18

Tabla 9.22 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de *Salmonella spp.* en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en ambos sistemas

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos A (Dosis)	39.95	5	7.99	36.78
Tratamientos B (Sistema)	3.65	1	3.65	16.79
Interacción AB	4.39	5	0.88	4.04
Error	5.21	24	0.22	
Total	53.21	35		

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados indican que tanto la dosis de CaO como la interacción entre las dosis probadas y el tipo de sistema son significativos en la inactivación de *Salmonella spp.* ya que $F_{.05,5,24} = 2.62$ y los resultados de F_0 en ambos casos son superiores. De igual forma, el tipo de sistema utilizados en la estabilización tiene un efecto significativo ($16.79 > 2.62$). Por lo tanto, se aceptan todas las hipótesis alternas (H_1) planteadas.

9.4.4 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de inactivación de *Salmonella spp.* en la estabilización con cal

Prueba de Duncan con el factor B (tipo de sistema) fijo en “abierto”

El Factor B se fijó en su nivel 1 (sistema abierto) y las medias de los tratamientos con diferente dosis de CaO en orden ascendente fueron:

$\bar{Y}_{11.}$	=	1.58
$\bar{Y}_{21.}$	=	3.30
$\bar{Y}_{31.}$	=	3.45
$\bar{Y}_{41.}$	=	5.15
$\bar{Y}_{51.}$	=	5.15
$\bar{Y}_{61.}$	=	5.15

El error estándar se calculó con $MS_E = 15.77$, $N = 36$, $n = 3$ y 24 grados de libertad para el error. $S_{y_{i1.}} = \sqrt{0.22/3} = 0.27$. Los intervalos significativos fueron $r_{.05(2,24)} = 2.93$, $r_{.05(3,24)} = 3.08$, $r_{.05(4,24)} = 3.17$, $r_{.05(5,24)} = 3.23$ y $r_{.05(6,24)} = 3.29$. Los intervalos mínimos significativos del ejercicio fueron:

$$R_2 = r_{.05(2,24)} S_{y_{i1.}} = (2.93)(0.27) = 0.79$$

$$R_3 = r_{.05(3,24)} S_{y_{i1.}} = (3.08)(0.27) = 0.83$$

$$R_4 = r_{.05(4,24)} S_{y_{i1.}} = (3.17)(0.27) = 0.86$$

$$R_5 = r_{.05(5,24)} S_{y_{i1.}} = (3.23)(0.27) = 0.87$$

$$R_6 = r_{.05(6,24)} S_{y_{i1.}} = (3.29)(0.27) = 0.89$$

Una vez calculados los intervalos mínimos significativos, se procedió a realizar las comparaciones entre las medias de los tratamientos en sistemas abiertos, los resultados fueron los siguientes.

*	6 vs. 1 : $5.15 - 1.58 = 3.57 > 0.89 (R_6)$
*	6 vs. 2 : $5.15 - 3.30 = 1.85 > 0.87 (R_5)$
*	6 vs. 3 : $5.15 - 3.45 = 1.70 > 0.86 (R_4)$
	6 vs. 4 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.83 (R_3)$
	6 vs. 5 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.79 (R_2)$
*	5 vs. 1 : $5.15 - 1.58 = 3.57 > 0.87 (R_5)$
*	5 vs. 2 : $5.15 - 3.30 = 1.85 > 0.86 (R_4)$

- * 5 vs. 3 : $5.15 - 3.45 = 1.70 > 0.83 (R_3)$
- 5 vs. 4 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.79 (R_2)$
- * 4 vs. 1 : $5.15 - 1.58 = 3.57 > 0.86 (R_4)$
- * 4 vs. 2 : $5.15 - 3.30 = 1.85 > 0.83 (R_3)$
- * 4 vs. 3 : $5.15 - 3.45 = 1.70 > 0.79 (R_2)$
- * 3 vs. 1 : $3.45 - 1.58 = 1.87 > 0.83 (R_3)$
- 3 vs. 2 : $3.45 - 3.30 = 0.15 < 0.79 (R_2)$
- * 2 vs. 1 : $3.30 - 1.58 = 1.72 > 0.79 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

Prueba de Duncan con el factor B (tipo de sistema) fijo en "cerrado".

La prueba de Duncan para el nivel del factor sistema en "cerrado" se realizó también ordenando de forma ascendente las medias de los tratamientos.

$\bar{Y}_{12.}$	=	2.98
$\bar{Y}_{22.}$	=	4.02
$\bar{Y}_{32.}$	=	5.15
$\bar{Y}_{42.}$	=	5.15
$\bar{Y}_{52.}$	=	5.15
$\bar{Y}_{62.}$	=	5.15

El error estándar fue el mismo del caso anterior ($S_{yil} = \sqrt{0.22/3} = 0.27$), al igual que los intervalos significativos: $r_{.05}(2,24) = 2.93$, $r_{.05}(3,24) = 3.08$, $r_{.05}(4,24) = 3.17$, $r_{.05}(5,24) = 3.23$ y $r_{.05}(6,24) = 3.29$. Los intervalos mínimos significativos del ejercicio fueron:

$$R_2 = r_{.05}(2,24) S_{yil} = (2.93)(0.27) = 0.79$$

$$R_3 = r_{.05}(3,24) S_{yil} = (3.08)(0.27) = 0.83$$

$$R_4 = r_{.05}(4,24) S_{yil} = (3.17)(0.27) = 0.86$$

$$R_5 = r_{.05}(5,24) S_{yil} = (3.23)(0.27) = 0.87$$

$$R_6 = r_{.05}(6,24) S_{yil} = (3.29)(0.27) = 0.89$$

Las comparaciones con sistemas cerrados fueron:

- * 6 vs. 1 : $5.15 - 2.98 = 2.17 > 0.89 (R_6)$
- * 6 vs. 2 : $5.15 - 4.02 = 1.13 > 0.87 (R_5)$
- 6 vs. 3 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.86 (R_4)$
- 6 vs. 4 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.83 (R_3)$
- 6 vs. 5 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.79 (R_2)$
- * 5 vs. 1 : $5.15 - 2.98 = 2.17 > 0.87 (R_5)$
- * 5 vs. 2 : $5.15 - 4.02 = 1.13 > 0.86 (R_4)$
- 5 vs. 3 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.83 (R_3)$
- 5 vs. 4 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.79 (R_2)$
- * 4 vs. 1 : $5.15 - 2.98 = 2.17 > 0.86 (R_4)$

*	4 vs. 2 : $5.15 - 4.02 = 1.13 > 0.83 (R_3)$
	4 vs. 3 : $5.15 - 5.15 = 0.00 < 0.79 (R_2)$
*	3 vs. 1 : $5.15 - 2.98 = 2.17 > 0.83 (R_3)$
*	3 vs. 2 : $5.15 - 4.02 = 1.13 > 0.79 (R_2)$
*	2 vs. 1 : $4.02 - 2.98 = 1.04 > 0.79 (R_2)$

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.4.5 *Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de Huevos de helmintos en todos tratados con CaO en sistemas abiertos y cerrados*

El análisis se realizó a partir de las hipótesis nulas y alternas para ambos factores, así como para la interacción entre ambos.

Para las dosis de CaO:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, todos los tratamientos con diferentes dosis de CaO son iguales.

H_1 : al menos una $\tau_i \neq 0$

Para los tipos de sistemas utilizados:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_n = 0$ es decir, no existe diferencia en los resultados de los dos tipos de sistemas utilizados.

H_1 : al menos un $\beta_j \neq 0$.

Para la interacción entre los dos factores (dosis de CaO y tipo de sistema):

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las dosis de CaO y tipos de sistema utilizados.

H_1 : al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$.

La Tabla 9.23 muestra las eficiencias de remoción obtenidas en cada uno de los tratamientos realizados, dichos valores fueron considerados como variables de respuesta del experimento. El análisis de varianza se presenta en la Tabla 9.24.

Tabla 9.23 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con diferentes dosis de CaO en sistemas abiertos y cerrados

Dosis de CaO (factor A)	Tipo de sistema (factor B)				Y _{i..}
	Abierto		Cerrado		
5%	56.73	37.10	57.69	38.71	303.69
	56.73		56.73		
10%	72.12	56.45	81.73	66.13	428.35
	69.23		82.69		
15%	75.00	69.35	82.69	90.32	484.68
	78.85		88.46		
20%	68.27	82.26	81.73	90.32	504.31
	89.42		92.31		
30%	86.54	91.94	87.50	93.55	540.29
	91.35		89.42		
40%	86.54	91.94	86.54	91.94	540.60
	91.35		92.31		
Y.j.	1351.15		1450.78		Y ... = 2801.92

Tabla 9.24 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con diferentes dosis de CaO en sistemas Abiertos y Cerrados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos A (Dosis)	6776.19	5	1355.24	26.14
Tratamientos B (Sistema)	275.71	1	275.71	5.32
Interacción AB	247.91	5	49.58	0.96
Error	1244.52	24	51.85	
Total	9187.40	35		

Los resultados indican que los factores A y B (Dosis de CaO y tipo de sistema) tienen efectos significativos en la remoción de huevos de helminto, esto debido a que $F_0 = 26.14 > F_{0.05,5,24} = 2.62$ y $F_0 = 5.32 > F_{0.05,5,24} = 2.62$. En este caso, la interacción entre los dos factores A y B resultó menor al valor de $F_{0.05,5,24} = 2.62$. Por lo que se deben aceptar las hipótesis alternas para los factores A y B y rechazar la hipótesis alterna para la interacción entre los factores.

9.5 Análisis estadístico para los resultados obtenidos de la quinta etapa de experimentación

9.5.1 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de coliformes fecales en lodos tratados con CaO y recirculación de amoníaco

A partir de la siguiente hipótesis se realizó el análisis estadístico de los resultados:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$, no existe diferencia en todos los tratamientos con recirculación de NH_3 .

H_1 : al menos un $\tau_i \neq 0$.

El experimento unifactorial por bloques tuvo como variable de respuesta la inactivación de coliformes fecales, la Tabla 9.25 presenta los valores obtenidos en todos los tratamientos. Con base en los resultados obtenidos se construyó la Tabla 9.26 que presenta los resultados del análisis de varianza realizado.

