



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

01190
1

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA (INGENIERÍA AMBIENTAL)

ESTABILIZACIÓN ÁCIDA DE LODOS DE PLANTAS DE
AGUAS RESIDUALES PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIOSÓLIDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN INGENIERÍA

P R E S E N T A

JOSÉ ANTONIO BARRIOS PÉREZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS

MÉXICO D. F.

2003

UNAM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**A Paola y Daniela por haber cambiado mi vida para siempre.
Las amo con toda mi alma.**

AGRADECIMIENTOS

A Oly por su apoyo y comprensión pero sobre todo por su amor. Te amo.

A mis padres por haberme brindado educación para salir adelante y principalmente su amor. No tengo con que devolverles todo lo que me han dado.

A Froylan mi hermano, por compartir conmigo tantas cosas, esperando seguir así.

A Adriana, Oscar y Diego por estar cerca de mí siempre a pesar de la distancia.

A la Dra. Blanca Jiménez por haberme apoyado siempre en mi desarrollo profesional y por haber logrado convencerme de cumplir esta etapa. Gracias Blanca, estaré eternamente agradecido.

A los miembros de mi jurado doctoral, Dra. Gabriela Moeller, Dra. Rosario Iturbe, Dr. Enrique Cifuentes, Dr. Germán Buitrón, Dr. Oscar Monroy y Dr. Victor Luna, por sus atinados consejos y recomendaciones para enriquecer este trabajo.

A mis verdaderos amigos y amigas, ustedes saben quienes son.

A mi colega, maestro y sobre todo amigo, el Dr. Cleverson Andreoli por sus valiosos consejos y recomendaciones.

A todos mis compañeros y amigos del Grupo Tratamiento y Reúso del Instituto de Ingeniería por haber contribuido de alguna manera con este trabajo. En especial a Abelardo Rodríguez, Alma Chávez, Ana María Castrejón, Antonio González, Ariadna Garibay, Catalina Maya, Elías Becerril, Germán Salgado, Israel González, Jessica Díaz, Juan Manuel Méndez, Judith Ramos, Laura Quezada, Leopoldo Sanabria, Mauricio Velázquez, Miguel Ángel Martínez, Oscar González Peña, y Tania Garcapiña.

A todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido a mi desarrollo profesional, muchas gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de seguir aprendiendo.

Un agradecimiento muy especial por el apoyo brindado al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-proyecto 27770-T), así como a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA UNAM-proyecto INI15798).

INDICE	Página
INDICE.....	i
LISTA DE TABLAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Lodos residuales.....	4
2.2. Generación de lodos.....	5
2.3. Uso de lodos a nivel mundial.....	9
2.4. Calidad de los lodos.....	11
2.5. Remoción de microorganismos en procesos de estabilización.....	15
2.6. Tratamiento ácido.....	19
2.6.1. Estudios del efecto de ácidos en bacterias.....	19
2.6.2. Estudios del efecto de ácidos en otros microorganismos.....	22
2.6.3. Otros estudios.....	24
OBJETIVO.....	26
METAS.....	26
HIPÓTESIS.....	26
3. METODOLOGÍA.....	27
3.1. Etapa I. Evaluación del tipo de ácido.....	27
3.2. Etapa II. Recrecimiento en lodo líquido tratado con ácido acético.....	28
3.3. Etapa III. Determinación del tiempo de contacto en el tratamiento con ácidos acético y peracético.....	29
3.4. Etapa IV. Deshidratación y recrecimiento en lodo tratado con ácidos acético y peracético.....	29
3.5. Etapa V. Solubilización de metales en lodo acidificado.....	29
3.6. Etapa VI. Estabilización de lodo biológico con ácido peracético.....	30
3.7. Etapa VII. Efecto del ácido peracético en huevos de <i>Ascaris suum</i>	30
3.8. Muestreo del lodo residual.....	30
3.8.1. Lodo fisicoquímico.....	30
3.8.2. Lodo biológico.....	31
3.9. Parámetros analíticos.....	32
3.9.1. Potencial hidrógeno (pH).....	32
3.9.2. Sólidos totales (ST).....	32
3.9.3. Sólidos volátiles (SV).....	32
3.9.4. Metales (arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, y zinc)....	33
3.9.5. Coliformes fecales.....	33
3.9.6. <i>Salmonella</i> spp.....	33

3.9.7.	Huevos de helmintos	34
3.9.8.	Resistencia específica a la filtración (REF).....	34
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1.	Etapa I. Evaluación del tipo de ácido.	36
4.1.1.	Resultados de pH.	36
4.1.2.	Coliformes fecales	38
4.1.3.	Huevos de helmintos	43
4.1.4.	Resumen de las eficiencias de destrucción o inactivación de microorganismos y costos del tratamiento con cada ácido.....	46
4.2.	Etapa II. Recrecimiento en lodo líquido tratado con ácido acético.	47
4.2.1.	pH, sólidos totales y volátiles y ácido acético residual.....	47
4.2.2.	Coliformes fecales y <i>Salmonella</i> spp.....	49
4.3.	Etapa III. Determinación del tiempo de contacto en el tratamiento con ácidos acético y peracético.....	52
4.3.1.	Coliformes fecales y <i>Salmonella</i> spp.....	52
4.3.2.	Huevos de helmintos.	54
4.4.	Etapa IV. Deshidratación y recrecimiento en lodo tratado con ácidos acético y peracético.....	56
4.4.1.	Pruebas de resistencia específica a la filtración.....	56
4.4.2.	Recrecimiento.....	59
4.5.	Etapa V. Solubilización de metales en lodo acidificado.	64
4.6.	Etapa VI. Estabilización de lodo biológico con ácido peracético.....	68
4.7.	Etapa VII. Efecto del ácido peracético en huevos de <i>Ascaris suum</i>	72
4.7.1.	Efecto del ácido peracético en los huevos de <i>Ascaris suum</i>	73
5.	CONCLUSIONES.....	76
	REFERENCIAS.....	79
	Anexo I. Información técnica de los ácidos.....	86
	Anexo II. Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.....	88
	Anexo III. Bases de datos.....	135
	Anexo IV. Análisis estadísticos.....	161
	Anexo V. Fotografías de huevos de <i>Ascaris suum</i> dañados con ácido peracético	180
	Anexo VI. Uso de unidades logarítmicas para expresar la concentración de bacterias.....	183
	Anexo VII. Publicaciones generadas por el presente estudio.....	186

LISTA DE TABLAS**Página**

Tabla 2.1 Generación de lodos por diversos procesos de tratamiento de aguas residuales y sequedad de los mismos..	6
Tabla 2.2 Límites microbiológicos establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 y el apartado 503 de la US EPA.	12
Tabla 2.3. Concentración de bacterias y virus en lodos de diferentes países	13
Tabla 2.4. Concentración de quistes de protozoos y huevos de helmintos en lodos de diferentes países.	14
Tabla 2.5. Remoción de diversos microorganismos por distintos procesos de estabilización de lodos	16
Tabla 2.6. Concentraciones estimadas de microorganismos en lodos generados en México mediante procesos de estabilización convencionales.	17
Tabla 2.7. Reducción de <i>Escherichia coli</i> mediante diversos procesos de estabilización.	18
Tabla 2.8. Tiempos de retención requeridos en procesos de digestión para inactivar completamente los huevos de <i>Ascaris</i> .	19
Tabla 2.9. Efectividad de desinfección con luz ultravioleta, ácido peracético y ozono en coliformes totales.	21
Tabla 2.10. Efectividad de la desinfección con luz ultravioleta, ácido peracético (APA) y ozono en parásitos	23
Tabla 2.11. Resumen de estudios que han aplicado ácidos para la destrucción de microorganismos.	25
Tabla 3.1. Tipo de ácido, concentración y dosis empleadas en la estabilización ácida.	28
Tabla 4.1. Resumen de las eficiencias de destrucción de coliformes fecales e inactivación de huevos de helmintos.	46
Tabla 4.2. Dosis mínimas para cumplir con los límites de coliformes fecales y huevos de helmintos del Proy-NOM-004-SEMARNAT-2002 y costos de los ácidos.	47
Tabla 4.3. Características de los polímeros probados en el acondicionamiento del lodo tratado con ácido acético.	56
Tabla 4.4. Concentraciones límite de metales de acuerdo con la norma 503 de la EPA y concentración de metales en lodo crudo	65
Tabla 4.5. Valores de pH en lodo crudo y acidificado para pruebas de solubilización de metales.	66
Tabla 4.6. Resultados de pH, sólidos totales y sólidos volátiles en lodo biológico tratado con ácido peracético.	69
Tabla 4.7. Concentración de huevos de helmintos viables y totales y porcentaje de viabilidad en lodo biológico tratado con ácido peracético.	71

LISTA DE FIGURAS	Página
Figura 2.1. Generación de lodos en México por combinación de procesos de tratamiento ...	7
Figura 2.2. Generación de lodos en países de la Unión Europea.....	8
Figura 2.3. Uso y depósito de lodos en la unión europea y proyección al año 2005.	9
Figura 2.4. Costo del manejo de lodos	11
Figura 3.1. Diagrama de flujo de la planta de San Pedro Atocpan, D.F.....	31
Figura 3.2. Diagrama de flujo de la planta de Cerro de la Estrella, D. F.....	32
Figura 4.1. Comportamiento del pH en muestras acidificadas con acético, peracético, perclórico y sulfúrico.	37
Figura 4.2. Comportamiento de los coliformes fecales en muestras acidificadas con acético, peracético, perclórico y sulfúrico.....	40
Figura 4.3. Comportamiento de los huevos de helmintos en muestras acidificadas con acético, peracético, perclórico y sulfúrico.	44
Figura 4.4. Evaluación de parámetros en lodo tratado con ácido acético pH, sólidos totales, sólidos volátiles y ácido acético residual.....	48
Figura 4.5. Comportamiento de los coliformes fecales en muestras tratadas con ácido acético.....	50
Figura 4.6. Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en muestras tratadas con ácido acético. ...	51
Figura 4.7. Evaluación de la destrucción de coliformes fecales con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.	53
Figura 4.8. Evaluación de la destrucción de <i>Salmonella</i> spp. con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.	54
Figura 4.9. Evaluación de la inactivación de huevos de helmintos con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.	55
Figura 4.10. Resistencia específica a la filtración en lodos acondicionados con ácido acético	57
Figura 4.11. Resistencia específica a la filtración del lodo estabilizado con ácido peracético	59
Figura 4.12. pH en lodo crudo y en los biosólidos tratados con ácidos acético y peracético.	60
Figura 4.13. Evolución de los coliformes fecales y <i>Salmonella</i> spp. en muestras tratadas con ácido acético	61
Figura 4.14. Evolución de los coliformes fecales y <i>Salmonella</i> spp. en muestras tratadas con ácido peracético	62
Figura 4.15. Evolución de huevos de helmintos en muestras tratadas con ácido acético y ácido peracético.	64
Figura 4.16. Solubilización de metales en lodo tratado con ácido acético y peracético.....	67
Figura 4.17. Coliformes fecales en lodo biológico tratado con ácido peracético.....	70
Figura 4.18. Concentración de huevos de helmintos con las distintas dosis de APA.	71
Figura 4.19. Huevos de <i>Ascaris suum</i> tratados con ácido peracético 80 ppm; 170 ppm; 330 ppm; y 500 ppm.....	74

RESUMEN

El reúso de los lodos residuales en actividades agrícolas y de mejoramiento de suelos es una práctica que ha venido cobrando importancia en las 3 últimas décadas, debido a que generalmente representa la alternativa más atractiva en términos económicos y, desde el punto de vista ambiental, la más adecuada, siempre y cuando los lodos sean tratados. Para ello, se han desarrollado estándares de calidad que permitan la reutilización de los lodos tratados (biosólidos) sin impactar la salud pública y el ambiente. Dichos estándares han sido elaborados tomando como base las condiciones que prevalecen en países desarrollados, por lo que su aplicación en países en desarrollo en ocasiones no es factible debido a las altas concentraciones de microorganismos presentes en los lodos. Tal es el caso de México, en el cual las concentraciones de microorganismos patógenos en los lodos son superiores a las encontradas en Estados Unidos, en donde se ha desarrollado uno de las principales normatividades en materia de lodos residuales (el Apartado 503), la cual ha sido tomada como base para la norma mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002), adecuando algunos valores límite a las condiciones nacionales. Sin embargo, el tratamiento de los lodos por métodos convencionales en nuestro país puede verse limitado por las bajas eficiencias de remoción de microorganismos o por factores como el incremento en la masa de lodos, la generación de subproductos peligrosos o las extensiones necesarias para llevar a cabo el tratamiento. Por ello, procesos no convencionales pueden representar una alternativa atractiva para el tratamiento de los lodos, siempre y cuando se demuestre su factibilidad. De esta manera, este trabajo presenta el estudio del tratamiento ácido como alternativa para producir biosólidos que puedan ser reutilizados en la agricultura o el mejoramiento de los suelos.

En la etapa I se evaluaron ácidos orgánicos (acético y peracético) e inorgánicos (perclórico y sulfúrico) para reducir el contenido de microorganismos en lodos fisicoquímicos provenientes de un tratamiento primario avanzado (coagulación con sulfato de aluminio y sedimentación). Se obtuvo que en el caso de los coliformes fecales el ácido peracético fue el más eficiente al reducir en promedio 6.9 logs su concentración, seguido del sulfúrico y acético con 4.3 y 4.2 logs, respectivamente. En el caso de los huevos de helmintos, el acético redujo su concentración en 90%, mientras que el peracético logró una reducción de 88%. El ácido sulfúrico, en las dosis empleadas, fue ineficaz para reducir los huevos de helmintos, mientras que el perclórico presenta la desventaja de producir percloratos¹ por lo que su uso fue suspendido al término de esta etapa. Con los resultados obtenidos se determinó que el tipo de ácido aplicado tiene mayor influencia en la desinfección que el efecto de la acidificación del pH del lodo tratado.

Con los resultados anteriores se determinó emplear ácidos orgánicos en el proceso, por lo cual en la etapa II se evaluó el comportamiento del lodo tratado con ácido acético en dosis de hasta 22000 ppm y se observó que existe potencial de recrecimiento de bacterias puesto que éstas pueden emplear el ácido como fuente de energía si no se logra su destrucción

¹ Los percloratos pueden contaminar aire y suelo y ocasionar daños a la glándula tiroidea.

total, principalmente al emplear dosis menores a 15000 ppm. Sin embargo, al emplear dosis mayores a 15000 ppm se alcanzaron concentraciones por debajo de los límites para lodos que pretendan ser aplicados en suelos (Clase C $< 2 \times 10^6$ NMP/g ST).

A su vez, la etapa III sirvió para determinar el tiempo de contacto al emplear ácidos acético (22000 ppm) y peracético (550 ppm) y se observó que la velocidad de destrucción de bacterias y huevos de helmintos fue mayor en el caso del ácido peracético (5 a 10 min vs. ≥ 30 min). De igual manera, la concentración final de microorganismos fue menor al aplicar este último ácido. Esto permitió demostrar el mejor poder bactericida y ovicida del ácido peracético sobre el acético.

Durante la etapa IV se simuló un tren de tratamiento de lodos (desinfección, acondicionamiento, deshidratación y almacenamiento) para determinar la estabilidad de los lodos tratados con ácidos orgánicos (15000 ppm de acético y 550 ppm de peracético). Para ello se acondicionó el lodo con diferentes polímeros y se determinó la dosis mediante pruebas de resistencia específica a la filtración. En ambos casos el polímero seleccionado fue de tipo catiónico, con un alto peso molecular y capaz de operar en un intervalo de pH muy amplio. Las dosis de polímero seleccionadas fueron de 3.9 y de 6.5 kg/ton ST para el acético y peracético, respectivamente. Al término del periodo de estudio (42 días), los niveles de bacterias fueron similares en ambos tratamientos y no exhibieron recrecimiento notable. En ambos casos los coliformes fecales mostraron una concentración final de alrededor de 100 NMP/g ST mientras que las salmonelas estuvieron por debajo del límite de detección (3 NMP/g ST). Por su parte, los huevos de helmintos tuvieron una concentración final de 4 y 3 huevos viables/g ST en el lodo tratado con acético y peracético, respectivamente. Esta etapa demostró la factibilidad de producir y almacenar lodos tratados con ácidos orgánicos.

La etapa V analizó la solubilización de metales en los lodos acidificados. Así, la reducción del pH del lodo incrementó la fracción soluble de metales como el cromo, níquel, plomo y zinc al emplear ácido acético, mientras que al aplicar ácido peracético los metales solubilizados fueron el arsénico, cobre, níquel y zinc. Es importante mencionar que dichos metales en forma soluble pueden ser separados durante el proceso de deshidratación por lo cual podría emplearse como proceso para reducir la concentración de metales (medidos en forma total) en lodos contaminados de manera que la concentración al final del tratamiento cumpla con los límites de la norma mexicana para lodos.

La aplicación de ácido peracético en lodo biológico se reporta en la Etapa VI. En esta etapa se aplicaron dosis de 250 a 1000 ppm de ácido y se obtuvieron eficiencias de 3.3 a 5.8 logs en coliformes fecales y de 34 a 90% en huevos de helmintos. Las dosis de 500 ppm o superiores permiten obtener un lodo que cumpla con la normatividad para lodos clase C de manera que puedan ser reutilizados. En el caso de los lodos biológicos se observó que los huevos de helmintos son básicamente inactivados y no destruidos, en contraste con los huevos observados en los lodos fisicoquímicos. Lo anterior se atribuye a la diferencia en el pH inicial del lodo y a la consecuente variación en la permeabilidad de estas estructuras.

Finalmente, la Etapa VII sirvió para observar el daño que ocasiona el ácido peracético en los huevos de helmintos (*Ascaris suum*). En esta etapa se aplicaron dosis de 80 a 500 ppm y tiempos de contacto de 5 a 8 minutos. Esto permitió afirmar que el ácido causa la ruptura de la membrana y la consecuente pérdida del material interno, con lo cual cesa toda actividad del huevo.

Para concluir, este estudio da pie a que el ácido peracético sea empleado en el tratamiento de lodos residuales con alto contenido de microorganismos, como los generados en México, para producir biosólidos.

ABSTRACT

Sludge reuse in agricultural activities and soil reclamation is a practice that has gained importance in the last 3 decades since it represents the most attractive alternative in economic terms and, environmentally, the most adequate. For this, standards have been developed to allow their reuse as biosolids without affecting public health and the environment. Such standards have been developed according to the conditions that prevail in the countries that make the regulations (mainly developed countries) and thus their application in low-income countries is not feasible due to the high pathogenic content of the sludge. Such is the case of Mexico, where microbial densities are higher than those found in the United States, where one of the main regulations have been published (Part 503), which is considered as the basis for the Mexican regulation, with slight modifications in the limits, considering the local conditions. However, the treatment of sludge with conventional methods in Mexico may be limited by the low efficiencies in pathogen removal or for other factors like the increase in the sludge mass, the hazardous by-product generation or the land required for the treatment. For this reason, non-conventional processes may represent an alternative for sludge treatment if their feasibility is demonstrated. This study presents the acid treatment as an alternative to produce biosolids that may be reused in agriculture or soil reclamation.

On the first stage, organic (acetic and peracetic) as well as inorganic (perchloric and sulfuric) acids were evaluated to reduce the microbial content in physicochemical sludge generated in an advanced primary treatment (alum coagulation and sedimentation). It was found that peracetic acid was the most efficient against fecal coliforms with an average reduction of 6.9 logs, followed by sulfuric and acetic acids with 4.3 and 4.2 logs, respectively. For helminth ova, acetic acid reduced their concentration in 90% (average) while peracetic achieved an 88% of inactivation/destruction. Sulfuric acid, in the doses applied, was not efficient in reducing helminth ova and perchloric acid may produce perchlorates that may pose a risk to public health and thus its use was suspended at the end of this stage. It was found that the type of acid is more important than the pH of the treated sludge.

With the results from the stage I, organic acids were chosen for the process and on stage II sludge was treated with 22000 ppm of acetic acid to evaluate the potential bacterial regrowth since these organisms may use the acid as a source of energy if they are not completely destroyed, which occurs mainly with doses lower than 15000 ppm. Nonetheless, by applying doses higher than 15000 ppm, the final concentrations were lower than the limit for sludge intended for land application (Class C $< 2 \times 10^6$ NMP/g ST).

Stage III determined the contact time required to treat the sludge with 22000 ppm of acetic acid and 550 ppm of peracetic acid. It was observed that the destruction velocity was higher for peracetic acid (5 – 10 min vs. ≥ 30 min). Also, the final microbial concentration was lower when peracetic acid was used. This demonstrated the better bactericidal and virucidal effect of the peracetic over the acetic acid.

During stage IV a treatment train was simulated (disinfection, conditioning, dewatering, and storing) to determine the stability of the treated sludge (15000 ppm of acetic and 550 ppm of peracetic). To condition the sludge specific resistance to filtration tests were performed and the type and dose of polymer were determined. In both cases the chosen polymer was cationic, with a high molecular weight and able to work on a wide range of pH values. The polymer doses were 3.9 and 6.5 kg/ton TS for acetic and peracetic treated sludge, respectively. At the end of the experimental period (42 days), the levels of bacteria were similar for both treatments and no significant regrowth was observed. The final concentrations of fecal coliforms and salmonellae, in both cases, were around 100 NMP/g TS and below the detection limit (3 NMP/g TS). With respect to helminth ova, their concentration was 4 and 3 viable ova/g TS with acetic and peracetic acids, respectively. This stage demonstrated the feasibility of producing and storing biosolids through the treatment with organic acids.

Stage V analyzed the solubilization of metals in the acidified sludge. The reduction in the pH increase the soluble fraction of metals like chromium, nickel, lead and zinc when acetic acid was used, while by applying peracetic acid metals solubilized included arsenic, copper, nickel and zinc. It is important to mention that such metals in their soluble forms may be separated during sludge dewatering, reducing their concentration (as total metal) in contaminated sludge, allowing the compliance with the regulations.

The application of peracetic acid to biological sludge is reported in stage VI. Doses of 250-1000 ppm were applied, achieving reductions of 3.3 to 5.8 logs of fecal coliforms and 34 to 90% of helminth ova. Doses higher than 500 ppm produced a sludge that meets the class C limit and thus may be reused. In the case of biological sludge it was observed that helminth ova are mainly inactivated, rather than destroyed, in contrast with the experiments with physicochemical sludge, where the ova are mainly destroyed. This can be caused by the difference in the initial pH of the sludge and the permeability of these structures at lower pH values (physicochemical sludge).

Finally, stage VII reports the observation of the damage caused by peracetic acid on *Ascaris suum* ova. Doses of 80 to 500 ppm and contact times of 5 to 8 min were used. The conclusion is that the acid breaks the membrane of the ova, releasing the internal material and thus stopping the activity of the ova.

To conclude, this study is the basis to use the peracetic acid to treat sludge with high microbial content, such as the sludge generated in Mexico, producing biosolids with potential reuse.

1. INTRODUCCIÓN.

En la actualidad la mayoría de los procesos que se aplican al tratamiento del agua residual producen residuos sólidos, semisólidos o líquidos que son denominados lodos. Estos residuos están conformados en gran parte por material orgánico cuando provienen de aguas domésticas, aunque incluyen a su vez otros materiales, desde arenas hasta una serie de compuestos con efectos diversos. Dicho contenido de materia orgánica, permite que los lodos sean reutilizados en suelos, sin embargo, deben ser sujetos a algún tratamiento capaz de modificar alguna de sus características físicas, químicas y microbiológicas para que no impacten negativamente el ambiente o pongan en riesgo la salud humana. El manejo integral de los lodos debe ser considerado dentro del esquema global de tratamiento del agua residual ya que su volumen, procesamiento y destino final representa uno de los principales problemas que enfrentan las plantas de tratamiento. En efecto, se ha demostrado que el costo de manejo de lodos en ocasiones representa hasta el 60% del costo total de operación y mantenimiento de una planta (Camacho *et al.*, 2001). Ante esta problemática, la solución sólo se dará mediante el desarrollo de opciones propias para cada caso particular, las cuales dependen de factores relacionados con aspectos técnicos, normativos, económicos y sociales.

En México la reglamentación que norma el tratamiento y depósito de los lodos generados en las plantas de tratamiento municipales se encuentra en proceso y generalmente éstos son descargados al drenaje tal y como se producen. Anteriormente, los lodos eran considerados residuos peligrosos por su contenido microbiológico de acuerdo con la NOM-052-ECOL-1993 (DOF, 1993), sin embargo, dicha norma ha sido modificada, y se encuentra pendiente de publicación, para que la norma NOM-087-ECOL-SSA1-2000 clasifique a los residuos peligrosos biológico infecciosos, de los cuales se excluyen los lodos y los residuos de plantas de tratamiento de agua residual. Ahora, los lodos serán regulados por la NOM-004-SEMARNAT-2002 (DOF, 2003) la cual establece los límites máximos de contaminantes en lodos y biosólidos que pretendan ser aplicados o dispuestos. En dicha norma, se incluyen límites microbiológicos (coliformes fecales, *Salmonella* y huevos de helmintos) que deberán ser cumplidos mediante la aplicación de procesos de estabilización. La elección de los procesos de estabilización dependerá de factores específicos de cada caso, como son la calidad de los lodos generados, el destino final de los mismos, y la capacidad técnica de los operadores, entre otros.

En México, las plantas de tratamiento de agua residual construidas en las últimas décadas han incluido, por lo general, un esquema de tratamiento de lodos. A pesar de ello, en algunas ocasiones los procesos de estabilización aplicados no consideran las condiciones locales, limitándose al empleo de procesos cuya eficiencia ha sido demostrada en países desarrollados, y que requieren un grado de tecnificación elevado (Jiménez *et al.*, 2003). Esto ocasiona que los lodos tratados (biosólidos) no siempre cumplan con los límites de la norma propuesta, o que los equipos no sean operados adecuadamente. De acuerdo con la calidad de los lodos de México, únicamente algunos procesos son capaces de lograr las remociones de microorganismos que se requieren para cumplir con los límites propuestos.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

Sin embargo, dichos procesos presentan desventajas entre las que se cuentan los tiempos de retención, las temperaturas de operación, el incremento en la masa, y la generación de gases, entre otros.

Por ello, y debido a la particularidad de los lodos producidos en el país, con un alto contenido de microorganismos patógenos, es necesario desarrollar tecnologías y procedimientos propios para estabilizar los lodos. Así, es indispensable estudiar y desarrollar procesos que reduzcan significativamente el contenido de bacterias, y huevos de helmintos para poder clasificar a los lodos estabilizados como biosólidos.

Con base en diversos estudios, distintos tipos de ácidos han sido aplicados para reducir la densidad de microorganismos en distintos medios (cultivos en laboratorio, agua, lodo). De acuerdo con ellos, es factible aplicar algunos de estos reactivos para tratar los lodos, aún cuando las condiciones de operación del proceso no hayan sido descritas con detalle.

El presente trabajo es el estudio del proceso de estabilización ácida de lodos para producir biosólidos, a partir de lodos con un alto contenido de microorganismos patógenos como los generados en México. El objetivo principal es determinar las condiciones básicas de operación del proceso de manera que pueda ser aplicado a futuro en el tratamiento de los lodos residuales del país. Para ello, este estudio determina lo siguiente:

- Tipo de ácido, puesto que en la literatura se menciona una variedad muy amplia de reactivos con potencial de uso para el tratamiento de los lodos.
- Las principales condiciones de operación como son la dosis de reactivo, la cual impacta directamente al costo de operación del mismo, el tiempo de contacto, que determina las dimensiones de las instalaciones que se requieren para llevar a cabo el tratamiento y la dosis de polímero para acondicionar los lodos y separar el agua en exceso a través de la deshidratación. Con ello, se reduce el volumen de los lodos que debe transportarse al sitio de aplicación o depósito. En particular, en el caso de los lodos ácidos existe poca información para este último aspecto, puesto que se detalla en la literatura que la mayoría de los polímeros actúan en un pH neutro o alcalino.
- Potencial de recrecimiento. Algunas bacterias tienen capacidad de recuperarse de una exposición a condiciones ácidas, por lo que pueden volver a desarrollarse bajo ciertas condiciones. Es importante que el proceso de tratamiento de lodos evite dicho recrecimiento para disminuir los riesgos a la salud y al ambiente.
- La solubilización de metales, pues en general, la acidificación de un medio disuelve metales que pueden ser fácilmente asimilables por los organismos o bien lixiviarse.
- Aplicabilidad en diferentes tipos de lodos. Un proceso de tratamiento de lodo debe ser aplicable a diferentes tipos de lodos y con diferentes características. A este respecto, un lodo físicoquímico generado durante un tratamiento primario avanzado genera un lodo con un contenido de huevos de helmintos mayor que un lodo producido en un proceso biológico.

- **Efecto en los microorganismos.** Es de interés conocer el mecanismo de acción de un proceso sobre los microorganismos de interés para, en ocasiones, poder determinar las condiciones óptimas de operación del proceso como pH, temperatura, etc.

Así, este estudio analiza los puntos anteriores con el propósito de determinar la factibilidad de emplear el proceso de estabilización ácida para producir biosólidos que cumplan con la normatividad nacional propuesta.

2. ANTECEDENTES

2.1. Lodos residuales.

El tratamiento del agua residual municipal genera dos productos: el agua residual tratada y residuos en forma de lodos. Estos lodos son subproductos líquidos, semi-sólidos o sólidos que representan una fuente potencial de nutrimentos, materia orgánica y microelementos para los suelos agrícolas o con poca capacidad productiva. Desde hace mucho tiempo, los lodos, en forma de desechos humanos o residuos de sistemas de recolección de aguas residuales, han sido utilizados en la agricultura. Por ejemplo, el imperio Romano empleaba este tipo de residuos como fertilizantes, práctica que continuó por siglos en Europa, Norte América y el Oriente (Forste, 1996a). Sin embargo, el hecho de aplicar los lodos, generalmente sin un tratamiento previo, provocó una preocupación justificada en la población y redujo las posibilidades de continuar con este reúso.

A finales del siglo XIX, países como Estados Unidos e Inglaterra comenzaron a diseñar y construir sistemas centralizados de recolección de aguas residuales, y para principios del siglo XX las primeras plantas de tratamiento aparecen y comienzan a generalizarse debido a la creciente preocupación por disminuir la contaminación causada por las descargas. Con el aumento en el número de plantas de tratamiento de aguas residuales inicia a su vez la generación de lodos, y comienzan a representar un problema de disposición, más que un subproducto capaz de ser reaprovechado. Por ello, florecen métodos de depósito final como las descargas al mar o en suelos no agrícolas y, más adelante, en rellenos sanitarios. En la última parte del siglo XX, las descargas al mar así como en sitios no controlados son abandonadas debido a que son percibidas como prácticas no sustentables para el desarrollo humano. Como resultado de un nuevo enfoque, se valoró el potencial de los lodos como fertilizantes o mejoradores de suelos, con lo cual se favoreció su reutilización antes que su confinamiento. De esta manera, el término biosólido es acuñado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA) para referirse a los lodos residuales adecuadamente tratados, con el propósito de revertir la connotación negativa de los mismos al hacer énfasis en sus propiedades benéficas.

En la actualidad, diversos países han desarrollado normas y criterios de calidad para garantizar un adecuado manejo de los lodos residuales municipales. Para ello, se hace uso de la tecnología y procesos disponibles, los cuales se enfocan básicamente a la reducción de microorganismos, la masa o el volumen de lodos. Con ello, el tratamiento de los lodos ha cobrado gran importancia dentro de los programas de saneamiento municipales puesto que de todos los constituyentes que se remueven, éste representa por mucho el mayor en cuanto a volumen, y su procesamiento y manejo final puede representar hasta el 60% del costo total de operación y mantenimiento para una planta de tratamiento de agua residual (Camacho *et al.*, 2001).

En países en desarrollo, las dificultades para tratar y reutilizar los lodos radican en la calidad microbiológica de los mismos (la cual refleja los índices de salud de la población),

la falta de una normatividad a este respecto y, adicionalmente, en la carencia de recursos económicos. Desgraciadamente, el uso de tecnología desarrollada en países industrializados no siempre ha tenido un efecto positivo al ser aplicada en las condiciones de países en desarrollo, debido en parte a la falta de estudios que demuestren su aplicabilidad en estos últimos.

En el caso de México no existe una reglamentación que norme el tratamiento y disposición de los lodos generados en las plantas de tratamiento municipales y generalmente éstos son descargados al drenaje tal y como se producen o bien confinados en rellenos o depósitos. Sin embargo, los lodos son considerados residuos peligrosos debido al alto contenido de microorganismos patógenos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-1993. Por este motivo, y al tomar en cuenta los beneficios que los lodos aportan a los suelos, se desarrolló la NOM-004-SEMARNAT-2002 (DOF, 2003) que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en lodos residuales para permitir su reaprovechamiento benéfico, y se encuentra en proceso de modificación la NOM-052-ECOL-1993 relativa a residuos peligrosos (incluyendo los biológico infecciosos) para evitar que los lodos caigan dentro de esta categoría.

De todo lo anterior se desprende la necesidad de buscar soluciones adecuadas a las condiciones del país, las cuales dependerán de aspectos técnicos, normativos, económicos y sociales. Por ello, se plantea la necesidad de desarrollar y evaluar procesos de estabilización que logren reducir significativamente la densidad de microorganismos en los lodos y que permitan su aplicación en las condiciones actuales del país.

2.2. Generación de lodos

Aun cuando los lodos han llegado a ser comercializados como mejoradores de suelos en países como los Estados Unidos y Canadá, diversos investigadores se enfocan a estudiar la modificación de las condiciones de operación de los procesos de tratamiento de agua residual con el objeto de disminuir su generación. Por ejemplo, Tilche *et al.* (1999) mencionan cinco alternativas para disminuir la producción de lodos:

- Emplear la energía bioquímica contenida en el agua residual para la desnitrificación y remoción de fósforo y no sólo para la oxidación del carbono;
- Emplear procesos que tengan un bajo crecimiento de la biomasa;
- Aplicar sistemas de una edad mayor de lodos como aeración extendida, procesos de biopelícula, biorreactores de membrana, etc.);
- Manipular la cadena alimenticia en los procesos de lodos activados para favorecer el crecimiento de microorganismos predadores de bacterias; y
- Mejorar la estabilización biológica de lodos (pre-tratamiento, digestión anaerobia termofílica, etc.).

Dichas opciones se enfocan al tratamiento del agua residual, con excepción de la última que se refiere a los procesos de tratamiento de lodos. De esta manera se pueden apreciar las diferentes opiniones en cuanto a la generación y aprovechamiento de los lodos: mientras

que algunos lo ven como un subproducto capaz de ser revalorizado, otros lo siguen viendo como un desecho que ocasiona un problema de almacenamiento final y un gasto de operación adicional. Sin embargo, la realidad indica que la producción de lodos se incrementará mientras la población mundial lo haga, por lo que se requieren soluciones adecuadas a cada escenario.

La Tabla 2.1 presenta la producción de lodos de diferentes procesos en base seca (sólidos totales). En ella se observa que los procesos de tratamiento primario generan una mayor cantidad de lodo que los procesos secundarios o biológicos puesto que los primeros remueven gran cantidad de sólidos que son arrastrados por el agua a lo largo de los sistemas de recolección, mientras que los segundos están conformados principalmente por biomasa, la cual contiene una gran cantidad de agua y que implican una transformación y reducción parcial de la materia.

Tabla 2.1 Generación de lodos por diversos procesos de tratamiento de aguas residuales y sequedad de los mismos. (Adaptada de Metcalf y Eddy, 1991; Jiménez et al., 1997; y Jiménez et al., 1998).

Proceso	Generación de lodos, kg ST/10 ³ m ³		Contenido de Sólidos Totales % (ST)
	Intervalo	Valor típico	
Sedimentación primaria	108 – 168	150	4.0 – 10.0
Tratamiento primario avanzado (TPA)	156 – 315	*	0.4 – 10.8
Lodos activados:	72 – 96	84	0.5 – 1.5
Filtro percolador	60 – 96	72	1.0 – 3.0
Remoción de fósforo mediante la adición de cal			
Bajas dosis	241 – 398	301	2.0 – 8.0
Altas dosis	602 – 1325	795	4.0 – 16.0

* Depende de la calidad del agua y la dosis de reactivo.

La generación de lodos residuales varía en función del proceso de tratamiento de agua residual que se aplique. Así, los procesos biológicos que se usan para disminuir el contenido de materia orgánica medida como demanda bioquímica de oxígeno (DBO) o demanda química de oxígeno (DQO) producen una cantidad menor de lodos, mientras que los procesos fisicoquímicos se enfocan a la remoción de sólidos suspendidos, fósforo, y algunos metales y generan cantidades mayores. Adicionalmente, la generación de lodos depende de otros factores entre los que destacan la calidad del agua residual, el grado de dilución con agua de lluvia, las condiciones de operación de los procesos y, en el caso de los procesos que emplean reactivos, de la dosis de los mismos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

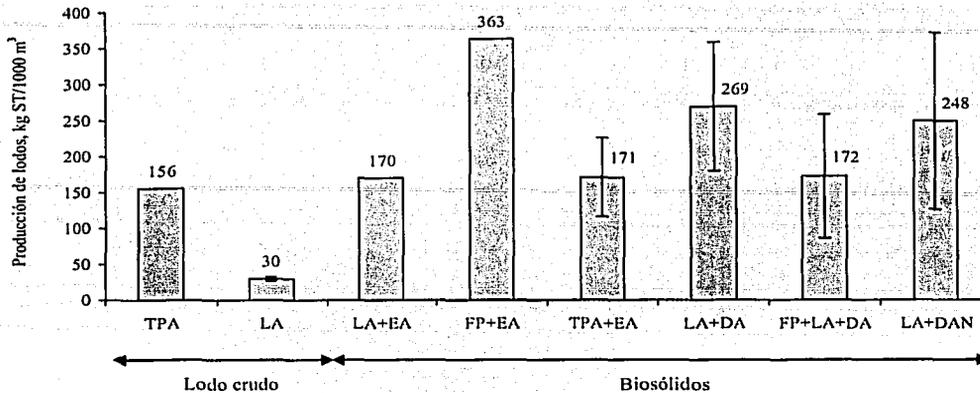


Figura 2.1. Generación de lodos en México por combinación de procesos de tratamiento (TPA: tratamiento primario avanzado; LA: lodos activados; EA: estabilización alcalina; FP: filtro percolador; DA: digestión aerobia; DAN: digestión anaerobia; Barrios *et al*, 2001).

Como se observa en la Figura 2.1, los datos obtenidos de plantas de tratamiento en México (Barrios *et al.*, 2001) difieren considerablemente de los datos reportados en la Tabla 2.1, en el caso de los lodos del tratamiento primario avanzado (TPA) y de lodos activados. Debe mencionarse que las condiciones de operación de los procesos de tratamiento de agua es muy variable en nuestro país, y en muchos casos se aplican criterios basados en aspectos empíricos más que en teóricos. Adicionalmente, en los casos en los que se emplea estabilización alcalina de los lodos, las dosis de reactivos son variables y de hecho no controladas, lo que genera diferentes cantidades en cada una de las plantas, mientras que en los procesos de digestión, la ausencia del calentamiento de los reactores en la mayoría de los casos evita que se logre una adecuada reducción en la masa de los lodos. Esto último hace que la producción de lodos de estos procesos no se vea reducida significativamente en comparación con la de lodo crudo.

A nivel mundial existe poca información relacionada con la generación de lodos. A pesar de ello, los Estados Unidos y la Unión Europea cuentan con datos relativamente confiables. En los Estados Unidos, la producción en 1998 fue cercana a los 7 millones de toneladas secas (EPA, 1999), la cual es ligeramente menor al total producido en los países de la Unión Europea (Figura 2.2), lo que indica la importancia del manejo de lodos en los Estados Unidos y justifica el interés que han puesto en el desarrollo de normas y programas de manejo de este tipo de subproductos. En ella se puede observar que mientras en algunos países la producción estimada para el 2005 se incrementa, en otros se mantiene constante o incluso se reduce debido, principalmente, al uso de procesos avanzados de tratamiento de lodos o a la reducción en la generación de los mismos como se mencionó anteriormente.

Sin embargo, en algunos países la aplicación de lodos se ha visto reducida en parte por el temor a contaminar el ambiente o poner en riesgo la salud humana, a pesar de que esta práctica es la más aceptada desde el punto de vista del desarrollo sustentable, debido al reciclado de sustancias que provienen en gran parte de la naturaleza.

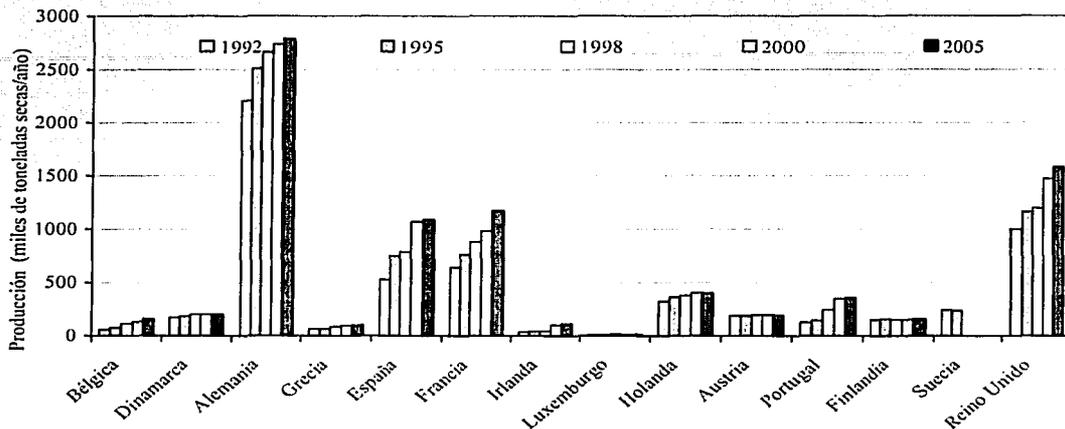


Figura 2.2. Generación de lodos en países de la Unión Europea (European Environment Agency, 2001).

Países como China, generan cerca de 400,000 toneladas secas de lodos al año, resultado del tratamiento de 44 m³/s de agua residual, aunque únicamente una tercera parte de éstos son tratados (Wang, 1997). Por su parte, en México no existe información suficiente para determinar la cantidad de lodos que se generan. A pesar de ello, se cuenta con algunos valores estimados de producción determinados por la Comisión Nacional del Agua, los cuales indican que al cumplir las ciudades mayores de 50,000 habitantes con la Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, se estarían tratando alrededor de 158 m³/s de aguas residuales, las cuales generarían cerca de 640,000 toneladas secas de lodos por año (CNA, 2000). Esta cifra es relativamente conservadora si se toma en cuenta que la producción anual de lodos en las 18 plantas reportadas en la Figura 2.1 y que operan actualmente un caudal de 18.8 m³/s es de cerca de 110,000 toneladas en base seca. No obstante, la producción estimada por la CNA es similar a la producción reportada en Francia durante 1992, pero es necesario mencionar que en dicho país más del 60% de los lodos generados en ese mismo año fueron reaprovechados, mientras que en México este valor actualmente es muy bajo, lo cual reafirma la necesidad de establecer programas de manejo integral de lodos que permitan su aprovechamiento con un tratamiento previo que reduzca el contenido microbiológico. Adicionalmente, deben tomarse en cuenta los beneficios potenciales derivados de la aplicación de los lodos tratados, si se considera que

México es un país semi-árido en aproximadamente dos terceras partes de su superficie y presenta problemas serios de salinidad de acuerdo con Rhoades (1997).

2.3. Uso de lodos a nivel mundial

En la actualidad el enfoque que se le da a los lodos es el de un producto con potencial benéfico para ser reaprovechado en distintas aplicaciones como fertilizante o mejorador de suelos, principalmente. Así, en la mayoría de las grandes ciudades del mundo se han desarrollado programas de manejo de lodos con el objeto de obtener un beneficio, además de disminuir el deterioro ambiental y el riesgo a la salud pública. Los programas son manejados tanto por instituciones privadas como públicas pero siempre encaminados al reúso benéfico de los lodos, realizado de una manera segura y controlada.