Tabla 9.25 Inactivación de coliformes fecales obtenidas en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH_3

Dosis de CaO/ NH_3 (Factor)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
5/5	3.78	0.77	0.77	5.31
5/10	5.33	2.18	2.59	10.09
5/15	5.99	4.75	4.75	15.49
10/5	5.66	3.77	3.59	13.01
10/10	8.66	5.15	5.15	18.95
10/15	8.66	5.45	5.45	19.55
15/5	6.78	5.15	5.15	17.08
15/10	8.66	6.85	6.85	22.35
15/15	8.66	6.85	6.85	22.35
20/5	6.92	5.45	5.45	17.81
20/10	8.66	6.85	6.85	22.35
20/15	8.66	6.85	6.85	22.35
$Y_{.j}$	86.41	60.02	60.26	$Y_{..} = 206.69$

FALLA DE ORIGEN

Tabla 9.26 Análisis de varianza para el experimento de inactivación de coliformes fecales con diferentes dosis de CaO/NH₃

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos (Dosis de CaO/NH ₃)	109.07	11	9.92	50.18
Bloques (semanas)	38.32	2	19.16	
Error	4.35	22	0.20	
Total	151.74	35.00		

De los resultados mostrados, se concluye que el factor dosis de Ca/NH₃ es significativo en la inactivación de coliformes fecales, esto debido a que $F_0 = 50.18 > F_{0.05,11,22} = 2.27$. Se rechaza la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ y se acepta la hipótesis alterna $\tau_1 \neq 0$.

9.5.2 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de coliformes fecales en la estabilización de lodos con cal y amoníaco

Los promedios de los tratamientos se ordenaron en orden ascendente:

\bar{Y}_1	=	1.77
\bar{Y}_2	=	3.36
\bar{Y}_4	=	4.34
\bar{Y}_3	=	5.16
\bar{Y}_7	=	5.69
\bar{Y}_{10}	=	5.94
\bar{Y}_5	=	6.32
\bar{Y}_6	=	6.52
\bar{Y}_8	=	7.45
\bar{Y}_9	=	7.45
\bar{Y}_{11}	=	7.45
\bar{Y}_{12}	=	7.45

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

De acuerdo con el análisis de varianza, el error estándar se calculó partiendo de que $MS_E = 0.20$, $N = 36$, $n = 3$ y que el error tuvo 22 grados de libertad. Así, $S_{y_i} = \sqrt{0.20/3} = 0.26$, los intervalos significativos fueron: $r_{.05}(2,22) = 2.94$, $r_{.05}(3,22) = 3.09$, $r_{.05}(4,22) = 3.17$, $r_{.05}(5,22) = 3.24$, $r_{.05}(6,22) = 3.29$, $r_{.05}(7,22) = 3.33$, $r_{.05}(8,22) = 3.35$, $r_{.05}(9,22) = 3.37$, $r_{.05}(10,22) = 3.39$, $r_{.05}(11,22) = 3.40$, $r_{.05}(12,22) = 3.41$. Así, los intervalos mínimos significativos fueron:

$$\begin{aligned}
R_2 &= r_{.05}(2,22) & S_{yi} &= (2.94)(0.26) = 0.76 \\
R_3 &= r_{.05}(3,22) & S_{yi} &= (3.09)(0.26) = 0.80 \\
R_4 &= r_{.05}(4,22) & S_{yi} &= (3.17)(0.26) = 0.82 \\
R_5 &= r_{.05}(5,22) & S_{yi} &= (3.24)(0.26) = 0.84 \\
R_6 &= r_{.05}(6,22) & S_{yi} &= (3.29)(0.26) = 0.85 \\
R_7 &= r_{.05}(7,22) & S_{yi} &= (3.33)(0.26) = 0.86 \\
R_8 &= r_{.05}(8,22) & S_{yi} &= (3.35)(0.26) = 0.86 \\
R_9 &= r_{.05}(9,22) & S_{yi} &= (3.37)(0.26) = 0.87 \\
R_{10} &= r_{.05}(10,22) & S_{yi} &= (3.39)(0.26) = 0.88 \\
R_{11} &= r_{.05}(11,22) & S_{yi} &= (3.40)(0.26) = 0.88 \\
R_{12} &= r_{.05}(12,22) & S_{yi} &= (3.41)(0.26) = 0.89
\end{aligned}$$

Las comparaciones entre los tratamientos quedaron de la siguiente forma:

*	12 vs. 1 :	7.45 - 1.77 = 5.68	> 0.89	(R ₁₂)
*	12 vs. 2 :	7.45 - 3.36 = 4.09	> 0.88	(R ₁₁)
*	12 vs. 4 :	7.45 - 4.34 = 3.11	> 0.88	(R ₁₀)
*	12 vs. 3 :	7.45 - 5.16 = 2.29	> 0.87	(R ₉)
*	12 vs. 7 :	7.45 - 5.69 = 1.76	> 0.86	(R ₈)
*	12 vs. 10 :	7.45 - 5.94 = 1.51	> 0.86	(R ₇)
*	12 vs. 5 :	7.45 - 6.32 = 1.13	> 0.85	(R ₆)
*	12 vs. 6 :	7.45 - 6.52 = 0.93	> 0.84	(R ₅)
	12 vs. 8 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.82	(R ₄)
	12 vs. 9 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.80	(R ₃)
	12 vs. 11 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.76	(R ₂)
*	11 vs. 1 :	7.45 - 1.77 = 5.68	> 0.88	(R ₁₁)
*	11 vs. 2 :	7.45 - 3.36 = 4.09	> 0.88	(R ₁₀)
*	11 vs. 4 :	7.45 - 4.34 = 3.11	> 0.87	(R ₉)
*	11 vs. 3 :	7.45 - 5.16 = 2.29	> 0.86	(R ₈)
*	11 vs. 7 :	7.45 - 5.69 = 1.76	> 0.86	(R ₇)
*	11 vs. 10 :	7.45 - 5.94 = 1.51	> 0.85	(R ₆)
*	11 vs. 5 :	7.45 - 6.32 = 1.13	> 0.84	(R ₅)
*	11 vs. 6 :	7.45 - 6.52 = 0.93	> 0.82	(R ₄)
	11 vs. 8 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.80	(R ₃)
	11 vs. 9 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.76	(R ₂)
*	9 vs. 1 :	7.45 - 1.77 = 5.68	> 0.88	(R ₁₀)
*	9 vs. 2 :	7.45 - 3.36 = 4.09	> 0.87	(R ₉)
*	9 vs. 4 :	7.45 - 4.34 = 3.11	> 0.86	(R ₈)
*	9 vs. 3 :	7.45 - 5.16 = 2.29	> 0.86	(R ₇)
*	9 vs. 7 :	7.45 - 5.69 = 1.76	> 0.85	(R ₆)
*	9 vs. 10 :	7.45 - 5.94 = 1.51	> 0.84	(R ₅)
*	9 vs. 5 :	7.45 - 6.32 = 1.13	> 0.82	(R ₄)
*	9 vs. 6 :	7.45 - 6.52 = 0.93	> 0.80	(R ₃)
	9 vs. 8 :	7.45 - 7.45 = 0.0	< 0.76	(R ₂)
*	8 vs. 1 :	7.45 - 1.77 = 5.68	> 0.87	(R ₉)
*	8 vs. 2 :	7.45 - 3.36 = 4.09	> 0.86	(R ₈)

*	8 vs. 4 :	$7.45 - 4.34 = 3.11 > 0.86$	(R ₇)
*	8 vs. 3 :	$7.45 - 5.16 = 2.29 > 0.85$	(R ₆)
*	8 vs. 7 :	$7.45 - 5.69 = 1.76 > 0.84$	(R ₅)
*	8 vs. 10 :	$7.45 - 5.94 = 1.51 > 0.82$	(R ₄)
*	8 vs. 5 :	$7.45 - 6.32 = 1.13 > 0.80$	(R ₃)
*	8 vs. 6 :	$7.45 - 6.52 = 0.93 > 0.76$	(R ₂)
*	6 vs. 1 :	$6.52 - 1.77 = 4.75 > 0.86$	(R ₈)
*	6 vs. 2 :	$6.52 - 3.36 = 3.16 > 0.86$	(R ₇)
*	6 vs. 4 :	$6.52 - 4.34 = 2.18 > 0.85$	(R ₆)
*	6 vs. 3 :	$6.52 - 5.16 = 1.36 > 0.84$	(R ₅)
*	6 vs. 7 :	$6.52 - 5.69 = 0.83 > 0.82$	(R ₄)
*	6 vs. 10 :	$6.52 - 5.94 = 0.58 < 0.80$	(R ₃)
*	6 vs. 5 :	$6.52 - 6.32 = 0.20 < 0.76$	(R ₂)
*	5 vs. 1 :	$6.32 - 1.77 = 4.54 > 0.86$	(R ₇)
*	5 vs. 2 :	$6.32 - 3.36 = 2.96 > 0.85$	(R ₆)
*	5 vs. 4 :	$6.32 - 4.34 = 1.98 > 0.84$	(R ₅)
*	5 vs. 3 :	$6.32 - 5.16 = 1.16 > 0.82$	(R ₄)
*	5 vs. 7 :	$6.32 - 5.69 = 0.63 < 0.80$	(R ₃)
*	5 vs. 10 :	$6.32 - 5.94 = 0.38 < 0.76$	(R ₂)
*	10 vs. 1 :	$5.94 - 1.77 = 4.17 > 0.85$	(R ₆)
*	10 vs. 2 :	$5.94 - 3.36 = 2.58 > 0.84$	(R ₅)
*	10 vs. 4 :	$5.94 - 4.34 = 1.60 > 0.82$	(R ₄)
*	10 vs. 3 :	$5.94 - 5.16 = 0.78 < 0.80$	(R ₃)
*	10 vs. 7 :	$5.94 - 5.69 = 0.25 < 0.76$	(R ₂)
*	7 vs. 1 :	$5.69 - 1.77 = 3.92 > 0.84$	(R ₅)
*	7 vs. 2 :	$5.69 - 3.36 = 2.33 > 0.82$	(R ₄)
*	7 vs. 4 :	$5.69 - 4.34 = 1.35 > 0.80$	(R ₃)
*	7 vs. 3 :	$5.69 - 5.16 = 0.53 < 0.76$	(R ₂)
*	3 vs. 1 :	$5.16 - 1.77 = 3.39 > 0.82$	(R ₄)
*	3 vs. 2 :	$5.16 - 3.36 = 1.80 > 0.80$	(R ₃)
*	3 vs. 4 :	$5.16 - 4.34 = 0.82 > 0.76$	(R ₂)
*	4 vs. 1 :	$4.34 - 1.77 = 2.57 > 0.80$	(R ₃)
*	4 vs. 2 :	$4.34 - 3.36 = 0.98 > 0.76$	(R ₂)
*	2 vs. 1 :	$3.36 - 1.77 = 1.59 > 0.76$	(R ₂)

• Diferencia significativa entre los tratamientos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

9.5.3 Análisis estadístico para las pruebas de inactivación de *Salmonella spp.* en lodos tratados con CaO y recirculación de amoníaco

El análisis estadístico partió de las hipótesis siguientes.