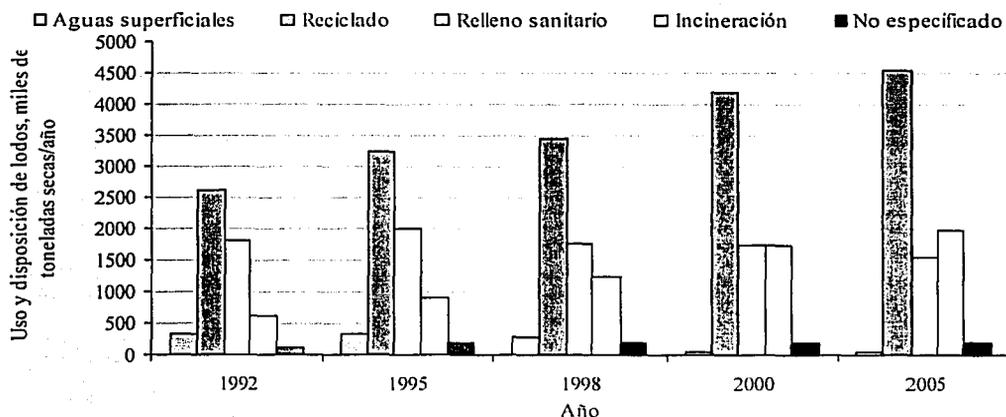


Figura 2.3. Uso y depósito de lodos en la unión europea y proyección al año 2005 (European Environment Agency, 2001).

En los países de la Unión Europea, el reciclado de los lodos en diversas actividades se ha incrementado desde 1992, y se espera que para el año 2005, más de 4.5 millones de toneladas anuales sean destinadas a este uso (Figura 2.3). De igual modo, la incineración incrementa su presencia como tratamiento debido a que reduce significativamente la masa de lodos y por consiguiente los costos de transporte y aplicación o disposición, a pesar de que los costos de inversión y operación del proceso en sí son considerables. En particular, la operación se encarece pues se requiere de sistemas de control de emisiones al aire. Por su parte, el confinamiento en rellenos sanitarios ha mostrado una ligera disminución a partir del año 1995 debido al aumento en las cuotas por el lugar, el cual se deriva de la disminución en la capacidad de los mismos, así como de la dificultad para establecer nuevos sitios. Finalmente, la descarga de lodos en cuerpos de agua sufre una importante

disminución para el año 2000 y 2005 debido a la prohibición de verter lodos al mar a partir del 1º de enero de 1999.

En los Estados Unidos, del total de lodos producidos en 1998, el 60 % recibieron un uso benéfico, el 17% fueron dispuestos en la superficie (incluyendo rellenos sanitarios) y el 22% fueron incinerados (EPA, 1999). Se espera que en los próximos años se incremente el uso benéfico hasta el 70% y que el porcentaje que se envía a depósito superficial e incineración disminuya ligeramente a 10 y 19%, respectivamente, para el año 2010. Lo anterior sería resultado del incremento en el número de programas de manejo de lodos que aprovechan los beneficios de su reutilización, además de las consideraciones de costo y percepción pública relacionadas con el almacenamiento final.

En relación con el costo del tratamiento y el depósito final de los lodos, Hall (1999) indica que la aplicación en suelos es la alternativa más económica, comparada con el almacenamiento en rellenos, la incineración, el secado y la producción de composta. El mismo autor señala que el costo más importante proviene del proceso de estabilización, el cual se verá incrementado en un futuro debido a los estándares de higiene más estrictos que se desarrollan actualmente. Adicionalmente, menciona que existen otros factores que son difíciles de cuantificar al aplicar los lodos en suelos pero que representan un beneficio, como son:

- ahorro de fertilizantes comerciales,
- mejoramiento de suelos por la materia orgánica de los lodos, y
- empleo del fósforo contenido en los lodos, reduciendo el consumo de fosfato mineral, el cual es limitado en el planeta.

Por su parte, la Comisión Europea (2002) coincide con Hall al reportar los costos del manejo de lodos por distintas rutas, las cuales incluyen:

- Aplicación en suelos de lodo semi-sólido
- Aplicación en suelos de lodo semi-sólido digerido
- Aplicación en suelos de lodo sólido
- Empleo en silvicultura
- Aplicación en suelos de composta
- Mejoramiento de suelos
- Relleno sanitario
- Co-incineración
- Mono-incineración

En todos los casos, se tomaron en cuenta los costos internos (inversión y operación), beneficios internos (ahorro de fertilizantes y recuperación de energía de la incineración o quema de biogás), costos externos (transporte del material, emisiones a la atmósfera) y los beneficios externos (reducción de emisiones durante el proceso de producción de fertilizantes minerales).

Como se observa en la Figura 2.4, la aplicación de lodos en suelos presenta ventajas sobre las alternativas de depósito final como el depósito en rellenos sanitarios y la incineración. Lo anterior sugiere que los lodos residuales deben ser aplicados en suelos, no sólo por los beneficios que esto conlleva, sino también por el menor costo que representa.

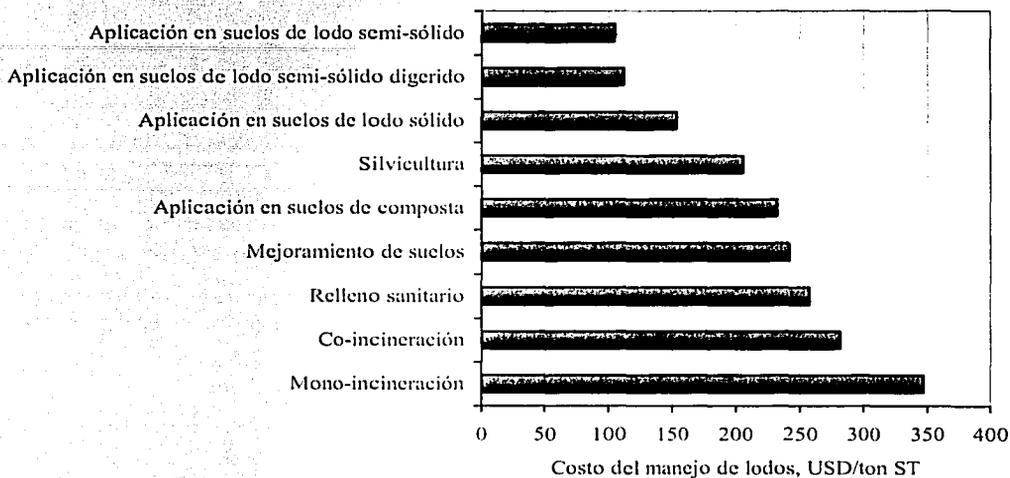


Figura 2.4. Costo del manejo de lodos (Comisión Europea, 2002).

2.4. Calidad de los lodos

El uso potencial de los lodos depende de la calidad de los mismos, la cual está en función a su vez de la calidad del agua residual de la que provengan. Para permitir su reutilización, los lodos deben generalmente cumplir con estándares de calidad que toman en cuenta contaminantes inorgánicos, orgánicos o microbiológicos que pudieran representar riesgos a la salud o al ambiente. Dichos estándares deben ser adecuados a las condiciones locales de cada país o región ya que mientras que para países de la Unión Europea los contaminantes inorgánicos (metales) y orgánicos (dioxinas) representan un reto, en México la prioridad son los microbiológicos puesto que los niveles de salud de la población se reflejan en la calidad de los lodos, los cuales concentran microorganismos como bacterias o huevos de parásitos intestinales (helminths). Por su parte, la US EPA desarrolló los estándares de calidad de lodos para su uso y disposición, conocidos como el apartado 503 del Código de Regulaciones Federales (CFR). En dichos estándares se incluyen límites de metales y microbiológicos, los cuales han sido establecidos con base en estudios de riesgo para

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

disminuir el impacto al ambiente y a la salud pública². Así, se establecen dos clases de lodos en función de su concentración:

- 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 ninguna restricción, con el inconveniente del costo requerido para producirlos, y
- Clase B que contiene concentraciones relativamente bajas de microorganismos puesto que son aquellos que pueden aplicarse en suelos agrícolas, forestales y degradados.

De igual modo, la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 (DOF, 2003) presenta límites para metales equivalentes a los del apartado 503 y separa a los lodos en clase A, B y C de manera similar a la US EPA, con la diferencia de que incluye límites de *Salmonella* y huevos de helmintos para los lodos clase B y C, y elimina los límites de virus. Lo primero debido a la diferencia en la concentración de *Salmonella* y huevos de helmintos en los lodos nacionales, mientras que lo segundo se debe principalmente a la dificultad técnica y económica de medir virus en lodos, aunque en un futuro sin duda éstos deberán ser considerados. De esa manera, los límites microbiológicos de la NOM-004 y los correspondientes al apartado 503 de la US EPA son los de la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 Límites microbiológicos establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 y el apartado 503 de la US EPA.

Clase de lodo	Coliformes fecales, NMP/g ST		<i>Salmonella</i> spp., NMP/g ST		Huevos de helmintos, huevos/g ST	
	NOM	US EPA	NOM	US EPA	NOM	US EPA
A	< 1000	< 1000	< 3	< 0.75	< 1*	< 0.25*
B	< 1000	< 2x10 ⁶	< 3	NA	< 10	NA
C	< 2x10 ⁶	NA	< 300	NA	< 35	NA

ST: sólidos totales; * huevos viables; NA: no aplica

Las Tabla 2.3 y Tabla 2.4 presentan una comparación de la calidad de los lodos en México con aquellos generados en distintos países. En ellas se pueden apreciar las altas concentraciones de microorganismos en los lodos generados en México. Por ejemplo, de los datos reportados para coliformes fecales, la concentración máxima es aquella obtenida en muestras de lodo crudo en nuestro país y ésta se encuentra de 5 a 9 unidades log³ por encima de los demás valores reportados para Estados Unidos, Ghana, Japón y el Reino Unido. Similarmente, en el caso de *Salmonella* spp. los valores de nuestro país superan hasta en 5 unidades log la concentración reportada para Japón. Es importante mencionar que los coliformes fecales son empleados como indicadores de contaminación fecal en agua y lodos a pesar de que no todos ellos son patógenos, mientras que todas las especies de

² Los contaminantes orgánicos fueron excluidos debido a que su concentración en lodos fue despreciable o no representó ningún riesgo a la salud y al ambiente (Forste, 1996b).

³ Debido a las diferencias de orden de magnitud de las concentraciones de bacterias, generalmente se expresan en unidades log (logaritmo base 10; ver Anexo VI).

Salmonella son patógenas al hombre. A su vez, las bacterias de la especie *Pseudomonas aeruginosa*, patógenas para el hombre, tienen concentraciones del orden de 10^3 a 10^5 NMP/g ST en los datos reportados para Estados Unidos y el Reino Unido, mientras que en México, las concentraciones encontradas en lodos parten de 10^5 y alcanzan 10^7 NMP/g ST. Por otra parte, los bacteriófagos son virus que invaden bacterias y que sirven como indicadores de enterovirus, éstos últimos patógenos. En este parámetro, las concentraciones encontradas en México se encuentran en niveles similares a los reportados para lodos de los Estados Unidos y Japón. Aquí debe mencionarse que de manera similar a los coliformes fecales, los bacteriófagos no son patógenos pero su comportamiento es similar al de los virus entéricos de los cuales son indicadores. Su detección y cuantificación sigue un proceso complejo que se ve reflejado en el escaso número de datos reportados en otros países.

Tabla 2.3. Concentración de bacterias y virus en lodos de diferentes países (concentraciones en unidades log/g ST)

País y tipo de lodo	Coliformes fecales	<i>Salmonella</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacteriófagos	Referencias
AUSTRALIA					Sidhu <i>et al.</i> , 2001
Crudo		2 - 3			
ESTADOS UNIDOS					Reimers <i>et al.</i> , 1986
Crudo	7.3	3.3	3.4	4.6 - 6.1	
GHANA					Hall, 2000
Crudo	4.2				
Composta	2.8				
JAPÓN					Hays, 1977; Watanabe, 1997
Crudo	5	1.6		3.3 - 4.5	
D. anaerobiamente ^(M)	3	0.3 - 1.5			
D. anaerobiamente ^(T)		0.3			
MÉXICO					Jiménez <i>et al.</i> , 2000; Barrios <i>et al.</i> , 2001; Jiménez <i>et al.</i> , 2001.
Crudo	< 12.0	< 6.3	5.4 - 7.7	3.0 - 6.3	
Estabilizado con cal	< 6.8	< 6.4			
D. aerobiamente	< 6.9	< 5.5			
D. anaerobiamente	< 6.9	< 5.3			
REINO UNIDO					Crewe, 1984; Michel and Rooksby, 2000.
Crudo	4.6 - 6.1	2.1 - 4.6	3.0 - 5.2		

^(M): Mesofílico

^(T): Termofílico

Por su parte, los protozoos son microorganismos que se encuentran en ambientes marinos o de agua dulce, además del agua residual y lodos, e incluyen a un gran número de parásitos de animales, que incluyen al hombre. Entre ellos se encuentran organismos como *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, *Paramecium*, los cuales causan giardiasis, disenterías y algunas otras enfermedades gastrointestinales. Como se puede observar en la tabla 2.4, existen algunos datos reportados en Brasil y Francia que no especifican la especie de protozoo por lo que la comparación con los datos de México no es posible ya que éstos son

reportados para *Giardia* únicamente. Los datos de Estados Unidos presentan la concentración de la misma especie que los de México, siendo 10 veces mayor el valor superior del intervalo reportado en nuestro país.

Tabla 2.4. Concentración de quistes de protozoos y huevos de helmintos en lodos de diferentes países (concentraciones en número de quistes o huevos por gramo de ST).

País y tipo de lodo	Protozoos	Huevos de helmintos	Referencias
ALEMANIA			Schuh <i>et al.</i> , 1985
Crudo		< 1.1	
BRASIL			Andreoli <i>et al.</i> , 2001
Primario	$7.7 \times 10^1 - 3.1 \times 10^3$	< 10	
Digerido	$3.0 \times 10^1 - 1.1 \times 10^3$	< 1	
Anaerobio		< 15	
Aerobio		< 75	
EGIPTO			Hall, 2000
Crudo		67	
Composta		5	
ESTADOS UNIDOS			Reimers <i>et al.</i> , 1986
Crudo	2.1×10^2 ^(G)	2.0 - 13.0	
FRANCIA			Stien, 1989; Gaspard <i>et al.</i> , 1997.
Crudo	$1.9 \times 10^3 - 5.7 \times 10^3$	4.4 - 7.7	
GHANA			Hall, 2000
Crudo		76	
Composta		15	
MÉXICO			Barrios <i>et al.</i> , 2001;
Crudo	$1.3 \times 10^2 - 4.2 \times 10^4$ ^(G)	73 - 177 ^(V)	Jiménez <i>et al.</i> , 2001.
Estabilizado con cal		< 59 ^(V)	
D. aerobiamente		< 11 ^(V)	
D. anaerobiamente		< 66 ^(V)	
REINO UNIDO			Crewe, 1984; Michel and Rooksby, 2000.
Crudo		< 6	

^(G): *Giardia*

^(V): viables

Finalmente, los huevos de helmintos son estructuras muy resistentes que pueden infectar a animales o humanos una vez que son ingeridos por éstos. Incluyen a una gran variedad de géneros como *Ascaris*, *Trichuris*, *Hymenolepis*, *Toxocara*, *Taenia*, y *Trichostrongylus*, entre otros. En México, el género más frecuente en agua y lodos corresponde a *Ascaris* (Jiménez *et al.*, 2000), el cual afecta al 33% de la población (Biagi, 1990) y es uno de los más resistentes (Carrington y Harman, 1984). Con relación a este parámetro, la concentración de huevos de helmintos en lodos generados en México excede en gran medida a aquellas

reportadas por otros autores de distintos países (Tabla 2.4). Aún en lodos estabilizados, la concentración en lodos nacionales es muy superior a la encontrada en lodo digerido en Brasil. Esto puede deberse a la baja eficiencia de remoción en los sistemas de digestión anaerobia causados por problemas técnicos que impiden una adecuada operación de los procesos, o bien, a la técnica analítica empleada.

Todo lo anterior enfatiza el problema microbiológico de estos subproductos, el cual debe ser considerado como prioritario para lograr la aceptación de los lodos en aplicaciones benéficas en el país. Asimismo, demuestra la grave problemática que involucra a los lodos residuales, al considerar los riesgos a la salud y al ambiente derivados de un manejo inadecuado.

2.5. Remoción de microorganismos en procesos de estabilización

La calidad de los lodos residuales puede ser mejorada desde el punto de vista microbiológico si son sometidos a algún proceso de estabilización en condiciones de operación adecuadas. Sin embargo, el proceso que se aplique deberá estar acorde con la calidad inicial del lodo y con su destino final. Así, cada proceso posee ventajas y desventajas que deben ser consideradas a la hora de diseñar una planta. En el caso de los procesos de digestión, una de las principales ventajas es la reducción de la masa, lo cual reduce a su vez los costos de almacenamiento y transporte de los lodos, sin embargo, en condiciones normales de operación (régimen mesofílico) las remociones de microorganismos, particularmente huevos de helmintos, son inferiores a otros procesos (Pedersen, 1983). Por su parte, la producción de composta genera un producto de alta calidad que puede ser usado en múltiples sitios (incluso en jardines) pero posee como inconveniente a los elevados tiempos de retención que se requieren para lograr una adecuada estabilización del lodo, que llegan incluso a los 50 días (WEF, 1995). A su vez, el secado con aire requiere un tiempo de 90 días (Federal Registry, 1993) lo cual representa, en la mayoría de las ocasiones, superficies considerables, además de requerir de factores como la luz solar y la temperatura para secar los lodos. Finalmente, la estabilización con cal reduce considerablemente el contenido microbiológico (Jiménez *et al.*, 2000) pero incrementa la masa de lodos que requieren ser transportados aproximadamente de un 20 a 40%, y en consecuencia los costos de operación.

La Tabla 2.5 presenta un resumen de la remoción de bacterias, virus y parásitos por diversos procesos de estabilización de lodos. En dicha tabla se presentan únicamente aquellos procesos que define la US EPA como capaces de producir lodos clase B (equivalente a clase C mexicana).

Tabla 2.5. Remoción de diversos microorganismos por distintos procesos de estabilización de lodos⁴.

Proceso	Bacterias	Virus	Parásitos (protozoos y helmintos)
Digestión aerobia ^(a)	0.5 – 4.0	0.5 – 2.0	0.5
Digestión anaerobia ^(a)	0.5 – 4.0	0.5 – 2.0	0.5
Producción de composta ^(a)	2.0 – 4.0	2.0 – 4.0	2.0 – 4.0
Secado con aire ^(a)	0.5 – 4.0	0.5 – 2.0	0.5 – 4.0
Estabilización con cal ^(a)	0.5 – 4.0	4.0	0.5
Tratamiento ácido ^(b, c)	1.0 – 5.0	NR	NR

^(a) Barber, 2001; ^(b) Godfree *et al.*, 1984; ^(c) Fraser *et al.*, 1984.

NR: No reportado.

Como se observa en la Tabla 2.5, los intervalos de remoción para cada proceso enlistado son relativamente amplios, lo cual se debe a la variación en las condiciones de operación de cada uno de ellos, como pueden ser: temperatura, tiempo de retención, dosis de reactivo, etc. A pesar de ello, se puede observar que los procesos que más remueven helmintos son la producción de composta y el secado con aire. Sin embargo, la estabilización alcalina ha demostrado su efectividad en la remoción de dichos microorganismos al removerlos hasta en 1.3 logs (Jiménez *et al.*, 2000) aunque presenta algunas desventajas como son el incremento en la masa de lodos, y por consiguiente en los costos de transporte y almacenamiento, además de la liberación del amoníaco contenido en los lodos, lo cual puede generar problemas de salud. Debe mencionarse que diferentes estudios generalmente reportan valores diversos de remoción aún para los mismos microorganismos. Además, en muchas ocasiones los microorganismos son añadidos a las muestras para incrementar su concentración y permitir su detección y cuantificación. No obstante, esto puede afectar los resultados al existir un posible estrés en los microorganismos, disminuyendo su resistencia y ha sido probado que los métodos de siembra de patógenos no son compatibles con las técnicas de detección de los mismos (Huyard *et al.*, 1999).

Aún así, de acuerdo con las remociones reportadas por Barber (2001) en la Tabla 2.5, podría sugerirse el empleo de los procesos de producción de composta o secado con aire para estabilizar los lodos generados en México, de acuerdo con el contenido de bacterias y huevos de helmintos. Sin embargo, estos procesos requieren de una superficie considerable para mantener los tiempos recomendados por la US EPA, lo que en ocasiones no es factible. Por el contrario Godfree *et al.* (1984) realizaron un estudio de inactivación de *E. Coli*, *Estreptococos fecales* y *Salmonella* usando ácido peracético (APA) en un lodo crudo. Así, lograron reducir 2.5, 3.5 y 4 unidades log de *E. Coli* con 200, 400 y 600 ppm de APA respectivamente, con tiempos de contacto entre 10 y 30 minutos. En el caso de *Estreptococos fecales*, se disminuyó 1, 1.5 y 3.5 log con las mismas dosis con tiempos de contacto de hasta 20 minutos. En cuanto a los resultados de *Salmonella*, los porcentajes de

⁴ Para fines de este trabajo, la reducción o remoción está expresada en términos de $\log(N_0/N)$, donde N_0 es la concentración inicial y N es la concentración final.

reducción de esta bacteria, fueron de entre 90 y 99.9% (1 a 3 logs) para las tres concentraciones de APA con un tiempo de contacto de hasta 10 minutos. Estos resultados experimentales permitieron concluir que este producto puede ser usado en dosis de entre 500 y 1000 ppm (como ácido peracético) para tratar lodos, con tiempos mínimos de contacto (cerca de 10 minutos).

A su vez, Fraser *et al.* (1984) emplearon ácido peracético como desinfectante de lodos residuales para aplicarlos posteriormente en zonas de pastoreo. Las dosis usadas fueron de 250 a 1000 ppm de ácido. Se analizó la viabilidad de las bacterias del género *Salmonella* y se observó que éstas fueron reducidas hasta en 5 unidades log. Asimismo, la aplicación del ácido demostró ser efectiva en la reducción de olores al reaccionar rápidamente con la materia orgánica. Aún cuando no se reportó el pH final de los lodos, los autores mencionan que este parámetro no varió significativamente a pesar de la adición de ácido.

Por otro lado, la Tabla 2.6 presenta un cálculo de las concentraciones que se alcanzarían en lodos tratados por los procesos listados en la Tabla 2.5. Para ello, se consideró la concentración máxima de coliformes fecales, virus y huevos de helmintos presentada en la Tabla 2.3 y Tabla 2.4, así como la remoción máxima para cada proceso de acuerdo con la Tabla 2.5.

Como se puede observar, al emplear cualquiera de los procesos descritos en lodos generados con hasta 10^{12} NMP/g ST de coliformes fecales, no se cumpliría con el límite de 2×10^6 NMP/g ST por lo cual no podrían ser reutilizados los lodos. Sin embargo, el proceso que logra la mayor reducción de bacterias es el tratamiento ácido. En el caso de los virus, únicamente la producción de composta y la estabilización con cal reducirían su concentración a un nivel de 10^2 UFP/g ST, el cual es considerablemente menor que la concentración en lodo crudo.

Tabla 2.6. Concentraciones estimadas de microorganismos en lodos generados en México mediante procesos de estabilización convencionales.

Proceso	Bacterias			Virus			Huevos de helmintos			Protozoos		
	N _o NMP/g ST	RM, log	N NMP/g ST	N _o UFP/g ST	RM, log	N UFP/g ST	N _o huevos/g ST	RM, log	N huevos/g ST	N _o quistes/g ST	RM, log	N quistes/g ST
D. acrobia	10^{12}	4	10^8	10^6	2	10^4	177	0.5	56	4.2×10^4	0.5	1.3×10^4
D. anaerobia	10^{12}	4	10^8	10^6	2	10^4	177	0.5	56	4.2×10^4	0.5	1.3×10^4
P de composta	10^{12}	4	10^8	10^6	4	10^2	177	4	0	4.2×10^4	4	4.2
Secado con aire	10^{12}	4	10^8	10^6	2	10^4	177	4	0	4.2×10^4	4	4.2
E. con cal	10^{12}	4	10^8	10^6	4	10^2	177	0.5	56	4.2×10^4	0.5	1.3×10^4
T. ácido	10^{12}	5	10^7	--	--	--	--	--	--	--	--	--

RM: remoción máxima; N_o: concentración inicial; N: concentración final.

Por su parte, los huevos de helmintos no cumplirían con los límites de la NOM-004, con excepción de la producción de composta y del secado con aire. Como ya se mencionó, estos

procesos requieren grandes extensiones de terreno debido a los largos tiempos de retención de los mismos. Asimismo, la concentración de quistes de protozoos permanecería en el mismo orden con excepción de los dos procesos mencionados para los huevos de helmintos. Esto confirma la necesidad de desarrollar y evaluar procesos que se apliquen a las condiciones locales, principalmente en el aspecto microbiológico de los lodos, o en su caso, verificar el cumplimiento de los procesos convencionales con otras condiciones de operación.

Con relación a las bacterias, la Tabla 2.7 muestra la reducción de *Escherichia coli* (integrante de los coliformes fecales) en distintos procesos de estabilización. De acuerdo con estos datos, la producción de composta, la estabilización alcalina y el secado térmico logran reducir más de 6 unidades log su concentración, con lo cual se logran concentraciones menores a 1 unidad log (10 bacterias/g ST). Como se observa, la digestión anaerobia mesofílica no reduce en gran medida este tipo de bacterias por lo que su aplicación en México no es del todo recomendable, considerando las concentraciones de hasta 9 log en lodo crudo, lo que podría impedir el cumplimiento con los límites de coliformes fecales de la US EPA (6.3 log).

Por otra parte, los huevos de helmintos pueden ser inactivados o destruidos mediante la aplicación de procesos que incrementen la temperatura, desequen el lodo o añadan algún reactivo como amoníaco. En el primero de los casos, el tiempo de retención en procesos de digestión dependerá de la temperatura a la que opere dicho proceso.

Tabla 2.7. Reducción de *Escherichia coli* mediante diversos procesos de estabilización (Godfree, 2001).

Proceso	Reducción promedio de <i>E. coli</i> (logs)	Concentración final <i>E. coli</i> log(NMP/g ST)
Lagunas	2.65	3.93
Digestión anaerobia mesofílica, líquido	1.39	5.41
Digestión anaerobia mesofílica, deshidratado	2.29	4.65
Composta	6.71	0.43
Estabilización alcalina	7.1	-0.55
Secado térmico	7.14	-0.33

La Tabla 2.8 presenta la combinación de tiempo y temperatura requerida para inactivar completamente los huevos de *Ascaris* en lodos tratados por digestión aerobia o anaerobia. Es claro que a temperaturas mesofílicas (35 a 45° C) se requieren tiempos de retención prolongados, mientras que a temperaturas superiores a los 50° C en ambos tipos de digestión se reducen considerablemente dichos tiempos, con lo cual disminuye a su vez el tamaño de los reactores. Conforme se incrementa la temperatura partiendo de los 55 grados, el tiempo de retención del lodo llega a ser hasta de menos de 1 hora. A pesar de ello, los

tiempos de digestión son mayores puesto que uno de los objetivos es la reducción de la masa de lodos mediante la degradación de la fracción volátil de los mismos. Además, la digestión en ambientes termofilicos presenta dificultades operativas, principalmente para estabilizar y controlar el proceso (Speece, 1996).

Tabla 2.8. Tiempos de retención requeridos en procesos de digestión para inactivar completamente los huevos de *Ascaris* (Mbela, 1989, citado en Reimers *et al.*, 2001).

Temperatura °C	Tiempo de retención	
	Digestión acrobica	Digestión anaerobia
25	130 días	74 días
35	90 días	53 días
45	50 días	30 días
55	10 días	9 días
57	2 días	4 días
58	< 1 hora	3 días
59	< 1 hora	12 horas
60	< 1 hora	< 1 hora
70	< 1 hora	< 1 hora

Al tomar en cuenta lo anterior, se detecta una falta de procesos de tratamiento de lodos que permitan, de una manera eficiente y sencilla, producir lodos con un contenido reducido de microorganismos, partiendo de altas concentraciones en el lodo crudo como las reportadas en México. Por ello, el tratamiento ácido puede resultar una opción factible para cumplir con los estándares de calidad nacionales e internacionales para permitir el reúso benéfico de este tipo de subproductos.

2.6. Tratamiento ácido.

Existen pocos estudios que describan la inactivación de microorganismos patógenos en lodos mediante la adición de ácidos. Sin embargo, existen algunos reportes relativos a la destrucción de microorganismos con estos compuestos que a continuación se señalan y de los cuales se deducen evidencias suficientes para justificar el tratamiento ácido como proceso de reducción de microorganismos en lodos.

2.6.1. Estudios del efecto de ácidos en bacterias

En 1971 Roth y Keenan estudiaron el efecto de ambientes ácidos en la viabilidad de *Escherichia coli* para destruir el 90% de la población bacteriana aplicando tiempos de contacto de hasta 60 minutos. Emplearon ácidos acético, láctico, málico, cítrico, tartárico, clorhídrico y sulfúrico así como dos diferentes medios de cultivo (agar nutritivo y agar biliar rojo-violeta). Los resultados indicaron que el ácido sulfúrico fue el más eficiente en términos generales para destruir las colonias, seguido del ácido clorhídrico. El pH manejado fue de 3.0 y 3.2 unidades, respectivamente.

En un estudio realizado por Minor y Marth (1972) se encontró que los ácidos acético y láctico fueron más eficientes que el ácido clorhídrico en la destrucción de *Staphylococcus aureus* al ser cultivados en laboratorio.

Baldry y French (1989) analizaron el efecto del ácido peracético en *E. coli* y estreptococos fecales, usando dosis de 10 a 1000 ppm para lograr una reducción de 5 logs en condiciones de laboratorio. Los autores concluyeron que la dosis de ácido depende directamente del pH en el cual se aplique, el cual al ser neutral o ligeramente ácido permite aplicar menores dosis, aunque sin duda además debe intervenir la alcalinidad.

Por otra parte, Wortman *et al.* (1986) analizaron la exposición de cepas de *Escherichia coli* a residuos ácidos provenientes de la actividad minera y evaluaron los cambios morfológicos mediante microscopía avanzada y espectrometría de rayos X. Los residuos ácidos contenían altas concentraciones de metales (principalmente aluminio y hierro) y ácido sulfúrico. El pH de la solución se encontraba en 3.02 unidades y la temperatura en 16.1° C. Las células expuestas al residuo ácido presentaron diferencias significativas en cuanto a su longitud, ancho y volumen comparadas con las células de control. De igual modo, mostraron daños en la membrana exterior y pérdidas de citoplasma así como lisis después de la exposición. En general, las bacterias jóvenes sufrieron mayores cambios y daños que las bacterias adultas.

Un proceso que aplica la acidificación pero en diferentes condiciones es el reportado por Blais *et al.* (1992). Este proceso consiste en la oxidación del azufre contenido en el lodo por medio de bacterias nativas del mismo. El ácido sulfúrico así producido disminuye el pH hasta menos de 2.5 unidades con lo que se logran remociones de 3 unidades logarítmicas o más en el caso de coliformes fecales. Los autores reportaron una marcada solubilización de metales como cadmio, cobre y manganeso y sugieren que el lodo con alto contenido de azufre puede llegar a acidificar los suelos.

Langlais y Triballeau (1992) realizaron un estudio con ácido peracético en un efluente secundario aplicando 11.2 ppm. Lograron reducciones de 2.5 a 4 log de coliformes fecales y estreptococos fecales en 10 a 25 min. También Lefevre *et al.* (1992) lograron una inactivación de coliformes totales de 3 a 4 log, con una dosis de ácido de 2 a 11 ppm y 30 a 60 min. El mejor rendimiento se alcanzó usando una dosis de 5 ppm a 60 min para la desinfección de efluentes secundarios de aguas residuales. Además, el APA puede ser efectivo contra *Salmonella* spp. en las mismas dosis entre 30 y 60 min., eliminando de 0.25 a 2.5 unidades de *Salmonella*/L. En este mismo estudio el APA mostró baja sensibilidad a diferentes concentraciones de sólidos suspendidos. Este mismo autor midió el recrecimiento de bacterias con 5 ppm de APA; la actividad bacteriana reinició al siguiente día de la desinfección y el recrecimiento se midió hasta el quinto día. A este tiempo, la población bacteriana declinó y regresó al mismo número del primer día de tratamiento. Lazarova *et al.*, (1998) reportan también un recrecimiento bacteriano en efluentes desinfectados con 10 ppm de APA dos días después de ser diluidos con agua de mar.

El APA es capaz de reducir sustancialmente 4 log los niveles de organismos indicadores como coliformes totales y fecales en aguas residuales (Morris, 1993). Asimismo, remociones de 3 a 4 log de coliformes totales, fecales y estreptococos fecales fueron reportadas por Lazarova *et al.* (1998) al emplear una dosis de 10 mg de APA/L y tiempos de contacto menores a 10 min. A su vez los autores compararon el APA con otros desinfectantes como el ozono y los rayos UV obteniendo resultados muy similares, reduciendo de 3 a 4 log la concentración de coliformes totales y fecales en 10 minutos con una dosis de ozono de 7 mg/L y UV de 3 mW's/cm².

El ácido peracético puede ser eficaz también contra la bacteria *Vibrio cholerae* en dosis de 50 ppm alrededor de 20 °C, y esta actividad puede mejorarse si se aumenta la temperatura (Baldry *et al.*, 1995).

En la Tabla 2.9 se muestra una comparación de la desinfección lograda en agua residual al usar diferentes tratamientos como la luz ultravioleta, el ácido peracético y el ozono. Se observa que en todos los casos las reducciones son considerables pero en el caso del ácido peracético se logran remover más de 5 unidades log empleando dosis de 400 ppm. A su vez, al aplicar dosis de 10 ppm la eficiencia es similar a la alcanzada con 15 ppm de ozono aún cuando el tiempo de contacto es ligeramente mayor.

Tabla 2.9. Efectividad de desinfección con luz ultravioleta, ácido peracético y ozono en coliformes totales (Liberti y Notarnicola, 1999)

Sistema de desinfección	Dosis	N ₀ ^(a) (UFC/100 mL)	N ^(b) (UFC/100 mL)	Remoción en logs
UV	100 mW's/cm ²	1.2x10 ⁵	1.0x10 ⁰	4.7
APA	400 ppm, 20 min	3.6x10 ⁵	2.0x10 ⁰	5.2
	10 ppm, 30 min	4.4x10 ⁵	2.4x10 ²	3.4
O ₃	15 ppm, 10 min	8.0x10 ⁵	9.7x10 ¹	3.9

^(a) Coliformes totales antes de la desinfección

^(b) Coliformes totales después de la desinfección

El-Ziney *et al.*, (1997) probaron la actividad inhibidora de cuatro ácidos orgánicos y un ácido inorgánico con concentraciones equimolares de ácido no-disociado en *Yersinia enterocolitica* IP 383 0:9. Las pruebas se realizaron a pH de 3.9 a 5.8 en condiciones tanto aerobias como anaerobias. Los efectos inhibidores de los ácidos observados fueron divididos en dos categorías en función del pH. A valor alto de pH (5.8) el orden de inhibición fue: ácido fórmico > ácido acético > ácido propiónico > ácido láctico, mientras que a bajo pH el efecto fue: ácido fórmico > ácido láctico > ácido acético > ácido propiónico. Sin embargo, cuando el organismo se cultivó en condiciones anaerobias, mostró ser más tolerante a los ácidos fórmico y acético. En todas las circunstancias, los ácidos orgánicos demostraron ser más inhibidores que el clorhídrico. El pH mínimo inhibidor para el ácido acético fue de 5 unidades.

McKellar (1999) realizó un estudio con 19 cepas de *Escherichia coli* aisladas de humanos y alimentos, las cuales fueron examinadas para determinar su habilidad de crecimiento y

sobrevivencia a bajos valores de pH usando para ello ácido acético y ácido clorhídrico. El valor mínimo al cual las cepas crecieron fue de 5.5 y 4.25 para acético y clorhídrico respectivamente. El mayor pK_a del ácido acético (4.75) comparado con otros ácidos orgánicos y minerales es responsable de la mayor eficiencia observada de este ácido en *E. Coli* 0157:H7.

El ácido acético en niveles de pH bajo el pK_a (4.75) permanece casi no disociado, lo que le permite penetrar a través de la membrana celular y al mismo tiempo bajar el pH interno. Estas condiciones podrían permitir la inducción de las proteínas de choque ácido en respuesta al estrés ácido y por consiguiente explicaría la respuesta a la tolerancia ácida ocurrida a pH 3.5 y 4 para distintas cepas de *Escherichia coli* que mostraron una respuesta de tolerancia al ácido en las pruebas realizadas por Brudzinski (1998).

También en estudios realizados por Ryu *et al.* (1999), se observó que el ácido acético es más letal que el ácido láctico para *Salmonella*, además de que fue el más efectivo entre los cuatro ácidos orgánicos probados (málico, cítrico, láctico y acético) para inhibir el crecimiento de colonias y el desarrollo de *Escherichia coli*. La acidificación de comidas con el propósito de preservación reveló que el ácido acético es más bactericida que otros ácidos orgánicos, aparentemente debido a su bajo peso molecular.

2.6.2. Estudios del efecto de ácidos en otros microorganismos

Kiff y Lewis-Jones (1984) probaron cinco ácidos orgánicos (acético, propiónico, isobutírico, n-butírico e isovalérico) para inhibir el desarrollo de huevos de *Ascaris suum*. Los resultados demostraron que en todos los casos se obtuvo una inhibición casi total de los huevos, independientemente del tipo de ácido, y se logró una total inhibición a los 19 días de exposición. En cuanto a huevos de *Moniezia* spp.⁵, éstos se vieron dañados por la exposición ácida, siendo el tiempo un factor importante, reduciendo los huevos normales del 60 al 20% a los 7 y 14 días, respectivamente. Las dos temperaturas probadas (temperatura ambiente y 27 °C) produjeron resultados similares para este tipo de huevos, mientras que el tipo de ácido empleado no produjo variación significativa en los resultados obtenidos.

Fraser *et al.* (1984) evaluaron también el efecto del ácido peracético en huevos de *Taenia saginata*, y determinaron que se inhibe la incubación de los huevos hasta en un 99% y se destruye la viabilidad de los embriones en un 100% al emplear dosis de 250 a 1000 ppm.

En lo referente a virus, Baldry y French (1989) demostraron que con dosis de 11 a 1,500 ppm de APA se logró la reducción de 4 unidades log de bacteriófagos y poliovirus tipo 1 en cinco minutos de contacto. Los autores indicaron que la sensibilidad de los bacteriófagos fue similar a la de las bacterias fecales. A su vez, Morris (1993) encontró que el APA alcanzó una reducción de < 1 log para poliovirus tipo 2 en agua residual en 30 min de contacto, siendo menos efectivo que el hipoclorito de sodio, el cual removió 2 log. La

⁵ Helmintos (céstodos) que infectan a rumiantes.

desventaja de este segundo desinfectante es que interactúa con la materia orgánica presente en las aguas residuales y puede originar compuestos mutagénicos y carcinogénicos. Además, corroboró lo dicho por Harakeh (1984) relativo a que el cloro es más eficiente que el APA en la inactivación del virus.

En otro estudio de Lazarova *et al.* (1998), se mostró que el ácido peracético y los rayos UV requieren dosis más altas para remover bacteriófagos que las usadas para remover coliformes fecales, además de que la eficiencia depende del tipo de virus; un ejemplo de esto es la reducción de 7.5 log del bacteriófago Ø X174 obtenida con 10 ppm de APA en 120 min de contacto, y por otro lado una reducción hasta de 3.5 log del bacteriófago MS2 lograda con 500 ppm del mismo ácido en el mismo tiempo.

Langlais (1992) obtuvo una remoción de virus menor a 2 log después de 50 y 60 min. de tiempo de contacto usando el APA. En un estudio similar, Haraken (1984) encontró que se necesitan 140 ppm de APA para lograr una inactivación de 4 log para el rotavirus humano, así como 20 ppm para rotavirus SA11 de simio, ambos encontrados en efluentes de agua residual.

En varios experimentos de Lefevre *et al.*, (1992) se intentó medir la acción antiviral del APA, utilizando para ello bajas concentraciones de enterovirus normalmente encontradas en los efluentes de agua residual. Al aplicar 5 ppm de APA y en un tiempo de 60 min, se logró inactivar sólo el 27.5 % de los virus; obteniendo un resultado similar al emplear una dosis de 7 ppm del mismo ácido.

La Tabla 2.10 presenta las concentraciones de tres diferentes microorganismos presentes tanto en el influente como en el efluente de un agua residual, al pasar por los procesos de desinfección de luz ultravioleta, APA y ozono del estudio de Liberti y Notarnicola (1999). Aparentemente, el APA fue ineficiente en la destrucción de protozoos (*G. lamblia* y *C. parvum*) aunque en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo una buena eficiencia. A pesar de ello, debe considerarse que la dosis empleada es muy baja, y que los protozoos se presentan en concentraciones menores a las reportadas para los otros desinfectantes.

Tabla 2.10. Efectividad de la desinfección con luz ultravioleta, ácido peracético(APA) y ozono en parásitos (Liberti y Notarnicola, 1999)

Patógeno	UV (100 o 160 mWs/cm ²)		APA (10 ppm, 30 min)		O ₃ (15 ppm, 10 min)	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
<i>Giardia lamblia</i> (No./L)	113 ± 35	43 ± 21	17 ± 4	16 ± 4	33 ± 18	10 ± 4
<i>Cryptosporidium</i> <i>Parvum</i> (No./L)	14 ± 22	6 ± 8	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
<i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i> log(UFC/100mL)	3.1 ± 3.1	0.4 ± 0.1	3.7 ± 0.6	1.1 ± 0.2	3.0 ± 0.5	0.9 ± 0.2

2.6.3. Otros estudios

Existen patentes de procesos de tratamiento ácido como la de Lynch *et al.* (1984) los cuales registraron un proceso de estabilización de lodos mediante la adición de ácido sulfúrico, cloro, ozono, aire y cal. El proceso se llevó a cabo en dos reactores presurizados: el primero recibe el lodo y lo mezcla con el ácido y el cloro y le inyecta aire para oxidar la materia orgánica; el segundo mezcla el lodo con ozono, aire y cal. Adicionalmente, existe un proceso de deshidratado intermedio en donde el agua removida es recirculada al primer reactor y los sólidos son enviados al segundo reactor. Los autores reportan que el lodo producido puede ser enviado a rellenos sanitarios o incinerado como fuente de energía.

Recientemente, Meunier *et al.* (1996) estudiaron la reducción de sólidos totales y volátiles en lodos residuales mediante la acidificación de los mismos con ácido sulfúrico a un pH de 2 a 2.5 unidades. Se demostró que la aplicación del ácido provoca una rápida hidrólisis y mineralización de la biomasa con una consiguiente reducción de los sólidos del lodo. Las reducciones alcanzadas fueron de hasta 43.3 y 54.4% para sólidos totales y volátiles respectivamente.