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con recirculación de NH_3 .

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

La inactivación de *Salmonella spp.* fue la variable de respuesta del experimento unifactorial por bloques aleatorizados utilizado (ver Tabla 9.27). Por su parte, la Tabla 9.28 contiene el análisis de varianza obtenido.

Tabla 9.27 Inactivación de *Salmonella spp.* obtenida en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH_3

Dosis de CaO/ NH_3 (Efectos)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
5/5	0.00	0.00	0.00	0.00
5/10	2.28	1.22	1.22	4.71
5/15	4.36	2.50	2.50	9.36
10/5	6.36	5.06	5.06	16.48
10/10	4.36	2.74	3.16	10.26
10/15	6.36	5.06	5.06	16.48
15/5	6.36	5.06	5.06	16.48
15/10	6.36	5.06	5.06	16.48
15/15	6.36	5.06	5.06	16.48
20/5	6.36	5.06	5.06	16.48
20/10	6.36	5.06	5.06	16.48
20/15	6.36	5.06	5.06	16.48
$Y_{.j}$	68.26	52.00	52.42	$Y_{..} = 172.68$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 9.28 Análisis de varianza para el experimento inactivación de *Salmonella* spp. con diferentes dosis de CaO/NH₃

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
Tratamientos (Dosis de CaO/NH ₃)	58.48	11	5.32	359.36
Bloques (semanas)	14.32	2	7.16	
Error	0.33	22	0.01	
Total	73.13	35.00		

Es claro que el factor dosis de CaO/NH₃ tiene un efecto significativo en la remoción de *Salmonella* spp. ya que $F_0 = 359.36 > F_{0.05, 11, 22} = 2.27$, por lo tanto, debe rechazarse la hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ y aceptarse la hipótesis alterna $\tau_1 \neq 0$. Los resultados también indican que existen diferencias entre los promedios de los tratamientos, la prueba de intervalos de Duncan (punto 9.5.4 del Anexo B) se realizó para determinar las diferencias existentes.

9.5.4 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de *Salmonella* spp. en la estabilización de lodos con cal y amoníaco

Se aplicó ordenando ascendentemente los promedios de cada tratamiento:

\bar{Y}_1	=	1.57
\bar{Y}_2	=	3.12
\bar{Y}_4	=	3.42
\bar{Y}_3	=	5.49
\bar{Y}_5	=	5.49
\bar{Y}_6	=	5.49
\bar{Y}_7	=	5.49
\bar{Y}_8	=	5.49
\bar{Y}_9	=	5.49
\bar{Y}_{10}	=	5.49
\bar{Y}_{11}	=	5.49
\bar{Y}_{12}	=	5.49

Tomando en cuenta el análisis de varianza realizado, el error estándar se calculó con $MS_E = 0.01$, $N = 36$, $n = 3$ y que el error tuvo 22 grados de libertad. Así, $S_{y_i} = \sqrt{0.01/3} = 0.06$. Los intervalos significativos quedaron, $r_{.05}(2,22) = 2.94$, $r_{.05}(3,22) = 3.09$, $r_{.05}(4,22) = 3.17$, $r_{.05}(5,22) = 3.24$, $r_{.05}(6,22) = 3.29$, $r_{.05}(7,22) = 3.33$, $r_{.05}(8,22) = 3.35$, $r_{.05}(9,22) = 3.37$, $r_{.05}(10,22) = 3.39$, $r_{.05}(11,22) = 3.40$, $r_{.05}(12,22) = 3.41$. Los intervalos mínimos significativos se calcularon a partir de:

$$\begin{aligned}
 R_2 &= r_{.05}(2,22) & S_{y_i} &= (2.94)(0.06) = 0.17 \\
 R_3 &= r_{.05}(3,22) & S_{y_i} &= (3.09)(0.06) = 0.18 \\
 R_4 &= r_{.05}(4,22) & S_{y_i} &= (3.17)(0.06) = 0.18 \\
 R_5 &= r_{.05}(5,22) & S_{y_i} &= (3.24)(0.06) = 0.19 \\
 R_6 &= r_{.05}(6,22) & S_{y_i} &= (3.29)(0.06) = 0.19 \\
 R_7 &= r_{.05}(7,22) & S_{y_i} &= (3.33)(0.06) = 0.19 \\
 R_8 &= r_{.05}(8,22) & S_{y_i} &= (3.35)(0.06) = 0.19 \\
 R_9 &= r_{.05}(9,22) & S_{y_i} &= (3.37)(0.06) = 0.19 \\
 R_{10} &= r_{.05}(10,22) & S_{y_i} &= (3.39)(0.06) = 0.20 \\
 R_{11} &= r_{.05}(11,22) & S_{y_i} &= (3.40)(0.06) = 0.20 \\
 R_{12} &= r_{.05}(12,22) & S_{y_i} &= (3.41)(0.06) = 0.20
 \end{aligned}$$

Calculados los intervalos mínimos significativos, se realizaron las comparaciones entre los tratamientos, quedando:

*	12 vs. 1 : $5.49 - 1.57 = 3.92 > 0.20$ (R_{12})
*	12 vs. 2 : $5.49 - 3.12 = 2.37 > 0.20$ (R_{11})
*	12 vs. 4 : $5.49 - 3.42 = 2.07 > 0.20$ (R_{10})
	12 vs. 3 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_9)
	12 vs. 5 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_8)
	12 vs. 6 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_7)
	12 vs. 7 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_6)
	12 vs. 8 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_5)
	12 vs. 9 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.18$ (R_4)
	12 vs. 10 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.18$ (R_3)
	12 vs. 11 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.17$ (R_2)
*	11 vs. 1 : $5.49 - 1.57 = 3.92 > 0.20$ (R_{11})
*	11 vs. 2 : $5.49 - 3.12 = 2.37 > 0.20$ (R_{10})
*	11 vs. 4 : $5.49 - 3.42 = 2.07 > 0.19$ (R_9)
	11 vs. 3 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_8)
	11 vs. 5 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_7)
	11 vs. 6 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_6)
	11 vs. 7 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.19$ (R_5)
	11 vs. 8 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.18$ (R_4)
	11 vs. 9 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.18$ (R_3)
	11 vs. 10 : $5.49 - 5.49 = 0.0 < 0.17$ (R_2)
*	10 vs. 1 : $5.49 - 1.57 = 3.92 > 0.20$ (R_{10})
*	10 vs. 2 : $5.49 - 3.12 = 2.37 > 0.19$ (R_9)
*	10 vs. 4 : $5.49 - 3.42 = 2.07 > 0.19$ (R_8)

	10 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₇)
	10 vs. 5 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₆)
	10 vs. 6 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₅)
	10 vs. 7 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₄)
	10 vs. 8 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₃)
	10 vs. 9 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	9 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.19	(R ₉)
*	9 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.19	(R ₈)
*	9 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.19	(R ₇)
	9 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₆)
	9 vs. 5 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₅)
	9 vs. 6 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₄)
	9 vs. 7 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₃)
	9 vs. 8 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	8 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.19	(R ₈)
*	8 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.19	(R ₇)
*	8 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.19	(R ₆)
	8 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.19	(R ₅)
	8 vs. 5 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₄)
	8 vs. 6 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₃)
	8 vs. 7 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	7 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.19	(R ₇)
*	7 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.19	(R ₆)
*	7 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.19	(R ₅)
	7 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₄)
	7 vs. 5 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₃)
	7 vs. 6 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	6 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.19	(R ₆)
*	6 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.19	(R ₅)
*	6 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.19	(R ₄)
	6 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.18	(R ₃)
	6 vs. 5 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	5 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.19	(R ₅)
*	5 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.18	(R ₄)
*	5 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.18	(R ₃)
	5 vs. 3 : 5.49 - 5.49 = 0.0	< 0.17	(R ₂)
*	3 vs. 1 : 5.49 - 1.57 = 3.92	> 0.18	(R ₄)
*	3 vs. 2 : 5.49 - 3.12 = 2.37	> 0.18	(R ₃)
*	3 vs. 4 : 5.49 - 3.42 = 2.07	> 0.17	(R ₂)
*	4 vs. 1 : 3.42 - 1.57 = 1.85	> 0.18	(R ₃)
*	4 vs. 2 : 3.42 - 3.12 = 0.30	> 0.17	(R ₂)
*	2 vs. 1 : 3.12 - 1.57 = 1.55	> 0.17	(R ₂)

* Diferencia significativa entre los tratamientos

9.5.5 Análisis estadístico para las pruebas de remoción de huevos de helmintos en lodos tratados con CaO y recirculación de amoníaco

Las hipótesis planteadas fueron:

H_0 : $\tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ es decir, no existe diferencia en todos los tratamientos con recirculación de NH_3 .

H_1 : al menos una $\tau_i \neq 0$

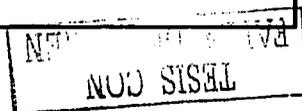
La Tabla 9.29 muestra los resultados de todos los tratamientos. La eficiencia de remoción de huevos de helmintos fue la variable de respuesta del experimento unifactorial utilizado. En la Tabla 9.30 se observan los resultados de análisis de varianza.

Tabla 9.29 Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos de lodos con CaO y recirculación de NH_3

Dosis de CaO/ NH_3 (Factor)	Semanas (bloques)			Y_i
	1	2	3	
5/5	47.22	55.56	49.21	151.98
5/10	59.72	66.67	57.14	183.53
5/15	63.89	66.67	66.67	197.22
10/5	45.83	44.44	39.68	129.96
10/10	61.11	60.32	57.14	178.57
10/15	83.33	79.37	74.60	237.30
15/5	81.94	77.78	73.02	232.74
15/10	84.72	80.95	80.95	246.63
15/15	83.33	87.30	84.13	254.76
20/5	80.56	80.95	82.54	244.05
20/10	91.67	90.48	90.48	272.62
20/15	93.06	92.06	93.65	278.77
$Y_{.j}$	876.39	882.54	849.21	$Y_{..} = 2608.13$