La Tabla 2.11 presenta un resumen de los estudios realizados con ácidos para reducir diferentes microorganismos. Como se observa en dicha Tabla, únicamente tres estudios han sido realizados con lodos residuales y en ellos se han evaluado solamente el ácido peracético y el sulfúrico. Por su parte, el resto de los estudios han sido llevados a cabo en agua residual y en distintos medios de cultivo, a la vez que han empleado una gran variedad de ácidos. Es importante mencionar que aquellos estudios que han empleado ácido peracético presentan dosis variables pero tiempos de retención generalmente cortos. Esto último podría representar una ventaja importante frente al resto de los procesos de estabilización debido a la reducción en el volumen de los reactores como consecuencia del breve periodo de contacto. Es notable la variedad de organismos que han sido analizados en dichos estudios, en la mayoría de los cuales se han reportado eficiencias considerables en su reducción o inactivación. Como se ha mencionado anteriormente, parte de estos estudios fueron realizados mediante el sembrado de las muestras, lo cual contrasta con la realidad de los lodos generados en México, los cuales presentan altas concentraciones de microorganismos de manera natural. Todo lo anterior realza la importancia del presente trabajo y su contribución a nivel nacional e internacional.

De acuerdo con lo presentado en los párrafos anteriores, la necesidad de tratar los lodos residuales para reducir su contenido microbiológico debe ser prioritaria en México, debido al alto contenido de bacterias, virus, protozoos y helmintos reportados. Adicionalmente, debe considerarse el incremento previsto en la generación de lodos, el cual pudiera alcanzar las 700,000 toneladas anuales (base seca) de acuerdo con la Comisión Nacional del Agua. Asimismo, partiendo de la revisión bibliográfica se deduce suficiente evidencia para aplicar el tratamiento ácido en la estabilización de lodos residuales, lo que permitiría lograr reducciones significativas de microorganismos de una manera eficiente y sencilla sin requerir necesariamente de equipos o procesos de alta tecnología. Ello favorecería su reaprovechamiento benéfico de manera segura, y harían del reúso la opción más económica y ambientalmente adecuada.

Tabla 2.11. Resumen de estudios que han aplicado ácidos para la destrucción de microorganismos.

Referencia	Matriz	Ácido	Dosis	Tiempo de contacto	Microorganismo
Liberti y Notarnicola, 1999	agua residual	APA	10 ppm	30 min	Coliformes totales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Giardia lamblia</i> , huevos de helmintos, <i>Cryptosporidium parvum</i>
McKellar, 1999	medio de cultivo	acético, clorhídrico	---	---	<i>E. coli</i>
Ryu et al., 1999	medio de cultivo	acético, láctico, málico, cítrico	---	---	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i>
Lazarova et al., 1998	agua residual	APA	10 ppm	10 min	Coliformes totales y fecales, estreptococos fecales, bacteriófagos
El-Ziney et al., 1997	medio de cultivo	acético, propiónico, láctico, fórmico, clorhídrico	---	---	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Sánchez-Ruiz et al., 1995	agua residual	APA	2-80 mg/L	<120 min	Coliformes totales
Baldry et al., 1995	medio de cultivo	APA	50 ppm	---	<i>Vibrio cholerae</i>
Morris, 1993	agua residual	APA	---	---	Coliformes totales y fecales
Lefevre et al., 1992	agua residual	APA	2 - 11 ppm	30 - 60 min	Coliformes totales, <i>Salmonella</i>
Langlais, 1992	agua residual	APA	11.2 mg/L	10 - 25 min	Coliformes fecales y estreptococos fecales
Blais et al., 1992	lodo	sulfúrico	---	---	Coliformes fecales
Baldry y French, 1989	agua residual	APA	10-30 mg/L	5 min	Bacteriófagos, poliovirus, <i>E. coli</i> , estreptococos fecales
Wortman et al., 1986	medio de cultivo	sulfúrico	---	---	<i>E. coli</i>
Harakeh, 1984	agua residual	APA	20 - 140 ppm	30 min	Rotavirus, enterovirus y bacteriófagos
Godfree et al., 1984	lodo	APA	200 - 600 ppm	10 min	<i>E. coli</i> , estreptococos fecales, <i>Salmonella</i>
Fraser et al., 1984	lodo	APA	250 - 1000 ppm	60 min	<i>Salmonella</i> , <i>Taenia saginata</i>
Kiff y Lewis-Jones, 1984	medio de cultivo	acético, propiónico	---	7 y 14 d	<i>Ascaris suum</i>
Minor y Marth, 1972	medio de cultivo	acético, láctico, clorhídrico	---	---	<i>Staphylococcus aureus</i>
Roth y Keenan, 1971	medio de cultivo	acético, cítrico, sulfúrico, clorhídrico	---	---	<i>E. coli</i>

OBJETIVO

Estudiar la estabilización ácida de lodos residuales en términos de la eliminación de microorganismos para producir biosólidos y determinar las condiciones básicas de operación del proceso.

METAS

- Producir biosólidos que cumplan con la normatividad nacional (NOM-004-SEMARNAT-2002).
- Determinar el tipo de ácido para lograr la estabilización.
- Evaluar el recrecimiento en los lodos tratados.
- Definir los tiempos de contacto requeridos.
- Evaluar el acondicionamiento y deshidratación de los lodos producidos en el tratamiento ácido.
- Analizar la solubilidad de metales en el lodo tratado.
- Estudiar el efecto del ácido en los microorganismos.

HIPÓTESIS

La aplicación de ácidos orgánicos e inorgánicos a lodos residuales puede reducir la concentración de bacterias y huevos de helmintos en función de diversos factores como la dosis de ácido y el tiempo de contacto, lo cual permite reaprovechar los lodos tratados (biosólidos) en actividades agrícolas o para el mejoramiento de suelos.

3. METODOLOGÍA

Debido a la cantidad de pruebas experimentales realizadas en el presente trabajo, este capítulo expone la conceptualización de las mismas, además de presentar brevemente los parámetros analizados a lo largo del trabajo.

3.1. Etapa I. Evaluación del tipo de ácido

Debido a la gran variedad de ácidos reportados en la literatura con potencial de ser empleados en el tratamiento ácido de lodos, se eligieron cuatro ácidos en una primera etapa con el objeto de determinar la factibilidad de emplearlos en el proceso. Estos fueron el acético (CH_3COOH), peracético (CH_3COOOH), perclórico (HClO_4) y sulfúrico (H_2SO_4). Los dos primeros ácidos son considerados como orgánicos debido a que contienen carbono, mientras que los dos restantes son inorgánicos por no cumplir con ese criterio.

En el caso del ácido acético, éste ha demostrado su poder bactericida desde hace varios siglos al ser empleado como agente conservador de alimento y de acuerdo con lo presentado en el capítulo 2 de este trabajo, existen algunos estudios que demuestran su capacidad de desinfección, la cual depende de la dosis que se aplique, así como de la resistencia del organismo en particular. Por su parte, el ácido peracético es un desinfectante con un alto poder bactericida que ha sido empleado en años recientes en la industria alimenticia y en instrumental médico. Adicionalmente, y al igual que para el acético, su uso en la desinfección de agua y lodos residuales ha reportado en general buenos resultados como se indicó en el capítulo 2.

En contraste, los ácidos perclórico y sulfúrico no son usados propiamente como bactericidas, por el contrario, sus usos se enfocan principalmente en la fabricación de fertilizantes fosfatados (sulfúrico) y en la digestión de muestras orgánicas (perclórico). Sin embargo, por su alta capacidad para reducir el pH y su alta corrosividad (perclórico), éstos fueron propuestos para ser probados en esta etapa de la experimentación. El Anexo I presenta información técnica correspondiente a los cuatro ácidos empleados.

Las dosis empleadas de ácidos sulfúrico y perclórico fueron determinadas en el laboratorio mediante una curva de pH vs dosis de ácido para lograr alcanzar los pH's recomendados para la estabilización (menores a 3.5 unidades; Roth y Keenan, 1971; Wortman *et al.*, 1986; y Blais *et al.*, 1992). Para el ácido peracético, las dosis elegidas fueron considerablemente mayores que las presentadas en la literatura (500 ppm) debido a que en ella se reportan tiempos de contacto de hasta siete días (Owen, 1984). De igual modo, en el caso del ácido acético, los tiempos de contacto reportados son de hasta 19 días con dosis de 400 ppm (Kiff y Lewis-Jones, 1984).

Como se observa en la Tabla 3.1, las concentraciones de los ácidos empleados difieren notablemente entre sí. En el caso de los ácidos sulfúrico y perclórico se trabajó a una concentración del 20% para facilitar su manejo y disminuir el riesgo de quemaduras.

Respecto al ácido peracético, el producto obtenido (Perabac-QPM, Quimiproducos) se comercializa a esa concentración (3.7 %), recomendando su uso directo como desinfectante. Por su parte, el ácido acético, de acuerdo con sus datos técnicos, puede producir quemaduras serias a una concentración de 80% o más por lo que se trabajó al 50%.

Tabla 3.1. Tipo de ácido, concentración y dosis empleadas en la estabilización ácida.

Ácido empleado	Concentración del ácido, % v/v	Dosis, ppm
Acético	50	3700 - 22000
Peracético	3.7	1000 - 5000
Perclórico	20	2600 - 32900
Sulfúrico	20	4400 - 57600

En esta primera etapa se analizaron pH, sólidos totales, coliformes fecales y huevos de helmintos. La determinación de *Salmonella* spp. no se llevó a cabo debido a que se ha observado que los coliformes fecales son indicadores de su concentración, y que se encuentran generalmente entre una y dos unidades logarítmicas por debajo de ellos, siempre y cuando no se alcancen los límites de detección (Barrios *et al.*, 2001). Todas las pruebas se realizaron por triplicado, con lodo obtenido de la planta en diferentes fechas. En todos los casos se emplearon muestras de 1 L de lodo con excepción del ácido peracético en el que se usaron 0.8 L debido a la gran cantidad de espuma que se genera durante la reacción del peróxido de hidrógeno con la materia orgánica.

3.2. Etapa II. Recrecimiento en lodo líquido tratado con ácido acético.

Debido a las altas eficiencias de remoción de microorganismos logradas en la Etapa I con acético y peracético, y al tomar en cuenta que las bacterias pueden emplear al primero como fuente de carbón o energía cuando las dosis no son suficientes para destruirlas, se realizaron pruebas para determinar la estabilidad del lodo tratado con este ácido. Para ello, el lodo acidificado (en forma líquida) fue almacenado en el laboratorio para el estudio de la calidad microbiológica durante 35 días. Además se midieron otros parámetros como el pH, los sólidos y el ácido acético residual de acuerdo con la técnica mediante titulación propuesta por Orozco (1981). Se supuso que la concentración inicial de acético residual en el lodo tratado provenía únicamente del ácido acético añadido ya que el tiempo de almacenamiento del lodo crudo fue menor a un día, con lo cual se estimó que no existía suficiente fermentación que hubiese incrementado la concentración de este parámetro significativamente. Las pruebas se realizaron por duplicado.

En el caso del ácido peracético, su alto poder desinfectante evita que una vez destruidas las bacterias, exista algún tipo de recrecimiento, por lo que este reactivo no fue estudiado en esta etapa.

3.3. Etapa III. Determinación del tiempo de contacto en el tratamiento con ácidos acético y peracético.

Paralelamente a la Etapa II, en la cual se determinó que una dosis mayor a 15000 ppm de acético era adecuada para llevar a cabo el tratamiento ácido de los lodos residuales, además de los resultados de la Etapa I, en donde se observó una destrucción total de las bacterias empleando 1000 ppm de peracético, se realizaron pruebas con 22000 ppm de acético y 550 ppm de peracético. En esta etapa, se analizó la destrucción de coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helmintos durante el periodo de mezcla del ácido con el lodo. Se determinó la concentración de estos parámetros a los 2, 5, 10, 15 y 30 minutos. Con el propósito de detener la reacción de los ácidos, se añadieron 30 g/L de tiosulfato de sodio, en el lodo tratado con acético, y una mezcla de 2 g/L de tiosulfato de sodio y 0.11 mg/L de catalasa, en el lodo tratado con peracético, de acuerdo con lo recomendado por Baldry (1983).

3.4. Etapa IV. Deshidratación y recrecimiento en lodo tratado con ácidos acético y peracético.

En esta etapa se simuló el tren de tratamiento completo de los lodos. Para ello, inicialmente se trataron muestras de 6 litros de lodo fisicoquímico con ácidos acético y peracético. En este caso se redujo la dosis de ácido acético a 18000 ppm de acuerdo con los resultados previos y se mantuvo la dosis de 550 ppm de peracético. Posteriormente, los lodos fueron acondicionados y deshidratados en un filtro prensa piloto de marco y placas, con membranas de polietileno. El acondicionamiento se llevó a cabo con el polímero Ecofloc 6120 (Química Ecotec) a una dosis de 4.0 kg/ton ST, en el caso de las pruebas con acético, y de 6.5 kg/ton ST para el caso del peracético. Dichas dosis fueron obtenidas con base en pruebas de resistencia específica a la filtración (REF). El lodo así deshidratado fue almacenado a temperatura ambiente y se midió pH, coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helmintos por un periodo de 42 días.

3.5. Etapa V. Solubilización de metales en lodo acidificado.

De acuerdo con Blais *et al.* (1992), el tratamiento ácido puede ser empleado para reducir el contenido de bacterias en lodos pero también para lixiviar metales en los lodos mediante la reducción en el pH. Por ello, en esta etapa se evaluó la solubilización de metales al aplicar ácidos acético y peracético al lodo fisicoquímico. Para ello se comparó el contenido de metales solubles en los biosólidos tratados con ácidos acético y peracético (22000 y 550 ppm) con el del lodo crudo y se determinó la fracción soluble en ambos casos con la ecuación 1.

$$F_s = \frac{C_s}{C_t} \quad (1)$$

Donde

F_s : fracción soluble de metal (%)

C_s : concentración del metal en forma soluble (mg/kg)

C_t : concentración total del metal en lodo crudo (mg/kg)

3.6. Etapa VI. Estabilización de lodo biológico con ácido peracético.

Con el propósito de validar la aplicabilidad del proceso de estabilización con ácido peracético, se realizaron pruebas preliminares con lodo biológico, para lo cual se aplicaron dosis de 250, 500, 750 y 1000 ppm. En este caso se aplicó una dosis menor que las aplicadas en lodo fisicoquímico (250 vs 550) debido a la menor densidad de microorganismos en el lodo biológico. El tiempo de contacto fue de 30 minutos y la agitación de 320 rpm. Los parámetros analizados fueron sólidos totales, coliformes fecales y huevos de helmintos. Las pruebas se realizaron por triplicado con lodo muestreado en diferentes fechas.

3.7. Etapa VII. Efecto del ácido peracético en huevos de *Ascaris suum*.

Para evaluar el efecto del ácido peracético en los huevos de helmintos, se aplicaron diferentes dosis de ácido a una solución de huevos de *Ascaris suum* con una concentración aproximada de 2×10^5 huevos por litro. Dichos huevos fueron extraídos del útero de una lombriz adulta obtenida en un rastro de la Ciudad de México. Las dosis de ácido fueron de 80, 170, 330 y 500 ppm. Lo anterior con el propósito de emplear dosis menores a la seleccionada en las etapas anteriores (550 ppm) para evitar la destrucción total de los huevos y poder observar el daño en estas estructuras. Los tiempos de contacto variaron entre 5 y 8 minutos, después de los cuales las muestras fueron filtradas por un tamiz de 20μ y enjuagadas con agua destilada. Los huevos retenidos fueron recuperados con agua destilada en un tubo de 50 mL, el cual fue centrifugado durante 3 minutos a 3000 rpm para separar los huevos mediante decantación. Posteriormente, las muestras fueron teñidas con safranina para ser observadas en el microscopio óptico y fotografiadas con una cámara digital (Olympus® C-2000 Z).

3.8. Muestreo del lodo residual.

3.8.1. Lodo fisicoquímico

En las etapas I a V se emplearon lodos fisicoquímicos provenientes de la planta de San Pedro Atocpan en la delegación Milpa Alta del Distrito Federal. Dicha planta pertenece al Gobierno del Distrito Federal y la opera la Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica (DGCOH). El proceso que emplea es un tratamiento primario avanzado (TPA), el cual consiste en la coagulación y floculación de los sólidos suspendidos mediante la adición de sulfato de aluminio y polímero aniónico en dosis de 66 y 1 mg/L, respectivamente. Del tratamiento de 35 L/s de agua residual se generan aproximadamente 470 kg/d de lodos en base seca que son removidos por sedimentación y posteriormente pasan hacia un tanque de espesamiento donde parte del agua es separada y enviada de regreso al tren de tratamiento del agua. Por su parte, los lodos son enviados en pipas a la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella para su posterior secado y disposición final. El diagrama de flujo de la planta de tratamiento se muestra en la Figura 3.1. Cabe mencionar que este tipo de lodos fue empleado en las primeras etapas debido a que el tratamiento que los genera (primario avanzado) está siendo empleado para cumplir con los límites de la normatividad en materia de agua (NOM-001-ECOL-1996) y en los últimos años se han

construido más plantas de este tipo que biológicas. Así, está el caso de Ciudad Juárez, Culiacán y Puebla en donde se han construido plantas que operan bajo este proceso y tratan gastos de hasta $1.5 \text{ m}^3/\text{s}$.

Los lodos fueron muestreados directamente de la purga de los sedimentadores. Por ello, se abrió la válvula de desfogue hasta drenar la línea con el propósito de obtener lodo fresco. La elección de los lodos fisicoquímicos se hizo por sus altas concentraciones de microorganismos que en éstos se presentan, particularmente de huevos de helmintos, lo cual se deriva de la alta eficiencia del TPA en la remoción de sólidos suspendidos, los cuales incluyen a los helmintos.

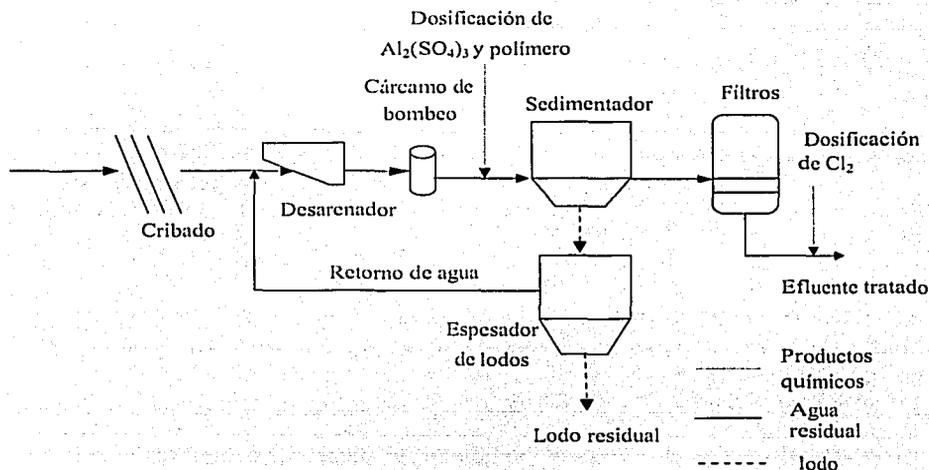


Figura 3.1. Diagrama de flujo de la planta de San Pedro Atocpan, D.F.

3.8.2. Lodo biológico.

El lodo biológico empleado en la etapa VI fue muestreado en la planta de tratamiento Cerro de la Estrella de la DGCOH, ubicada en la delegación Iztapalapa del Distrito Federal. La planta tiene una capacidad de diseño de $4 \text{ m}^3/\text{s}$ y trata una mezcla de aguas residuales domésticas, industriales y comerciales hasta nivel terciario (filtración + cloración). La planta es operada por la Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica (DGCOH), del Gobierno del Distrito Federal y cuenta con un proceso de tratamiento por lodos activados convencional. Las muestras de lodo biológico fueron tomadas de la línea de recirculación entre el sedimentador secundario y los tanques de lodos activados (Figura 3.2).

Debido al alto contenido de agua en el lodo muestreado, éste fue espesado por dos horas. Posteriormente se eliminó el sobrenadante y se obtuvo un lodo más concentrado, el cual fue mezclado en cubetas con el fin de homogeneizar la muestra y tomar el litro necesario para el proceso de estabilización ácida.

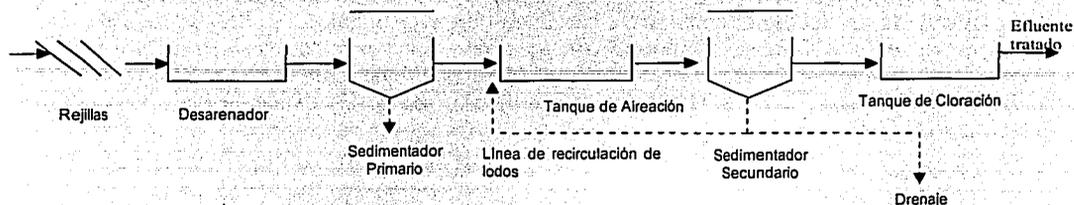


Figura 3.2. Diagrama de flujo de la planta de Cerro de la Estrella, D. F.

3.9. Parámetros analíticos

Los análisis realizados a lo largo de la experimentación incluyeron parámetros físicos, químicos y microbiológicos. Las técnicas empleadas en cada uno de los casos se mencionan a continuación.

3.9.1. Potencial hidrógeno (pH).

El pH define la relativa condición básica o ácida de los lodos, midiendo la actividad de los protones (H^+) y se expresa en términos logarítmicos. El pH puede aportar información acerca de otras propiedades de los lodos y la solubilidad de los minerales del mismo. Este parámetro puede ser evaluado directamente o en relaciones 1:1 o 1:5 (lodo:agua). En este caso se evaluó directamente en el lodo líquido empleando un conductímetro *Accumet* Modelo 25 (Fisher Scientific).

3.9.2. Sólidos totales (ST).

La concentración de metales y microorganismos es expresada en términos de la cantidad de masa seca de los lodos, debido principalmente a las variaciones en el contenido de humedad que éstos presentan. Para ello, es necesario conocer la cantidad de sólidos que contiene el lodo en cuestión y expresarlos en porcentaje. Adicionalmente, es un parámetro fundamental para determinar el volumen de producción, así como el dimensionamiento de las unidades de manejo de lodos. Su determinación es gravimétrica y sigue el procedimiento del método 2540G de los Métodos Estándar (APHA, AWWA, WEF, 1998).

3.9.3. Sólidos volátiles (SV).

Los sólidos volátiles de los lodos representan la materia orgánica contenida en ellos. Al someter una muestra de lodo a una temperatura de $550 \pm 50^\circ C$, la fracción orgánica de la

materia se oxida y se libera en forma de gas, mientras que la fracción inorgánica permanece como ceniza. Su determinación se realiza por el método 2540G de los Métodos Estándar (APHA, AWWA, WEF, 1998) posterior a la determinación de sólidos totales.

3.9.4. Metales (arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, y zinc).

Los metales pueden acumularse en los lodos al ser removidos del agua residual mediante reacciones de intercambio iónico, adsorción, o precipitación. Esta acumulación puede llegar a representar un riesgo cuando los lodos pretendan ser reutilizados debido al potencial de acumulación en el suelo o en las plantas, por lo que incluso pueden ingresar a la cadena alimenticia del hombre, con riesgos adicionales a la salud humana. Adicionalmente, en caso de reutilizar los lodos en suelos, es necesario cumplir con los límites máximos permisibles de estos parámetros. Para el análisis de los metales se requiere la digestión previa a la determinación, con el propósito de solubilizar cada uno de ellos y cuantificarlos de manera total por espectrometría. El método analítico empleado corresponde al 6010 de la EPA para residuos sólidos, sedimentos y lodos, con excepción del mercurio que fue analizado por el método 7471A de la EPA.

3.9.5. Coliformes fecales.

Dado el número y la diversidad de organismos patógenos presentes en los lodos residuales, resulta muy difícil aislar y cuantificar todos ellos. Por tal motivo, los coliformes fecales, son considerados indicadores convencionales de contaminación bacteriana de origen fecal debido a que éstos se encuentran en concentraciones mayores y son más resistentes que el resto de las bacterias patógenas, además de que su determinación es relativamente sencilla y rápida.

La densidad de los coliformes fecales se expresa como número más probable (NMP) por gramo de materia seca (ST) y se obtiene mediante el código formado por tres algoritmos correspondientes al número de tubos con resultados positivos en tres series consecutivas, aplicado a la siguiente ecuación:

$$\text{NMP} = (\text{NMP de tablas}) \times (10 / \text{mayor volumen inoculado}) \quad (2)$$

Su determinación sigue el procedimiento descrito en la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Anexo II).

3.9.6. *Salmonella* spp.

El género *Salmonella*, pertenece a la familia enterobacteriaceae (enterobacterias) cuyo hábitat natural es el tracto intestinal del hombre y los animales. Este tipo de microorganismos son patógenos de manera regular para el hombre y animales de sangre caliente, se adquieren usualmente por ingestión de alimentos o agua contaminada y producen enteritis, infección general y fiebre intestinal en el organismo contaminado.

Para la evaluación microbiológica de los sedimentos se determina el grupo *Salmonella spp.*, empleando el método cuantitativo mediante la técnica de enriquecimiento en tubo múltiple (NMP) por proporción homogénea. Su determinación se basa en el método descrito en la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Anexo II).

3.9.7. Huevos de helmintos

Los huevos de helmintos son huevos de lombrices intestinales pertenecientes a tres grupos biológicos denominados nemátodos, tremátodos y céstodos. Los huevos son estructuras que forman parte del ciclo de vida de estos organismos y que presentan una alta resistencia a los procesos de desinfección y estabilización de lodos convencionales (con excepción de aquellos que elevan la temperatura por encima de 50° C o que alteran significativamente el pH). Estos producen la enfermedad más común del hombre y en México más de un millón de personas reportan alguna enfermedad derivada de estos parásitos (SSA, 2001).

Este parámetro es indispensable para evaluar los microorganismos que representan un elevado riesgo a la salud humana debido a que en sus diversos estadios infecciosos (huevos embrionados o larvas) son altamente persistentes en los lodos residuales. Así, los lodos pueden constituir un vehículo directo o indirecto de disseminación de huevos de helmintos, aun cuando se encuentren en bajas concentraciones, que pueden dar lugar a enfermedades gastrointestinales.

El método de análisis se basa en la diferencia de densidades entre los huevos de helminto, las demás sustancias presentes en las aguas residuales, y las que se agregan para permitir la separación. El método comprende los procesos de coagulación, sedimentación, flotación, decantación y la técnica bifásica para recuperar los huevos de helminto y efectuar el conteo. El método se encuentra descrito en la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Anexo II).

3.9.8. Resistencia específica a la filtración (REF).

El acondicionamiento del lodo se lleva a cabo con el objeto de permitir la separación del agua en exceso y así disminuir el volumen de agua contenido en el mismo reduciendo los costos asociados al transporte y manejo del biosólido. Para ello se aplican polímeros que favorecen la floculación del lodo y su posterior separación del agua. Debido a la gran variedad de polímeros existentes en la actualidad, es necesario realizar pruebas para determinar el polímero adecuado para llevar a cabo el acondicionamiento. De las diversas pruebas disponibles, la REF es una de las más indicadas debido a su relativa simplicidad y al valor de los datos que se obtienen, a partir de los cuales es posible determinar una dosis adecuada para cada lodo en particular. En contraste, pruebas como el tiempo de succión capilar (TSC) puede arrojar resultados que provoquen una sobredosis de polímero, lo cual representa un costo innecesario en el proceso de acondicionamiento (Wu *et al.*, 1997). Adicionalmente, pruebas sencillas pueden ser empleadas para determinar el funcionamiento de determinado polímero, lo cual es de gran utilidad cuando se prueban varios productos.

Una de estas pruebas es la prueba de floculación en vasos de precipitado. Esta prueba se realiza colocando una muestra de lodo (100 mL) en un vaso de 250 mL, a la cual se le añade una dosis inicial de solución de polímero (2 mL) previamente preparada de acuerdo con las indicaciones del fabricante del producto. Posteriormente, la muestra es vaciada repetidamente de un vaso al otro y se observa si existe floculación o no. En caso de que al vaciar la muestra entre 5 y 10 veces no se observe una floculación aparente, se debe agregar una dosis adicional de polímero. Este procedimiento se realiza de manera sucesiva hasta alcanzar una dosis no mayor a 20 kg de polímero por tonelada de lodo seco, posterior a la cual se determina que dicho producto no es aplicable al lodo en estudio. Si por el contrario, se observa floculación del lodo, se deberá registrar la dosis con la cual se logró dicha floculación para tenerla como referencia al realizar las pruebas de REF.

Para realizar las pruebas de resistencia específica a la filtración, se empleó un dispositivo conformado por un embudo *Buchner* de 9 cm de diámetro, una probeta graduada de 100 mL, una conexión para aplicar vacío al embudo y una bomba de vacío. Como medio filtrante se utilizó papel *Whatman* No 42 en el que se depositaron 100 mL de lodo acondicionado. La presión de vacío que se aplicó fue de 0.5 bar, la cual se mantuvo constante a lo largo del ensayo.

La prueba en sí se realiza midiendo el volumen de filtrado acumulado a diferentes tiempos. Con los datos de tiempo (t) y volumen de filtrado acumulado (v), se construye una curva graficando t/v contra v y se determina la pendiente (b) de la zona recta. La ecuación para determinar la resistencia específica a la filtración es la siguiente (WPCF, 1988):

$$r = \frac{2bPA^2}{\mu c} \quad (3)$$

Donde

- r : Resistencia específica a la filtración (m/kg),
- b : Pendiente de la curva t/V respecto de V , (s/m^6)
- t : Tiempo de filtrado (s),
- V : Volumen de filtrado obtenido al cabo del tiempo t (m^3)
- P : Gradiente de presión o presión aplicada (N/m^2),
- A : Área de la superficie filtrante (m^2),
- μ : Viscosidad dinámica del filtrado ($N \cdot s/m^2$),
- c : Masa de sólidos por unidad de volumen de filtrado (kg/m^3)

Al aplicar diversas dosis de polímeros y medir su resistencia específica a la filtración es posible determinar la dosis recomendada para llevar a cabo el acondicionamiento y posterior deshidratación de los lodos.

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Etapa I. Evaluación del tipo de ácido.

4.1.1. Resultados de pH.

El pH en el lodo acidificado tiene dos implicaciones. La primera lo relaciona con la destrucción de microorganismos en ambientes ácidos por debajo de cuatro unidades (McKinney, 1962), y la segunda con la posibilidad de deshidratar el lodo con polímeros sintéticos los cuales generalmente operan a pH de 4 a 11 unidades generalmente (Allied Colloids, 1988).

La aplicación de polímeros para el acondicionamiento permite remover parte del agua en exceso de los lodos a través de la deshidratación, reduciendo considerablemente su volumen así como los costos relacionados con el transporte y manejo de éstos. Por ello, un pH muy ácido podría limitar la aplicación de estos reactivos con consecuencias negativas.

En el caso de la destrucción de microorganismos, generalmente a pH ácido únicamente organismos acidófilos pueden sobrevivir así como algunos tipos de hongos. De hecho, algunas bacterias acidófilas como especies de *Thiobacillus* y *Sulfolobus* oxidan minerales sulfurosos para producir ácido sulfúrico, el cual disminuye el pH (Brock *et al.*, 1994). Sin embargo, la mayoría de las bacterias, incluyendo aquellas involucradas en la fermentación llamadas ácido-tolerantes, son incapaces de desarrollarse a un pH menor a 4 unidades.

Primeramente, se realizaron pruebas con ácido acético aplicando dosis de 3700, 7300, 11000, 14700, 18400 y 22000 ppm. Los valores de sólidos totales y pH en lodo crudo variaron de 4.26% a 6.37% y de 4.96 a 5.57 unidades, respectivamente. En este caso la muestra con un mayor contenido de sólidos totales presentó un pH mayor que las de concentraciones menores de sólidos. Aunque aparentemente en todas las muestras de lodo crudo la concentración de sólidos no presentó una gran variabilidad, una diferencia de más de 2% de ST como la observada refleja cambios en las condiciones de operación del proceso de tratamiento de agua, particularmente en los tiempos de purga de los lodos sedimentados.

Los valores de pH promedio presentaron una desviación estándar pequeña -menos de 0.4 unidades en todos los casos- como se observa en la Figura 4.1 a. En todas las corridas el pH se mantiene ligeramente por debajo de 4 en las dosis mayores a 10000 ppm. En este valor se esperaría una baja eficiencia en la destrucción de coliformes fecales pero el acondicionamiento podría ser llevado a cabo con polímeros que actúen en condiciones ácidas.

El segundo ácido probado en la estabilización fue el peracético. De acuerdo con la literatura, éste posee un gran poder desinfectante aún en dosis relativamente bajas. Por tal

motivo, las dosis empleadas fueron menores que con los ácidos inorgánicos, e iguales a 1000, 1700, 2500, 3300, 4200 y 5000 ppm. La Figura 4.1 b presenta los resultados promedio de pH obtenidos en las corridas realizadas. En estas pruebas el lodo crudo presentó valores de pH y sólidos totales de 4.96 a 5.48 y de 4.26 a 6.70%, respectivamente. Como se observa, el pH siguió alcanzando valores ligeramente menores a 4 unidades.

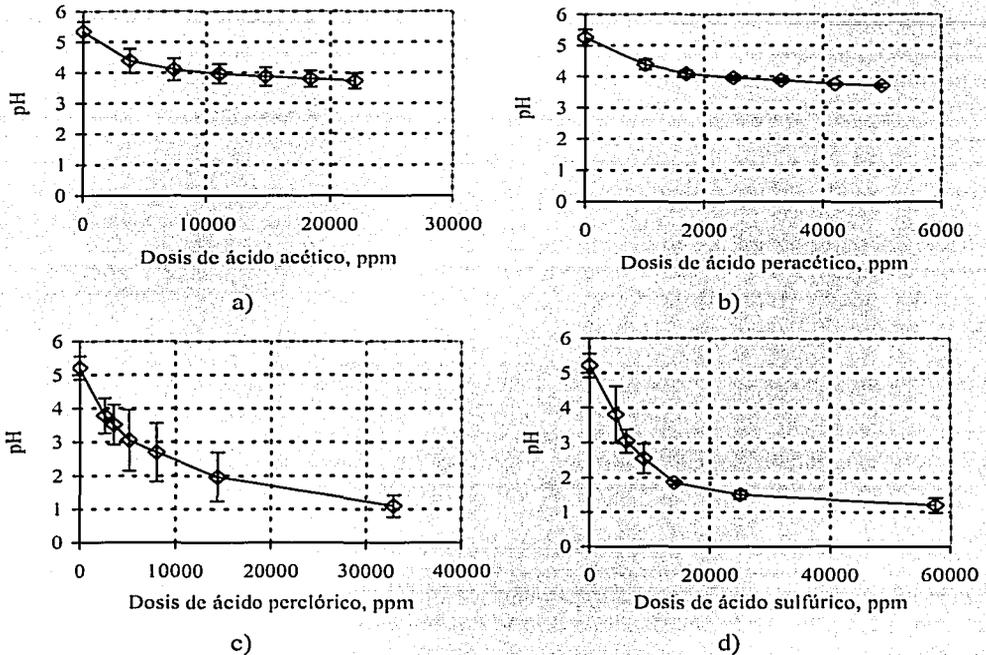


Figura 4.1. Comportamiento del pH en muestras acidificadas con: a) acético, b) peracético, c) perclórico y d) sulfúrico.

En la Figura 4.1 c se presentan los resultados de pH en las muestras estabilizadas con ácido perclórico. En este caso se emplearon dosis de 2600, 3500, 5100, 8000, 14400 y 32900 ppm. Se observó que las muestras con pH inicial menor corresponden a una concentración de sólidos totales mayor y viceversa. Debido a la operación en la planta de tratamiento de San Pedro Atocpan, los tiempos de purga de los sedimentadores varían sin un relativo control, y el lodo pasa un tiempo variable en ellos por lo que su concentración de sólidos incrementa o disminuye como lo muestran los resultados de sólidos totales para las muestras de esta primera etapa (4.26 a 6.70%; Anexo III). Adicionalmente, puede observarse que estos lodos provenientes de la coagulación con sulfato de aluminio generalmente tienen un pH ligeramente ácido, el cual se debe a la reacción del sulfato de

aluminio en la cual se liberan iones H^+ que reducen el pH de acuerdo con las siguientes ecuaciones:



El pH alcanzado a partir de las 2600 ppm fue menor a 4 unidades, lo cual destruiría las bacterias de acuerdo con McKinney (1967) además de que podría limitar el acondicionamiento en las muestras con dosis altas. Se observa además que con las dosis superiores se alcanzaron valores cercanos a la unidad, con lo cual se destruirían por completo las bacterias.

Como ya se mencionó, el ácido sulfúrico fue empleado en las pruebas de estabilización con dosis de 4400, 6100, 8900, 14000, 25100 y 57600 ppm. Las muestras empleadas tuvieron concentraciones de sólidos totales de 4.31, 5.02 y 6.70%, mientras que el pH varió de 4.96 a 5.60 unidades. La Figura 4.1 d muestra los resultados promedio de pH. Al igual que en el caso del ácido perclórico, la muestra con una mayor sequedad presentó el pH más bajo, derivado de la operación de la planta.

En todas las muestras, con excepción de una, el pH fue menor a 4 unidades por lo que se esperaría una destrucción total de las bacterias contenidas en el lodo. Además, la desviación estándar en el pH de las muestras fue en general relativamente baja, lo que permite pensar que la concentración de sólidos totales no influye de manera notable en el pH obtenido, el cual depende mayormente de la capacidad amortiguadora de los lodos.

Otro punto que hay que mencionar, es la cobertura del intervalo de valores de pH propuestos inicialmente a partir de la curva de dosis de ácido-pH (4 a 1). En la Figura 4.1 d se observa que la variación en el pH entre cada dosis corresponde generalmente a 0.5 unidades desde cerca de 4 hasta cerca de 1 lo cual destaca la utilidad de dicha curva.

Al comparar las gráficas de la Figura 4.1 puede anticiparse una alta eficiencia en la destrucción de coliformes fecales empleando ácidos inorgánicos que disminuyen el pH muy por debajo de las 4 unidades sugeridas en la literatura. Sin embargo, en el apartado de coliformes fecales se observará que esta relación de pH-destrucción no es estrictamente válida, y que influye más el tipo de ácido aplicado que el pH alcanzado. Es necesario destacar la diferencia de escalas en el eje que representa la dosis de ácido lo cual fue necesario para facilitar la apreciación de las curvas.

4.1.2. Coliformes fecales

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 existen tres clases de lodos: A, B y C. En el caso de la estabilización de lodos para su aplicación en suelos lo recomendable es aplicar un proceso que genere lodos clase C que sean aplicados en suelos, debido principalmente a que los sitios de aplicación no son considerados de

contacto público y a que el costo de producción de esta clase de lodos es menor. Por ello, el proceso de tratamiento ácido pretende cumplir con una concentración de coliformes fecales menor a 2×10^6 NMP/g ST para poder ser reutilizados en suelos, además de cumplir con los demás parámetros microbiológicos de la NOM-004 como lo muestra la Tabla 2.2.

Los resultados del tratamiento con ácido acético sobre los coliformes fecales se presentan en la Figura 4.2. En la Figura 4.2 a se observa que al aplicar acético se tiene una baja eficiencia de destrucción de coliformes fecales en dosis menores a 10000 ppm y de acuerdo con el análisis estadístico del Anexo IV, las dosis mayores a 11000 ppm no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, al aumentar las dosis por encima de ese valor, la calidad de los lodos cumple incluso con lo establecido para lodos clase B. En este caso, la diferencia en las eficiencias está aparentemente relacionada con el pH ya que en las muestras en las que el pH promedio fue superior a 4 unidades la eficiencia promedio fue considerablemente menor (1.2 y 2.7 log) que en las muestras con un pH menor a 4 en las que se logró reducir la concentración un promedio de más de 5 unidades logarítmicas. De acuerdo con Foster (2000), mientras más bajo sea el pH del medio en el que se encuentran las bacterias, mayor es la cantidad de ácido no disociado que puede penetrar al interior de la célula, el cual se disocia en el citoplasma y lo acidifica, lo que afecta las reacciones bioquímicas y las estructuras macromoleculares.

Lo anterior coincide con Parkin y Owen (1987) quienes afirman que en el proceso de digestión anaerobia si el pH desciende por debajo de 6 unidades los ácidos volátiles, como el acético, se encuentran principalmente en forma no-ionizada (CH_3COOH) la cual es más tóxica para algunas bacterias debido a que penetra a través de la membrana celular más fácilmente. Este es el caso de la estabilización con ácido acético puesto que el pH inicial es menor a 6, permitiendo que la mayor parte del ácido se encuentre no-ionizado.

Por otra parte, el ácido peracético confirmó su gran poder desinfectante como lo muestra la Figura 4.2 b. En todas las dosis empleadas se logró reducir la concentración de coliformes fecales por debajo del límite de detección (3 NMP/g ST) en la totalidad de las muestras de las tres corridas experimentales, lo que representa reducciones de más de 6 logs en promedio. Ello coincide con las eficiencias reportadas en la literatura para este tipo de organismos (Godfree *et al.*, 1984; Langlais, 1992; Lefevre *et al.*, 1992; Morris, 1993; Lazarova *et al.*, 1998). Por lo anterior, no se observan líneas de desviación estándar en las muestras acidificadas, a diferencia de las muestras de lodo crudo que presentaron variaciones en la concentración de coliformes fecales de más de 2 unidades logarítmicas, además de que no hay diferencias significativas entre los resultados al aplicar el ácido de acuerdo con el análisis presentado en el Anexo IV.

Aparentemente la acción del oxígeno activo liberado, oxidan tanto la membrana como el interior de la célula (Solvay Interox, 1997). Además, algunos autores indican que el peracético tiene efectos sobre la actividad enzimática de las bacterias (Lazarova *et al.*, 1998). Es claro que el tiempo de contacto experimental es suficiente para permitir la acción del ácido peracético, por lo que es posible pensar en reducir este tiempo, lo que representaría un ahorro adicional en costos derivados del proceso de estabilización (tamaño

de reactor, costo energético de mezclado, etc.). Según datos del proveedor (Quimiproducos), el producto empleado destruye las bacterias en "5 minutos o menos" empleando dosis de 200 a 500 ppm. Sin embargo, se requieren pruebas posteriores para verificar esta posibilidad así como la factibilidad de emplear dosis menores de ácido para lograr la estabilización.

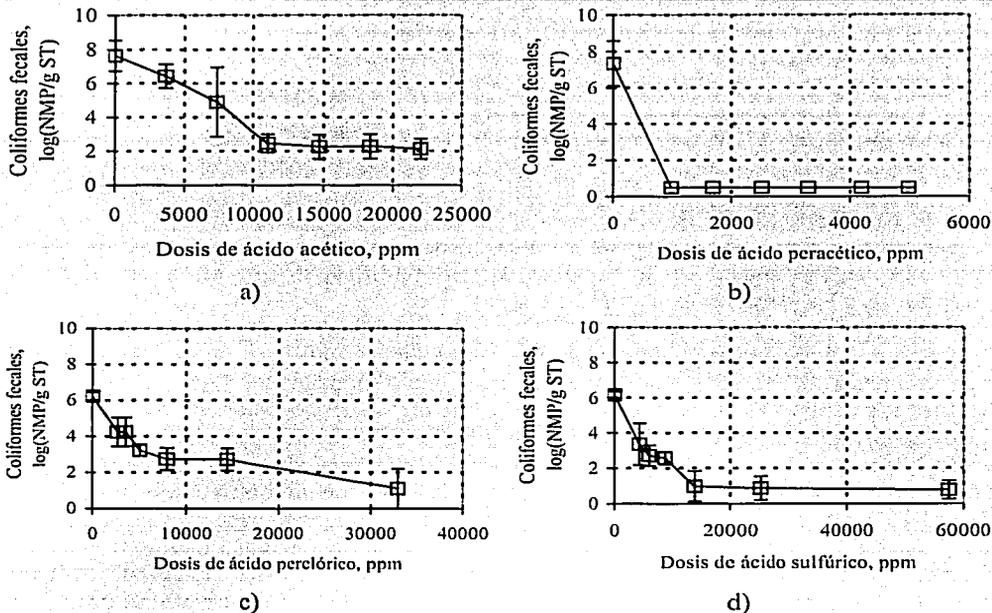


Figura 4.2. Comportamiento de los coliformes fecales en muestras acidificadas con: a) acético, b) peracético, c) perclórico y d) sulfúrico.