Tabla 9.30 Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos con diferentes dosis de CaO/ NH_3

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
Tratamientos (Dosis de CaO/ NH_3)	8464.57	11	769.51	99.81
Bloques (semanas)	52.44	2	26.22	
Error	169.62	22	7.71	
Total	8686.63	35		



Considerando que $F_0 = 99.81 > F_{.05,11,22} = 2.27$, se concluye que el factor dosis de CaO/NH_3 afecta significativamente la remoción de huevos de helmintos. La hipótesis nula $H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_n = 0$ debe rechazarse y la hipótesis alterna $\tau_1 \neq 0$ debe aceptarse. La existencia de diferencias entre los promedios de los tratamientos hizo necesaria la prueba de intervalos de Duncan.

9.5.6 Determinación de la prueba de intervalos múltiples de Duncan para el experimento de remoción de huevos de helmintos en la estabilización de lodos con cal y amoniaco

La cual se aplicó ordenando ascendentemente los promedios de cada tratamiento:

\bar{Y}_4	=	43.32
\bar{Y}_{11}	=	50.66
\bar{Y}_5	=	59.52
\bar{Y}_2	=	61.18
\bar{Y}_3	=	65.74
\bar{Y}_7	=	77.58
\bar{Y}_6	=	79.10
\bar{Y}_{10}	=	81.35
\bar{Y}_8	=	82.21
\bar{Y}_9	=	84.92
\bar{Y}_{11}	=	90.87
\bar{Y}_{12}	=	92.92

De acuerdo con el análisis de varianza realizado, el error estándar se calculó con $MS_E = 7.71$, $N = 36$, $n = 3$ y 22 grados de libertad para el error. Así, $S_{yi} = \sqrt{7.71/3} = 1.60$. Los intervalos significativos son $r_{.05}(2,22) = 2.94$, $r_{.05}(3,22) = 3.09$, $r_{.05}(4,22) = 3.17$, $r_{.05}(5,22) = 3.24$, $r_{.05}(6,22) = 3.29$, $r_{.05}(7,22) = 3.33$, $r_{.05}(8,22) = 3.35$, $r_{.05}(9,22) = 3.37$, $r_{.05}(10,22) = 3.39$, $r_{.05}(11,22) = 3.40$, $r_{.05}(12,22) = 3.41$. Los intervalos mínimos significativos se presentan a continuación.

$R_2 = r_{.05}(2,22)$	$S_{yi} = (2.94)(1.60) = 4.79$
$R_3 = r_{.05}(3,22)$	$S_{yi} = (3.09)(1.60) = 4.95$
$R_4 = r_{.05}(4,22)$	$S_{yi} = (3.17)(1.60) = 5.08$
$R_5 = r_{.05}(5,22)$	$S_{yi} = (3.24)(1.60) = 5.19$
$R_6 = r_{.05}(6,22)$	$S_{yi} = (3.29)(1.60) = 5.27$
$R_7 = r_{.05}(7,22)$	$S_{yi} = (3.33)(1.60) = 5.34$
$R_8 = r_{.05}(8,22)$	$S_{yi} = (3.35)(1.60) = 5.37$
$R_9 = r_{.05}(9,22)$	$S_{yi} = (3.37)(1.60) = 5.40$
$R_{10} = r_{.05}(10,22)$	$S_{yi} = (3.39)(1.60) = 5.43$

$$R_{11} = r_{.05}(11,22) S_{y_i} = (3.40)(1.60) = 5.45$$

$$R_{12} = r_{.05}(12,22) S_{y_i} = (3.41)(1.60) = 5.47$$

Las comparaciones entre los tratamientos se presentan a continuación.