Es importante mencionar que la acción bactericida del ácido peracético se debe al mismo ácido y no al peróxido de hidrógeno contenido en la solución, puesto que Baldry (1983) comparó los efectos de ambos desinfectantes y concluyó que el peróxido de hidrógeno es parcialmente inactivado por la actividad de la catalasa producida por las bacterias, fenómeno que no se presenta con el ácido peracético. Así, demostró que mientras el efecto bactericida del ácido peracético es muy alto, el del peróxido de hidrógeno es bastante bajo. Esto último es afirmado también por Colgan y Gehr (2001) en el sentido de que el peracético proporciona todos los beneficios del peróxido de hidrógeno pero no se ve limitado por la actividad de la catalasa.

Con el ácido perclórico se obtuvieron resultados relativamente alentadores en relación con la destrucción de coliformes fecales como se aprecia en la Figura 4.2 c. Con dosis

superiores a 8000 ppm se logra cumplir con el límite para lodos clase B y al aplicar dosis de 32900 ppm se logró reducir la concentración por debajo del límite de detección. En esta ocasión las muestras que cumplieron con el límite de clase B fueron aquellas que presentaron un pH promedio menor a 3 unidades. Sin embargo, hay que destacar que aún por debajo del pH de 4 la destrucción de coliformes fecales únicamente alcanza en promedio menos de 2 unidades logarítmicas para las dosis de 2600 y 3500 ppm, lo cual no se considera como una reducción adecuada.

La Figura 4.2 d presenta los resultados obtenidos con la aplicación de ácido sulfúrico. Debido a que la concentración inicial de coliformes fecales en el lodo crudo fue menor que el límite establecido para lodos clase C, todas las muestras acidificadas cumplieron con ese criterio. Sin embargo, puede verse también que las muestras con dosis superiores a 6000 ppm cumplen con los límites para clase B. Asimismo, se observa que las dosis superiores a 10,000 ppm lograron en algunas muestras reducir la concentración de coliformes fecales por debajo del límite de detección (3 NMP/g ST). Estas dosis podrían ser superiores a las necesarias para producir un lodo clase C por lo que su empleo depende de la remoción de huevos de helmintos. En cuanto al análisis estadístico de los resultados (Anexo IV), todas las dosis de ácido presentaron diferencias significativas, con excepción de las tres primeras (4400 a 8900), así como las tres últimas (14000 a 57600).

Al comparar la Figura 4.1 d con la Figura 4.2 d se nota que la reducción total de los coliformes fecales se da por debajo de las 2 unidades de pH (dosis mayores a 14000 ppm), lo que contrasta con lo anteriormente mencionando que establece que la inactivación se da a un pH menor a 4. Esto podría estar relacionado con el tiempo de contacto relativamente corto (30 minutos) manejado en el tratamiento, que podría ser insuficiente para destruir por completo los coliformes aún obteniendo un pH final menor al valor recomendado.

Los resultados de coliformes fecales obtenidos en esta etapa demostraron que el pH alcanzado en el proceso no necesariamente se relaciona con el nivel de estabilización logrado. Por el contrario, se determinó que el tipo de ácido aplicado influye más en la eficiencia que el pH del proceso, lo que coincide con Roth y Keenan (1971) en relación a que el tipo de ácido influye directamente en el daño a las bacterias, así como con lo señalado por Minor y Marth (1972), quienes demostraron que la actividad del ácido acético en la destrucción de *Staphylococcus aureus* es mayor que la del clorhídrico. A su vez, Foster (2000) indica que la presencia de ácidos orgánicos bajo condiciones ligeramente ácidas equivale a tener un menor pH en el medio, y aún cuando bacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* tienen una gran habilidad para adaptarse a valores ácidos de pH, la presencia de ácidos orgánicos impide dicha adaptación. Adicionalmente, el hecho de que el ácido acético sea un ácido de cadena corta favorece su transporte a través de la membrana celular de acuerdo con lo reportado por Cherrington *et al.* (1991) y Taherzadeh *et al.* (1997).

En cuanto a los ácidos inorgánicos, su efecto bactericida es mayor a pH ácido y se debe principalmente al ion H^+ (Cowles, 1941). Sin embargo, algunos mecanismos de las bacterias para adaptarse a valores ácidos permiten a las células mantener un pH interno

relativamente constante cuando se incrementa la concentración de iones H^+ en el exterior (Foster y Hall, 1991 y Foster, 2000). Lo anterior explica los niveles de coliformes fecales alcanzados al tratar los lodos con ácidos inorgánicos (10^2 a 10^3 NMP/g ST) aún cuando los valores de pH fueron del orden de 2 unidades.

De acuerdo con Foster (1995), la resistencia ácida permite la supervivencia de las bacterias (*E. coli* por ejemplo) a valores ácidos de pH de hasta 2 unidades, mientras que la respuesta de tolerancia al ácido tiene como límite un pH de 3. Asimismo, menciona que una posible consecuencia de la exposición a valores extremos de pH es que el pH interno puede dañar el DNA mediante la modificación de una proteína normalmente inocua, que bajo dichas condiciones causa un daño al DNA. Adicionalmente, aunque la permeabilidad de la membrana celular a los protones es baja, cuando se presentan valores extremadamente bajos en el exterior se puede incrementar el transporte de protones al interior de la célula. (Foster, 2000). Por su parte, el mecanismo de respuesta de tolerancia al ácido mejora la homeostasis⁶ solamente a pH's por debajo de 4 unidades (Foster 1991).

Es importante mencionar que se han propuesto varios mecanismos que pueden ser empleados por las bacterias para minimizar el estrés ácido entre los que se encuentran los siguientes (Dilworth y Glenn, 1999):

- Reducción en la permeabilidad de la membrana celular
- Amortiguación interna del pH
- Modificación del pH externo
- Expulsión de protones al exterior

El primero se refiere a la disminución en la permeabilidad de la membrana celular para reducir el ingreso de protones, aunque mientras mas grande sea el gradiente de pH (ΔpH) entre el exterior y el interior de la célula, mayor será el transporte de protones.

La amortiguación interna de pH es limitada y puede ser superada rápidamente por el ingreso continuo de protones, además de que es considerada como una solución temporal y no a largo plazo.

Por su parte, la modificación del pH externo puede ocurrir cuando las bacterias transforman un compuesto presente en el medio, en otro que presenta una menor acidez. Por ejemplo, la transformación de ácidos grasos volátiles disminuye la acidez del medio y por lo tanto reduce el ΔpH .

Finalmente, la expulsión de protones del interior de la célula puede mantener el pH interno en valores dentro de los límites para cada microorganismo, aunque este mecanismo representa un alto costo de energía para la célula.

⁶ Habilidad para mantener el pH interno (pH_i) dentro de un intervalo estrecho de valores, a pesar de las variaciones en el pH del medio (Booth, 1999).

Booth (1999) coincide en que los principales mecanismos del sistema homeostático pueden denominarse pasivos y activos. Los primeros incluyen la baja permeabilidad a los protones y la capacidad amortiguadora del citoplasma, mientras que los activos se refieren al movimiento controlado de cationes a través de la membrana, los cuales incluyen a los H^+ . La permeabilidad de la membrana puede deberse a cambios en la composición de los lípidos de la misma en respuesta a condiciones ácidas. Adicionalmente, la permeabilidad de la membrana a los protones se incrementa conforme aumenta la temperatura (Konings, 1999, en Booth, 1999).

4.1.3. Huevos de helmintos

Como se ha destacado, los huevos de helmintos son el principal problema en los lodos de nuestro país. De su destrucción o inactivación depende básicamente el que los lodos puedan ser aplicados en suelos debido a la alta resistencia de estos organismos a los cambios ambientales y por lo tanto a la mayoría de los procesos de estabilización.

El comportamiento del ácido acético sobre los huevos de helmintos mostró remociones significativas de estos microorganismos. Independientemente de la concentración inicial, se lograron concentraciones finales menores a 10 huevos por gramo de materia seca. De acuerdo con la Figura 4.3 a, la curva de concentraciones promedio tiene una marcada reducción de forma asintótica con excepción de la dosis de 11000 ppm que presentó un valor mayor que el de las demás muestras así como una desviación estándar relativamente grande. Esto debido posiblemente a un error en la toma de muestra, puesto que la velocidad de sedimentación de los helmintos es de aproximadamente 1 m/h, lo cual concentraría estas estructuras en el fondo del recipiente en un tiempo cercano a los 12 minutos (si no se mezclara la muestra antes de tomarla), lo que incrementa el valor de este parámetro. Sin embargo, el análisis estadístico no presentó diferencias significativas entre esta dosis y las demás (Anexo IV). El resto de las muestras mostró un patrón definido.

Es claro que en este caso las dosis requeridas para reducir de manera importante los huevos de helmintos son prácticamente todas las empleadas en la experimentación, ya que se cumple con los límites de lodos clase C en todas las muestras e incluso con los límites de clase B en la muestra con 22000 ppm de ácido acético.

Al igual que en el caso de los coliformes fecales, la inactivación de los huevos de helmintos puede deberse a la afinidad del ácido acético a ser transportado a través de la membrana ya que en ciertas etapas del desarrollo del huevo existe una mayor permeabilidad a compuestos orgánicos e incluso se menciona la incorporación de ácidos grasos —como el acético— al interior del huevo durante su desarrollo (Fairbairn, 1954). Adicionalmente, la capa lipídica (capa interna) de los huevos de helmintos es semipermeable, y dicha permeabilidad se modifica al variar las condiciones ambientales (pH, temperatura), lo cual favorece el ataque de los ácidos al variar el pH del lodo.

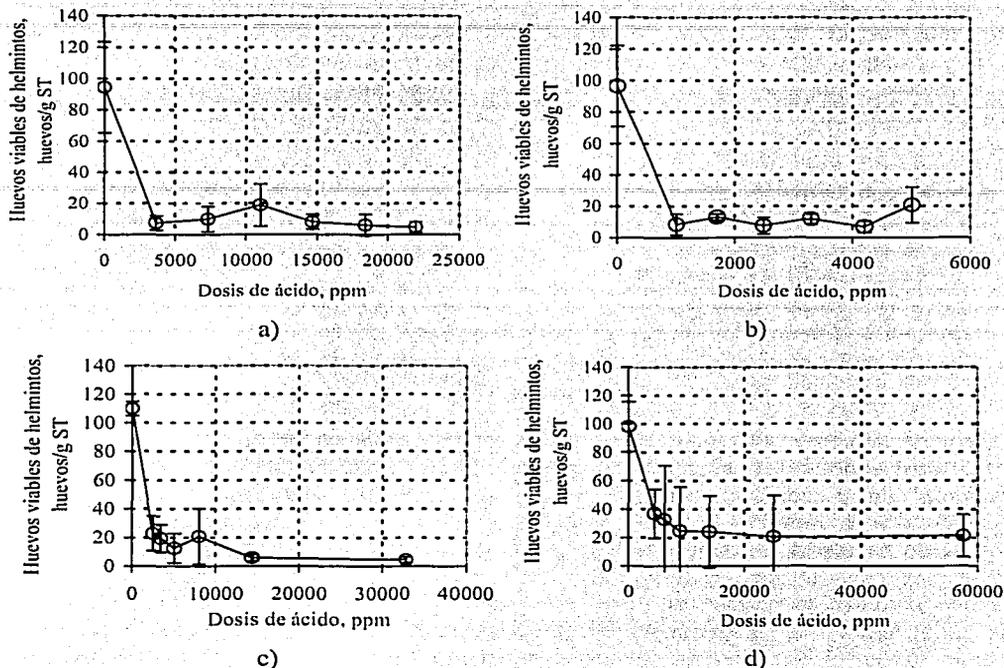


Figura 4.3. Comportamiento de los huevos de helmintos en muestras acidificadas con: a) acético, b) peracético, c) perclórico y d) sulfúrico.

En el caso del ácido peracético la Figura 4.3 b presenta los resultados del tratamiento sobre los huevos de helmintos. Como ya se observó, éste posee un gran poder bactericida y se ha reportado anteriormente su capacidad de inactivación de huevos de helmintos. Al observar los resultados, es posible comprobar que efectivamente inactiva estos últimos, y reduce su concentración de un promedio de 96.5 hasta 20 huevos/g ST o menos en algunas muestras. Como se aprecia en la figura 4.3 b, el comportamiento de este parámetro fue relativamente constante, con una desviación estándar baja con excepción de la dosis de 5000 ppm que modificó el comportamiento general de la curva (desviación estándar de más de 10 huevos/g ST). A pesar de ello, el análisis estadístico de los datos no muestra diferencias significativas entre las muestras que recibieron el ácido (Anexo IV). Se ha mencionado la dificultad para determinar la concentración de patógenos en lodos (Block, 1983, citado en Bitton, 1994) y debe mencionarse también que en el caso del ácido peracético la liberación de oxígeno generó una gran cantidad de espuma especialmente en las muestras con dosis más altas, la cual pudo concentrar los huevos en la superficie por un fenómeno de flotación.

A pesar de que en el lodo crudo se presentaron valores de 67.8 a 117.0 huevos/g ST, en las muestras acidificadas la concentración disminuyó a niveles relativamente constantes. De

acuerdo con lo anterior, la realización de pruebas de estabilización con dosis menores a 1000 ppm podría ser factible con base en los resultados de esta primera etapa.

Por su parte, con la aplicación del ácido perclórico se obtuvo una buena eficiencia en la inactivación de los huevos de helmintos (Figura 4.3 c). Con concentraciones iniciales ligeramente superiores a los 100 huevos/g ST se lograron concentraciones de menos de 6 huevos/g ST en las muestras con 14400 y 32900 ppm y una desviación estándar muy baja (<3 huevos/g ST) con lo que se podría garantizar el cumplimiento de los límites clase B de la NOM-004. Si también se toman en cuenta las densidades alcanzadas de coliformes fecales en estas dos muestras (Figura 4.2), es posible ratificar que los lodos son Clase B de acuerdo con la norma mexicana. Al emplear dosis menores a 10000 ppm es posible obtener una reducción de los huevos de helmintos por debajo del límite de lodos clase C. Sin embargo, una vez más la desviación estándar (hasta 19 huevos/g ST) evitaría el poder garantizar el cumplimiento de dicho límite al aplicar esas dosis. Adicionalmente, el costo del ácido perclórico lo coloca en desventaja con el resto de los ácidos, lo cual, aunado a la formación potencial de percloratos tóxicos a la salud, reduce sus posibilidades de uso.

En el caso del ácido perclórico, la inactivación se basa en su alta reactividad para desproteínizar tejidos, ya que ataca la parte proteica de la membrana, penetrando el huevo y destruyendo el material genético.

Finalmente, en el caso del ácido sulfúrico, se observó una desviación estándar de hasta 38 huevos por gramo en las muestras acidificadas (Figura 4.3 d). Hay que mencionar que los resultados de la primera corrida indicaron una baja eficiencia de inactivación de los huevos de helmintos. Sin embargo, en las pruebas posteriores dicha eficiencia se incrementó aún cuando la diferencia entre corridas persistió. A pesar de lo anterior, en algunos casos se logró cumplir con los límites para clase B (<10 huevos/g ST) y para clase C (<35 huevos/g ST), de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, aunque es difícil predecir o garantizar con certeza el cumplimiento de dichos límites debido a la desviación estándar de los datos (hasta ± 38 huevos/g ST). De acuerdo con el análisis estadístico (Anexo IV), no existe diferencia significativa entre las muestras tratadas con ácido, únicamente entre éstas y el lodo crudo.

El mecanismo por el cual se inactivan los huevos de helmintos con el ácido sulfúrico no está definido. Sin embargo, puede deberse a la alta corrosividad del mismo y a la alta reactividad con una gran cantidad de sustancias orgánicas. Asimismo, es posible que el ácido destruya la membrana albuminosa por su acción deshidratante u oxidante dejando al huevo con una superficie descortificada lisa con lo cual se vuelve no infectivo. Este fenómeno se da con algunas enzimas digestivas que pueden actuar de la misma manera sobre los huevos de *Ascaris lumbricoides*. A pesar de lo anterior, debe mencionarse que la prueba de viabilidad de los huevos de helmintos se realiza al incubarlos en una solución con ácido sulfúrico a un pH de entre 2.5 y 3 unidades por lo cual no se esperaría una alta inactivación. Es importante también mencionar que el 98% de los huevos encontrados en esta etapa correspondieron a *Ascaris* spp.

En el caso de los huevos de helmintos, de acuerdo con los resultados no es posible establecer ninguna relación entre el pH y la inactivación de éstos. Al igual que con los coliformes fecales, ésta depende en mayor medida del tipo de ácido aplicado. Es necesario mencionar que la membrana quitinosa que protege a los huevos de *Ascaris* está cubierta por una membrana llamada capa *ascarosida* la cual es permeable únicamente a gases. Sin embargo, cuando el huevo es sometido a estímulos específicos involucrando temperatura, pH, CO₂ o condiciones reductoras, la capa *ascarosida* se vuelve permeable y se forma un agujero en la capa quitinosa (Ward y Fairbairn, 1972).

4.1.4. Resumen de las eficiencias de destrucción o inactivación de microorganismos y costos del tratamiento con cada ácido.

Para determinar las bondades de cada uno de los ácidos empleados y definir la factibilidad de aplicarlos en el proceso, se resumieron las eficiencias de cada uno de los ácidos en la Tabla 4.1 en donde se muestran los valores promedio, mínimos y máximos para los dos parámetros microbiológicos analizados.

Tabla 4.1. Resumen de las eficiencias de destrucción de coliformes fecales e inactivación de huevos de helmintos.

Ácido	Coliformes fecales, log			Huevos de helmintos, %		
	Promedio	Mínima	Máxima	Promedio	Mínima	Máxima
Sulfúrico	4.29	1.70	5.88	69%	2%	98%
Perclórico	3.19	1.39	5.88	87%	62%	97%
Peracético	6.86	5.70	8.19	88%	72%	98%
Acético	4.22	0.21	6.38	90%	69%	98%

Como se observa, las mayores eficiencias (en negrita) en el caso de los coliformes fecales fueron alcanzadas con el ácido peracético. Por su parte, para los huevos de helmintos, éstas fueron alcanzadas con los ácidos orgánicos (acético y peracético) y con el sulfúrico. Sin embargo, este último presentó un comportamiento poco predecible con una desviación estándar considerable.

La información de la Tabla 4.1 se complementa al determinar la dosis de cada uno de los ácidos que se requiere para lograr una calidad microbiológica aceptable desde el punto de vista de la normatividad propuesta en México. Por tal motivo, la Tabla 4.2 presenta las dosis mínimas que se requieren para cumplir con los límites propuestos para lodos clase C así como el costo del reactivo necesario para alcanzar dicha calidad. En aquellos casos en los que las dosis para cumplir con los límites de coliformes fecales y huevos de helmintos difieran entre sí, se tomó la mayor de ellas puesto que el cumplimiento debe darse para ambos parámetros.

Tabla 4.2. Dosis mínimas para cumplir con los límites de coliformes fecales y huevos de helmintos del Proy-NOM-004-SEMARNAT-2002 y costos de los ácidos.

Tipo de ácido	Dosis requerida para cumplir con coliformes fecales ⁽¹⁾ , ppm	Dosis requerida para cumplir con huevos de helmintos ⁽²⁾ , ppm	Costo de reactivo, pesos/ton ST
Acético	11000	3700	\$ 1900
Peracético	1000	1000	\$ 5723
Perclórico	2600	2600	\$ 70760
Sulfúrico	4400	57600	\$ 8870

⁽¹⁾ < 2×10^6 NMP/g ST

⁽²⁾ < 35 huevos/g ST

Como se observa en la Tabla 4.2, los costos más bajos para alcanzar los valores microbiológicos de lodos clase C se obtienen con los ácidos orgánicos, con los cuales el costo del reactivo varía de \$1,900 a \$5,700 pesos por tonelada de lodo seca. En el caso del ácido sulfúrico, a pesar de que el costo no es tan elevado como el del perclórico, la baja eficiencia en cuanto a la destrucción de huevos de helmintos no justifica su uso en el proceso. Debe hacerse notar que en el caso del ácido acético se recomienda no operar el proceso empleando dosis menores a 10000 ppm para garantizar una buena destrucción de coliformes fecales. Por su parte, es necesario realizar pruebas con dosis menores a 1000 ppm de ácido peracético para determinar la factibilidad de reducir el consumo de reactivo así como del gasto derivado del mismo.

De acuerdo con los resultados globales de esta primera etapa, el tratamiento ácido permite producir biosólidos que cumplan con los límites máximos permisibles de microorganismos de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002.

4.2. Etapa II. Recrecimiento en lodo líquido tratado con ácido acético.

4.2.1. pH, sólidos totales y volátiles y ácido acético residual.

Como ya se mencionó, el pH está relacionado con la destrucción o inactivación de bacterias y, por ello, ciertos ácidos orgánicos (incluyendo al acético) son usados como preservadores de alimentos para evitar contaminación potencial. La toxicidad de ácidos orgánicos débiles está relacionada con la concentración de ácido no-disociado que penetra por difusión al interior de la célula y se disocia en el citoplasma (Taherzadeh *et al.*, 1997). Esto significa que a valores de pH por debajo del pKa para un ácido específico, la toxicidad será mayor.

La Figura 4.4 a muestra que el pH inicial de todas las muestras tratadas fue menor que el pK_a del ácido acético (4.8) con lo cual la toxicidad es mayor que a valores superiores de pH. En lodo crudo, el pH se incrementó ligeramente de 5.4 a 6.9 unidades después de 35 días, y se presentó fermentación del lodo. Esto se confirmó por la ligera reducción de sólidos volátiles de 72.7 a 69.3% (Figura 4.4 c) en contraste con las muestras tratadas con ácido, las cuales no presentaron reducción. Los datos de pH en muestras tratadas con menos de 15000

ppm registraron un incremento, hasta alcanzar las 5 unidades después de 35 días, excepto con la dosis de 14700 ppm donde se alcanzó un valor de 4.7 unidades. En este sentido, las muestras con 18400 y 22000 ppm mantuvieron el pH cercano a las 4 unidades (4.1 y 4.0) y evitaron la posibilidad de recrecimiento bacteriano. A pesar de ello, podría esperarse que el pH de estas dos muestras se incrementara gradualmente en un periodo mayor, y aumentarían así las posibilidades de recrecimiento.

En el caso de los sólidos totales su concentración se mantuvo relativamente constante durante los primeros 21 días con excepción del lodo crudo en el cual la concentración mostró una tendencia a reducirse. En contraste, a los 35 días todas las muestras presentaron un incremento considerable de alrededor de 1 a 1.5% lo cual se atribuye a la evaporación del agua y la consecuente concentración de las muestras. Por su parte, los sólidos volátiles en el lodo crudo se redujeron de cerca de 73% a casi 69% debido a la digestión parcial del lodo.

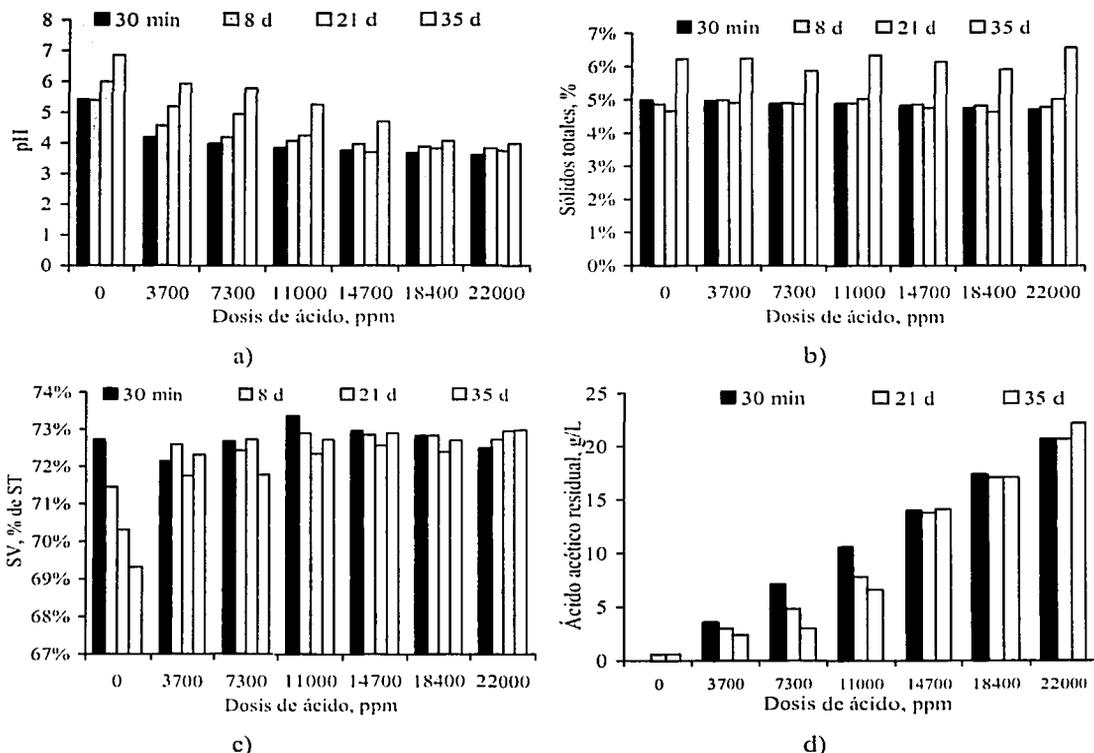


Figura 4.4. Evaluación de parámetros en lodo tratado con ácido acético: a) pH, b) sólidos totales, c) sólidos volátiles y d) ácido acético residual.

El ácido acético residual fue medido a los 21 y 35 días. La concentración inicial fue estimada como la concentración debida al ácido añadido a cada una de las muestras. En el lodo crudo, la concentración de acético residual fue de 0.6 g/L a los 21 y 35 días, cantidad aparentemente generada durante la fermentación anaerobia, la cual es tolerable en procesos de digestión anaerobia de lodos (Parkin y Owen, 1986).

En las muestras tratadas con 3700, 7300 y 11000 ppm, la concentración de ácido acético disminuyó a lo largo del periodo de muestreo, al mismo tiempo que el pH se incrementó, lo que se interpreta como un consumo de ácido por parte de las bacterias como parte de su metabolismo. Por otro lado, cuando se aplicaron 14700, 18400 y 22000 ppm de ácido, la concentración de acético entre los 30 minutos y los 21 días se redujo en menos de 0.4 g/L o se mantuvo constante, con un incremento ligero entre los días 21 y 35, especialmente con la mayor dosis lo cual puede estar relacionado con la evaporación del agua descrita en párrafos anteriores. Estas diferencias indican la producción de ácido acético por bacterias acetogénicas bajo condiciones anaerobias, con la consecuente acumulación al no poder ser consumido por bacterias metanogénicas en esos valores de pH, puesto que estas últimas operan en intervalos estrechos de pH (6.6 a 7.6; Metcalf y Eddy, 1991).

4.2.2. Coliformes fecales y *Salmonella* spp.

La reducción de coliformes fecales en esta etapa fue de 3.2 a 5.0 logs a los 30 minutos de contacto con el ácido (Figura 4.5). Sin embargo, después de la reducción inicial, los coliformes fecales se recuperaron y comenzaron a crecer en el lodo acidificado con dosis de hasta 11,000 ppm, en contraste con las muestras que fueron tratadas con dosis superiores, en las cuales se mantuvo o redujo aún más la concentración. Esto concuerda con lo descrito por Blankenship (1981; citado en Cherrington *et al.*, 1991) en cuanto a que la inhibición que producen los ácidos orgánicos sobre las bacterias es reversible, además de que Diez-González y Russell (1997) indican que el pH intracelular puede ser reducido para proteger a la célula de la acumulación del anión del acetato. Lo anterior se observa en la Figura 4.5 en la cual el efecto inhibitorio del acético es directamente proporcional a la dosis aplicada.

Algunos estudios han reportado que ciertas variedades de *Escherichia coli*, incluidas en el grupo de los coliformes fecales, no siempre crecen en condiciones ácidas a pH por debajo de 4 unidades, mientras que algunas especies de *Salmonella* pueden crecer a un pH de 4 (Lin *et al.*, 1995; Ryu *et al.*, 1999). A pesar de ello, bajo ciertas condiciones ambas bacterias pueden desarrollar tolerancia ácida. Puede suponerse que los coliformes fecales se adaptaron al lodo acidificado, lo cual, junto con la recuperación del pH, permitió la adaptación y su crecimiento en condiciones menos estresantes.

Por su parte, la concentración de coliformes fecales en lodo crudo (dosis de 0 ppm) se redujo a lo largo del estudio debido a la fermentación del lodo. La disminución fue de 4 unidades logarítmicas, lo que indica que si el lodo es digerido por vía anaerobia se cumpliría con los límites para clase C. Sin embargo, la digestión anaerobia mesofílica no reduce la viabilidad de los huevos de helmintos de acuerdo con Pike *et al.* (1988) por lo que

su aplicación en este tipo de lodos difícilmente alcanzaría los límites requeridos para este parámetro.

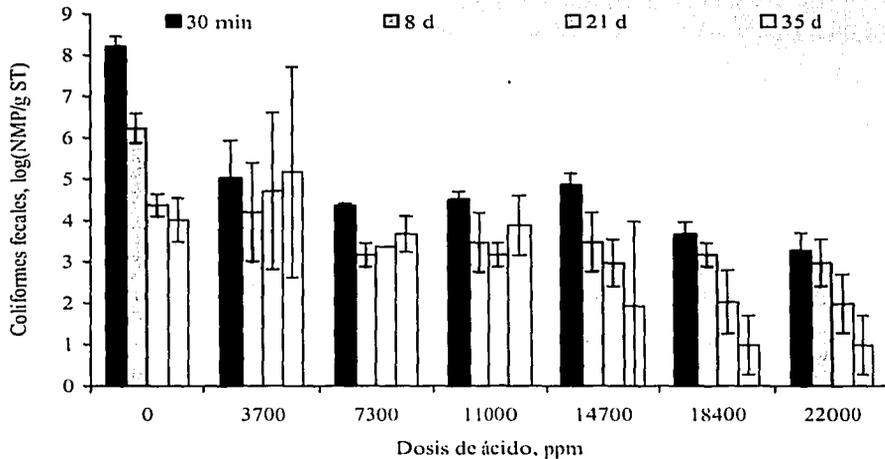


Figura 4.5. Comportamiento de los coliformes fecales en muestras tratadas con ácido acético.

A pesar de que los límites de coliformes para lodos clase C de la norma mexicana se cumplieron a partir de la dosis de 7300 ppm, es importante mencionar que se observó la presencia de pequeñas burbujas de gas en las muestras de lodo crudo y en aquellas tratadas hasta con 11000 ppm, lo cual indica una aparente actividad anaerobia. Conforme el pH de las muestras mencionadas se recuperó, la producción de gas se incrementó. Adicionalmente, una de las muestras tratadas con 14700 ppm presentó recrecimiento a los 35 días, lo que coincide con un aumento de una unidad de pH. Todo lo anterior indica que la actividad microbiana continuó cuando el lodo fue tratado con dosis de hasta 14700 ppm, por lo que se concluye que dosis superiores a 15000 ppm deben ser empleadas para evitar el recrecimiento de coliformes fecales.

Con respecto a la evolución de *Salmonella*, la Figura 4.6 muestra que su concentración en el lodo crudo se redujo en más de 3 logs, únicamente debido a la aparente fermentación. Una vez más, algunas muestras acidificadas presentaron una reducción inicial en su densidad para después mantenerse estables o presentar crecimiento como se observa en las muestras con 3700 a 11000 ppm. Al observar los datos de *Salmonella* y pH (Figura 4.4 a) para la muestra tratada con 11000 ppm, es claro que estas bacterias se recuperan a un pH inicial menor a 4 unidades (3.8 después de 30 minutos) y que incluso crecen a pH de 4.2 y 5.2 a los 21 y 35 días, respectivamente. Estos resultados difieren de alguna manera con lo reportado por Foster y Hall (1991) los cuales indican que los sistemas internos de las células ayudan a mantener el pH interno de las bacterias neutro, pero que a un pH menor a 4

los sistemas comienzan a fallar y permiten que la concentración de protones (H^+) se incremente a niveles letales.

Como en el caso de los coliformes fecales, las salmonelas desarrollaron cierta tolerancia al ácido y se recuperaron del choque ácido inicial, ayudadas por una reducción en la concentración de ácido acético residual así como por el incremento del pH. Existe evidencia de que la exposición de salmonelas a concentraciones subletales de ácidos incrementa su tolerancia a los mismos (Huhtanen, 1975) por lo que estos organismos pueden adaptarse a ambientes ácidos y sobrevivir en condiciones extremas, además de que la inhibición debida a la presencia de ácidos orgánicos es reversible como lo indica Blankenship (1981, citado en Cherrington *et al.*, 1991).

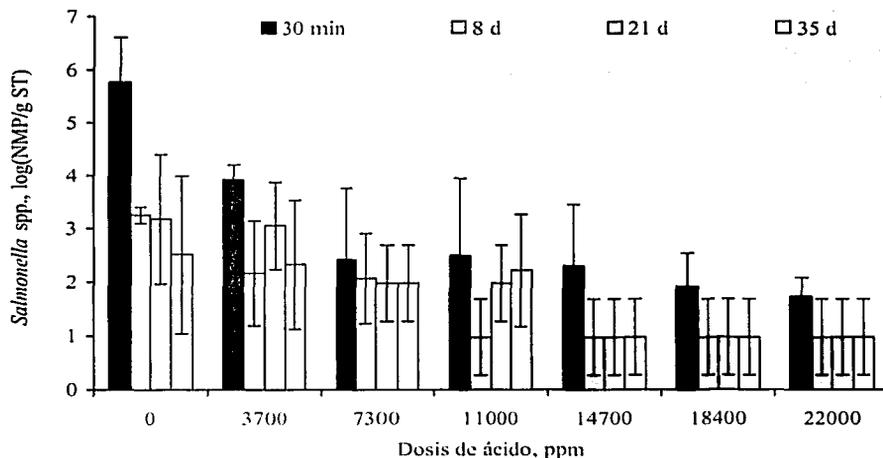


Figura 4.6. Comportamiento de *Salmonella* spp. en muestras tratadas con ácido acético.

A diferencia de los coliformes fecales, las salmonelas no presentaron ningún recrecimiento al emplear dosis iguales o mayores a 14700 ppm, aún a los 35 días de tratamiento, por lo que para este caso, dosis de 15000 ppm son suficientes para mantener la concentración de salmonelas dentro de los límites para lodos clase C.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.3. Etapa III. Determinación del tiempo de contacto en el tratamiento con ácidos acético y peracético.

4.3.1. Coliformes fecales y *Salmonella* spp.

Con base en los resultados de la Etapa II en los cuales se observó recrecimiento bacteriano al aplicar dosis de hasta 14700 ppm de ácido acético, se eligió la dosis de 22000 ppm para realizar pruebas adicionales, que evitaran el recrecimiento. Puesto que en todas las muestras tratadas con 1000 ppm o más de ácido peracético la concentración de bacterias fue menor que el límite de detección, se eligió una dosis de 550 ppm para determinar la eficiencia en la estabilización, la cual se encuentra en el intervalo propuesto por Godfree (1984) para lodos biológicos (500 a 1000 ppm).

En esta etapa se evaluó la destrucción de coliformes fecales y salmonelas durante el periodo de agitación del lodo (30 minutos) para determinar la velocidad de destrucción o el tiempo mínimo para llevar a cabo la misma, de tal manera que el tiempo de contacto pudiera ser ajustado a un mínimo para disminuir el tamaño de los reactores (puesto que el volumen es igual al caudal de lodo multiplicado por el tiempo requerido en el proceso) así como los costos de inversión y mantenimiento.

La Figura 4.7 presenta los resultados de coliformes fecales al ser tratado el lodo con los dos ácidos orgánicos. A pesar de que la concentración inicial en las muestras tratadas con peracético es mayor que en el caso del acético, se observa una mayor reducción a los dos minutos de contacto. En general las dos curvas presentan una tendencia similar con una importante reducción a los dos minutos, la cual se vuelve más lenta hasta los 30 minutos. Sin embargo, el ácido peracético demostró un mayor poder bactericida, y se alcanzaron niveles del orden de 20 NMP/g de ST. En contraste, con el ácido acético se logró una densidad final de alrededor de 1.2×10^3 NMP/g ST.

El comportamiento del peracético coincide con lo reportado por Fraser *et al.* (1983) referente a que éste reacciona de manera muy rápida, y se consume el 85% después de 2 minutos y el 99% a los 10 minutos. Después de ese periodo, el poder desinfectante se atribuye al acético residual y al oxígeno libre presente en la muestra. La concentración final en el caso del lodo tratado con acético es suficiente para cumplir con el límite de coliformes fecales para biosólidos clase C ($< 2 \times 10^6$ NMP/g ST) de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, mientras que para el lodo tratado con peracético, es posible cumplir con los límites para biosólidos clase B (< 1000 NMP/g ST).

Respecto de *Salmonella*, la Figura 4.8 muestra un comportamiento similar al observado en los coliformes fecales. Con ácido acético se observa una reducción de aproximadamente 2 logs a los 5 minutos de contacto y de 1 log hasta los 30 minutos, hasta llegar a una concentración final de 15 NMP/g ST. Aún cuando este nivel es considerablemente bajo comparado con el del lodo crudo y cumple con el límite para lodos clase C (< 300 NMP/g ST), la presencia de salmonelas implica un riesgo potencial de infección en caso de que, eventualmente, se presente recrecimiento en el lodo tratado con ácido acético. En contraste,

la destrucción de bacterias con ácido peracético se da en 10 minutos, al cabo de los cuales se alcanza el límite de detección. Una vez más se cumple con los límites para lodo clase C al aplicar ácido acético y con los de clase B aplicando peracético.

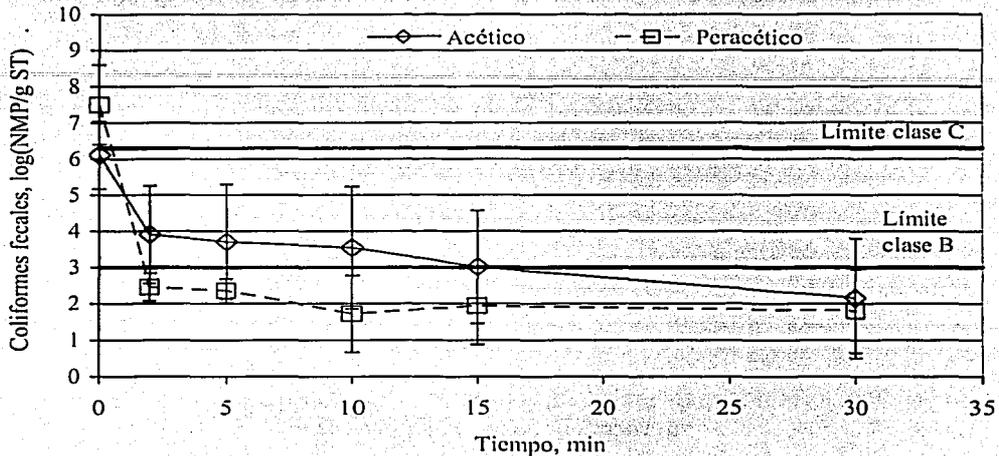


Figura 4.7. Evaluación de la destrucción de coliformes fecales con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.

Los resultados de la evaluación bacteriológica coinciden con los reportados por Sanchez-Ruiz *et al.* (1995) para agua residual, los cuales indican que la desinfección con ácido peracético se lleva a cabo con 5 a 10 minutos de tiempo de contacto, el cual es un intervalo constante únicamente para este tipo de reactivo. Además, la eficiencia del ácido peracético depende del pH del lodo, ya que opera mejor en condiciones neutras o ligeramente ácidas como las encontradas en el lodo físico-químico empleado en este estudio (pH del orden de 5.4 unidades). De acuerdo con lo anterior, un tiempo de 10 minutos es suficiente, en el caso del peracético, para lograr la estabilización, mientras que con acético el tiempo requerido es mayor, a pesar de que en ambos casos y para los dos parámetros presentados el tiempo de contacto no presenta diferencias significativas (Anexo IV).

En general, ambos ácidos presentan características bactericidas que permiten su empleo en el tratamiento ácido, sin embargo, las dosis de peracético son considerablemente menores que las de acético para alcanzar el mismo nivel bacteriológico y el costo es similar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

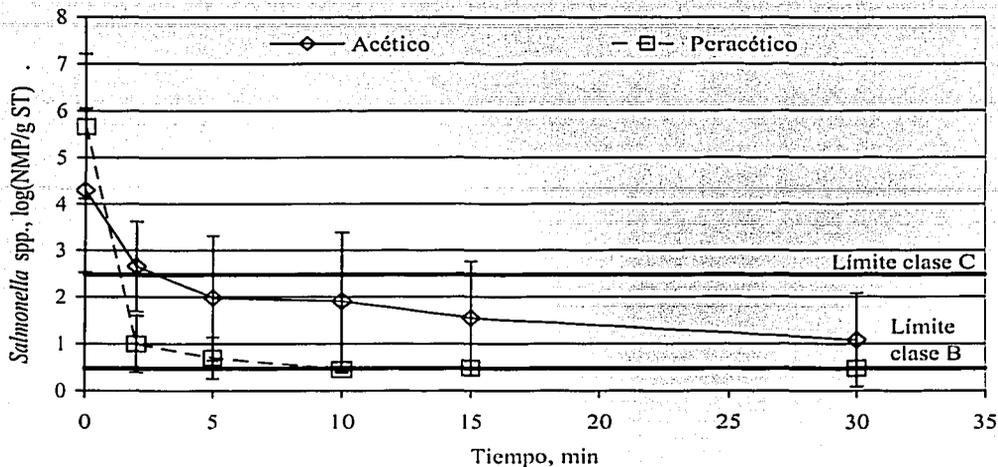


Figura 4.8. Evaluación de la destrucción de *Salmonella* spp. con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.

4.3.2. Huevos de helmintos.

Se mencionó que la inactivación de huevos de helmintos es una tarea difícil cuando se emplean procesos que no cambian el pH significativamente o no incrementan la temperatura del lodo por encima de 50° C. En el caso del tratamiento ácido, se observan importantes reducciones en la concentración de este parámetro, aún cuando la temperatura sea la ambiente y el pH no disminuya por debajo de 3 unidades.

En efecto, al aplicar ácido acético, se reduce la concentración de huevos viables a los 2 minutos en un 62%, en tanto que con ácido peracético la concentración se reduce un 88% en promedio (Figura 4.9). A partir de ese tiempo, los huevos en el primer lodo siguen presentando una reducción paulatina hasta alcanzar una reducción máxima de 74% y una concentración final de 24 huevos por gramo de ST. Este valor es suficiente para permitir su aplicación en suelos como un lodo clase C, con valor límite de 35 huevos/g ST establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002. Para el caso del peracético, después de la reducción inicial de 88%, la concentración de huevos de helmintos también disminuyó hasta los 10 minutos y alcanza un valor de 8 huevos/g ST. Este valor se mantuvo relativamente constante hasta los 30 minutos con una eficiencia de 93% y una concentración final de 7 huevos/g ST. En este caso, el biosólido producido podría clasificarse como un lodo clase B.

Al observar las barras de desviación estándar de los resultados, se aprecia que el comportamiento de los huevos de helmintos en el lodo tratado con ácido acético no es tan predecible como en el caso del peracético (hasta ± 14 vs hasta ± 5 huevos/g ST,

respectivamente), e incluso en algunos casos se puede superar el límite para lodos clase C. Esto requeriría emplear dosis mayores de acético con el propósito de asegurar la calidad del producto y el cumplimiento con la NOM-004-SEMARNAT-2002.