*	12 vs. 4 : 92.92 - 43.32 = 49.60 > 5.47 (R ₁₂)
*	12 vs. 1 : 92.92 - 50.66 = 42.26 > 5.45 (R ₁₁)
*	12 vs. 5 : 92.92 - 59.52 = 33.40 > 5.43 (R ₁₀)
*	12 vs. 2 : 92.92 - 61.18 = 31.34 > 5.40 (R ₉)
*	12 vs. 3 : 92.92 - 65.74 = 27.18 > 5.37 (R ₈)
*	12 vs. 7 : 92.92 - 77.58 = 15.34 > 5.34 (R ₇)
*	12 vs. 6 : 92.92 - 79.10 = 13.82 > 5.27 (R ₆)
*	12 vs. 10 : 92.92 - 81.35 = 11.57 > 5.19 (R ₅)
*	12 vs. 8 : 92.92 - 82.21 = 10.71 > 5.08 (R ₄)
*	12 vs. 9 : 92.92 - 84.92 = 8.00 > 4.95 (R ₃)
*	12 vs. 11 : 94.75 - 90.87 = 2.05 < 4.79 (R ₂)
*	11 vs. 4 : 90.87 - 43.32 = 47.85 > 5.45 (R ₁₁)
*	11 vs. 1 : 90.87 - 50.66 = 40.21 > 5.43 (R ₁₀)
*	11 vs. 5 : 90.87 - 59.52 = 31.35 > 5.40 (R ₉)
*	11 vs. 2 : 90.87 - 61.18 = 29.69 > 5.37 (R ₈)
*	11 vs. 3 : 90.87 - 65.74 = 25.13 > 5.34 (R ₇)
*	11 vs. 7 : 90.87 - 77.58 = 13.29 > 5.27 (R ₆)
*	11 vs. 6 : 90.87 - 79.10 = 11.77 > 5.19 (R ₅)
*	11 vs. 10 : 90.87 - 81.35 = 9.52 > 5.08 (R ₄)
*	11 vs. 8 : 90.87 - 82.21 = 8.66 > 4.95 (R ₃)
*	11 vs. 9 : 90.87 - 84.92 = 5.95 > 4.79 (R ₂)
*	9 vs. 4 : 84.92 - 43.32 = 41.60 > 5.43 (R ₁₀)
*	9 vs. 1 : 84.92 - 50.66 = 34.26 > 5.40 (R ₉)
*	9 vs. 5 : 84.92 - 59.52 = 25.40 > 5.37 (R ₈)
*	9 vs. 2 : 84.92 - 61.18 = 23.74 > 5.34 (R ₇)
*	9 vs. 3 : 84.92 - 65.74 = 19.18 > 5.27 (R ₆)
*	9 vs. 7 : 84.92 - 77.58 = 7.34 > 5.19 (R ₅)
*	9 vs. 6 : 84.92 - 79.10 = 5.82 > 5.08 (R ₄)
*	9 vs. 10 : 84.92 - 81.35 = 3.57 < 4.95 (R ₃)
*	9 vs. 8 : 84.92 - 82.21 = 2.71 < 4.79 (R ₂)
*	8 vs. 4 : 82.21 - 43.32 = 38.89 > 5.40 (R ₉)
*	8 vs. 1 : 82.21 - 50.66 = 31.55 > 5.37 (R ₈)
*	8 vs. 5 : 82.21 - 59.52 = 22.69 > 5.34 (R ₇)
*	8 vs. 2 : 82.21 - 61.18 = 21.03 > 5.27 (R ₆)
*	8 vs. 3 : 82.21 - 65.74 = 16.47 > 5.19 (R ₅)
*	8 vs. 7 : 82.21 - 77.58 = 4.63 < 5.08 (R ₄)
*	8 vs. 6 : 82.21 - 79.10 = 3.11 < 4.95 (R ₃)
*	8 vs. 10 : 82.21 - 81.35 = 0.86 < 4.79 (R ₂)
*	10 vs. 4 : 81.35 - 43.32 = 38.03 > 5.37 (R ₈)
*	10 vs. 1 : 81.35 - 50.66 = 30.69 > 5.34 (R ₇)
*	10 vs. 5 : 81.35 - 59.52 = 21.83 > 5.27 (R ₆)
*	10 vs. 2 : 81.35 - 61.18 = 20.17 > 5.19 (R ₅)

*	10 vs. 3 : $81.35 - 65.74 = 15.61$	> 5.08	(R ₄)
	10 vs. 7 : $81.35 - 77.58 = 3.77$	< 4.95	(R ₃)
	10 vs. 6 : $81.35 - 79.10 = 2.25$	< 4.79	(R ₂)
*	6 vs. 4 : $79.10 - 43.32 = 35.78$	> 5.34	(R ₇)
*	6 vs. 1 : $79.10 - 50.66 = 28.44$	> 5.27	(R ₆)
*	6 vs. 5 : $79.10 - 59.52 = 19.58$	> 5.19	(R ₅)
*	6 vs. 2 : $79.10 - 61.18 = 17.92$	> 5.08	(R ₄)
*	6 vs. 3 : $79.10 - 65.74 = 13.36$	> 4.95	(R ₃)
	6 vs. 7 : $79.10 - 77.58 = 1.52$	< 4.79	(R ₃)
*	7 vs. 4 : $77.58 - 43.32 = 34.26$	> 5.27	(R ₆)
*	7 vs. 1 : $77.58 - 50.66 = 26.92$	> 5.19	(R ₅)
*	7 vs. 5 : $77.58 - 59.52 = 18.06$	> 5.08	(R ₄)
*	7 vs. 2 : $77.58 - 61.18 = 16.40$	> 4.95	(R ₃)
*	7 vs. 3 : $77.58 - 65.74 = 11.84$	> 4.79	(R ₂)
*	3 vs. 4 : $65.74 - 43.32 = 22.42$	> 5.19	(R ₅)
*	3 vs. 1 : $65.74 - 50.66 = 15.08$	> 5.08	(R ₄)
*	3 vs. 5 : $65.74 - 59.52 = 6.22$	> 4.95	(R ₃)
	3 vs. 2 : $65.74 - 61.18 = 4.56$	< 4.79	(R ₂)
*	2 vs. 4 : $61.18 - 43.32 = 17.86$	> 5.08	(R ₄)
*	2 vs. 1 : $61.18 - 50.66 = 10.52$	> 4.95	(R ₃)
	2 vs. 5 : $61.18 - 59.52 = 1.66$	< 4.79	(R ₂)
*	5 vs. 4 : $59.52 - 43.32 = 16.20$	> 4.95	(R ₃)
*	5 vs. 1 : $59.52 - 50.66 = 8.86$	> 4.79	(R ₂)
*	1 vs. 4 : $50.66 - 43.32 = 7.34$	> 4.79	(R ₂)

* Diferencia significativa entre los tratamientos