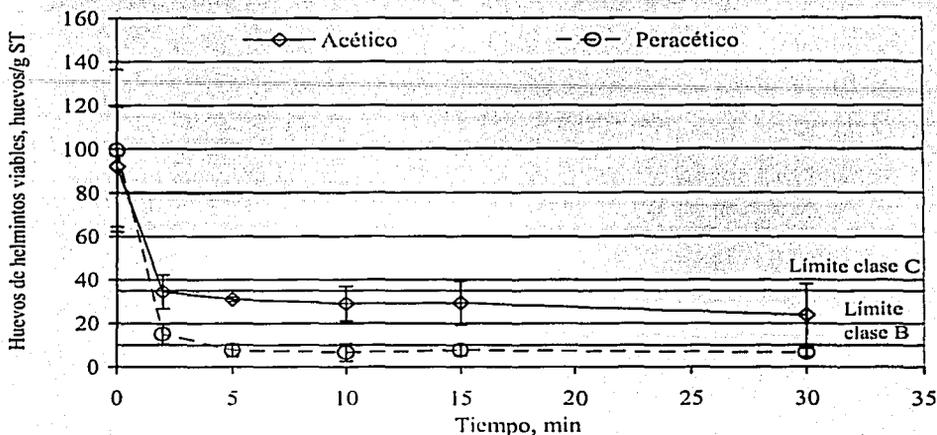


Figura 4.9. Evaluación de la inactivación de huevos de helmintos con ácidos acético y peracético durante 30 minutos.

Por su parte, el lodo tratado con peracético alcanzó valores que cumplen con los límites de lodos clase B, aún considerando la desviación estándar de los resultados, aunque con 30 minutos de contacto. También, es importante mencionar que el peracético logra resultados prácticamente constantes, independientemente de la concentración inicial de huevos de helmintos en el lodo crudo, la cual varió considerablemente en las pruebas realizadas (99 ± 37 huevos/g ST).

En el caso de los huevos de helmintos, al aplicar ácido acético a partir de un tiempo de 15 minutos no se presentan diferencias significativas, mientras que al emplear peracético, el tiempo necesario es de 5 minutos (Anexo IV).

Debido a que se pretende tratar los lodos para su reuso benéfico en sitios sin contacto público directo, es posible reducir el tiempo de contacto y de mezclado del proceso a 10 minutos, con lo cual se logra una distribución homogénea del reactivo empleado y se cumple con los límites para lodos clase C. Esto representa un ahorro considerable en comparación con los 30 minutos de contacto propuestos inicialmente y se logra una reducción del volumen de los reactores de un 67%.

De acuerdo con los resultados de esta etapa, el ácido peracético produce biosólidos clase B con un tiempo de contacto de 10 minutos. Por su parte, el ácido acético permite obtener

lodos con una calidad que cumple con los límites para clase C, pero no para clase B en cuanto a *Salmonella* y huevos de helmintos, con un tiempo de contacto de 30 minutos.

4.4. Etapa IV. Deshidratación y recrecimiento en lodo tratado con ácidos acético y peracético.

4.4.1. Pruebas de resistencia específica a la filtración

Como se ha mencionado anteriormente, el pH del lodo estabilizado influye en la capacidad de los polímeros para su acondicionamiento y posterior deshidratación. En general los polímeros para el acondicionamiento operan eficientemente en un intervalo de pH de 4 a 11 unidades por lo que al trabajar a valores menores se esperaba tener dificultades. Por ello, se obtuvieron cinco polímeros con distintas características que fueron recomendados por un fabricante (Química Ecotec) para operar en condiciones ácidas. Las características de los polímeros obtenidos se muestran en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Características de los polímeros probados en el acondicionamiento del lodo tratado con ácido acético (Química Ecotec S. A. de C.V).

	Polímero				
	Ecofloc 257	Ecofloc 5260	Ecofloc 6120	Ecofloc 6260	Ecofloc 6520
Peso molecular	Alto	Muy alto	Alto	Alto	Alto
Carga	Aniónica	Aniónica	Catiónica	Catiónica	Aniónica
Intervalo de pH	Amplio		Muy amplio	Muy amplio	Muy amplio
Aplicaciones					
Clarificación	X	X		X	X
Tratamiento de agua residual	X	X			
Separación líquido-sólido	X	X			
Industria de papel			X		X
Deshidratación de lodos			X	X	X
Dosis recomendada para lodos*			5.0 - 15.0 kg/ton	0.25 - 5.0 kg/ton	2.0 - 9.0 kg/ton

* Base seca

De estos cinco polímeros obtenidos se aprecia que tres de ellos (6120, 6260 y 6520) son expresamente recomendados para deshidratar lodos municipales e industriales y operan en un intervalo de pH muy amplio (no especificado por el proveedor). Asimismo, se mencionan dosis recomendadas para la deshidratación de lodos las cuales están en función de factores como la naturaleza del lodo, la concentración de sólidos y el sistema de deshidratación que se emplee.

Inicialmente se realizaron las pruebas preliminares de selección de polímeros con el ensayo descrito en el punto 3.9 de la metodología. A partir de los resultados se observó que únicamente dos de los cinco polímeros lograron flocular el lodo tratado con los dos ácidos orgánicos: el Ecofloc 6120 y el Ecofloc 6520. En ambos casos, la floculación fue tan eficiente que se logró formar una "torta" al realizar la mezcla de un vaso a otro y el agua se separó fácilmente.

Para el caso del ácido acético se aplicaron cinco dosis de Ecofloc 6120 que fueron de 1.3 a 6.5 kg/ton ST (base seca), mientras que con el Ecofloc 6520 se probaron cuatro dosis en un intervalo de 5.2 a 9.1 kg/ton ST. Los resultados experimentales se muestran en la Figura 4.10. Como se observa en dicha figura, a partir de los resultados del Ecofloc 6120 es posible determinar el valor mínimo de la resistencia específica a la filtración del lodo el cual se encuentra cercano a la dosis de 4 kg/ton ST. Este valor mínimo indica la dosis que reduce la resistencia de los sólidos a separarse del agua por cualquiera de los métodos convencionales (filtro prensa, filtro banda, centrifuga). La dosis así obtenida se encuentra por debajo del intervalo de valores recomendado por el proveedor pero ya se ha mencionado que dicha dosificación depende de diversos factores (en este caso el relativamente alto contenido de sólidos totales del lodo). Caber mencionar que al incrementar la dosis por encima del valor óptimo se produce una reestabilización de las partículas sólidas y disminuye la filtrabilidad del lodo.

En los resultados obtenidos con el Ecofloc 6520 se aprecia que no se puede determinar el punto mínimo de la curva ya que esta sigue disminuyendo con respecto a la dosis de polímero. Sin embargo se aplicó el valor máximo recomendado por el proveedor en términos de costo.

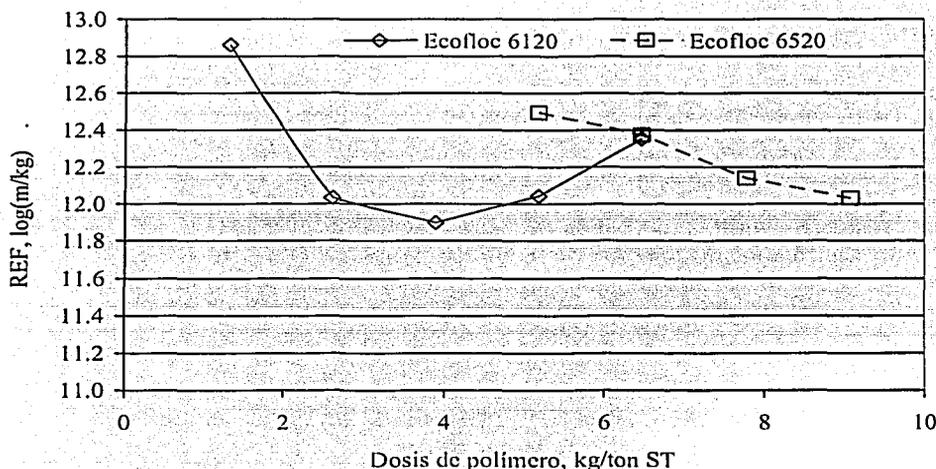


Figura 4.10. Resistencia específica a la filtración en lodos acondicionados con ácido acético

Al comparar ambos polímeros se determinó que el Ecofloc 6120 opera de manera más efectiva en el acondicionamiento del lodo acidificado con acético debido a que logró separar hasta el 90% del agua del lodo, mientras que con el Ecofloc 6520 únicamente se

logró separar hasta el 61%. Aquí hay que mencionar que en materia de lodos residuales se considera que la mayoría de las partículas sólidas presentes en los mismos contienen cargas negativas (Haug *et al.*, 1992) por lo que un polímero catiónico como el 6120 opera mejor, a diferencia del 6520 que es de naturaleza aniónica.

Por otra parte, los valores de resistencia específica obtenidos al acondicionar el lodo van de 7.9 a 73×10^{11} m/kg para el 6120 y de 1.1 a 3.1×10^{12} m/kg para el 6520, los cuales están entre los valores reportados para lodos primarios (1.5 a 5×10^{14} m/kg) y aquellos para lodos digeridos acondicionados (3 a 40×10^{11} m/kg; WPCF, 1988). Esto último se atribuye al tratamiento que origina los lodos, en este caso fisicoquímico con sulfato de aluminio, el cual forma flóculos de hidróxido de aluminio que tienen una alta afinidad hacia el agua, lo que hace difícil la separación de ésta (Wang *et al.*, 1992). A pesar de ello, el uso de un polímero disminuyó la REF y permitió obtener valores similares a los de un lodo digerido acondicionado.

Un punto adicional es la reducción del volumen de lodos al realizar las pruebas con lodo tratado con ácido acético, ya que en el caso de la dosis de 3.9 kg/ton de Ecofloc 6120 se logró filtrar el 90% del volumen del lodo en un tiempo menor a tres minutos. Esto implicaría una reducción del 90% del volumen inicial lo cual repercute positivamente en la reducción de los costos de manejo y disposición.

Al emplear lodo tratado con ácido peracético, se aplicaron dosis de 4.0 a 8.0 kg/ton ST de Ecofloc 6120 debido a que en este intervalo se logró la mejor floculación en las pruebas preliminares de acondicionamiento, mientras que para el Ecofloc 6520 las dosis fueron de 12.0 a 19.5 kg/ton ST siguiendo el mismo criterio.

En este caso, aún cuando los valores mínimos de la REF para ambos polímeros son similares así como el volumen de agua separada (60 %), el Ecofloc 6120 produjo una torta más consistente y logró la separación del agua en un menor tiempo que el Ecofloc 6520 (50 vs 70 s). Además, los resultados de la Figura 4.11 indican que se requieren dosis menores de polímero Ecofloc 6120 (4 a 8 kg/ton ST) para lograr resultados similares de Resistencia Específica a la Filtración a los obtenidos con el polímero Ecofloc 6520 (12 a 19.5 kg/ton ST).

Por último, la dosis que presentó una menor resistencia a la filtración (7.5×10^{11} m/kg) en la prueba con el Ecofloc 6120, fue la de 6.5 kg/ton ST, la cual se encuentra en el intervalo dado por el fabricante que es de 5 a 15 kg/ton ST.

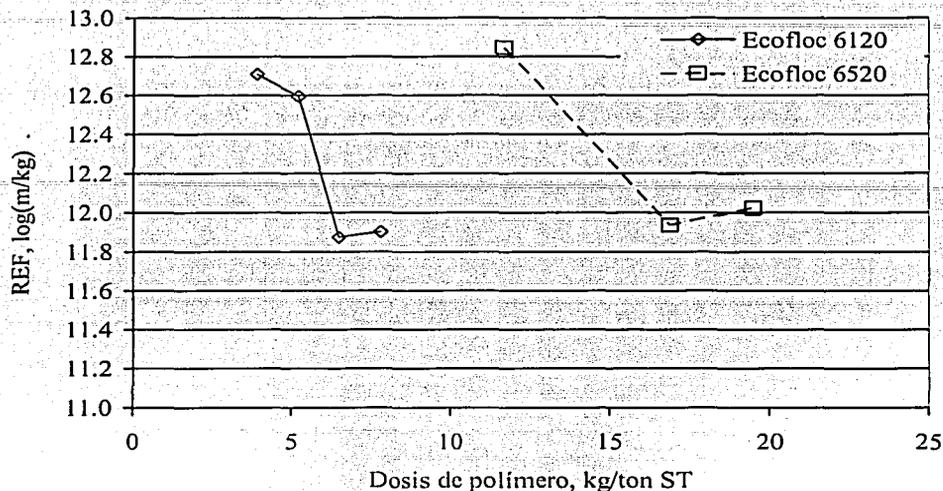


Figura 4.11. Resistencia específica a la filtración del lodo estabilizado con ácido peracético

4.4.2. Recrecimiento

Como se presentó en la etapa II, en lodo tratado con ácido acético se presentó recrecimiento de bacterias al aplicarse menos de 15000 ppm de ácido, no sólo referente a coliformes fecales, sino también a *Salmonella* spp. Dichos resultados correspondieron a lodo estabilizado sin deshidratar. En este caso se realizaron pruebas similares pero acondicionando el lodo y deshidratándolo para determinar el comportamiento microbiológico de las muestras, incluyendo huevos de helmintos. Estos últimos, aún cuando no tienen potencial de recrecimiento, eran de interés para determinar si a través del periodo de estudio se lograba una mayor inactivación.

Como se determinó en la Etapa I, el tipo de ácido empleado en el proceso influye más que el pH del lodo tratado en la destrucción de bacterias. Sin embargo, la recuperación del pH de valores ácidos hacia valores neutros incrementa las posibilidades de recrecimiento. En este caso, la Figura 4.12 muestra que el pH en los biosólidos tratados con acético disminuye en mayor medida que en el caso del peracético, a pesar de tratarse de muestras del mismo lodo original. Esto se debe a la diferencia en la dosis aplicada en cada caso puesto que el acético representa 32 veces más reactivo, lo cual implica que al disociarse el ácido generará una mayor cantidad de iones H^+ que reducen el pH del lodo.

Adicionalmente, se observa que el pH de la muestra tratada con ácido acético presenta un cambio ligeramente mayor en el pH que lo incrementa de 3.4 inmediatamente después del tratamiento, a valores cercanos a 3.8 unidades. Este incremento de valor fue similar al

presentado durante el estudio de recrecimiento en lodo líquido de la Etapa II (0.38 unidades promedio) por lo que la variación no parece tener influencia del deshidratado. En el caso del peracético, la muestra tratada con este ácido no redujo tanto el pH como en el caso del acético pero durante los 35 días de estudio mantuvo un valor cercano a las 4.8 unidades, menos de una unidad de diferencia con respecto al lodo crudo. Esta estabilidad en el pH indica una estabilidad en el contenido microbiológico del biosólido puesto que no se presenta un consumo del ácido acético (contenido en el peracético) por parte de las bacterias.

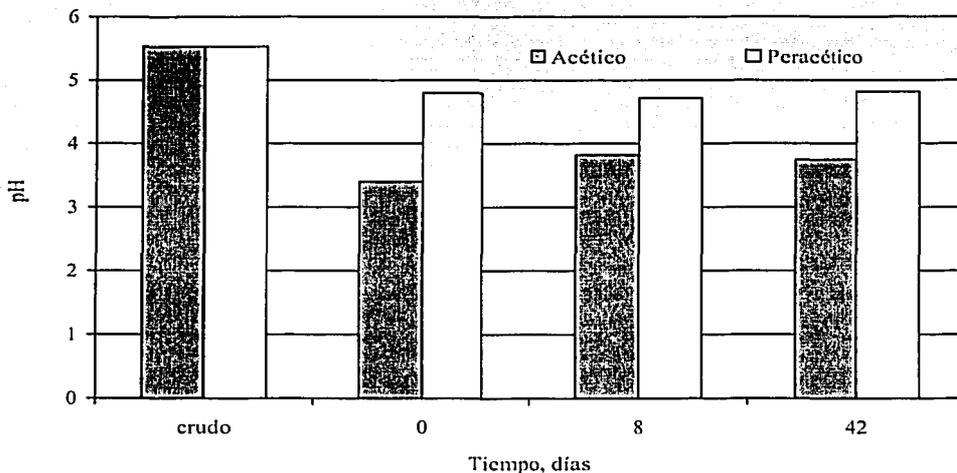


Figura 4.12. pH en lodo crudo y en los biosólidos tratados con ácidos acético y peracético.

Referente a la evolución de bacterias en el lodo tratado con acético, la Figura 4.13 muestra el comportamiento de los coliformes fecales y la *Salmonella* spp. en el lodo crudo y en el biosólido (estabilizado, acondicionado y deshidratado) a los tiempos 0, 8, 21 y 42 días. Se puede observar claramente la total destrucción de las salmonelas inmediatamente después del tratamiento y deshidratación (tiempo 0). Incluso se llega a tener una concentración menor que el límite de detección durante el tiempo del estudio. En contraste, los coliformes fecales presentaron un comportamiento variable y se redujeron en casi una unidad logarítmica entre el tiempo 0 y los 8 días. Posteriormente, su valor se incrementa ligeramente (cerca de media unidad logarítmica) de los 8 a los 42 días lo cual puede deberse a la presencia de recrecimiento, aunque éste es despreciable. A pesar de ello, la concentración al final del periodo de estudio permanece muy por debajo de los límites para lodos clase B y C.

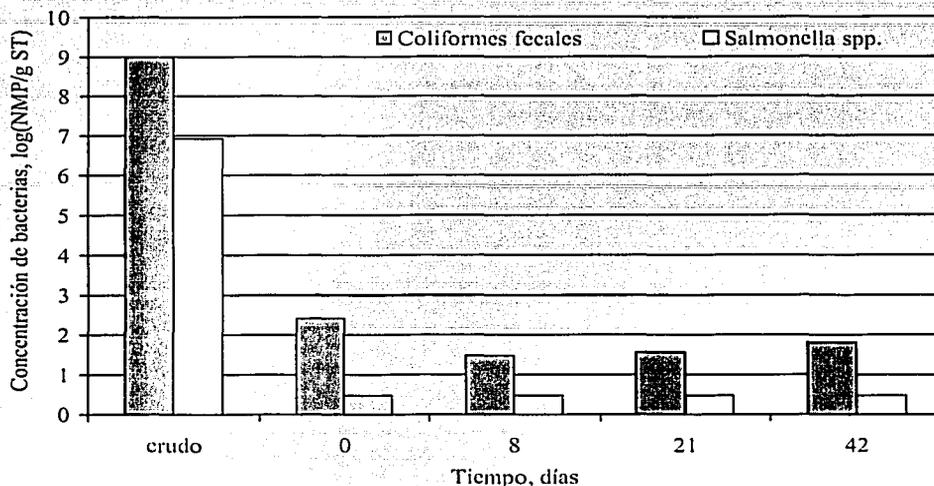


Figura 4.13. Evolución de los coliformes fecales y *Salmonella* spp. en muestras tratadas con ácido acético (18000 ppm).

En los estudios previos (Etapa II) se demostró la capacidad de los coliformes fecales y de las *Salmonellas* para recuperarse de un pH de 3.8 unidades, ligeramente superior al presentado en este experimento. Sin embargo, se nota el mismo comportamiento, en este caso y en el del lodo líquido tratado con 11000 ppm, en el crecimiento de los coliformes ya que se presenta un ligero retardo en su recuperación debido a la adaptación al pH ácido y al ácido acético como sustrato potencial. Esta diferencia indica que existe una mejor difusión del ácido acético residual en la muestra líquida mientras que en la muestra deshidratada pudiera agotarse el exceso de ácido en determinadas zonas permitiendo el recrecimiento. Un fenómeno similar se presenta en la estabilización alcalina en la cual un mezclado incorrecto disminuye el contacto de la cal con el lodo deshidratado lo cual afecta directamente la eficiencia del proceso sobre los patógenos y la estabilidad del biosólido (Christy, 2000).

Para el caso del ácido peracético, los coliformes fecales presentaron una reducción inicial de 6.5 unidades logarítmicas, la cual se incrementó a los 8 días a 7.5 logs y disminuyó a 7 logs a los 21 días, manteniéndose así hasta el final del estudio. Al igual que en las pruebas con acético, la densidad de *Salmonella* se mantuvo por debajo del límite de detección en el lodo tratado durante todo el experimento, lo cual demuestra la estabilidad del producto bajo las condiciones del estudio. Analizando la Figura 4.13 y la Figura 4.14 se puede notar que los coliformes fecales son más resistentes al tratamiento que la *Salmonella* puesto que para alcanzar la concentración mínima con ambos ácidos se requirió de un tiempo de 8 días.

Cabe mencionar que ambos ácidos han demostrado el potencial para destruir los coliformes fecales, sin embargo, la dosis de ácido manejada en el caso del acético es ligeramente superior a la recomendada en los estudios previos para evitar el recrecimiento (18000 vs 15000 ppm), mientras que en el caso del peracético, la dosis de 550 ppm es mucho menor a las empleadas en los estudios realizados en la Etapa I (1000 a 5000 ppm). La idea de emplear una dosis baja de reactivos obedece únicamente al costo asociado a éstos.

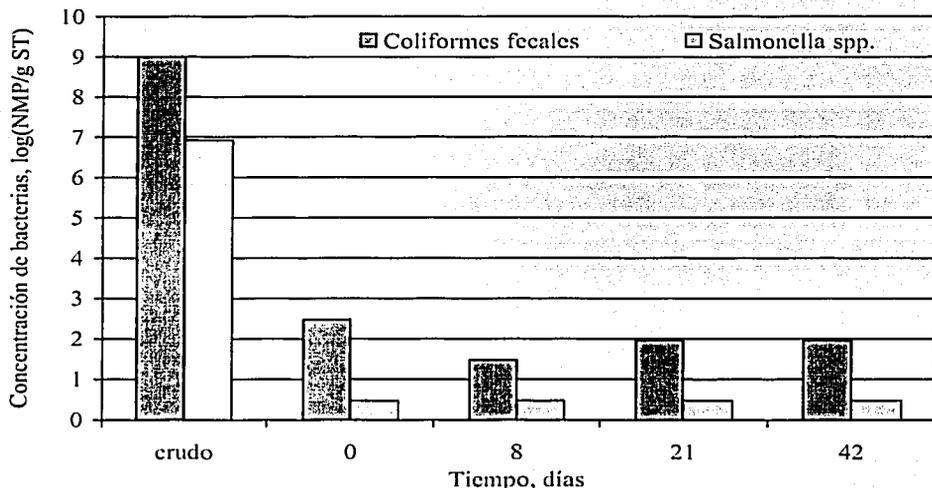


Figura 4.14. Evolución de los coliformes fecales y *Salmonella* spp. en muestras tratadas con ácido peracético (550 ppm).

Es importante notar que en ambas pruebas (acético y peracético) se logra cumplir con las concentraciones de coliformes fecales y *Salmonella* spp. para lodos clase C de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, lo que permite su aplicación sin restricciones al considerar estos dos parámetros.

Con respecto a huevos de helmintos, en la muestra de lodo crudo que se tomó de la planta de San Pedro Actopan se obtuvo una concentración de 58 huevos/g ST. Esta concentración es relativamente baja comparada con datos anteriores que indican concentraciones de hasta de 142 huevos por gramo, variabilidad que es común en muestras de lodos. A pesar de ello, los niveles alcanzados al final de los tratamientos muestran reducciones considerables y concentraciones finales menores a los 10 huevos/g ST.

La Figura 4.15 presenta los resultados de huevos de helmintos en las muestras de biosólidos tratadas con los dos ácidos orgánicos. La concentración inicial es la misma puesto que se trató del mismo lote de lodo y se observa que ambos ácidos presentaron una inactivación similar a lo largo del periodo de estudio. Al tiempo 0 (lodo estabilizado y deshidratado) se

tiene una reducción del 88 y 91% en la concentración con el acético y peracético, respectivamente. A partir de ese tiempo, las concentraciones son prácticamente iguales con una diferencia de 1 o 2 huevos por gramo, con lo que quedan en todos los casos por debajo de los 10 huevos de helmintos y alcanzan una eficiencia del 93 y 95% respectivamente al final del experimento. Las altas eficiencias pueden compararse con procesos avanzados que emplean temperaturas superiores a los 50° C pero con tiempos de retención (contacto) mayores que en este proceso.

Un punto interesante observado en la experimentación es que la concentración de huevos de helmintos en el lodo deshidratado fue del 50% de la obtenida en el lodo líquido tratado (7 vs 14 y 5 vs 10, para el acético y peracético respectivamente) lo cual indica que parte de los huevos presentes en el lodo líquido son desalojados junto con el agua separada durante la deshidratación. Como resultado, el efluente del proceso de deshidratación tendría que ser analizado para determinar la necesidad de darle un tratamiento adicional o regresarlo al influente de la planta de tratamiento en un proceso real.

De acuerdo con los resultados de la Etapa III, la inactivación con peracético se da en un tiempo muy corto -inmediatamente después de la adición y mezclado inicial- por lo que un tiempo de contacto mayor no necesariamente implica una mayor reducción en la densidad microbiológica debida al ácido peracético. A pesar de ello, el ácido acético que se forma durante la descomposición del peracético puede contribuir a la reducción de los huevos de helmintos en tiempos mayores como se aprecia ligeramente en la Figura 4.15, al igual que el ácido residual en la prueba con acético, toda vez que estos sufran una afectación inicial debida al peracético. En este sentido, una dosis baja de peracético disminuye el riesgo de recrecimiento al producir una baja concentración de ácido acético que puede ser empleado como sustrato por las bacterias. Adicionalmente, un corto tiempo de contacto permite reducir el volumen de las instalaciones requerido para el tratamiento, con lo cual se reduce aún más el costo del tratamiento.

Al comparar las eficiencias globales de los ácidos acético y peracético en este estudio, es difícil proponer el empleo de uno u otro únicamente con base en lo presentado. Sin embargo, debe considerarse que el peracético ha demostrado propiedades que no han sido del todo estudiadas en el acético como son un gran poder virucida, fungicida y esporicida (Baldry, 1983; Harakeh, 1984; Baldry *et al.*, 1991). Adicionalmente, el ácido peracético al presentar una menor reducción en el pH del lodo disminuye el potencial de lixiviación de metales en aquellos casos en los que éstos se encuentren en altas concentraciones, aún después de la deshidratación.

Lo anterior favorece el uso del ácido peracético siempre y cuando el costo del reactivo, así como los beneficios del proceso, como el no aumentar la masa de lodos, pudieran justificar su uso sobre procesos como la producción de composta o la estabilización alcalina que logran eficiencias similares. Si se compara el costo del peracético con el del acético para las dosis manejadas en esta etapa (550 y 18000 ppm, respectivamente) los costos serían muy similares (\$3,148 vs \$3,109).

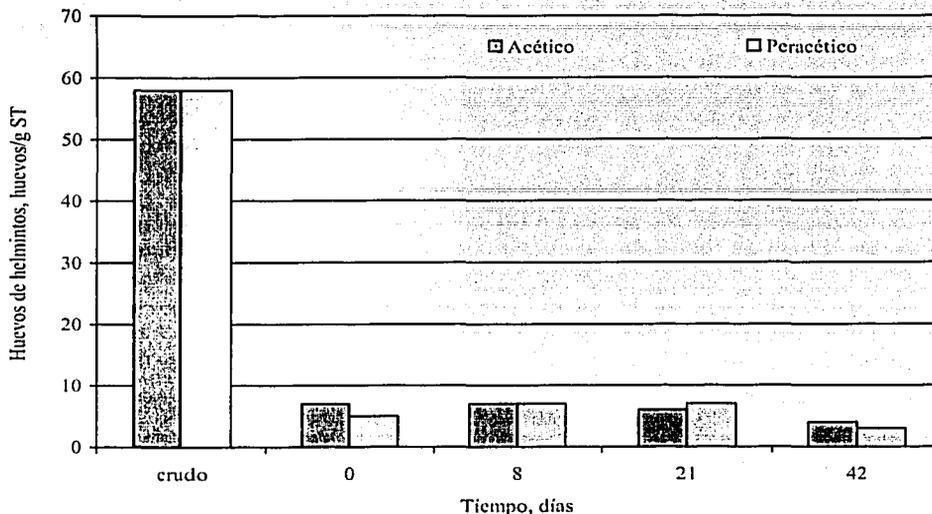


Figura 4.15. Evolución de huevos de helmintos en muestras tratadas con ácido acético (18,000 ppm) y ácido peracético (550 ppm).

Otro punto interesante es que a pesar de las variaciones en la concentración inicial de huevos de helmintos en las muestras de lodo analizadas en etapas previas y en esta etapa, las concentraciones en el lodo estabilizado fueron relativamente constantes y del orden de los 5 huevos de helmintos por gramo de sólidos lo cual garantiza una importante reducción de este parámetro independientemente de la concentración original.

4.5. Etapa V. Solubilización de metales en lodo acidificado.

Los metales contenidos en las aguas residuales son removidos mediante reacciones de intercambio iónico, adsorción química, precipitación, intercambio químico y formación de complejos, acumulándose en los lodos residuales. En general, la mayoría de los procesos de estabilización no remueven los metales y al aplicar los lodos a suelos generalmente éstos son liberados para formar complejos poco solubles que pueden irse acumulando en los suelos o ser asimilados por los cultivos. Estos metales incluyen al arsénico, cadmio, cobre, cobalto, níquel, plomo, mercurio y zinc. Debido a su naturaleza poco soluble y a la asimilación limitada por los cultivos, en aquellos casos en los que se realizan diversas aplicaciones de lodos a un determinado suelo pueden acumularse hasta llegar a niveles tóxicos para las plantas o los organismos del suelo (Chang *et al.*, 1992 y McGrath *et al.*, 1994).

En general, los cultivos que crecen en suelos ácidos acumulan una mayor cantidad de metales en sus tejidos y son más susceptibles a la fitotoxicidad que aquellos que crecen en

suelos calcáreos o neutros. Por ello, existen ciertos efectos adversos aparentes asociados a la aplicación de suelos ácidos o con potencial de acidificación (McBride, 1995). La US EPA tomando en cuenta lo anterior propuso límites para la concentración de metales en biosólidos que pretendan ser aplicados a suelos, regulando la tasa de aplicación en función del contenido de metales, de tal manera que no se acumulen dichos metales en suelos, evitando cualquier riesgo de acumulación y/o toxicidad. Adicionalmente, la acumulación de metales en cultivos sembrados en suelos ácidos se hace evidente al mostrar las plantas síntomas de fitotoxicidad, permitiendo el control de la acumulación mediante prácticas como la aplicación de cal a los suelos con lo que se reduce la fracción soluble de ellos.

De acuerdo con la propuesta de norma mexicana existen límites para 8 metales: arsénico, cadmio, cromo, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc, (Tabla 4.4). La segunda columna establece el límite máximo que deben cumplir todos aquellos biosólidos comercializados que serán aplicados en suelos, mientras que la tercera columna indica los valores máximos promedio que deberán cumplir los biosólidos que sean aplicados en suelos agrícolas, bosques, sitios de contacto público o sitios de recuperación de suelos.

De acuerdo con lo que se ha mencionado referente al origen del agua residual, y por ende de los lodos, de la planta de San Pedro Actopan, era de suponer que la concentración de metales en los lodos cumpliría con los límites de la US EPA. Al comparar la concentración de metales en estos lodos (promedio de 3 muestras) con la columna para aplicación en suelos, que es la de interés para el presente proyecto, es evidente que las concentraciones de metales en el lodo estudiado se encuentran muy por debajo de los límites propuestos con lo cual es posible su aplicación en suelos sin restricciones en este rubro. Sin embargo, a pesar de ello se decidió determinar la solubilización de los metales presentes al aplicar los ácidos acético y peracético. En el caso del acético se realizaron dos pruebas mientras que en el caso del peracético, sólo se realizó una, principalmente debido a la disponibilidad de recursos económicos.

Tabla 4.4. Concentraciones límite de metales de acuerdo con la norma 503 de la EPA y concentración de metales en lodo crudo (mg/kg).

Parámetro	Límite para biosólidos comercializados	Límite para aplicación en suelos	Lodo fisicoquímico de San Pedro Actopan
Arsénico	75	41	0.10 ± 0.007
Cadmio	85	39	0.03 ± 0.023
Cobre	4,300	1,500	3.03 ± 1.165
Cromo	1,200	3,000	0.35 ± 0.29
Mercurio	57	17	0.004 ± 0.0004
Níquel	420	420	0.29 ± 0.108
Plomo	840	300	1.61 ± 0.55
Zinc	7,500	2,800	10.97 ± 3.01

En la Tabla 4.5 se presentan los datos de pH en las muestras de lodo crudo y acidificado. Se observa que el pH al que se llega al tratar el lodo con ácido acético es menor que al

tratarlo con ácido peracético. Esto indica que a su vez, la solubilización de metales en este último caso sería menor que al tratar el lodo con acético, lo cual fue confirmado al medir los metales solubles en cada tipo de lodo.

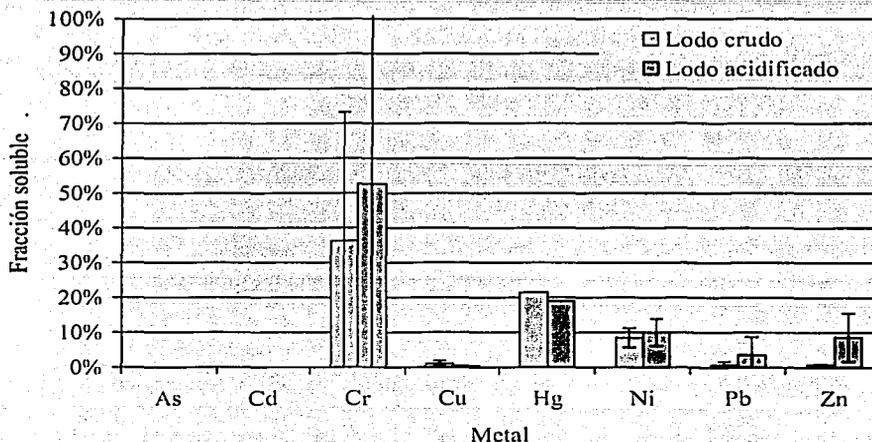
Tabla 4.5. Valores de pH en lodo crudo y acidificado para pruebas de solubilización de metales.

Ácido	pH en lodo crudo	pH en lodo tratado
Acético 1	6.50	3.50
Acético 2	5.60	3.84
Peracético	5.39	4.47

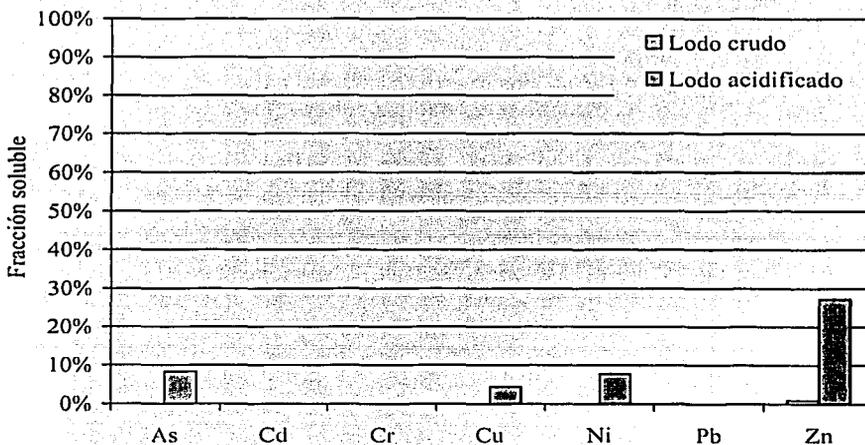
La Figura 4.16 muestra los resultados de las pruebas con ácido acético. La primera barra indica el porcentaje de cada metal en estado soluble comparado con el contenido total de dicho metal, mientras que la segunda se refiere al contenido soluble en el lodo tratado con ácido. En la mayoría de los casos se incrementó el porcentaje al aplicar el ácido con excepción del arsénico y del cadmio que se mantuvieron insolubles, y del cobre y mercurio en los cuales se redujo la fracción soluble al acidificar el lodo. Es posible que debido a la baja concentración de metales totales en el lodo pudiera haber existido cierto error experimental en la determinación analítica, puesto que al observar la concentración de cobre y mercurio se aprecia que son muy similares en ambos casos. La dificultad para medir metales en este tipo de matrices es notable y ha sido mencionada en la literatura (Ito *et al.*, 2001).

En el caso de la muestra tratada con ácido peracético se observa que no se detectaron metales solubles en la muestra de lodo crudo con excepción del zinc, ésto a pesar de que la concentración de metales totales en el lodo fue similar a las medidas en las muestras de lodo tratado con acético. En contraste, al aplicar el ácido, se incrementó la concentración de arsénico, cobre, níquel y zinc ligeramente. A pesar de ello, en ninguno de los casos se disolvió más del 30% del contenido total de cada metal. Es necesario mencionar que generalmente se emplea el contenido de nitrógeno en los biosólidos para calcular la tasa de aplicación en cultivos, y esta tasa es, en la mayoría de las ocasiones, inferior a la calculada por metales, por lo cual el riesgo de lixiviación es reducido. Adicionalmente, el efecto amortiguador del pH en diversos tipos de suelos con potencial de recibir este tipo de biosólidos reduciría el porcentaje de metales solubles capaces de causar algún efecto nocivo en los cultivos.

De acuerdo con algunos autores, metales como el cadmio y zinc se solubilizan fácilmente al reducir el pH de los lodos, en contraste con el cromo y el plomo que requieren valores muy bajos de pH para solubilizarse, aún a pH's cercanos a 2 unidades (Blais *et al.*, 1999). A su vez, altas eficiencias de solubilización de metales han sido alcanzadas con ácidos orgánicos (citríco), las cuales han sido realizadas a pH's de entre 3 y 4 unidades (Marchioretto *et al.*, 2001), valores similares a los alcanzados con el ácido acético en el presente trabajo.



a)



b)

Figura 4.16. Solubilización de metales en lodo tratado con: a) ácido acético y b) ácido peracético.

El hecho de que parte de los metales sean convertidos a su fase soluble durante el tratamiento ácido puede representar un riesgo al aplicar los lodos en suelo, no sólo debido a la potencial fitotoxicidad, sino también por el potencial de lixiviación a cuerpos de agua

subterránea. A pesar de ello, el aplicar este tipo de procesos en lodos con altos niveles de metales permitiría separarlos durante la etapa de deshidratación, con lo cual el contenido total de metales se vería reducido y la posibilidad de cumplir con los límites de la norma se incrementaría. Con ello, no sería necesario aplicar procesos altamente tecnificados como el tratamiento térmico, la biolixiviación, la cementación o el intercambio iónico (Marchioretto *et al.*, 2001).

Adicionalmente, de acuerdo con Fraser (1984), la mayoría de los suelos tienen una capacidad amortiguadora (buffer) que les permite mantener su pH dentro de un intervalo relativamente constante. Además, la aplicación de este tipo de lodos en la agricultura generalmente se da en tasas de 2 a 67 toneladas secas por hectárea (Metcalf y Eddy, 1991), lo cual, para un lodo deshidratado al 30% equivale a una capa de lodo menor a 3 cm, con lo que el pH no es afectado en la mayoría de los casos.

4.6. Etapa VI. Estabilización de lodo biológico con ácido peracético.

Hasta la Etapa V del presente trabajo, todas las pruebas fueron realizadas con lodos fisicoquímicos de la planta de San Pedro Atocpan. En esta etapa, se decidió evaluar el proceso de tratamiento ácido en lodos biológicos de la planta de Cerro de la Estrella para determinar la factibilidad de estabilizar este tipo de lodos.

De acuerdo con los resultados de pH, sólidos totales y sólidos volátiles (Tabla 4.6), la variación de estos parámetros entre las muestras obtenidas fue muy baja. El pH en el lodo crudo fue de 7.3 ± 0.03 unidades, mientras que los sólidos totales y volátiles fueron de 1.00 ± 0.09 % y 79.7 ± 0.66 % (de ST). Por su parte, los valores de pH en el lodo acidificado fueron de 4.8 a 4 unidades promedio. Estos valores de pH son similares a los alcanzados en el lodo fisicoquímico (4.47 a 4.80 con 550 ppm de APA) empleado en las etapas anteriores.

Como se ha mencionado, la acción bactericida del APA se debe principalmente a su poder oxidante más que al pH del medio por lo que las eficiencias de reducción de coliformes fecales y huevos de helmintos dependen más de la dosis que del valor final de este parámetro. En el caso de los sólidos analizados en las formas totales y volátiles, las muestras de lodo tratado no presentaron variaciones importantes con respecto al lodo crudo, aún cuando fueron ligeramente mayores, en el caso de los sólidos volátiles, que aquellas del lodo fisicoquímico. Esto último se debe a que el lodo biológico contiene principalmente biomasa, mientras que el fisicoquímico incluye además sólidos inorgánicos puesto que el proceso de TPA no incluye en su esquema un sedimentador primario como en el caso de los lodos activados.

Como se observa en la Figura 4.17, los coliformes fecales en el lodo crudo presentaron concentraciones apenas por encima del límite propuesto para lodos clase C, sin embargo, de acuerdo con la normatividad mexicana, para poder reutilizarlos es indispensable reducir dicha concentración.

Tabla 4.6. Resultados de pH, sólidos totales y sólidos volátiles en lodo biológico tratado con ácido peracético.

Dosis de APA ppm	pH	ST (%)	SV (% de ST)
0 (crudo)	7.3 ± 0.03	1.00 ± 0.09	79.7 ± 0.66
250	4.8 ± 0.16	0.97 ± 0.10	78.0 ± 4.23
500	4.3 ± 0.07	0.92 ± 0.30	79.6 ± 0.84
750	4.1 ± 0.06	1.00 ± 0.14	79.9 ± 0.72
1000	4.0 ± 0.07	0.95 ± 0.16	78.4 ± 1.08

En cuanto al contenido de huevos de helmintos, el lodo biológico crudo presentó un valor promedio que excede a su vez el límite para lodos clase C de la NOM-004-SEMARNAT-2002. Como se observa, las concentraciones en este tipo de lodo son considerablemente menores que las reportadas en etapas anteriores para huevos de helmintos. Es importante mencionar que la concentración de estos organismos en un lodo fisicoquímico generalmente es superior a la de un lodo biológico ya que los reactivos empleados (coagulantes) favorecen la remoción de sólidos suspendidos, entre los que se cuentan estas estructuras.

La Figura 4.18 muestra los resultados de coliformes fecales en el lodo tratado con las 4 dosis de ácido peracético. Al aplicar una dosis de 250 ppm se obtiene una reducción de 3 logs y una concentración por debajo del límite para lodos clase C de la normatividad propuesta, y apenas excede el límite para clase B. Con una dosis de 500 ppm, la reducción se incrementa a 4.8 unidades log y se cumple con el límite para lodos clase B. Finalmente, con dosis de 750 y 1000 ppm se alcanza el límite de detección en ambos casos y en todas las repeticiones realizadas. En estos dos últimos casos las eficiencias alcanzaron los 6 logs.

Cabe mencionar que al emplear 500 ppm, la concentración de coliformes fecales fue ligeramente superior a las obtenidas en las pruebas con lodo fisicoquímico y 550 ppm (1.68 ± 0.51 vs 1.80 ± 0.94 logs respectivamente). Esto demuestra que una dosis de 500 ppm logra reducciones equivalentes (~6 logs) independientemente del tipo de proceso que lo genere, si se consideran concentraciones iniciales similares a las reportadas en este trabajo. De acuerdo con el análisis estadístico (Anexo IV), existen diferencias significativas entre los tratamientos con 250 y 500 ppm por lo que la elección de la dosis depende únicamente de la clase de lodo que se pretenda producir. Así, para producir un lodo clase C se requieren 250 ppm mientras que para un lodo clase B la dosis correspondiente es de 500 ppm. Es posible ajustar las dosis para optimizar el consumo de reactivo, sin embargo ello requiere pruebas adicionales que van más allá de los alcances del presente trabajo.

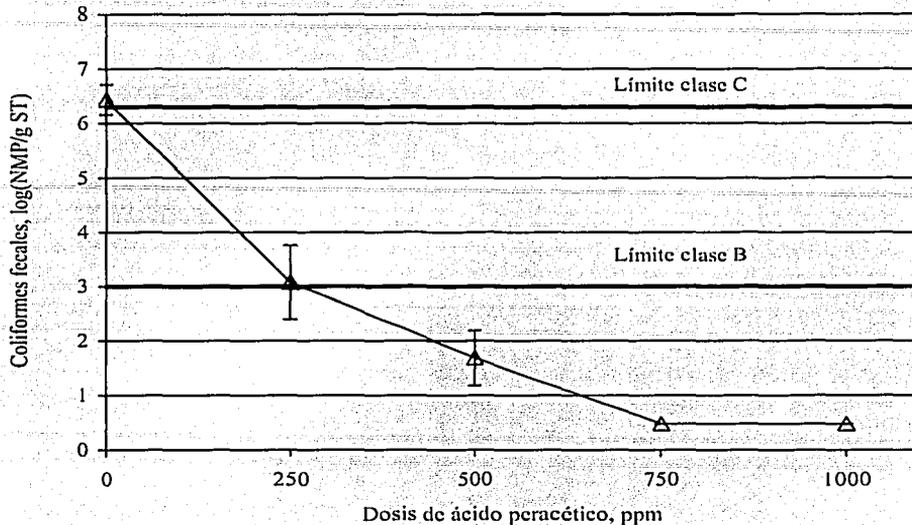


Figura 4.17. Coliformes fecales en lodo biológico tratado con ácido peracético.

Por su parte, la Figura 4.18 presenta los resultados de huevos de helmintos en el lodo tratado con ácido peracético. Las eficiencias obtenidas fueron de 34, 60, 74 y 90% para las dosis de 250, 500, 750 y 1000 ppm, respectivamente. Como se observa, una dosis de 250 ppm no es suficiente para alcanzar el valor límite para lodos clase C (35 huevos/g ST), mientras que 500 y 750 ppm logran una concentración por debajo de ese valor. En contraste, con la dosis de 1000 ppm se logra reducir el contenido de huevos de helmintos por debajo del límite para lodos clase B. Mediante el análisis de la concentración de huevos totales y el porcentaje de viabilidad que se presentan en la Tabla 4.7, es posible afirmar que en este caso los huevos de helmintos son básicamente inactivados y no destruidos puesto que la concentración total no presenta una gran variación (47.0 a 56.2 huevos/g ST) al comparar sus valores con los del lodo crudo (65.3 huevos/g ST). Por el contrario, la viabilidad mostró una marcada reducción de un valor de 96% en el lodo crudo hasta 11% al aplicar 1000 ppm de peracético.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

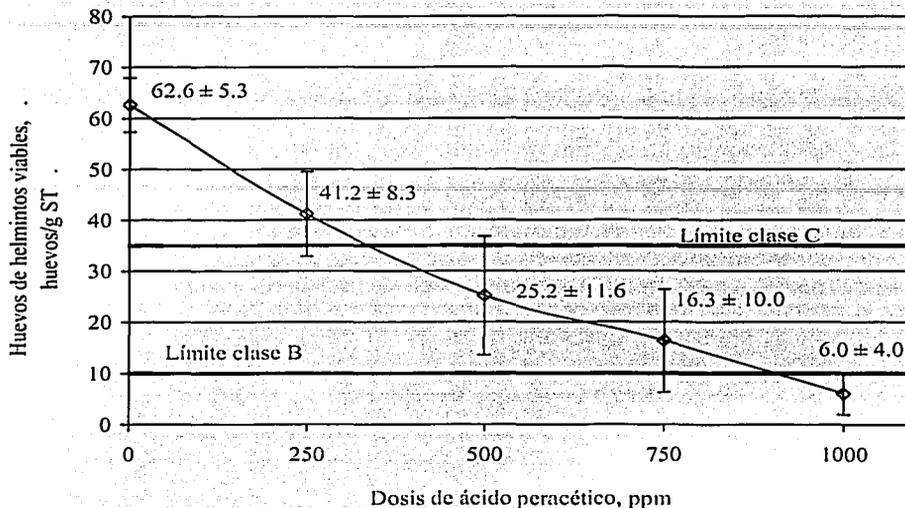


Figura 4.18. Concentración de huevos de helmintos con las distintas dosis de APA.

Tabla 4.7. Concentración de huevos de helmintos viables y totales y porcentaje de viabilidad en lodo biológico tratado con ácido peracético.

Dosis de APA	Huevos de helmintos viables	Huevos de helmintos totales	Viabilidad
ppm	huevos/g ST	huevos/g ST	%
0	62.6 ± 5.3	65.3 ± 3.9	96 ± 2
250	41.2 ± 8.3	52.5 ± 8.7	78 ± 3
500	25.2 ± 11.6	56.2 ± 26.6	45 ± 5
750	16.3 ± 10.0	47.0 ± 21.7	33 ± 5
1000	6.0 ± 4.0	53.0 ± 22.3	11 ± 3

Lo anterior contrasta con los resultados obtenidos en lodo fisicoquímico e indica que el origen del lodo influye en la eficiencia del proceso. Aquí hay que mencionar que la diferencia muy probablemente radica en el pH del lodo crudo, puesto que al ser menor en el lodo fisicoquímico (5.4 vs 7.3) influye directamente en la permeabilidad de la membrana de los huevos de helmintos. Adicionalmente, Clarke y Perry (1980) indican que para que el huevo eclosiona es necesario que las enzimas se debiliten y se disuelva parcialmente el huevo de manera que el parásito pueda salir del mismo. Esto último se realiza en condiciones ácidas dentro del organismo huésped por lo que es posible que una mayor acidez del lodo fisicoquímico ayude a reducir la resistencia de los huevos de helmintos y los haga más susceptibles a la acción del ácido peracético.

4.7. Etapa VII. Efecto del ácido peracético en huevos de *Ascaris suum*.

Esta etapa tuvo como objetivo el evaluar el daño del ácido peracético sobre los huevos de helmintos, en particular, de *Ascaris suum*, los cuales miden de 50 a 80 μ e infectan principalmente al ganado porcino. Los huevos de *Ascaris* están considerados como la forma más resistente de cualquier parásito así como uno de los organismos más resistentes a los cambios en las condiciones ambientales y a los medicamentos antihelmínticos (Bird, 1971; Carrington y Harman, 1984; Reimers *et al.*, 1986).

Estas estructuras además de servir como etapa de crecimiento que tienen que resistir los riesgos ambientales más que otras etapas, son únicos tanto estructuralmente como químicamente puesto que son la única parte del nemátodo que contiene quitina. La estructura y composición química de los huevos de nemátodos ha sido examinada por Christenson (1950), Fairbairn (1957) y Rogers (1962; citados en Bird, 1971), quienes indican la dificultad para determinar el origen de las diferentes capas que forman al huevo. A pesar de ello, se identifican básicamente tres capas que son:

- Interna de lípidos
- Media quitinosa
- Externa proteica.

En algunas formas existe una cuarta capa, denominada uterina por ser segregada por ese órgano, la cual se presenta en la parte más externa del huevo. La nomenclatura y el número de capas difieren entre los diferentes autores y en el caso de *Ascaris* se han reportado de tres a cinco (Rogers, 1956; citado en Bird, 1971). A pesar de ello, estudios posteriores realizados por Foor (1967), con la ayuda del microscopio electrónico, determinaron que este género no posee más de tres capas, excluyendo la capa uterina, la cual no se presenta en la mayoría de los nemátodos.

La formación del huevo inicia con una capa densa vitelina que se separa del citoplasma del huevo y deja una zona no estructurada que eventualmente contendrá la capa quitinosa. Posteriormente, la zona no estructurada se ensancha hasta unas 3 μ y se transforma en la capa quitinosa. Al mismo tiempo, la capa interna de lípidos se forma de la extrusión y fusión de los gránulos.

La capa lipídica está formada por aproximadamente 25% de proteínas y 75% de lípidos (ascarosida) y es soluble en algunos solventes de grasas. Los ésteres de ascarosida en *Ascaris lumbricoides* se encuentran en la fracción lipídica neutra y parecen ser los responsables de la extrema resistencia de estos huevos a las condiciones ambientales. Previo a la eclosión del parásito, la capa lipídica es hidrolizada y el huevo se vuelve más permeable, por lo que hay mayor riesgo de que sustancias externas ingresen al huevo, y dañen los componentes internos del mismo. Como se mencionó en la discusión de resultados de la Etapa I, esta permeabilidad puede inducirse por la modificación de factores como el pH o la temperatura (Ward y Fairborn, 1972).

Por su parte, el componente principal de la capa quitinosa (quitina) se sintetiza en respuesta al estímulo de la fertilización. Su presencia en esta capa de los huevos de varios nemátodos ha sido demostrada por tinciones, solubilidad en diversos reactivos y por la identificación de compuestos específicos identificados por cromatografía. Además, la cantidad de quitina en esta capa parece variar ampliamente en diferentes nemátodos. En los *Ascaris* por ejemplo es casi solo quitina y una pequeña cantidad de proteínas mientras que en géneros como *Trichuris* la mayor parte son proteínas y una pequeña porción quitina.

Finalmente, la capa externa proteica (inadecuadamente designada como vitelina) mide aproximadamente 0.5μ de espesor en los *Ascaris* y es la primera capa que se forma después de la penetración del esperma. Se deriva del oolema y en muchos huevos incrementa su espesor para formar la capa externa del huevo. En ocasiones se han detectado pequeñas proyecciones que consisten en una especie de fibrillas sobre la superficie del huevo (mamelones).

4.7.1. Efecto del ácido peracético en los huevos de *Ascaris suum*.

Al aplicar las diferentes dosis de ácido peracético a las muestras de huevos de *Ascaris suum* se observaron diferentes daños en las estructuras. En la Figura 4.19 se presentan fotografías que muestran el daño debido al ácido peracético. En la Figura 4.19 a se muestra un huevo descorticado (sin los mamelones de la cubierta externa) con el núcleo aparentemente intacto, producto de la adición de 80 ppm de ácido peracético.

Debe mencionarse que el hecho de que el huevo no presente la membrana mamelonada no garantiza que el huevo sea no viable (infértil). Por el contrario, es necesario determinar la viabilidad mediante la incubación del huevo durante un periodo de aproximadamente 4 semanas en condiciones similares a las que se presentan en el intestino de los organismos que potencialmente son infectados por estos huevos.

Por su parte, las imágenes b, c y d muestran huevecillos que exhiben un claro daño en la zona polar de la membrana, lo cual se refleja en la pérdida de material citoplásmico al exterior. Cabe mencionar que se observaron una gran cantidad de huevos al microscopio en cada una de las muestras tratadas con ácido peracético y se observaron diversos niveles de afectación, desde la pérdida de los mamelones superficiales hasta la perforación de la membrana y la pérdida de material, aunque adicionalmente se observaron diversos huevos sin un daño aparente. Es importante mencionar que los tiempos de contacto fueron menores a 10 minutos con el propósito de limitar el efecto del peracético en los huevos y observar el daño causado por este reactivo.

Fairbarn (1954) indicó que los huevos no embrionados contienen cierta concentración de ácidos grasos (acético, butírico y pentanoico) la cual disminuye durante la embrionación hasta en 66%. Es importante mencionar que de acuerdo con el autor, los huevos de *Ascaris* contienen una gran cantidad de grasas que sirven como reserva de energía al huevo durante la etapa de desarrollo mientras que espera la ingestión por parte del huésped. Adicionalmente, parte de dichas grasas la constituyen ácidos grasos volátiles que coinciden

con los ácidos que excretan las hembras adultas como productos de la fermentación. Por ello, es probable que algunos de los ácidos orgánicos desechados durante la fermentación, sean incorporados y utilizados durante el metabolismo del huevo. Así, a pesar de la gran resistencia de los huevos a diversos factores ambientales, el paso de los ácidos orgánicos a través de la membrana es factible.

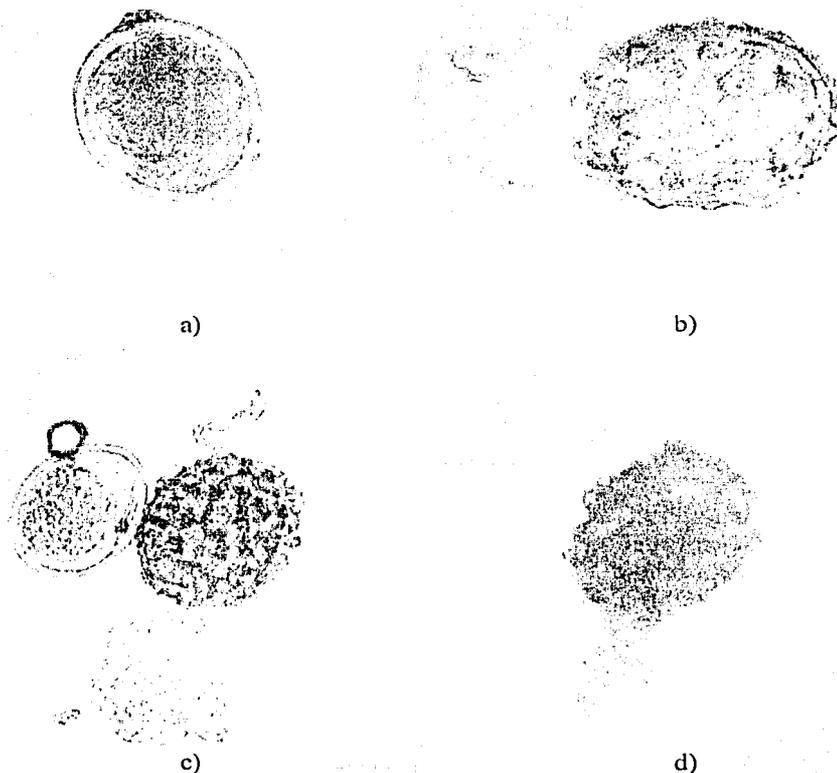


Figura 4.19. Huevos de *Ascaris suum* tratados con ácido peracético: a) 80 ppm; b) 170 ppm; c) 330 ppm; d) 500 ppm.

Si se considera que las concentraciones de ácido peracético empleadas en esta etapa (1.05 a 6.58 mM) son menores a la concentración de ácidos grasos volátiles encontrada en el intestino (150 mM; Foster, 1995), es evidente que el peracético ocasiona un daño en la

membrana debido a su acción oxidante más que a su toxicidad. Adicionalmente, las dosis de ácido acético aplicadas en las pruebas de la etapa IV de este trabajo, en las cuales se lograron eficiencias similares a las del peracético, son superiores a las mencionadas anteriormente (300 vs 150 mM) con lo que se confirma lo anterior. Finalmente, el hecho de que la capa lipídica sea semipermeable, y esta permeabilidad varíe de acuerdo con las condiciones ambientales y el grado de desarrollo del huevo, permite que el ácido acético penetre a través de la membrana y se disocie en el interior desnaturalizando esta estructura.

Debe mencionarse también que los valores extremos de pH, temperatura o ciertos químicos pueden afectar las proteínas al desnaturalizarlas, con lo cual pierden sus propiedades originales y pueden incluso modificar la estructura molecular. La capa lipídica de los huevos de helmintos contiene proteínas que pueden ser afectadas al disminuir el pH del medio. Además, el hecho de que la proporción de proteínas en los huevos de *Ascaris* sea menor que en otros géneros podría verificar esta hipótesis puesto que, como ya se ha mencionado, son más resistentes a los cambios ambientales. Adicionalmente, de acuerdo con Fairbairn y Passey (1955), los huevos de *Ascaris lumbricoides* son muy resistentes a la acción de muchas sales, agentes oxidantes o reductores, ácidos y bases, pero algunos solventes orgánicos pueden penetrar y disolver la capa lipídica del huevo. De esa manera los huevos se verían inactivados. En el caso del peracético, muy probablemente su capacidad para penetrar la membrana del huevo y alcanzar la capa lipídica le permiten disolverla para así inactivar esta estructura. Como se mencionó anteriormente, Clarke y Perry (1980) afirman que la membrana es parcialmente disuelta o debilitada para permitir que eclosionen el parásito, lo cual sustenta lo anterior.

De las observaciones realizadas en esta etapa se concluye que el ácido peracético causa un daño físico evidente en la membrana del huevo con lo cual se pierde el material interno del mismo y se reduce de manera importante su capacidad infectiva.

5. CONCLUSIONES

Basados en los resultados obtenidos durante las pruebas de estabilización ácida de lodos fisicoquímicos con ácidos sulfúrico, perclórico, peracético y acético se determinó que es posible reducir el contenido microbiológico en lodos. El tipo de ácido (orgánico/inorgánico) empleado en el proceso es de mayor importancia que el pH alcanzado en el lodo tratado ya que los ácidos acético y peracético presentaron mejores eficiencias en la destrucción de coliformes fecales y en la inactivación de huevos de helmintos, mientras que el uso del perclórico y del sulfúrico no fue recomendado debido a las menores eficiencias y a los mayores costos de reactivo necesario para cumplir con los límites para lodos clase C. El pH final empleando ácidos orgánicos fue de alrededor de 4 unidades, mientras que con los inorgánicos se alcanzaron valores cercanos a 1 para eficiencias similares o mayores en el caso de los orgánicos.

Si se consideran las eficiencias globales de los ácidos orgánicos empleados en el proceso, además de aspectos como el poder bactericida, virucida y fungicida del ácido peracético, se recomienda el uso de estos ácidos en el tratamiento de lodos biológicos y fisicoquímicos para producir biosólidos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio de recrecimiento con ácido acético, las bacterias son capaces de recuperarse de una situación de estrés ácido al aplicar el reactivo, aún a pH menor a 4, para posteriormente comenzar a presentar recrecimiento al emplear el ácido acético residual como sustrato. Ello indica una tolerancia ácida por parte de los coliformes fecales y salmonelas que representa un riesgo potencial al tratar el lodo con menos de 15,000 ppm de acético. Adicionalmente, la reducción del pH durante el tratamiento disminuye el desarrollo normal de las bacterias pero esta reducción no garantiza la estabilidad del producto. Por ello, un exceso de ácido acético se requiere para inhibir totalmente el desarrollo de las bacterias estudiadas, durante al menos 35 días, por lo que la dosis recomendada es superior a 15,000 ppm.

Empleando ácidos orgánicos en el tratamiento ácido fue posible producir biosólidos que cumplen con la NOM-004-SEMARNAT-2002 si se consideran los parámetros microbiológicos. En el caso del tratamiento con acético, la dosis mínima recomendada es de 18000 ppm para producir biosólidos clase C, mientras que en el caso del peracético, una dosis de 550 es suficiente para producir biosólidos clase B. La clase de lodo dependerá de la dosis de ácido aplicada, y es posible reducir la dosis de peracético para disminuir los costos del consumo de reactivo.

La velocidad del ácido peracético para destruir las bacterias y los huevos de helmintos fue superior a la del ácido acético, requiriendo únicamente de 10 minutos de contacto para lograr estabilizar el lodo, mientras que con el acético la reducción microbiológica continúa hasta los 30 minutos. Sin embargo, la reducción en la concentración de microorganismos a tiempos mayores a 10 minutos en lodo tratado con ácido acético no justifica el mayor tiempo de contacto, por lo que 10 minutos es suficiente para lograr el tratamiento. Lo

anterior demuestra la posibilidad de reducir los tiempos del proceso al emplear ácido peracético, para, a su vez, reducir las dimensiones de los reactores y el costo asociado a su construcción y mantenimiento. Adicionalmente, las eficiencias alcanzadas con el ácido peracético superan las del acético, permitiendo recomendar al primero para el proceso de estabilización ácida.

De acuerdo con las pruebas de deshidratación de lodos tratados con ácidos acético y peracético, el empleo de polímeros catiónicos de alto peso molecular y amplio intervalo de pH permitió reducir la resistencia específica a la filtración a valores similares a los de un lodo digerido acondicionado (10^{12} m/kg) lo que demuestra la factibilidad de deshidratarlos mediante un equipo convencional (filtros banda o prensa o centrífugas).

Los lodos tratados con los ácidos orgánicos demostraron su estabilidad microbiológica cuando se aplicaron dosis de 18000 y 550 ppm de acético y peracético, respectivamente. Durante un periodo de 42 días, los biosólidos deshidratados no presentaron recrecimiento de bacterias y la concentración de huevos de helmintos permaneció relativamente constante.

Con respecto a la solubilización de metales, el tratamiento del lodo con ácidos acético y peracético ayuda a separar parcialmente estos contaminantes mediante la reducción del pH y la deshidratación, lo cual, en el caso de lodos altamente contaminados con estos elementos, reduciría la concentración de los mismos (medidos como metales totales) y permitiría el cumplimiento de los valores establecidos en la normatividad para poder reaprovecharlos en suelos. En cuanto a la aplicación de este tipo de biosólidos en suelos, se prevé que la capacidad amortiguadora del mismo impedirá que el pH varíe considerablemente, siempre y cuando se apliquen tasas agronómicas o se demuestre que la aplicación de una tasa mayor no representa un impacto negativo en este parámetro. Adicionalmente, se deben respetar las tasas máximas de aplicación por metales para reducir el potencial de fototoxicidad. Por su parte, el agua filtrada debe ser sometida a algún proceso de remoción de metales antes de que sea recirculada dentro de la planta o descargada.

Las pruebas de estabilización con ácido peracético en lodo de un proceso biológico (lodos activados) produjeron un biosólido con concentraciones de coliformes fecales similares a las obtenidas en lodo fisicoquímico (de un tratamiento primario avanzado) con dosis semejantes, mientras que las de huevos de helmintos fueron mayores en el lodo biológico que en el fisicoquímico. Lo anterior se debió a la diferencia en el pH del lodo crudo, el cual presentó un valor neutral en el biológico (7.3) y un valor ácido en el fisicoquímico (~5.4). Esto ocasiona que parte del ácido peracético añadido al lodo biológico reaccione con la alcalinidad para reducir el pH y ocasionar la inactivación. A este respecto, las pruebas en lodo biológico mostraron que los huevos de helmintos son principalmente inactivados por el ácido peracético, mientras que en el lodo fisicoquímico además de ser inactivados, éstos son destruidos.

Finalmente, las pruebas realizadas con soluciones de huevos de *Ascaris suum* y dosis de 80 a 500 ppm indicaron que el ácido peracético causa la pérdida del material celular debido a

la destrucción de la membrana del huevo. La permeabilidad de estos huevos depende, en gran medida, de la temperatura y del pH y es posible que la acidez debilite las enzimas de la membrana y se disuelva en la zona polar, perdiendo el material interno y, por consiguiente, la capacidad infectiva. Es muy probable que el efecto combinado del pH ácido y la acción oxidante del reactivo contribuyan a dicha destrucción. Adicionalmente, la concentración de peracético en las pruebas realizadas fue menor a la concentración de ácidos grasos encontrada en el intestino (1.05 a 6.58 mM vs 150 mM) con lo cual se deduce que más que un efecto tóxico, el peracético oxida la membrana del huevo.

Por todo lo anterior, se concluye que la aplicación del proceso de tratamiento ácido para producir biosólidos es factible si se emplea ácido peracético en dosis de alrededor de 500 ppm, tanto en lodo fisicoquímico como en lodo biológico. El biosólido así producido cumple con los límites para lodos clase C de la normatividad nacional (NOM-004-SEMARNAT-2002) así como con los de lodos clase B del apartado 503 de la US EPA. Con base en los resultados, el uso del ácido peracético, en el proceso, se recomienda sobre el acético tomando en cuenta las eficiencias, la disminución en el potencial de recrecimiento y el costo (similar en ambos casos). A pesar de ello, es necesario realizar pruebas a nivel piloto para corroborar la factibilidad de implantar el proceso en plantas existentes o futuras, para lo cual se debe considerar la modificación de las instalaciones, de manera que se incluyan reactores en donde se realice el tratamiento bajo las condiciones de operación derivadas de este trabajo.

REFERENCIAS

- Allied Colloids (1988). *Polymers: A brief discussion of polymers and their use in sludge treatment.*
- Andreoli, C.V., Von Sperling, M., y Fernandes, F. (2001). Lodo de esgotos: tratamento e disposição final. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental- UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná. Brasil.
- American Public Health Association-American Water Works Association-Water Environment Federation (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th Ed.*, Washington, D.C.
- Baldry, M. G. C., Cavadure, A., French, M. S., Massa, G., Rodríguez, L. M., Schirch, P. F. T. y Thicagold, T. L. (1995). Effluent disinfection in warm climates with peracetic acid. *Wat. Sci. and Tech.*, Vol. 31, No. 5-6, pp. 161-164.
- Baldry, M.G.C., French, M.S. y Slater, D. (1995). The activity of peracetic acid on sewage indicator bacteria and viruses. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 24, No. 2, pp. 353-357.
- Baldry, M.G.C. y French, M.S. (1989). Activity of peracetic acid against sewage indicator organisms. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 21, pp. 1747-1749.
- Baldry, M.G.C. (1983). The Bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *J. of Appl. Bact.* Vol. 54, 417-423.
- Barber, W.P. (2001). Low lime sludge pasteurization for further enhanced biosolids products. *Proceedings of the Joint CIWEM Aqua Enviro Consultancy Services 5th European Biosolids and Organic Residuals Conference.* Published by Aqua Enviro Consultancy Services, P. Lowe y J. Hudson, Editores. Seminar 8, paper 71. Wakefield, United Kingdom.
- Barrios, J.A., Rodríguez, A., Gonzalez, A., Jiménez, B. y Maya, C. (2001). Quality of sludge generated in wastewater treatment plants in Mexico: meeting the proposed regulation. *Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: regulation, treatment, utilisation and disposal.* Acapulco, Mexico, pp 54-61.
- Biagi, F. (1990). *Enfermedades Parasitarias.* La Prensa Mexicana, Mexico, pp. 44-51
- Bird, A.F. (1971). *The structure of nematodes.* Academic Press, U.S.A.
- Bitton, G. (1994). *Wastewater microbiology.* Wiley-Liss, U.S.A. p. 226.
- Blais, J.F., Tyagi, R.D. y Meunier, N. (1999). Semi-continuous operation of simultaneous sewage sludge stabilization and metal leaching. *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, Oct. 13-15, 249-256.
- Blais, J.F., Tyagi, R.D., Auclair, J.C. y Lavoie, M.C. (1992). Indicator bacteria reduction in sewage sludge by a metal biolaching process. *Wat. Res.* Vol. 26, No. 4, pp. 487-495.
- Booth, I. R. (1999). The regulation of intracellular pH in bacteria. En: *Bacterial Responses to pH.* Chadwick, D. J. y Cardew, G. Editores. John Wiley & Sons, England. 19-37.
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. (1994). *Biology of Microorganisms. 17th Ed.* Prentice Hall. Estados Unidos. p. 339.
- Brudzinski, L. y Harrison, M. A., (1998). Influence of incubation conditions on survival and acid tolerance response of *Escherichia coli* 0157:H7 and Non-0157:H7 isolates exposed to acetic acid. *J. of Food Protection.* Vol. 61, No. 5, p. 542-546.
- Camacho, P., Geaugey, V., Gimster, P. y Paul, E. (2001). Feasibility study of mechanically disintegrated sludge and recycle in the activated sludge process. *Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: regulation, treatment, utilisation and disposal.* Acapulco, Mexico, pp 494-501.

- 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.
- Chang, A. C., Granato, T.C. y Page, L. (1992). A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludge. *J. of Environmental Quality* (21) 521-536.
- Cherrington, C.A., Hinton, M., Mead, G.C. y Chopra, I. (1991). Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. *Advances in Microbial Physiology*, Vol. 32, pp. 87-108.
- 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 Organics Residuals Conference*. Published by Aqua Enviro Consultancy Services, P. Lowe y J. Hudson, Editors. Seminar 8, paper 68. Wakefield, United Kingdom.
- Clarke, A. J. y Perry, R. N. (1980). Egg-shell permeability and hatching of *Ascaris suum*. *Parasitology*, Vol. 80, 447-456.
- CNA (2000). Lodos que se generarán por cumplimiento de NOM-001-ECOL-1996. Gerencia de Ingeniería Básica y Normas Técnicas. Comisión Nacional del Agua.
- Colgan, S. y Gehr, R. (2001). Disinfection: Peracetic acid gains favor as an effective, environmentally benign disinfection alternative for municipal wastewater treatment applications. *Wat. Env. & Tech.* November, 29-33.
- Comisión Europea (2002). *Disposal and recycling routes for sewage sludge. Part 4. Economic Report*. Luxemburgo.
- Cowles, P.B. (1941). The germicidal action of the hydrogen ion and of the lower fatty acids. *Yale J. of Biol. Med.* Vol. 13, pp. 571-578.
- Crewe W. (1984). Transmission of *Taenia saginata* in Britain. *Annals of tropical Medicine and Parasitology* Vol. 78, pp. 249-251.
- Dicz-Gonzalez, F. y Russell J. B. (1997). The ability of *Escherichia coli* 0157:H7 to decrease its intracellular pH and resist the toxicity of acetic acid. *Microbiology*, 143, pp. 1175-1180.
- Dilworth, M.J. y Glenn, A.R. (1999) Problems of adverse pH and bacterial strategies to combat it. En: *Bacterial Responses to pH*. Chadwick, D. J. y Cardew, G. Editores. John Wiley & Sons, England. 4-18.
- DOF (2003). Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, viernes 15 de agosto.
- DOF (1993). Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-1993, que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.
- El-Ziney, M. G., De Meyer, H. y Debevere, J. M. (1997). Growth and survival kinetics of *Yersinia enterocolitica* IP 383 O:9 as affected by equimolar concentrations of undissociated short-chain organic acids. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 34, pp. 233-247.
- Eklund, T. (1983). The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 54, No. 3, pp. 383-389.
- EPA (1999). Biosolids generation, use, and disposal in the United States. United States Environmental Protection Agency, EPA530-R-99-009.
- European Environment Agency (2001). Indicator Fact Sheet Signals 2001- Chapter Waste: Sewage sludge – a future waste problem?
- Fairbairn, D. y Passey, B. (1955). The lipid components in the vitelline membrane of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, Vol. 33. 130-134.

- Fairbairn, D. (1954). Embryonic and postembryonic changes in the lipids of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, Vol. 33, pp. 122-129.
- Fay, J. P. y Farias, R. V. (1975). *Journal of General Microbiology* 91, 233.
- Federal Registry (1993). Part 503-Standards for the use or disposal of sewage sludge. 58 FR 9387, February 19.
- Foor, W.E. (1967). Ultrastructural aspects of oocyte development and shell formation in *Ascaris lumbricoides*. *The Journal of Parasitology*. Vol. 53, No. 6, pp. 1245-1261.
- Forste, J. B. (1996a). Land Application. En: *Biosolids Treatment and Management: Processes for Beneficial Reuse*. Girovich, M. J. (Ed.) Marcel Dekker, Inc. Estados Unidos, p. 390.
- Forste, J. B. (1996b). Federal Regulatory Requirements. En: *Biosolids Treatment and Management: Processes for Beneficial Reuse*. Girovich, M. J. (Ed.) Marcel Dekker, Inc. Estados Unidos, p. 99.
- Foster, J. W. (2000). Microbial responses to acid stress. En: *Bacterial Stress Responses*. G Storz y R. Hengge-Aronis (eds.) ASM Press, Estados Unidos. pp. 99 – 115.
- Foster, J. W. (1995). Low pH adaptation and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Critical Reviews in Microbiology*. Vol. 21, No. 4, 215-237.
- Foster, J.W. y Hall, H.K. (1991). Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 173, No. 16, pp. 5129-5135.
- Fraser J.A.L., Godfree A.F., Gibson D., Jones F., y Slater D. (1983). Sewage sludge disinfection using peracetic acid. Paper presented at the North Western branch of the Institute of water pollution control.
- Fraser, J.A.L., Godfree, A.F. y Jones, F. (1984). Use of peracetic acid in operational sewage sludge disposal to pasture. *Water Science and Technology*. Vol. 17, pp. 451-466.
- Gaspard P. Wiart J y Schwartbrod J. (1997). Parasitological contamination of urban sludge used for agricultural purposes. *Waste Management and Research*. Vol. 15, pp. 429-436.
- Godfree, A. (2001). Pathogens in UK biosolids and background to the UKWIR pathogen research programme. En: *Pathogens in Biosolids and their Significance in Beneficial Use Programmes*, Proceedings UKWIR/Aqua Enviro Pre-Conference Workshop, 6th European Biosolids and Organic Residuals Conference, Aqua Enviro, Wakefield, Nov.
- Godfree, A. F., Jones, F., Satchwell, M. y Watson D.C. (1984). The effectiveness of chemical disinfection on faecal bacteria in sludge. In: *Sewage sludge stabilization and disinfection*. Bruce, A.M. (ed.), Ellis Horwood Limited, pp. 412-425.
- 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, P. Lowe y J. Hudson, Editors. Seminar 1, paper 3. Wakefield, United Kingdom.
- Hall, J. (1999). Ecological and economical balance for sludge management options. En: *Workshop on problems around sludge*. Heinrich Langenkamp, Luca Marmo, (Eds.) European Commission Joint Research Centre, EUR 19657 EN. pp. 155- 172.
- Harakeh, M. S. (1984). Inactivation of enteroviruses, rotaviruses and bacteriophages by peracetic acid in a municipal sewage effluent. *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 23, pp. 27-30.
- 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.
- Hutanen, C.N. (1975). Use of pH gradient plates for increasing the acid tolerance of *Salmonella*. *Applied Microbiology*. Vol. 29, No. 3, pp. 309-312.
- Huyard, A., Ferran, B. y Audic, J.M. (1999). The two phase anaerobic digestion process: sludge stabilization and pathogens reduction. *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, Oct. 13-15, pp. 97-104.

- Ito, A., Kusanagi, J., Matsukara, T., Aizawa, J. y Umita, T. (2001). Relationship between partition of heavy metals in sewage sludge and elution of heavy metals. *Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: regulation, treatment, utilisation and disposal*. Acapulco, Mexico, pp. 85-92.
- Jiménez, B., Barrios, J.A., Méndez, J.M. and Díaz, J. (2003). Sustainable sludge management in developing countries. *Proceedings of the International Water Association Specialist Conference BIOSOLIDS 2003 Wastewater Sludge as a Resource*. Trondheim, Noruega. Junio 23-25. 377-384.
- 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*. Acapulco, Mexico, 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., 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. Proyecto 8386, 39 páginas.
- 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. Informe Final elaborado para la Comisión Nacional del Agua. Instituto de Ingeniería. Proyecto 8313, 107 páginas.
- 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.
- Langlais, B., y Triballeau, S. (1992). Tests on disinfection of a secondary effluent using peracetic acid. *Proceedings Waste Water Management in Coastal Areas*. Montpellier.
- Lazarova, V., Janex, M. L., Fiksdal, L., Oberg, C., Barcina, I., y Pommepuy, M. (1998). Advanced wastewater disinfection technologies: short and long term efficiency. *Water Science and Technology*. Vol. 38, No. 12, pp. 109-117.
- Lefevre, F., Audic, J. M., y Ferrand, F. (1992). Peracetic acid disinfection of secondary effluents discharged off coastal sea water. *Proceedings Waste Water Management in Coastal Areas*. Montpellier.
- Liberti, I. y Notarnicola, M. (1999). Advanced treatment and disinfection for municipal wastewater reuse in agriculture. *Water Science and Technology*. Vol. 40, No. 4-5, pp.235-245.
- Lin, J., Soo Lee, I., Frey, J., Slonczewski, J. L. y Foster, J. W. (1995). Comparative analysis of extreme acid survival in *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, and *Escherichia coli*. *J. of Bacteriology*. Vol. 177, No. 14, pp. 4097-4104.
- Haug, R.T., Kuchenrither, R., Oerke, D., Prakasam, T., Soszynski, S. y Zenz, D. (1992). *Sludge Processing Technology*. En: *Municipal Sludge Management: Processing, Utilization and Disposal*. Lue-Hing, C. Editor. 223-298.
- Lynch, J.M., Pfaffin, J.R., Pecker, C., Cárdenas, R., Cunningham, S., Bozzone, R.T. y Borg, S. (1984). Method for the treatment of wastewater sludge. Patente No. 4'500,428, E.U.
- Marchioretto, M. M., Bruning, H., Loan, N. T. P. y Rulkens, W. H. (2001). Heavy metals extraction from anaerobically digested sludge. *Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management: regulation, treatment, utilisation and disposal*. Acapulco, Mexico, pp 77-84.

- McBride, M.B. (1995). Toxic metal accumulation from agricultural use of sewage sludge: are USEPA regulations protective? *J. of Environmental Quality*. (24) 5-18.
- McGrath, S.P., Chang, A.C., Page, A.L. y Witter, E. (1994). Land application of sewage sludge: scientific perspectives of heavy metal loading limits in Europe and the United States. *Environmental Review*. (2) 108-118.
- McKellar, R. C. y Knight, K. P. (1999). Growth and survival of various strains of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in hydrochloric and acetic acid. *Journal of Food Protection*. Vol. 62 No. 12, pp. 1466-1469.
- McKinney, R. E. (1962). *Microbiology for Sanitary Engineers*. McGraw-Hill. U.S.A.
- Metcalf & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*, McGraw-Hill, Estados Unidos. p. 425.
- Meunier, N., Tyagi. R.D. y Blais, J.F. (1996). Traitement acide pour la stabilisation des boues d'épuration. *Canadian Journal of Civil Engineering*. Vol. 23, 76-85.
- 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. P. Lowe y J. Hudson, Editors. Seminar 6, paper 46. Wakefield, United Kingdom.
- Minor, T.E. y Marth, E.H. (1972). Loss of viability by *Staphylococcus aureus* in acidified media I. Inactivation by several acids, mixtures of acids and salts of acids. *Journal of Milk and Food Technology*. Vol. 35, No. 4, pp. 191-196.
- Morris, R. (1993). Reduction of microbial levels in sewage effluents using chlorine and peracetic acid disinfectants. *Water Science and Technology*. Vol. 27, No. 3-4, 387-393.
- National Academy of Sciences (1995). Laboratory chemical safety summaries. Howard Hughes Medical Institute.
- Orozco, F. (1981). *Análisis Químico Cuantitativo*. Porrua (ed.), Mexico, pp. 228-235.
- Owen, R.R. (1984). The effectiveness of chemical disinfection on parasites in sludge. En *Sewage sludge stabilization and disinfection*. Bruce, A.M. Editor. Ellis Horwood Limited, pp. 426-439.
- Parkin, G.F., Owen, W.F., (1986). Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges, *Journal of Environmental Engineering (ASCE)*, Vol. 112, No. 5, pp.
- Parkin, G.F., y Owen, W.F., (1986). "Fundamentals of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludges", *Journal of Environmental Engineering (ASCE)*, Vol. 112, No. 5.
- Pedersen, D.C. (1983). Effectiveness of sludge treatment processes in reducing levels of bacteria, viruses and parasites. En: *Biological health risks of sludge disposal to land in cold climates*. P. M. Wallis y D. L. Lehman (Eds.). University of Calgary Press, Canada. Pp. 9-31.
- Pike, E.B, Carrington. E.G. y Harman, S.A. (1988). Destruction of *Salmonellas*, enteroviruses and ova of parasites in wastewater sludge by pasteurization and anaerobic digestion. *Wat. Sci. Tech.* 20(11/12), pp. 337-343.
- Reimers, R. S., Medonell, 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
- Reimers, R., Oleszkiewicz, J.A., Sheperd, S.L., Baker, R.M, y Fitzmorris, K.B. (2001). Advances in alkaline stabilization/disinfection of agricultural and municipal biosolids. *Proceedings of the IWA Specialised Conference on Sludge Management Entering the 3rd Millennium: Industrial, Combined, Water and Wastewater Residues*. Taipei, Taiwan. pp. 104-110.

- Rhoades, J.D. (1997). Sustainability of irrigation: an overview of salinity problems and control strategies. *Footprints of humanity: reflections on fifty years of water resource developments*. CWRA, Alberta, Canada.
- Roth, L.A. y Keenan, D. (1971). Acid injury of *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 17, No. 8. pp. 1005-1008.
- Ryu, J. H., Deng, Y. y Beuchat, L. R. (1999). Behaviour of acid-adapted and unadapted *Escherichia coli* O157:H7 when exposed to reduced pH achieved with various organic acids. *Journal of Food Protection*. Vol. 62, No. 5, pp. 451-455.
- Sánchez-Ruiz, C., Martínez, S. y Tejero, I. (1995). An evaluation of the efficiency and impact of raw wastewater disinfection with peracetic acid prior to ocean discharge. *Wat. Sci. Tech.* Vol. 32, No. 7, pp. 159-166.
- 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 micro-organisms in sewage sludge by stabilization processes*, (Strauch P., Havelaar A. H., L'Hermite P. Eds) Elsevier Applied Science, Hohenheim, pp. 100-113.
- 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.
- Solvay Intercox (1997). Hoja técnica del ácido peracético. Barcelona.
- Speece, R.E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*. Nashville, TN. Archae Press.
- SSA (2001). Boletín de Epidemiología. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. No. 2, Vol. 18, Semana 2, del 7 al 13 de enero del 2001. ISSN 1405-2636, Secretaría de Salubridad y Asistencia.
- Stien J.L. (1989). Oeufs d'helminthes et environnement: le modèle oeufs d'Ascaris. *Thèse Université de Metz, France*, 160 pp.
- Taherzadeh, M.J., Niklasson, C. y Lidén, G. (1997). Acetic acid- friend or foe in anaerobic conversion of glucose to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae*? *Chemical Engineering Science*, Vol. 52, No. 15, pp. 2653-2659.
- Tilche, A., Bortone, G. y Dohányos, M. (1999). Alternative waste water treatment processes to reduce sewage sludge production. En: *Workshop on problems around sludge*. Heinrich Langenkamp, Luca Marmo, (Eds.) European Commission Joint Research Centre, EUR 19657 EN. pp. 184-194.
- Wang, M. (1997). Land application of sewage sludge in China. *The Science of the Total Environment*, Elsevier Science. Vol. 197, pp. 149-160.
- Wang, M.C., Hull, J.Q., Dempsey, B.A. y Cornwell, D.A. (1992). Engineering behaviour of water treatment sludge. *J. Environmental Engineering*. ASCE. Vol. 118, No. 6, 848-864.
- Ward, K. A. y Fairbairn, D. (1972) Chitinase in developing eggs of *Ascaris suum* (Nematoda). *J. of Parasitology*. 58, 546-549.
- Watanabe, H., Tomokazu, K., Ochi, S. y Ozaki, M. (1997). Inactivation of pathogenic bacteria under mesophilic and thermophilic conditions. *Wat. Sci. and Tech.* Vol. 36, No. 6-7, pp. 25-32.
- WEF (1995). *Wastewater Residuals Stabilization. Manual of Practice FD-9*. Water Environment Federation, E. U. p. 120.
- Wortman, A.T., Voeltz, H., Lantz, C. y Bissonnette, G.K. (1986). Effect of acid mine water on *Escherichia coli*: structural damage. *Current Microbiology*, Vol. 14, pp. 1-5.
- WPCF (1988). *Sludge Conditioning, Manual of Practice FD-14*. Water Pollution Control Federation, E.U. p. 12.

- Wu, C.C., Huang, C. y Lee, D.J. (1997). Effects of polymer dosage on alum sludge dewatering characteristics and physical properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 122, pp. 89-96.

ANEXO I

Información técnica de los ácidos

ANEXO I. Información técnica de los ácidos empleados en la experimentación (Nacional Academy of Sciences, 1995).

Ácido	Fórmula	Presentación	Propiedades físicas			Toxicidad		Carcinogenicidad en humanos	Riesgos principales
			Punto de ebullición	Densidad	Olor	LD ₅₀ oral	LD ₅₀ en piel		
Acético	CH ₃ COOH	Líquido incoloro	118° C	1.049 g/cm ³	Fuerte y picante, detectable en 0.2 a 1.0 ppm	3310 mg/kg (ratas)	1060 mg/kg (conejos)	Ninguna demostrada	Corrosivo en piel y ojos; vapores muy irritantes y destructores en ojos, membranas mucosas y sistema respiratorio; su ingestión causa irritación interna y lesiones severas.
Peracético	CH ₃ COOOH	Líquido incoloro	105° C	1.13 g/cm ³	Fuerte y amargo	10 mg/kg (conejillo de Indias); 1540 mg/kg (ratas)	1410 mg/kg (conejos)	Ninguna demostrada	Explota al calentarse a 100° C; muy irritante en ojos, piel y membranas mucosas; puede formar mezclas explosivas con sustancias fácilmente oxidables.
Perclórico	HClO ₄	Líquido incoloro	203° C	1.50 g/cm ³	Inoloro	1100 mg/kg (ratas)	400 mg/kg (perros)	Ninguna demostrada	Altamente corrosivo en tejidos; reacciona violentamente con muchas sustancias oxidables; en su forma anhidra y ciertas sales es explosivo.
Sulfúrico	H ₂ SO ₄	Líquido incoloro	300-338° C	1.84 g/cm ³	Inoloro	2140 mg/kg (ratas)	ND	Ninguna demostrada	Altamente corrosivo; causa quemaduras en ojos y piel así como al inhalarlo; altamente reactivo, reacciona violentamente con muchas sustancias orgánicas e inorgánicas.

ND: Información no disponible.

ANEXO II
Norma Oficial Mexicana NOM-004-
SEMARNAT-2002
Diario Oficial de la Federación
15 de agosto de 2003.

**SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE
Y RECURSOS NATURALES****NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.**

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

**NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002, PROTECCION AMBIENTAL.-
LODOS Y BIOSOLIDOS.- ESPECIFICACIONES Y LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES DE
CONTAMINANTES PARA SU APROVECHAMIENTO Y DISPOSICION FINAL.**

CASSIO LUISELLI FERNANDEZ, Subsecretario de Fomento y Normatividad Ambiental de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, con fundamento en lo dispuesto en los artículos 32 Bis fracciones I, II, IV, V y 39 fracciones I, VIII y XXI de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4 de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 8 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; 5o. fracciones V y VI, 36, 37, 37 Bis, 119, 139 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; 5o. fracción VI y 6o. del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Impacto Ambiental; 38 fracción II, 40 fracciones I y X; 41, 43, 44 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28, 31 fracción II, 33 y 34 de su Reglamento, expide la siguiente Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final, y

CONSIDERANDO

Que en cumplimiento a lo establecido en la fracción I del artículo 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, con fecha 18 de febrero de 2002 se publicó en el **Diario Oficial de la Federación**, con carácter de proyecto la 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, con el fin de que dentro de los 60 días naturales siguientes a su publicación, los interesados presentaran sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, sito en bulevar Adolfo Ruiz Cortines número 4209, piso 5o., colonia Jardines en la Montaña, código postal 14210, Delegación Tlalpan, Distrito Federal o se enviaran al correo electrónico o al fax que para el efecto se señalaron. Durante el citado plazo, la Manifestación de Impacto Regulatorio correspondiente estuvo a disposición del público en general para su consulta en el citado domicilio, de conformidad con el artículo 47 fracción I del citado ordenamiento.

Que en el plazo de los 60 días antes señalado, los interesados presentaron sus comentarios al proyecto en cuestión, los cuales fueron analizados por el citado Comité, realizándose las modificaciones procedentes al mismo. La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales publicó las respuestas a los comentarios recibidos en el **Diario Oficial de la Federación** el día 18 de junio de 2003.

Que habiéndose cumplido con el procedimiento establecido en la Ley Federal sobre Metrología y Normalización el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, en sesión ordinaria de fecha 24 de septiembre de 2002, aprobó la Norma Oficial

Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental-Lodos y biosólidos - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Por lo expuesto y fundado se expide la siguiente:

**NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SEMARNAT-2002, PROTECCION
AMBIENTAL-LODOS Y BIOSOLIDOS-ESPECIFICACIONES Y LIMITES MAXIMOS
PERMISIBLES DE CONTAMINANTES PARA SU APROVECHAMIENTO Y
DISPOSICION FINAL**

INDICE

0. Introducción
1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias
3. Definiciones
4. Especificaciones
5. Muestreo y métodos de prueba
6. Evaluación de la conformidad
7. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales
8. Bibliografía
9. Observancia de esta Norma

Anexos

- I Opciones para la reducción de atracción de vectores
- II Método de muestreo de lodos y biosólidos
- III Método para la cuantificación de coliformes fecales en lodos y biosólidos
- IV Método para la cuantificación de *Salmonella spp.*, en lodos y biosólidos
- V Método para la cuantificación de huevos de helmintos en lodos y biosólidos
- VI Método para la cuantificación de metales pesados en biosólidos
- VII Contenido de la bitácora de control de lodos y biosólidos

0. Introducción

En las actividades de desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, así como en las correspondientes a la operación de las plantas potabilizadoras y de plantas de tratamiento de aguas residuales se generan volúmenes de lodos, que en caso de no darles una disposición final adecuada, contribuyen de manera importante a la contaminación de la atmósfera, de las aguas nacionales y de los suelos, afectando los ecosistemas del área donde se depositen.

Se ha considerado que los lodos por sus características propias o por las adquiridas después de un proceso de estabilización pueden ser susceptibles de aprovechamiento siempre y cuando cumplan con los límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la presente Norma Oficial Mexicana o, en su caso, se dispongan en forma definitiva como residuos no peligrosos; para atenuar sus efectos contaminantes para el medio ambiente y proteger a la población en general.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Objetivo

Esta Norma Oficial Mexicana establece las especificaciones y los límites máximos permisibles de contaminantes en los lodos y biosólidos provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de

aguas residuales, con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al medio ambiente y la salud humana.

1.2 Campo de aplicación

Es de observancia obligatoria para todas las personas físicas y morales que generen lodos y biosólidos provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

2. Referencias

Constancia de no peligrosidad de residuos, anteriormente trámite INE-04-007 modificada su homoclave el 29 de mayo de 2003, mediante el acuerdo por el que se dan a conocer todos los trámites y servicios inscritos en el Registro Federal de Trámites y Servicios que aplica la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, ahora procedimiento SEMARNAT-07-007.

NMX-B-231-1990, Cribas para la clasificación de materiales granulares, publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el 27 de diciembre de 1990.

3. Definiciones

Para efectos de la presente Norma Oficial Mexicana, se establecen las siguientes definiciones:

3.1 Aguas residuales

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas.

3.2 Almacenamiento

Acción de mantener en un sitio los lodos y biosólidos, hasta su aprovechamiento o disposición final.

3.3 Aprovechamiento

Es el uso de los biosólidos como mejoradores o acondicionadores de los suelos por su contenido de materia orgánica y nutrientes, o en cualquier actividad que represente un beneficio.

3.4 Atracción de vectores

Es la característica de los lodos y biosólidos para atraer vectores como roedores, moscas, mosquitos u otros organismos capaces de transportar agentes infecciosos.

3.5 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.

3.6 Coliformes fecales

Bacterias patógenas 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*.

3.7 Desazolve

La acción de extraer sólidos provenientes de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, no incluye los provenientes de las presas o vasos de regulación.

3.8 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.

3.9 Digestión anaerobia

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

3.10 Disposición final

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

3.11 Estabilización

Son los procesos físicos, químicos o biológicos a los que se someten los lodos para acondicionarlos para su aprovechamiento o disposición final para evitar o reducir sus efectos contaminantes al medio ambiente.

3.12 Estabilización alcalina

Es el proceso mediante el cual se añade suficiente 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.

3.13 Helminto

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.

3.14 Huevos de helmintos viables

Huevos de helmintos susceptibles de desarrollarse e infectar.

3.15 La Secretaría

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

3.16 Límite máximo permisible

Valor asignado a un parámetro, el cual no debe ser excedido por los lodos y biosólidos para que puedan ser dispuestos o aprovechados.

3.17 Lixiviado

Líquido proveniente de los lodos y biosólidos, el cual se forma por reacción o percolación y que contiene contaminantes disueltos o en suspensión.

3.18 Lodos

Son sólidos con un contenido variable de humedad, provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales, que no han sido sometidos a procesos de estabilización.

3.19 Mejoramiento de suelos

Es la aplicación de los biosólidos en terrenos para mejorar sus características físicas, químicas o microbiológicas.

3.20 Muestra

Parte representativa de un universo o población finita, obtenida para conocer sus características.

3.21 Parásito

Organismo animal o vegetal que vive sobre o dentro de un individuo de otra especie.

3.22 Patógeno

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

3.23 *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).

3.24 Sistema de alcantarillado urbano o municipal

Es el conjunto de obras y acciones que permiten la prestación de un servicio público de alcantarillado, incluyendo el saneamiento, entendiéndose como tal la conducción, tratamiento, alejamiento y descarga de las aguas residuales.

3.25 Sólidos Totales (ST)

Son los materiales residuales que permanecen en los lodos y biosólidos, que han sido deshidratados entre 103°C a 105°C, hasta alcanzar un peso constante y son equivalentes en base a peso seco.

3.26 Sólidos Volátiles (SV)

Son sólidos orgánicos totales presentes en los lodos y biosólidos, que se volatilizan cuando éstos se queman a 550°C en presencia de aire por un tiempo determinado.

3.27 Tasa Específica de Absorción de Oxígeno (TEAO)

Es la masa de oxígeno consumida por unidad de tiempo y por unidad de masa en peso seco de los sólidos totales de los lodos y biosólidos.

3.28 Terrenos con fines agrícolas

Son las superficies sobre las cuales se pueden cultivar productos agrícolas para consumo humano y animal, incluyendo los pastizales.

4. Especificaciones

4.1 Las personas físicas o morales interesadas en llevar a cabo el aprovechamiento o disposición final de los lodos y biosólidos a que se refiere esta Norma Oficial Mexicana, deberá de recabar la "constancia de no peligrosidad de los mismos" en términos del trámite SEMARNAT-07-007.

4.1.1 En el caso del proceso de estabilización alcalina, las muestras de lodos deben ser tomadas antes de ser sometidas a este proceso.

4.2 Los lodos y biosólidos que cumplan con lo establecido en la especificación 4.1, pueden ser manejados como residuos no peligrosos para su aprovechamiento o disposición final como se establece en la presente Norma Oficial Mexicana.

4.3 Para que los biosólidos puedan ser aprovechados, deben cumplir con la especificación 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 y 4.8; y lo establecido en las tablas 1, 2 y 3 de la presente Norma Oficial Mexicana.

4.4 Los generadores de biosólidos deben controlar la atracción de vectores, demostrando su efectividad. Para lo cual se pueden aplicar cualquiera de las opciones descritas, de manera enunciativa pero no limitativa, en el Anexo 1 u otras que el responsable demuestre que son útiles para ello. Se deben conservar los registros del control por lo menos durante los siguientes 5 (cinco) años posteriores a su generación.

4.5 Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana los biosólidos se clasifican en tipo: excelente y bueno en función de su contenido de metales pesados; y en clase: A, B y C en función de su contenido de patógenos y parásitos.

4.6 Los límites máximos permisibles de metales pesados se establecen en la tabla 1.

TABLA 1
LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES PARA METALES PESADOS EN BIOSOLIDOS

CONTAMINANTE (determinados en forma total)	EXCELENTES mg/kg en base seca	BUENOS mg/kg en base seca
Arsénico	41	75
Cadmio	39	85
Cromo	1 200	3 000
Cobre	1 500	4 300
Plomo	300	840
Mercurio	17	57
Níquel	420	420
Zinc	2 800	7 500

4.7 Los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en los lodos y biosólidos se establecen en la tabla 2.

TABLA 2
LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES PARA PATOGENOS Y PARASITOS EN LODOS Y BIOSOLIDOS

CLASE	INDICADOR BACTERIOLOGICO DE CONTAMINACION	PATOGENOS	PARASITOS
		Coliformes fecales NMP/g en base seca	<i>Salmonella spp.</i> NMP/g en base seca
A	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 1 ^(a)
B	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

^(a) Huevos de helmintos viables
NMP número más probable

4.8 El aprovechamiento de los biosólidos, se establece en función del tipo y clase, como se especifica en la tabla 3 y su contenido de humedad hasta el 85%.

TABLA 3
APROVECHAMIENTO DE BIOSOLIDOS

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

4.9 La aplicación de los biosólidos en terrenos con fines agrícolas y mejoramiento de suelos se sujetará a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Vegetal y conforme a la normatividad vigente en la materia.

4.10 Para la disposición final de los lodos y biosólidos, éstos deben cumplir con la especificación 4.1 y con los límites máximos permisibles para el contenido del indicador de contaminación, patógenos y parásitos especificados en la tabla 2, para clase C.

4.11 Los sitios para la disposición final de lodos y biosólidos, serán los que autorice la autoridad competente, conforme a la normatividad vigente en la materia.

4.12 Los lodos y biosólidos que cumplan con lo establecido en la presente Norma Oficial Mexicana, pueden ser almacenados hasta por un periodo de dos años. El predio en el que se almacenen debe ser habilitado para que no existan infiltraciones al subsuelo y contar con un sistema de recolección de lixiviados.

4.13 Se permite la mezcla de dos o más lotes de lodos o biosólidos, siempre y cuando ninguno de ellos esté clasificado como residuo peligroso y su mezcla resultante cumpla con lo establecido en la presente Norma Oficial Mexicana.

4.14 Muestreo y análisis de lodos y biosólidos

El generador de lodos y biosólidos por medio de laboratorios acreditados debe realizar los muestreos y análisis correspondientes para demostrar el cumplimiento de la presente Norma Oficial Mexicana y deberá conservar los registros por lo menos los siguientes 5 (cinco) años posteriores a su realización.

4.15 La frecuencia de muestreo y análisis para los lodos y biosólidos se realizará en función del volumen de lodos generados como se establece en la tabla 4.

**TABLA 4
FRECUENCIA DE MUESTREO Y ANALISIS PARA LODOS Y BIOSOLIDOS**

Volumen generado por año (Ton/Año) en base seca	Frecuencia de muestreo y análisis	Parámetros a determinar
Hasta 1,500	Una vez al año	Metales pesados, indicador bacteriológico de contaminación, patógenos y parásitos
Mayor de 1,500 hasta 15,000	Una vez por semestre	Metales pesados, indicador bacteriológico de contaminación, patógenos y parásitos
Mayor de 15,000	Una vez por trimestre	Metales pesados, indicador bacteriológico de contaminación, patógenos y parásitos

4.16 El generador podrá quedar exento de realizar el muestreo y análisis de alguno o varios de los parámetros establecidos en la presente Norma Oficial Mexicana, siempre y cuando la detección de éstos sea en cantidades menores que los límites máximos establecidos, o cuando por la procedencia de los lodos y biosólidos éstos no contengan los contaminantes regulados en la presente Norma Oficial Mexicana, en ambos casos , deberá manifestarlo ante la Secretaría por escrito y bajo protesta de decir verdad. La autoridad se reserva el derecho de verificar dicha información.

4.17 El generador deberá contar con una bitácora de control de lodos y biosólidos, de acuerdo a lo establecido en el Anexo VII.

5. Muestreo y métodos de prueba

Para el muestreo y determinación de los valores y concentraciones de los parámetros establecidos en esta Norma, se deberán aplicar los métodos de prueba establecidos en los anexos II, III, IV, V y VI de la presente Norma Oficial Mexicana.

6. Evaluación de la conformidad

La evaluación de la conformidad de la presente Norma Oficial Mexicana se realizará a petición de parte, de conformidad a lo dispuesto por la Ley Federal sobre Metrología y Normalización y su Reglamento.

El procedimiento de verificación se realizará por la PROFEPA o por las unidades de verificación y laboratorios acreditados y aprobados para llevar a cabo la verificación. En caso de que existan unidades de verificación acreditadas para la presente Norma, la verificación se realizará exclusivamente a través de las mismas.

7. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no concuerda con ninguna norma o lineamiento internacional, tampoco existen normas mexicanas que hayan servido de base para su elaboración.

8. Bibliografía

- 8.1** A Guide to the Biosolids Risk Assessments for the EPA Part 503 Rule. EPA 832-B-93-005. Environmental Protection Agency USA. September 1995. (Guía para la evaluación de riesgos en los biosólidos por la EPA. Parte 503, Reglamento EPA 832-B-93-005.- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América. Septiembre 1995).
- 8.2** A Plain English Guide to the EPA Part 503 Biosolids Rule. EPA/832/R-93/003. Environmental Protection Agency USA. September 1994. (Guía sencilla de la EPA. Parte 503 Biosólidos Reglamento EPA/832/R-93/003.- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América. Septiembre 1994).
- 8.3** APHA, AWWA, WPCF. 1992 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Ed. American Public Health Association. Washington, D.C. (Métodos establecidos para el análisis de agua y agua residual. 18ava. Edición. Asociación Americana de Salud Pública. Washington, D.C.).
- 8.4** Biosolids Treatment and Management. Processes for Beneficial Use. Marcel Dekker, Inc. 1996. (Tratamiento y Manejo de los Biosólidos.- Procesos para Uso Benéfico.- Marcel Dekker, Inc. 1996).
- 8.5** Campos, R., Maya, C. y Jiménez, B. "Estabilización Térmica Alcalina de Lodos Químicos con un Alto Contenido de Microorganismos Patógenos". XIX Encuentro Nacional AMIDIQ, Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A.C. Memorias pp. 365-366, Ixtapa-Zihuatanejo, Gro., del 13 al 15 de mayo de 1998.
- 8.6** Environmental Regulations and Technology. Use And Disposal Of Municipal Wastewater Sludge. EPA/625/10-84-003. Environmental Protection Agency USA. September 1984. (Tecnologías y Regulaciones Ambientales.- Uso y disposición de lodos de aguas municipales. EPA 625/10-84-003. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América. Septiembre 1984).
- 8.7** Environmental Regulations and Technology. Control of Pathogens in Municipal Wastewater Sludge. EPA/625/10-89/006. Environmental Protection Agency USA. September 1989. (Tecnologías y Regulaciones Ambientales.- Control de Patógenos en lodos de aguas municipales. EPA/625/10-89/006. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América. Septiembre 1989).
- 8.8** Fundamento técnico para la elaboración de la Norma Oficial Mexicana en materia de estabilización, manejo y aprovechamiento de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas municipales e industriales. Instituto de Ingeniería de la UNAM. 1997.
- 8.9** Geochemistry, Groundwater and Pollution. C.A.J. Appelo y D. Postma.- A.A. Balkema/Rotterdam/Brookfield/1996. (Geoquímica, aguas subterráneas y contaminación. C.A.J. Appelo y D. Postma.- A.A. Balkema/ Rotterdam/ Brookfield/ 1996).
- 8.10** Goepfert, J., Olson, N. and Marth, E., 1968. Behavior of *Salmonella typhimurium* During Manufacture and Curing of Cheddar Cheese. Applied Microbiology. 16: 862-866. (Comportamiento de la *Salmonella typhimurium* durante el procesamiento y curado del queso Cheddar. Microbiología aplicada 16: 862-866).
- 8.11** Ground Water, Quality Protection. Larry W. Canter, Robert C. Knox y Deborah M. Fairchild. Lewis Publishers, Inc. 198 (Aguas subterráneas, características de protección.- Larry W. Canter, Robert C. Knox y Deborah M. Fairchild. Lewis Publishers, Inc. 1987).
- 8.12** Guía para el manejo, tratamiento y aprovechamiento de lodos residuales de plantas de tratamiento municipales. Comisión Nacional del Agua. SGIHUI. 1994.

- 8.13** Guía para el manejo, estabilización y disposición de lodos químicos. Tema Potabilización. Comisión Nacional del Agua. SGIHUI. 1994.
- 8.14** Jawetz, E., Melnick, J. y Adelberg, E., 1995. Microbiología Médica. Ed. Manual Moderno. México. pp. 803.
- 8.15** Jiménez B., Barrios, J.A. and Maya, C. 1999. Class B Biosolids Production from Wastewater Sludge with High Pathogenic Content Generated in an Advanced Primary Treatment. Disposal and Utilisation of Sewage Sludge: Treatment Methods and Application Modalities. Water Resources, Hydraulics and Maritime Engineering NTUA. Athens, Greece 13-15 October 1999 (Producción de biosólidos clase "B" de los lodos de aguas residuales con alto contenido patógeno generados en un tratamiento primario avanzado. Disposición y utilización de lodos residuales. Métodos de tratamiento y técnicas de aplicación. Recursos de agua, ingeniería marítima e hidráulica NTUA. Atenas, Grecia, 13-15 octubre 1999).
- 8.16** Jiménez C.B., Muñoz C.A. M. y Barrios Pérez, J. A., 1997. Fundamento Técnico para la Elaboración de la Norma Oficial Mexicana en Materia de Estabilización, Manejo y Aprovechamiento de Lodos Provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Municipales e Industriales. Elaborado para la Comisión Nacional del Agua (CNA) por el Instituto de Ingeniería, UNAM. Proyecto 8313, pp. 107 (diciembre, 1997).
- 8.17** Jiménez, B., Chávez, A., Barrios, J.A., Maya, C. y Salgado, G., 1998. Manual "Curso: Determinación y Cuantificación de Huevos de Helminto Norma Mexicana NMX-AA-113-SCFI/992". Grupo Tratamiento y Reuso, Instituto de Ingeniería UNAM. pp. 160,
- 8.18** Jiménez, B., Maya, C. y Pulido, M., 1996. Evaluación de las Diversas Técnicas para la Detección de los Huevos de Helminto, y Selección de una para Conformar la NMX Correspondiente. Instituto de Ingeniería, UNAM. México. pp. 52.
- 8.19** Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. 1996.
- 8.20** Manual of good practice for utilization of sewage sludge in agriculture. 2nd. Revision october 1991. Anglian Water. (Manual de buenas prácticas para la utilización de lodos residuales en la Agricultura.- 2a. Revisión octubre 1991. Agua).
- 8.21** Miller, V. And Banwart, G., 1965. Effect of Various Concentration of Brilliant Green and Bile Salts on Salmonellae and Other Microorganisms. Applied Microbiology. 13: 77-80. (Efecto de varias concentraciones de sales de verde brillante y biliar en la *Salmonella* y otros microorganismos. Microbiología aplicada. 13: 77-80).
- 8.22** Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL/1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. (Diario Oficial de la Federación 6 de enero de 1997).
- 8.23** Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI/1993, Sistema General de Unidades de Medida. (Diario Oficial de la Federación 14 de octubre de 1993).
- 8.24** Norma Oficial Mexicana NMX-AA-015-1985, Protección al Ambiente-Contaminación del Suelo-Residuos Sólidos Municipales -Muestreo-Método de Cuarteo-Environmental Protection-Soil Pollution-Municipal Solid Residues -Sampling-Quarter Method (Diario Oficial de la Federación 18 de marzo de 1985).
- 8.25** Norma Mexicana NMX-AA-113-SCFI/1999. Análisis de Agua.- Determinación de Huevos de Helminto. Método de Prueba. (Diario Oficial de la Federación 5 de agosto de 1999).
- 8.26** Reglamento de lodos de clarificación. Alemania. 15 de abril de 1992.
- 8.27** Reglamentación de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (U.S.E.P.A.) para el Uso o Aplicación de Lodos de Drenaje, Parte 503 del 40 CFR, publicada en el Federal Registry el 19 de febrero de 1993.
- 8.28** Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en materia de Residuos Peligrosos. (Diario Oficial de la Federación 25 de noviembre de 1988).

- 8.29** Santos Mendoza, Salvador. "Estabilización con Cal de Lodos de la Planta Piloto del Tratamiento Primario Avanzado". Ingeniería Ambiental, DEPMI- UNAM. 15 de junio de 1998. Tesis de Maestría.
- 8.30** Santos M., S., Campos M., R. y Jiménez C., B. "Una Opción de Manejo para el Lodo Generado al Tratar el Agua Residual del Gran Canal de la Ciudad de México. 1er. Simposio Latinoamericano de Tratamiento y Reuso del Agua y Residuos Industriales. Memorias Tomo I, pp. 28-1-28-10, del 25 al 29 de mayo de 1998, México, D.F.
- 8.31** Satchwell, G.M., 1986. An Adaptation of Concentration Techniques for the Enumeration of Parasitic Helminth Eggs from Sewage Sludge (Adaptación de la Técnica de Concentración para la Enumeración de Huevos de Helmintos Parásitos Provenientes de Lodos Residuales). *Water Res.* 20: 813-816.
- 8.32** Schaffner, C., Mosbach K., Bibit V. and Watson C., 1967. Coconut and *Salmonella* Infection. *Applied Microbiology.* 15: 471-475. (Infección de la *Salmonella* y coco. Microbiología aplicada. 15: 471-475).
- 8.33** Shifflett M., Lee J. and Sinnhuber, R., 1967. Effect of Food Additives and Irradiation on Survival of *Salmonella* in Oysters. *Applied Microbiology.* 15: 476-479. (Efecto de aditivos alimenticios e irradiación en la supervivencia de la *Salmonella* en ostras. Microbiología aplicada. 15: 476-479).
- 8.34** Silliker, J. Deibel, R. and Chiu, J., 1964. Occurrence of Gram-Positive Organisms Possessing Characteristics Similar to Those of *Salmonella* and the Practical Problem of Rapid and Definitive *Salmonella* Identification. *Applied Microbiology.* 12: 395-399. (Aparición de organismos Gram positivos, poseyendo características similares a la *Salmonella*, y el problema práctico de identificación rápida y definitiva de *Salmonella*. Microbiología aplicada. 12: 395-399).
- 8.35** Silliker, J., Deibel, R. and Fagan, P., 1964. Isolation of *Salmonella* from Food Samples: VI Comparison of Methods for the Isolation of *Salmonella* from Egg Products. *Applied Microbiology.* 12: 224- 228. (Aislamiento de la *Salmonella* de muestras alimenticias: VI. Comparación de métodos para el aislamiento de la *Salmonella* desde productos de huevo. Microbiología aplicada. 12: 224-228).
- 8.36** Sludge Management & Disposal. For The Practicing Engineer. P.A. Vesilind, G.C., Hartman y E.T., Skene. Lewis Publishers, Inc. 1986. (Manejo y disposición de lodos. Para Ingenieros Profesionales. P.A. Vesilind, G.C. Hartman y E.T., Skene. Lewis Publishers, Inc. 1986).
- 8.37** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th. Edition. American Public Health Association. American Water Works Association. Water Environment Federation. 1995. (Métodos Estándar para la examinación del agua y aguas residuales, 19th. Edición Asociación Americana de salud pública. Asociación Americana de aguas tratadas. Federación Ambiental del Agua 1995).
- 8.38** Sludge Stabilization. Manual of Practice FD-9. Facilities Development. Water Environment Federation 1993. (Estabilización de lodos. Manual de prácticas FD-9. Facilidades de Desarrollo. Federación Ambiental del Agua 1993).
- 8.39** Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge; Final Rules. 40 CFR Parts 257, 403 and 503. Environmental Protection Agency. USA. Federal Register Friday February 19, 1993. (Estándares para el Uso o Disposición de lodos residuales, Reglamento 40 CFR Parte 257, 403 y 503. Agencia de Protección Ambiental de EUA. Registro Federal 19 de febrero de 1993).
- 8.40** Sludge Conditioning. Manual of Practice FD-14. Water Pollution Control Federation. 1988. Alexandria, VA. (Manual de prácticas de acondicionamiento de lodos FD-14. Federación para el control de la contaminación en el agua. 1988.) y Alejandria, V. A.
- 8.41** Stuart, P. and Pivnick, H., 1965. Isolation of *Salmonellae* by Selective Motility Systems *Applied Microbiology* 13: 365-372 (Aislamiento de la *Salmonella* por selectos sistemas de motilidad. Microbiología aplicada 13: 365-372).

8.42 Taylor, W., Betty, C. and Muriel, E., 1964. Comparison of Two Methods for Isolation of *Salmonella* from Imported Foods. Applied Microbiology 12: 53-56. (Comparación de dos métodos para el aislamiento de *Salmonella* de alimentos importados. Microbiología aplicada. 12: 53-56).

8.43 US EPA 1994, Land Application of Sewage Sludge: A Guide for Land Applicers on the Requirements of the Federal Standards for the Use of Disposal of Sewage Sludge, 40 CFR Part 503. Water Environment Federation. USA. pp. 62. (Aplicación de lodos residuales al suelo: una Guía para aplicadores al suelo en los requerimientos de las normas federales para el uso y disposición de lodos residuales. 40 CFR Parte 503. Federación Ambiental del Agua. EUA. pp. 62).

8.44 US EPA/625/R92/013 1992, Environmental Regulation and Technology, Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge pp. 152. (Tecnología y Regulación Ambiental. Control de patógenos y atracción de vectores en lodos residuales).

9. Observancia de esta Norma

9.1 La vigilancia del cumplimiento de la presente Norma Oficial Mexicana corresponde a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, por conducto de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, así como a los gobiernos estatales, municipales y del Distrito Federal, en el ámbito de sus respectivas competencias. Las violaciones a la misma se sancionarán en los términos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, sus reglamentos y demás ordenamientos jurídicos aplicables. La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, por conducto de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, así como los gobiernos estatales, municipales y del Distrito Federal, en el ámbito de su respectiva competencia, llevarán a cabo de manera periódica o aleatoria los muestreos y análisis de los lodos y biosólidos, con objeto de verificar el cumplimiento de los límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la presente Norma Oficial Mexicana.

TRANSITORIOS

PRIMERO.- La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los 60 días posteriores al de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

SEGUNDO.- Con fundamento en lo dispuesto en el artículo 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, provéase la publicación de este proyecto en el **Diario Oficial de la Federación**.

México, Distrito Federal, a los quince días del mes de abril de dos mil tres.- El Subsecretario de Fomento y Normatividad Ambiental de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, y Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, **Cassio Luiselli Fernández**.-
Rúbrica.

ANEXO I

OPCIONES PARA LA REDUCCIÓN DE ATRACCIÓN DE VECTORES

Los responsables podrán aplicar cualquiera de las siguientes opciones para el control de atracción de vectores o cualquier otra que se demuestre que es efectiva.

Opción 1: Reducción en el contenido de sólidos volátiles

La atracción de vectores se reduce si la masa de sólidos volátiles en los biosólidos es reducida por lo menos un 38% durante su tratamiento. Este porcentaje es equivalente al conseguido mediante digestión aeróbica o anaeróbica más alguna reducción adicional que ocurra después de que los

biosólidos salen de las instalaciones de estabilización, tales como el procesamiento en lechos de secado o lagunas o mediante el composteo.

Opción 2: Digestión adicional de los biosólidos digeridos anaeróbicamente

Frecuentemente, los biosólidos han sido reciclados a través del tratamiento biológico de las aguas residuales o han transitado durante largos periodos por los sistemas de alcantarillado. Durante este tiempo, sufren una degradación biológica sustancial. Si los biosólidos son subsecuentemente tratados mediante digestión anaerobia, su atracción de vectores será reducida adecuadamente. Debido a que ingresan al digestor parcialmente estabilizados, la reducción de sólidos volátiles después del tratamiento frecuentemente es menor de 38%. Bajo estas circunstancias, pudiera no ser factible la reducción de 38% requerida en la opción 1. La opción 2 permite al operador demostrar la reducción de atracción de vectores probando una porción de los biosólidos previamente digeridos en una unidad a escala de laboratorio. Se demuestra la reducción, si después de la digestión anaerobia de los biosólidos por 40 días adicionales, a una temperatura entre 30°C y 37°C, la reducción de los sólidos volátiles en los biosólidos es menor de 17%.

Opción 3: Digestión adicional de los biosólidos digeridos aeróbicamente

Esta opción es apropiada para los biosólidos digeridos aeróbicamente que no pueden cumplir con la opción 1, incluye a aquellos producidos por plantas de aireación extendida donde el tiempo mínimo de residencia para los biosólidos en el tren de aguas generalmente excede de 20 días. En estos casos, los biosólidos ya estarán sustancialmente degradados antes de la digestión aerobia. Bajo esta opción, se considera que los biosólidos digeridos aeróbicamente con 2% de sólidos o menos, han logrado la reducción de atracción de vectores si después de 30 días de digestión aerobia en una prueba de laboratorio a 20°C, la reducción de los sólidos volátiles es menor de 15%. Esta prueba solamente es aplicable a los biosólidos líquidos digeridos aeróbicamente.

Opción 4: Procesos aerobios a más de 40oC

Esta opción se aplica primordialmente a los biosólidos composteados que también contienen agentes abultadores orgánicos parcialmente descompuestos. Los biosólidos deben ser tratados aeróbicamente por 14 días o más, tiempo durante el cual la temperatura deberá rebasar siempre los 40°C y el promedio será mayor de 45°C. Esta opción pudiera aplicarse a otros procesos aeróbicos, tales como la digestión aeróbica, sin embargo, las opciones 3 y 4 parecen más fáciles de cumplir para los otros procesos aeróbicos.

Opción 5: Adición de materia alcalina

Se considera que los biosólidos reducen adecuadamente su atracción de vectores si se adiciona suficiente materia alcalina para lograr lo siguiente:

- ¿ Elevar el pH por lo menos hasta 12, medido a 25°C, y sin añadir más materia alcalina, mantenerlo por 2 horas , y
- ¿ Mantener un pH de al menos 11,5 sin la adición de más materia alcalina durante otras 22 horas.

Estas condiciones tienen la intención de asegurar que los biosólidos puedan ser almacenados por lo menos durante varios días en las instalaciones de tratamiento, transportados y posteriormente aplicados sin que el pH descienda a niveles en los que ocurre la putrefacción y se atraen vectores.

Opción 6: Reducción en la humedad de biosólidos que no contienen sólidos sin estabilizar

Se considera que la atracción de vectores se reduce si los biosólidos no contienen sólidos sin estabilizar generados durante el tratamiento primario y su contenido de sólidos es por lo menos del 75% antes de ser mezclados con otros materiales. Por consiguiente, la reducción debe lograrse removiendo agua y no mediante la adición de materiales inertes. Es importante que los biosólidos

no contengan sólidos sin estabilizar porque los desechos de comida parcialmente degradados que seguramente existen en tales biosólidos atraerán a pájaros, algunos mamíferos y posiblemente a insectos aun si el contenido de sólidos es mayor del 75%.

Opción 7: Reducción en la humedad de biosólidos que contienen sólidos no estabilizados

Se considera que la habilidad para atraer vectores de cualesquier biosólido se reduce adecuadamente si su contenido de sólidos se incrementa al 90% o más sin importar si se trata de biosólidos provenientes del tratamiento primario. El incremento debe conseguirse removiendo agua y no mediante la dilución con sólidos inertes. El secado hasta este punto limita severamente la actividad biológica y destroza o descompone los compuestos volátiles que atraen vectores. La manera en que se manejan los biosólidos secos, incluyendo su almacenamiento antes de la aplicación puede propiciar la atracción de vectores. Si éstos se exponen a una humedad alta, la superficie exterior tendrá un alto contenido de humedad y posiblemente atraerá vectores. Esto debe ser prevenido adecuadamente.

Opción 8: Tasa específica de absorción de oxígeno (TEAO) para biosólidos digeridos aeróbicamente

Frecuentemente, los biosólidos digeridos aeróbicamente son circulados a través de los procesos biológicos de tratamiento aeróbico de las aguas residuales hasta por 30 días. En estos casos, los biosólidos que entran al digestor aeróbico ya están parcialmente digeridos, lo cual dificulta cumplir con la Opción 1. La Tasa Específica de Absorción de Oxígeno (TEAO) es la masa de oxígeno consumida por unidad de tiempo y por unidad de masa en peso seco de los sólidos totales de los biosólidos. La reducción en la atracción de vectores puede demostrarse si la TEAO de los biosólidos que son aplicados, determinada a 20°C, es igual o menor de 1,5 mg de O₂/h/g de sólidos totales (peso seco). Esta prueba se basa en el hecho de que, si los biosólidos consumen muy poco oxígeno, su valor como fuente alimenticia para los microorganismos es muy baja como para atraerlos. Se pueden utilizar otras temperaturas para la prueba si los resultados se corrigen sobre la base de 20°C. Esta prueba solamente es aplicable a los biosólidos aeróbicos.

Opción 9: Incorporación de biosólidos al suelo

Los biosólidos deben ser incorporados al suelo dentro de las 6 horas posteriores a su aplicación sobre el terreno. La incorporación se consigue arando o mediante algún otro método que mezcle los biosólidos con el suelo. Si los biosólidos son Clase A con respecto a patógenos, el tiempo entre la aplicación y el procesado no debe exceder de 8 horas.

ANEXO II

MÉTODOS DE MUESTREO DE LODOS Y BIOSÓLIDOS

Consiste en obtener una porción del volumen generado, la cual debe conservar la integridad de todos sus constituyentes desde el momento en que es tomada la muestra (parte representativa de un universo o población finita obtenida para conocer sus características) y hasta el final de su análisis o determinación en el laboratorio. El tiempo en que éstas permanecen estables dependerá de sus características y método de preservación utilizado. El muestreo constituye una parte integral y fundamental para evaluar la calidad de los lodos y biosólidos, para su depósito final. El tamaño y número de muestras dependen de las fuentes generadoras, así como de los procesos utilizados para su estabilización. Es importante considerar la selección del sitio de muestreo, la homogeneidad y representatividad de la muestra, el grado de degradación, el volumen, tipo de análisis y la accesibilidad al sitio seleccionado para el muestreo.

1. Método

Obtener muestras representativas de lodos y biosólidos para determinar su contenido de Coliformes

fecales, *Salmonella* spp., huevos de helmintos, tasa específica de absorción de oxígeno, contenido de sólidos totales y sólidos volátiles, arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc.

1.1 Equipo y materiales

Sólo se relacionan los equipos y materiales que son de relevancia para el presente método.

1.1.1 Equipo.

1.1.1.1 Báscula con capacidad mínima de 100 kg y precisión de 10 g.

1.1.1.2 Báscula con capacidad mínima de 10 kg y precisión de 1 g.

1.1.1.3 Criba M 2.00 según Norma Mexicana NMX-B-231-1990.

1.1.2 Materiales.

1.1.2.1 Bieldos.

1.1.2.2 Bolsas de polietileno de 0,70 m x 0,50 m y calibre mínimo del No. 200.

1.1.2.3 Bolsas de polietileno de 1,10 m x 0,90 m y calibre mínimo del No. 200.

1.1.2.4 Botas de hule.

1.1.2.5 Brocha de tamaño adecuado para la limpieza.

1.1.2.6 Cascos de seguridad.

1.1.2.7 Escobas.

1.1.2.8 Guantes de carnaza.

1.1.2.9 Ligas de hule de 1,5 mm de ancho.

1.1.2.10 Marcadores de tinta permanente, preferentemente color negro.

1.1.2.11 Mascarillas protectoras.

1.1.2.12 Overoles.

1.1.2.13 Papelería y varios (formatos de muestreo, lápices, gomas y otros).

1.1.2.14 Papelería y varios (informe de campo, marcadores, ligas, etc.).

1.1.2.15 Palas curvas.

1.1.2.16 Recogedores.

1.1.2.17 Tablas de inventario, tamaño carta u oficio.

1.1.2.18 Tambos metálicos de forma cilíndrica, con capacidad de 20 L.

1.1.2.19 Bolsas de polietileno estéril sin pastilla de tiosulfato o recipientes de polietileno o propileno inerte, de boca ancha y con tapa y cierre hermético, de 500 ml de capacidad y susceptibles de ser esterilizados en autoclave, para coliformes fecales.

1.1.2.20 Recipientes de polietileno o propileno inerte o de vidrio, de boca ancha y con tapa y cierre hermético, de 50 ml, para metales.

1.1.2.21 Recipientes de polietileno o propileno inerte, de boca ancha y con tapa y cierre hermético, de 500 ml de capacidad, para huevos de helmintos, sólidos y TEAO.

2. Tipos de lodos

2.1. Muestras líquidas o semisólidas

Colectar la muestra directamente del vertedor en un recipiente de plástico de 20 L, hasta obtener el doble del volumen por utilizar para cada uno de los análisis por realizar, como mínimo.

2.1.1 Tuberías

Colectar la muestra directamente de la tubería a través del grifo de purga que presente un diámetro interno mínimo de 3,8 cm.

2.1.2 Canales

Colectar la muestra en el vertedor o en otro punto donde el lodo esté bien mezclado.

2.1.3 Digestores

Colectar la muestra de un tanque mezclado que es alimentado a través de líneas provenientes de diferentes niveles en el digestor. Antes del muestreo asegurarse de eliminar el lodo acumulado previamente en las líneas.

2.1.4 Tanques

Mezclar completamente el tanque y coleccionar varias muestras a diferentes profundidades y puntos. Juntar todas las muestras en una sola antes de realizar el análisis.

2.1.5 Lodos de sitios específicos en plantas de tratamiento

Los siguientes puntos de muestreo se recomiendan para el muestreo de lodo en plantas de tratamiento de agua residual.

2.1.6 Lodo primario

Conducir el lodo desde el tanque de estabilización hasta el cárcamo antes del bombeo, mezclar perfectamente y coleccionar una muestra representativa en este punto. Alternativamente coleccionar muestras de la bomba de lodos y de las tuberías, cercanas a éstas.

2.1.7 Lodo activado

Colectar muestras en:

- a) cárcamo de bombeo
- b) de la bomba o tubería adyacente
- c) del punto de descarga de los lodos de retorno al afluente primario

El punto de muestreo se debe localizar en una región de buena agitación para la suspensión de sólidos.

2.1.8 Lodo digerido

Colectar muestras en la tubería de descarga del digestor al equipo o lechos de secado.

2.1.9 Lodos del lecho de secado

Colectar muestras del mismo tamaño en diferentes puntos del lecho sin incluir arena. Mezclar totalmente.

2.1.10 Lodo filtrado

Colectar porciones del mismo tamaño (utilizar cortadores de galletas) en la descarga del filtro.

2.1.11 Azolves

Para el caso de los azolves, aplica cuando ha sido extraída una muestra representativa de la zona donde se encuentran depositados.

2.2 Muestras sólidas

Para conformar las muestras se usa el método del cuarteo. Para eso:

Se toman de 4 a 8 bolsas de polietileno de 0,70 m x 0,50 m o 1,10 m x 0,90 m, se selecciona al azar el mismo número de sitios diferentes. Posteriormente, se llena cada una de las bolsas con el material de cada sitio y se trasladan a un área plana horizontal de aproximadamente 4 m x 4 m, preferentemente de cemento pulido o similar y bajo techo y se deposita su contenido en montículo.

Traspalcar el material con pala o biello, para obtener una mezcla homogénea. A continuación, dividir en cuatro partes aproximadamente iguales A, B, C y D y eliminar las partes opuestas A y C o B y D. Repetir esta operación hasta dejar 10 kg aproximadamente de lodo o biosólido. La pila resultante sirve para determinar en el laboratorio el contenido de Coliformes fecales, *Salmonella* spp., huevos de helmintos, contenido de sólidos totales y sólidos volátiles, arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc. El material restante se usa para determinar el peso volumétrico de los lodos *in situ*, conforme al punto 8.

Trasladar la muestra al laboratorio en bolsas de polietileno debidamente selladas e identificadas (véase marcado). Evitar que queden expuestas al sol durante su transporte, además tener cuidado en el manejo de la bolsa que contiene la muestra para que no sufra ninguna ruptura. El tiempo máximo de transporte de la muestra al laboratorio, no debe exceder de 8 horas.

3. Preparación de la muestra

La secuencia del muestreo por parámetro se debe realizar conforme con lo descrito en los puntos correspondientes con el propósito de minimizar sesgos en los resultados.

4. Recipientes para cada parámetro

A la muestra, antes de ser procesada, se le determinará el contenido de sólidos totales en por ciento en peso, para el caso del TEAO el contenido de éstos deberá ser menor o igual al 2%.

4.1 Coliformes fecales y *Salmonella* spp.

Los recipientes de polietileno o polipropileno inerte de 500 ml de capacidad, antes del muestreo deben ser esterilizados preferentemente en autoclave. Posteriormente, se deposita la muestra que corresponda a 4 g de sólidos totales. Etiquetarlo y mantenerlo en refrigeración hasta su análisis.

4.2 Huevos de helmintos, Sólidos totales y Sólidos volátiles y TEAO

Los recipientes de polietileno o polipropileno inerte de 500 ml de capacidad, antes de la toma de muestra deben ser enjuagados primero con agua potable a chorro y luego con agua destilada. Para el caso de huevos de helmintos, se toma el peso en fresco que corresponda a 2 g de sólidos totales. Para el caso de sólidos totales y volátiles y TEAO se llenan los recipientes hasta un 75% de su capacidad total, se cierran, etiquetan y mantienen en refrigeración, hasta su análisis, excepto para TEAO que se mantiene a temperatura ambiente.

4.3 Compuestos inorgánicos: arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo y zinc

El recipiente de polietileno o polipropileno inerte de vidrio de 50 ml de capacidad, antes de la toma de muestra se debe enjuagar primero con agua potable a chorro y luego destilada. Posteriormente, se deposita la muestra hasta el total de la capacidad, se cierra, se etiqueta y se mantiene en refrigeración hasta su análisis.

4.4 Preservación y almacenamiento de la muestra

La preservación y tiempo máximo para el análisis de cada uno de los parámetros es la siguiente:

PARAMETROS	PRESERVACION *	TIEMPO MAXIMO DE ANALISIS
Coliformes fecales y <i>Salmonella</i> spp.	4°C	48 horas
Huevos de helmintos	4°C	30 días
Arsénico, cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo y zinc	4°C	180 días
Mercurio	4°C	13 días a (plástico) 38 días b (vidrio)
Sólidos totales	4°C	24 horas
Sólidos volátiles	4°C	24 horas
Tasa específica de absorción de oxígeno **	No requiere	Inmediato

*A partir de su toma y hasta antes de iniciar el análisis, la muestra debe mantenerse en refrigeración.

**Si la muestra es tomada en el laboratorio, debe mantenerse la temperatura constante o ambiente durante el transporte y analizarla inmediatamente.

5. Control de calidad

El programa de muestreo debe operar un sistema control de la calidad.

5.1 El responsable del muestreo debe mantener los registros de los nombres y títulos de los técnicos que realizaron el muestreo y el del encargado de control de calidad que verificó los mismos y las bitácoras o formatos en los que se contengan cuando menos la siguiente información:

- a) Identificación de la muestra.
- b) Cantidad de muestra utilizada.
- c) Tipo de muestra.
- d) Tipo de análisis a realizar.
- e) Además, debe mantener la información original reportada por el personal técnico que intervino en el muestreo, traslado y recepción de las muestras, así como de la información complementaria.

6. Etiquetado

La muestra se identifica con una etiqueta, la cual debe contener la siguiente información:

- Localidad, Municipio y Estado.
- Fecha y hora del cuarteo.
- Condiciones climatológicas.
- Cantidad de lodos tomados para el cuarteo, en kg.
- Cantidad de lodos obtenidos para la selección en subproductos, en kg.
- Datos del responsable del cuarteo.
- Observaciones .

7. Cálculos

7.1 Para determinar el peso volumétrico del lodo se utilizan recipientes limpios, sin abolladuras. La báscula empleada deberá estar nivelada.

7.2 A continuación se pesa el recipiente vacío, tomando este peso como la tara del recipiente. Se llena hasta el tope con el lodo homogeneizado obtenido de las partes eliminadas del primer cuarteo (descrito anteriormente).

7.3 El recipiente se golpea contra el suelo tres veces dejándolo caer desde una altura de 10 cm. Llenar hasta el tope teniendo cuidado de no presionar al colocarlo en el recipiente; esto con el fin de no alterar el peso volumétrico que se pretende determinar.

7.4 Es importante vaciar dentro del recipiente todo el material, sin descartar los finos. Para obtener el peso neto del lodo, se pesa el recipiente con éstos y se resta el valor de la tara. Cuando no se tenga suficiente cantidad de material para llenar el recipiente se marca en éste la altura alcanzada y se determina dicho volumen.

El peso volumétrico del lodo se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$P_v = P/V \quad (1)$$

donde:

P_v: Peso volumétrico del lodo, en kg/m³

P: Peso del lodo (peso bruto menos tara), en kg

V: Volumen del recipiente, en m³

8. Interferencias

Colectar las muestras en el momento cuando el parámetro a analizar es inestable, por ejemplo la Tasa Específica de Absorción de Oxígeno (TEAO), o cuando se requiere realizar lo antes posible el análisis (por ejemplo el análisis microbiológico).

ANEXO III

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE COLIFORMES FECALES EN LODOS Y BIOSOLIDOS

El presente método establece la técnica para llevar a cabo la cuantificación del grupo coliformes fecales en lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad y la eficiencia de los diferentes tratamientos, y es aplicable para la evaluación de la calidad de lodos y biosólidos.

1. Principios del método

Este método de análisis se basa en que:

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

1.2 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.

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

1.4 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.

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.

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

2.2 Las muestras deben ser colocadas en hieleras con bolsas refrigerantes o hielo inmediatamente después de su toma.

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

2.4 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.

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

3. Reactivos y materiales

3.1. Reactivos

3.1.1 Alcohol etílico.

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

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

3.1.4 Medio EC.

3.1.5 Fosfato monopotásico.

3.1.6 Cloruro de magnesio.

3.1.7 Hidróxido de sodio.

3.1.8 Agua destilada.

3.2 Materiales

3.2.1 Asa de inoculación.

3.2.2 Barras magnéticas.

3.2.3 Bulbo de goma.

3.2.4 Espátula.

3.2.5 Frascos de 500 ml de capacidad con tapa de cierre hermético, boca ancha y con capacidad de esterilización en autoclave.

3.2.6 Gradillas y canastillas de acero inoxidable.

3.2.7 Guantes de látex.

3.2.8 Mechero de Bunsen, lámpara de alcohol o similar.

3.2.9 Pipetas graduadas de vidrio de 1.5 y 10 ml.

3.2.10 Portapipeteros de acero inoxidable.

3.2.11 Tapabocas.

3.2.12 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).

3.2.13 Tubos de Durham (7 mm x 4.5 mm o de 5 mm x 4 mm).

3.2.14 Tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o 12 mm x 120 mm).

3.2.15 Tubos de roseca (13 mm x 100 mm).

4. Aparatos e instrumentos

4.1 Autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² y una temperatura de 121°C.

4.2 Balanza analítica con intervalo de medición de 0.0001 a 10,00 g.

4.3 Balanza granataria con intervalo de medición de 0.1 a 100 g.

4.4 Baño de agua (con agitación) con capacidad para operar a una temperatura de 44.5°C ± 0.2°C.

4.5 Estufa de esterilización con capacidad para medir temperatura de 170°C ± 10°C.

4.6 Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de 37°C ± 0.2°C.

4.7 Parrilla con agitación y calentamiento.

4.8 Potenciómetro con intervalo de medición de 6.9°C ± 0.2°C.

4.9 Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura entre 2 y 4°C ± 0.2°C.

5. Procedimiento

Los puntos siguientes 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.

5.1 Preparación de medios de cultivo y soluciones**5.1.1 Caldo lauril-triptosa con púrpura de bromocresol (C.L.T.).**

Fórmula	
Triptosa	20.00 g
Lactosa	05.00 g
Fosfato dipotásico (K ₂ HPO ₄)	02.75 g
Fosfato monopotásico(KH ₂ PO 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°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.

5.1.2 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°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.

5.1.3 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-isooctilfenil de polietilenglicol.

Verificar que el pH sea de 6.9 ± 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.

5.1.4 Medio EC

Fórmula	
Triptosa o triptocasa	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 ± 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 Dirham invertidos, 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.

5.1.5 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 $121^\circ C$, durante 15 minutos y almacenar en refrigeración (entre 2 y $4^\circ C$). La solución es estable durante meses. Desechar cuando se observe turbiedad.

5.1.6 Solución madre de tampón B

Fórmula	
Cloruro de magnesio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)	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 $121^\circ C$ durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración (entre 2 y $4^\circ C$). La solución es estable durante meses, desechar cuando haya turbiedad.

Solución tampón de fosfatos (agua de dilución).

5.1.7 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 $121^\circ C$, durante 15 minutos y almacenar a temperatura ambiente.

5.1.8 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 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.

5.1.9 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 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.

5.2 Calibración de aparatos

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

5.3 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.

5.4 Manejo de residuos

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

5.5 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 rpm), hasta la completa disolución.

5.6 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.

5.7 Determinación de coliformes fecales

5.7.1 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 $35 \pm 0.5^\circ \text{C}$.

b) Una vez transcurrido el tiempo los tubos se transfieren a un baño de agua a una temperatura de $44.5 \pm 0.2^\circ \text{C}$ 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.

5.7.2 Prueba indirecta

5.7.2.1 Prueba presuntiva (caldo lauril-triptosa o caldo lactosado)

a) Transferir 1 ml de las diluciones seleccionadas a cada una de las series de tubos correspondientes conteniendo el caldo lauril o caldo lactosado e incubar a $35 \pm 0.5^\circ \text{C}$.

b) Examinar cada tubo a las 24 ± 2 horas. La acidificación, con o sin producción de gas (cambio de coloración de púrpura a amarillo), a partir de la fermentación de la lactosa en el medio de cultivo, indica una prueba presuntiva positiva de la presencia de bacterias del grupo coliformes. En caso contrario reincubar durante otras 24 horas más.

c) La acidificación del medio, con o sin formación de gas dentro de las 48 ± 3 horas, constituye una prueba presuntiva positiva. Cuando no existe acidificación del medio, constituye una prueba.

5.7.2.2 Prueba confirmativa flama del (medio EC)

a) Los tubos positivos de la prueba presuntiva se resiembran por triple asada (esterilizada al mechero y enfriada) en tubos de fermentación presuntiva negativa que contengan caldo EC e incubados a $44.5 \pm 0.2^\circ \text{C}$ en baño de agua.

b) Examinar cada tubo a las 24 ± 2 horas.

c) El resultado será positivo cuando haya producción de gas a partir de la fermentación de la lactosa contenida en el medio EC. Los tubos sin formación de gas se desechan.

6. Cálculos

6.1. 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 obtiene 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:

$$\text{NMP} = (\text{NMP de tablas}) \times (10/\text{mayor volumen inoculado}) \quad (1)$$

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.

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

$$\text{NMP/g ST} = (150) \times (10/0.01) = 150\ 000 \quad (2)$$

$$\text{NMP/g ST} = 1.5 \times 10^5 \text{ coliformes fecales} \quad (3)$$

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

6.4 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:

$$\text{NMP} = (\text{Número de tubos positivos} \times 100) / \sqrt{[(\text{ml muestra tubos neg.}) \times (\text{ml muestra total})]} \quad (4)$$

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.

7. Expresión de resultados

7.1. 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.

7.2. Interferencias

La posible presencia de otras bacterias que producen ácido a partir de lactosa, lo que se elimina en la prueba confirmativa a la temperatura de 44.5°C.

Es importante que los tubos de Durham colocados en los tubos de fermentación, una vez preparados y esterilizados, no presenten aire en su interior. En caso contrario se pueden obtener resultados positivos falsos.

8. 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 7, y
- 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.

ANEXO IV

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE *Salmonella* spp. EN LODOS Y BIOSOLIDOS

El presente método establece la técnica para llevar a cabo la cuantificación de *Salmonella* spp. Mediante la técnica de tubos múltiples o número más probable (NMP) en lodos y biosólidos, 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 y biosólidos.

1. Principio

Este método de análisis se basa en los siguientes principios:

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

1.2 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.

1.3 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 spp.*

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 a lo referido en el Anexo II de esta Norma.

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

2.2 Las muestras deben ser colocadas en hieleras con bolsas refrigerantes o hielo inmediatamente después de su toma.

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

2.4 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.

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

3. Reactivos y materiales

3.1 Reactivos

3.1.1 Agar Hierro Lisina (LIA).

3.1.2 Agar Sulfito de Bismuto.

3.1.3 Agar Triple Azúcar Hierro (TSI).

3.1.4 Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).

3.1.5 Alcohol etílico.

3.1.6 Caldo de Selenito Cistina.

3.1.7 Caldo de Tetracionato.

3.1.8 Cloruro de magnesio.

3.1.9 Cristales de yodo.

3.1.10 Fosfato monopotásico.

3.1.11 Solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

3.1.12 Solución de hidróxido de sodio 1 N.

3.1.13 Solución tampón de fosfatos (agua de dilución).

3.1.14 Verde brillante.

3.1.15 Yoduro de potasio

3.2 Materiales

3.2.1 Barras magnéticas.

3.2.2 Bulbo de goma.

3.2.3 Cajas Petri estériles (100 x 15 mm.).

3.2.4 Espátula.

3.2.5 Frascos de 100 ml de capacidad con tapa de cierre hermético y capacidad de esterilizado en autoclave.

3.2.6 Frascos de 1 L de capacidad con tapa de cierre hermética.

3.2.7 Gradillas y canastillas de acero inoxidable, matraces Erlenmeyer de vidrio, de 1 y 2 L de capacidad.

3.2.8 Guantes de látex.

3.2.9 Matraz aforado de 1 L.

3.2.10 Mechero de Bunsen, lámpara de alcohol o similar.

3.2.11 Pipetas graduadas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.

3.2.12 Portapipeteros de acero inoxidable.

3.2.13 Tapabocas.

3.2.14 Tapones de acero inoxidable para tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o 12 mm x 120 mm).

3.2.15 Tubos de ensayo (18 mm x 180 mm, 16 mm x 150 mm o de 12 mm x 120 mm).

3.2.16 Tubos de rosca (13 mm x 100 mm).

4. Aparatos e instrumentos

4.1 Autoclave a una presión de 1.05 kg/cm², y una temperatura de 121°C.

4.2 Balanza analítica con intervalo de medición de 0.000 l a 10.00 g.

4.3 Balanza granataria con intervalo de medición de 0.1 a 100 g.

4.4 Baño de agua (con agitación) con capacidad para operar a una temperatura de 44.5°C ± 0.2°C.

4.5 Estufa u horno con capacidad para operar a una temperatura de 180°C ± 10°C.

4.6 Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de 37°C ± 0.2°C.

4.7 Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de 41°C ± 0.2°C.

4.8 Parrilla con agitación y calentamiento.

4.9 Potenciómetro con intervalo de medición de 6.5 a 7.5 ± 0.2 pH.

4.10 Refrigerador con capacidad para operar entre 2 y 4°C ± 0.5°C.

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.

5.1 Preparación de medios de cultivo y soluciones

5.1.1 Caldo tetratonato

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.

5.1.2 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.

5.1.3 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 ± 0.2 , en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Enfriar a 60°C y distribuir en cajas de Petri estériles.

El medio no debe esterilizarse en autoclave, el sobrecalentamiento afecta su selectividad.

5.1.4 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 1L 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 ± 0.2 , en caso contrario ajustarlo con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N.

Enfriar a no menos de 50°C pero abajo de 60°C y vaciar en cajas Petri estériles.

5.1.5 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

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°C por 12 minutos, cualquier sobrecalentamiento del medio disminuye su selectividad. Enfriar a no menos de 50°C pero debajo de 60°C y distribuir en cajas de Petri estériles.

5.1.6 Agar S.S.

Fórmula	
Extracto de carne	05.00 g
*Polipeptona	05.00 g
Lactosa	10.00 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

*La polipeptona se puede sustituir por 2.5 gramos de peptona de caseína y 2.5 gramos 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°C pero debajo de 60°C y distribuir en cajas Petri estériles.

5.1.7 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.

5.1.8 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.

5.1.9 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.

5.1.10 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/cm^2 y una temperatura de 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.

5.1.11 Solución madre de tampón B

Fórmula	
Cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	81.00 g
Agua destilada	1 000.00 ml

Disolver el cloruro 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.

5.1.12 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/cm^2 y una temperatura de 121°C , durante 15 minutos. Almacenar a temperatura ambiente.

5.1.13 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.

5.1.14 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 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, almacenar en frasco con tapón de rosca.

5.1.15 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.

5.2 Calibración de aparatos

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

5.3 Seguridad

Durante el procesado de la muestra se deben 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.

5.4 Manejo de residuos

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

5.5 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 rpm), hasta la completa disolución.

5.6 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 rpm) hasta la completa disolución.

e) Incubar durante 22 ± 2 horas a $37^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$.

5.7 Preparación de diluciones

a) Una vez transcurrido el tiempo de incubación, preparar las diluciones decimales seriadas transfiriendo 1 ml de caldo de tetrionato 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 $41^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$.

e) Realizar la observación del virado de coloración, considerando un color anaranjado intenso como positivo de la prueba correspondiente.

5.8 Aislamiento e identificación bioquímica de *Salmonella* spp.

a) El aislamiento y la identificación no son indispensables para la cuantificación de *Salmonella* spp., 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* spp. 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 $35^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$ 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 H_2S .
- agar LIA: se observa coloración púrpura en todo el tubo, en ocasiones se observa la producción de H_2S , 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 prefriere es factible utilizar el caldo de selenito cistina como medio de enriquecimiento y el caldo de tetracionato como medio selectivo.

6. Cálculos

6.1 El NMP de *Salmonella spp.* 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:

$$\text{NMP} = (\text{NMP de tablas}) \times (10/\text{mayor volumen inoculado}) \quad (1)$$

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:

$$\text{NMP/g ST} = (150) \times (10/0.1) = 15\ 000 \quad (2)$$

$$\text{NMP/g ST} = 1.5 \times 10^4 \text{ Salmonella} \quad (3)$$

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

6.3 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:

$$\text{NMP} = (\text{Número de tubos positivos} \times 100) / \sqrt{[(\text{ml muestra tubos neg.}) \times (\text{ml muestra total})]} \quad (4)$$

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.

7. Expresión de resultados

7.1 La densidad de *Salmonella spp.* 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.

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

8. Informe de prueba

El informe de prueba incluye especificar los siguientes puntos:

- Todos los datos necesarios para la identificación completa de la muestra.
- Los resultados, expresados de acuerdo con lo establecido en el inciso 7.
- 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.

ANEXO V

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE HUEVOS DE HELMINTOS EN LODOS Y BIOSOLIDOS

El presente método tiene por objeto establecer la técnica para la detección, enumeración, determinación y de la viabilidad, en caso requerido, de huevos de helmintos en muestras de lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad de estos subproductos y la eficiencia de los sistemas de tratamiento a los que están sujetos.

1. Principio

La prueba se basa en el siguiente principio:

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

1.2 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.

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 lo referido en el punto 5 de esta Norma.

2.1 Preparar recipientes de plástico inerte de 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.

2.2 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.

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

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

3. Reactivos y materiales

3.1 Reactivos

3.1.1 Acetato de etilo ($\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{OCOOCH}_3$) (opcional).

3.1.2 Acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (opcional).

3.1.3 Acido acético ($\text{CH}_3 \text{COOH}$) (opcional).

3.1.4 Acido sulfúrico 0.1 N (H_2SO_4).

3.1.5 Alcohol etílico ($\text{C}_2 \text{H}_5 \text{OH}$).

3.1.6 Agua destilada.

3.1.7 Eter etílico.

3.1.8 Hipoclorito de sodio 10% (NaClO).

3.1.9 Formaldehído 37% (opcional).

3.1.10 Sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2 \text{O}$).

3.1.11 Twecn 80 al 0.1%.

3.2 Materiales

3.2.1 Barras magnéticas.

3.2.2 Bulbo de goma.

3.2.3 Embudo de plástico con diámetro de 20 cm.

3.2.4 Espátula.

3.2.5 Gradillas para tubos de centrifuga 50 ml.

3.2.6 Guantes de látex.**3.2.7 Manguera para conexión de matraz.****3.2.8 Matraces aforados Erlenmeyer de 1 L de capacidad.****3.2.9 Matraz Kitazato de 4 L.****3.2.10 Pipetas de 10 ml de plástico.****3.2.11 Pizeta de plástico de 1 L.****3.2.12 Probetas graduadas de 10 ml, 50 ml y de 1 L.****3.2.13 Recipientes de cierre hermético de 1 a 3 L de capacidad.****3.2.14 Recipientes de plástico inerte con paredes internas lisas de 3 L de capacidad.****3.2.15 Recipientes de plástico inerte, boca ancha, de 500 ml de capacidad y susceptibles de ser esterilizados en autoclave.****3.2.16 Tamiz de 20 μm (micras) de poro (opcional).****3.2.17 Tamiz de 150 a 170 μm (micras) de poro.****3.2.18 Tapabocas.****3.2.19 Tubos de centrifuga cónicos, de plástico 50 y 200 ml (o de mayor capacidad).****4. Aparatos y/o instrumentos****4.1 Agitador de tubos con control de velocidad y adaptable a tubos de diferentes tamaños.****4.2 Autoclave capaz de operar a una presión de 1.05 kg/cm^2 y una temperatura de 121°C.****4.3 Balanza granataria con intervalo de medición de 2.0 a 800 $\text{g} \pm 0.2 \text{ g}$.****4.4 Bomba de vacío con control de velocidad de succión.****4.5 Cámara de Sedgwich-Rafter o disco Doncaster.****4.6 Campana de extracción.****4.7 Centrifuga, capaz de mantener los intervalos de operación de 660 \pm 300 g.****4.8 Densímetro (hidrómetro), con intervalo de medición de 1.0 a 1.4 g/cm^3 .****4.9 Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de 26°C \pm 0.2°C.****4.10 Licuadora con contenedor de plástico inerte, paredes lisas y con capacidad de 2 L.****4.11 Mascarilla antigás con carbón activado o similar.****4.12 Microscopio óptico equipado para hacer iluminación (Köhler), campo claro, con objetivos de 10 a 100 X, y platina móvil removible.****4.13 Parrilla con agitación magnética.****4.14 Potenciómetro con intervalo de medición de 0 a 14 \pm 0.2 unidades de precisión.****4.15 Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura de 4°C \pm 0.2°C.****5. Procedimiento****5.1 Preparación de soluciones**

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.

5.1.1 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.**5.1.2 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.**5.1.3 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.**5.1.4 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.

5.1.5 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.

5.2 Calibración de aparatos

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

5.3 Seguridad

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

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

5.3.3 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.

5.4 Manejo de residuos

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

5.4.2 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.

5.5 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 fresco 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 mm). Enjuagar recipiente y tamiz con 1 L de agua destilada, para lo cual se recomienda utilizar una pizeta. 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 mm 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 pizeta), 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 aceto-acético) 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.

5.6 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 $26^\circ C \pm 0.2^\circ C$. 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, homogeneizar la pastilla y proceder a la cuantificación de los huevos. Para la lectura verter el sedimento final en una celda de Sedgwick 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.

El Anexo 1 muestra algunos ejemplos.

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. 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.

f) Aspirar sobrenadante hasta 5 ml del volumen final.

6. Cálculos

6.1 La fórmula para calcular g es:

$$g = \frac{r(\text{rpm})}{k}$$

donde:

g = fuerza relativa de centrifugación

k = constante cuyo valor es 89,456

r = radio de la centrifuga en cm

rpm = revoluciones por minuto

6.2 Para el cálculo del por ciento de sólidos totales (ST), se utiliza el % de humedad como sigue:

$$\% \text{ de sólidos totales} = 100\% - \% \text{ de humedad} \quad (2)$$

7. Expresión de resultados

7.1 Expresar los resultados en número de huevos/2 g de sólidos totales (volumen de muestra analizada).

$$H/2g \text{ ST} \quad (3)$$

donde:

H = número de huevos leídos en la muestra

$g \text{ ST}$ = gramos de sólidos totales de la muestra analizados

7.2 Interferencias

7.2.1 La sobreposición de estructuras y/o detritus 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 alicuotas que se consideren necesarias para que en cada una se realice el conteo.

7.2.2 La falta de experiencia en la identificación de géneros es un elemento común de sobreconteo.

7.2.3 En caso de que la muestra presente la formación de hongos durante el proceso de incubación se recomienda remplazar el H_2SO_4 0.1 N por una solución de formalina 0.5%.

8. 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 7.

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.

ANEXO VI

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE METALES PESADOS EN BIOSOLIDOS

El presente método tiene por objeto establecer la técnica para la determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, plomo, mercurio, níquel y zinc, en muestras de biosólidos, por espectrofotometría de absorción atómica, donde el análisis de los elementos se efectúa individualmente.

1. Principio

El método analítico se basa en la atomización de la muestra para liberar los átomos, a los que se les aplica una energía de una longitud de onda específica que es absorbida e induce al electrón a pasar a un estado excitado. Esta energía absorbida es proporcional a la concentración del elemento en la muestra analizada.

2. Reactivos y materiales

2.1 Reactivos

2.1.1 Acido clorhídrico grado suprapuro.

2.1.2 Acido nítrico grado suprapuro.

2.1.3 Acido nítrico.

- 2.1.4 Acido perclórico grado suprapuro.
- 2.1.5 Acido sulfúrico grado suprapuro.
- 2.1.6 Acetona.
- 2.1.7 Agua tipo II, que tiene las siguientes características: resistividad mayor de 10 $\text{cgohm} \cdot \text{cm}$ a 25°C y conductividad menor de 0.1 S/cm a 25°C. En lo subsiguiente se le llamará agua.
- 2.1.8 Aire comprimido seco y limpio.
- 2.1.9 Borohidruro de sodio.
- 2.1.10 Cadmio metálico.
- 2.1.11 Cloruro de mercurio.
- 2.1.12 Cloruro de potasio.
- 2.1.13 Cloruro o sulfato estanso.
- 2.1.14 Cobre metálico.
- 2.1.15 Detergente no iónico, libre de metales.
- 2.1.16 Gases: acetileno, nitrógeno, grado absorción atómica.
- 2.1.17 Hexano.
- 2.1.18 Hidróxido de sodio.
- 2.1.19 Níquel metálico.
- 2.1.20 Nitrato de plomo.
- 2.1.21 Oxido de lantano.
- 2.1.22 Permanganato de potasio.
- 2.1.23 Soluciones estándar de referencia certificada de arsénico, cadmio, cobre, cromo, plomo, níquel, mercurio y zinc, de 100 ppm.
- 2.1.24 Trióxido de arsénico.
- 2.1.25 Trióxido de cromo.
- 2.1.26 Zinc metálico.
- 2.2 Materiales
 - 2.2.1 Crisoles de platino de 40 a 50 ml de capacidad.
 - 2.2.2 Cápsula de porcelana de 50 ml de capacidad.
 - 2.2.3 Embudos de filtración de diferentes capacidades.
 - 2.2.4 Goteros.
 - 2.2.5 Matraces Erlenmeyer de diferentes capacidades.
 - 2.2.6 Matraces volumétricos de diferentes capacidades.
 - 2.2.7 Membranas de ruptura.
 - 2.2.8 Micropipetas o pipetas Eppendorf de diferentes capacidades.
 - 2.2.9 Papel filtro Whatman número 40.
 - 2.2.10 Pipetas volumétricas de varias capacidades.
 - 2.2.11 Puntas de plástico para micropipetas.
 - 2.2.12 Recipientes de polietileno, propileno o de vidrio de 50 ml.
 - 2.2.13 Vasos de precipitado de diferentes capacidades.
 - 2.2.14 Vaso de teflón de 100 ml.
 - 2.2.15 Vidrio de reloj.

Todo el material volumétrico utilizado por este método debe ser clase A y ser de uso exclusivo para este procedimiento.

3. Equipo

Sólo se mencionan los equipos que son de relevancia para el presente método.

3.1 Balanza analítica con intervalo de medición de 0.0001 a 80 g \pm 0.0001 g

3.2 Para la digestión de las muestras:

a) Parrilla de calentamiento con regulador.

b) Horno de microondas, capaz de liberar de 575 W a 1 000 W de potencia. El incremento de la potencia debe ser mínimo 1%/s sistema de control de presión dentro de cada uno de los vasos y sistema de ventilación de $2.8 \text{ m}^3/\text{minuto}$.

c) Horno con intervalo de temperatura de 0-160°C.

d) Autoclave con válvula de seguridad que se abra a 15 lb y un manómetro para indicar la presión interna.

3.3 Espectrofotómetro de absorción atómica, con lo siguiente:

a) Sistema óptico. Fotómetro de haz sencillo o doble.

b) Monocromador con rango espectral de 190 a 900 nm.

c) Ancho de banda espectral de 0.2, 0.7 y 2.0 nm.

d) Sistema de flama con control de gases.

e) Sistema de generador de hidruros.

f) Sistema de quemador con alineación de la flama manual o automática, y quemador de 10 cm.

g) Lámparas de cátodo hueco o de descarga sin electrodo, de acuerdo a los metales a analizar.

h) Interfase con registrador o un adecuado sistema automatizado para el procesamiento de datos.

4. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

4.1 Recolección

La muestra debe tomarse en recipientes de polietileno o de vidrio y boca ancha de 50 ml y llenando hasta el tope.

4.2 Preservación y almacenamiento de la muestra

La muestra debe refrigerarse inmediatamente a 4°C por un tiempo máximo de 6 meses, excepto para el caso del mercurio que se requiere analizar antes de 28 días.

5. Procedimiento

Los siguientes puntos describen la secuencia del método de prueba, el que se debe realizar conforme a lo descrito.

5.1 Preparación de disoluciones

5.1.1 Acido nítrico al 10% v/v. Diluir 16 ml de HNO_3 RA, en 100 ml de agua.

5.1.2 Acido clorhídrico al 15% v/v. Diluir 40 ml de HCl RA, en 100 ml de agua.

5.1.3 Acido clorhídrico 1:1. Diluir 50 ml de HCl RA con 50 ml de agua.

5.1.4 Acido clorhídrico al 1.5% v/v. Diluir 3.4 ml de HCl en 100 ml de agua.

5.1.5 Solución de borohidruro de sodio. Pesar 4 g de borohidruro de sodio en 100 ml de una solución de hidróxido de sodio al 1% p/v. Filtrar al vacío.

5.1.6 Solución de hidróxido de sodio al 1% p/v. Pesar 1 g de hidróxido de sodio y diluir a 100 ml con agua.

5.1.7 Solución de permanganato de potasio. Pesar 5 g de permanganato de potasio y diluirlo a 100 ml. Considerar el porcentaje de pureza.

5.1.8 Agua regia. Añadir tres volúmenes de HCl RA a un volumen de HNO_3 RA.

5.1.9 Soluciones para realizar la curva de calibración. A partir de la solución que se indica en el punto 3.1.2.3, realizar las diluciones necesarias con un $\text{pH} = 2$. Preparar mínimo cinco concentraciones, las que deben estar en el intervalo de trabajo del laboratorio.

5.1.10 Soluciones para verificar el 0.2 unidades de absorbancia. A partir de la solución que se indica en el punto 3.1.2.3, realizar las diluciones necesarias con un $\text{pH} = 2$, hasta obtener 2 ppm.

También se pueden preparar estas soluciones en el laboratorio, como se indica a continuación, siempre y cuando se verifique su concentración con una solución estándar de referencia.

a) Arsénico: Disolver 1.320 g de trióxido de arsénico, As_2O_3 en agua conteniendo 4 g de NaOH. Diluir a 1 000 ml con agua. 1.00 ml = 1.00 mg As (III).

- b) **Cadmio:** Disolver 0.10 g de cadmio metálico en 4 ml de HNO_3 , adicionar otros ocho ml de HNO_3 y diluir a 1 000 ml con agua. 1.00 ml = 100 mg de Cd.
- d) **Cobre:** Disolver 0.10 g de cobre metálico en dos ml de HNO_3 , adicionar 10 ml de HNO_3 y diluir a 1 000 ml con agua. 1.00 ml = 100 mg Cu.
- e) **Cromo:** Disolver 0.1923 g de CrO_3 en agua. Cuando la disolución sea completa, acidificar con 10 ml de HNO_3 , y diluir a 1 000 ml con agua. 100 ml = 100 mg Cr.
- f) **Mercurio:** Disolver 0.1354 g de cloruro de mercurio, HgCl_2 , en aproximadamente 70 ml de agua, añadir un ml de HNO_3 y diluir a 100 ml con agua. 1.00 ml = 1.00 mg Hg.
- g) **Níquel:** Disolver 0.10 g de níquel metálico en 10 ml de HNO_3 caliente, enfriar y diluir a 1 000 ml con agua. 1.00 ml = 100 mg Ni.
- h) **Plomo:** Disolver 0.1598 g de nitrato de plomo, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, en una mínima cantidad de HNO_3 1:1, adicionar 10 ml de HNO_3 y diluir a 1 000 ml con agua. 1.00 ml = 100 mg Pb.
- i) **Zinc:** Disolver 0.100 g de Zinc metálico en 20 ml de HCl 1:1 y diluir a 1 000 ml en agua. 1.00 ml = 100 mg Zn.

El ácido nítrico utilizado para la preparación de estas soluciones es grado suprapuro.

5.2 Limpieza del material

5.2.1 El material de vidrio debe sumergirse durante una hora en una disolución de ácido nítrico al 10% (ver 6.1.1) y enjuagarse con agua.

5.2.2 En caso de que el material presente adherencias, debe dejarse remojando de 12 a 24 horas con ácido nítrico al 10% (6.1.1), o con ácido clorhídrico 15% (ver 6.1.2) o con agua regia (ver 6.1.8). Después debe ser enjuagado con suficiente agua, hasta remover toda la disolución ácida.

5.2.3 En los casos en que el material presente grasa, agregarle acetona o hexano y distribuirlo por todas las paredes del material. Desechar el disolvente de acuerdo al procedimiento de desechos y, posteriormente, enjuagar con agua. Continuar como se indica en el punto 6.2.

5.2.4 Los recipientes de muestras deben lavarse con disolución de detergente, enjuagarse con agua de la llave y dejarlo remojando toda la noche en ácido nítrico al 10% (6.1.1). Posteriormente, enjuagarlo con agua.

5.2.5 Verificar que el lavado de material se efectuó correctamente.

5.2.6 Guardar en cuanto esté seco para evitar contaminación por partículas en el aire.

5.3 Preparación de la muestra

Las muestras de lodos y biosólidos, requieren, en general, un tratamiento previo antes del análisis. Los metales totales incluyen la combinación de los que se encuentran en la fase orgánica y en la inorgánica, así como los disueltos y en partículas.

Notas:

a) Durante todo el procedimiento analítico donde se mencione utilización de ácidos, éstos deben ser grado suprapuro.

b) Procesar las muestras de control establecidas en su programa de AC, por cada serie de digestión.

5.3.1 Digestión por horno

Homogeneizar perfectamente la muestra, verificando que no existan sólidos adheridos en el fondo del recipiente. En seguida, vaciar aproximadamente 10 g en una cápsula de porcelana (a peso constante) y colocarla en el horno hasta que el material esté a peso constante. El horno debe estar a 100°C.

5.3.2 Digestión por parrilla

5.3.2.1 Pesar y registrar de uno a dos gramos de la muestra en un vaso de precipitado de 100 ml o en un crisol de platino y añadir 10 ml de HNO_3 concentrado. Cubrir con un vidrio de reloj y calentar lentamente hasta que exista reflujo de vapores, cuidando que no alcance la temperatura de ebullición. Calentar casi a sequedad.

5.3.2.2 Enfriar y lavar el vidrio de reloj con agua. Adicionar otros 5 ml de HNO_3 concentrado. Cubrir y continuar calentando hasta digestión completa, que es cuando la solución adquiere apariencia cristalina y los vapores son blancos. Agregar el ácido necesario para obtener esto.

5.3.2.3 Evaporar hasta obtener un volumen aproximado de 2 ml, enfriar y enjuagar el vidrio de reloj con agua. Añadir 10 ml de HCL 1:1 (ver 6.1.3) y 15 ml de agua. Calentar nuevamente por 15 minutos para redissolver precipitados que se hayan formado.

5.3.2.4 Enfriar, enjuagar las paredes del vaso y vidrio de reloj con agua. Vaciar el contenido a un matraz volumétrico de 50 ml, filtrando a través de papel filtro número 40, para remover el material insoluble que pueda tapan el nebulizador. Aforar al volumen correspondiente.

5.3.3 Digestión por autoclave

5.3.3.1 En un vaso de teflón de 100 ml, transfiera 0.5 g de la muestra seca. Marque y pese los vasos antes y después para obtener el peso exacto de la muestra.

5.3.3.2 Añadir 5 ml de HNO_3 , tapar los recipientes herméticamente y la autoclave. Encender el equipo y dejarlo en operación a 15 lb, aproximadamente una hora. El laboratorio debe validar el tiempo de digestión, con el equipo que utilizará para tal fin.

5.3.3.3 Sacar y enfriar a temperatura ambiente los vasos de teflón.

5.3.3.4 Abrir y filtrar a través de papel filtro número 40, si se requiere, para retener materiales insolubles. Lavar las paredes con agua y diluir la muestra a 50 ml.

5.3.4 Digestión por horno de microondas

Para usar el horno de microondas como fuente de energía, en la digestión de la muestra, se sigue el mismo procedimiento descrito en el punto 6.3.3, excepto que el tiempo de la digestión puede variar de 30 a 50 min dependiendo de las características de la muestra y de la potencia aplicada.

5.4 Análisis instrumental

5.4.1 Determinación de cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo y zinc, por aspiración directa flamaire-acetileno.

5.4.1.1 Conectar la lámpara de cátodo hueco o descarga sin electrodos y encender el equipo.

5.4.1.2 Seleccionar la longitud de onda y el ancho de banda espectral de acuerdo al metal a analizar, siguiendo el protocolo del laboratorio o el manual del fabricante. En la tabla 1 se proponen las longitudes de onda y el ancho de banda espectral con los que se pueden analizar los elementos.

Tabla 1. Relación de longitud y ancho de banda para los elementos analizados por flama

Elemento	Longitud de onda (λ)	Ancho de banda espectral (nm)
Cd	228.8	0.7
Cr	357.9	0.7
Cu	324.8	0.7
Ni	232.0	0.7
Pb	217.0	0.7
Zn	213.9	0.7

5.4.1.3 Alinear la lámpara vertical, horizontal y rotacionalmente, hasta obtener la máxima energía.

5.4.1.4 Esperar de 10 a 20 minutos para que se establezca el instrumento.

5.4.1.5 Ajustar las condiciones de la flama aire-acetileno, de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Encender la flama. Permitir que el sistema alcance el equilibrio de temperatura.

5.4.1.6 Aspirar el blanco y ajustar el instrumento a cero.

5.4.1.7 Aspirar la disolución del estándar (5.1.10) con la concentración necesaria (ver tabla 2) para obtener

0.2 unidades de absorbancia. Ajustar con esta disolución el instrumento y si es necesario también ajustar el quemador, hasta obtener el valor más cercano a 0.2 unidades de absorbancia.

Tabla 2. Relación de concentraciones para calibración del instrumento utilizando flama

Elemento	Concentración ppm
Cd	1.5
Cr	4.0
Cu	2.0
Ni	7.0
Pb	9.0
Zn	1.0

5.4.1.8 Aspirar las disoluciones estándar, mínimo cinco concentraciones (ver 5.1.10), para realizar la curva de calibración y un blanco de reactivos. El primer punto debe ser igual o mayor al límite de cuantificación del método y el último debe estar dentro del intervalo lineal.

5.4.1.9 Proceder a analizar las muestras problema y las muestras control. Si las lecturas de las muestras están fuera del intervalo de la curva de calibración, efectuar la(s) dilución(es) que sean necesarias, hasta obtener valores en el intervalo de trabajo.

5.4.2 Determinación de mercurio y arsénico por generador de hidruros.

5.4.2.1 Instalar la lámpara correspondiente al metal que se va a analizar en el instrumento y encenderlo. Esperar de 20 a 30 minutos para su estabilización.

5.4.2.2 Seleccionar la longitud de onda y el ancho de banda espectral. En la tabla 3 se proponen las longitudes de onda y ancho de banda para cada uno de los elementos.

Tabla 3. Relación de longitud y ancho de banda para los elementos analizados por generador de hidruros

Elemento	Longitud de onda (λ)	Ancho de banda espectral (nm)
As	193.7	0.7
Hg	253.7	0.7

5.4.2.3 Alinear la lámpara vertical, horizontal y rotacionalmente, hasta obtener la máxima energía.

5.4.2.4 Alinear la celda de cuarzo vertical, horizontal y rotacionalmente, hasta obtener la mínima energía. Esperar de 20 a 30 minutos para su estabilización.

5.4.2.5 Ajustar y optimizar los flujos de aire-acetileno y encender la flama. Esperar aproximadamente 10 minutos para su estabilización. Este ajuste sólo se requiere para la determinación de arsénico.

5.4.2.6 Abrir el tanque de nitrógeno y ajustar la presión de acuerdo a las especificaciones del fabricante, para transportar el hidruro formado a la celda de cuarzo.

5.4.2.7 Colocar en el recipiente del reductor la disolución de borohidruro de sodio (ver punto 5.1) y conectar al sistema según las especificaciones del instrumento.

5.4.2.8 Conectar el vaso de reacción vacío al sistema generador y esperar el tiempo suficiente a que se estabilice el sistema. Cuando se ha estabilizado, registrar el cero en el espectrofotómetro (autocero). Retirar el vaso.

5.4.2.9 Conectar otro vaso de reacción con 10 ml de HCl 1,5%, permitir la entrada del hidruro formado y registrar el cero. Repetir esta operación hasta obtener el cero por lo menos tres veces. Retirar el vaso.

5.4.2.10 Vaciar en otro vaso de reacción, 10 ml de disolución estándar, para obtener el 0.2 unidades de absorbancia. En la tabla 4 se indican las concentraciones, con las que se obtiene el 0.2 unidades de absorbancia. Repetir esta operación hasta que se obtenga por lo menos tres veces la misma lectura, la cual deberá ser aproximadamente de 0,2. En caso de existir variación en las lecturas, verificar la alineación de la lámpara y de la celda de cuarzo.

Tabla 4. Relación de concentraciones para calibración del instrumento utilizando generador de hidruros

Elemento	Concentración, ng
As	5
Hg	50

5.4.2.11 De forma similar al punto anterior, realizar la curva de calibración con un mínimo de cinco concentraciones y por lo menos tres lecturas independientes. Limpiar el sistema haciendo pasar ácido clorhídrico al 1.5% cada tres lecturas.

5.4.2.12 Una vez determinada la curva de calibración, proceder a analizar el blanco, las muestras problema y las muestras control, como se indica en los dos puntos anteriores. Si las lecturas de las muestras están fuera del intervalo de la curva de calibración, efectuar la(s) dilución(es) que sean necesarias, hasta obtener valores en el intervalo de trabajo.

6. Calibración

Todos los instrumentos y materiales de medición utilizados, deben ser calibrados y verificar su calibración periódicamente con materiales y/o sustancias de referencia certificadas, de acuerdo con el AC establecido.

6.1 Verificación de la calibración espectrofotómetro de absorción atómica

Independientemente del elemento a analizar, realizar dicha verificación del instrumento como se indica a continuación.

6.1.1 Conectar la lámpara de cobre y encender el equipo.

6.1.2 Seleccionar la longitud de onda a 324.8 nm y el ancho de banda a 0.7 nm.

6.1.3 Alinear la lámpara horizontal, vertical y rotacionalmente, hasta obtener la máxima energía.

6.1.4 Una vez encendida la lámpara y alineada, esperar de 10 a 20 min. para la estabilización del instrumento.

6.1.5 Ajustar las condiciones de la flama aire-acetileno, de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Encender la flama. Permitir que el sistema alcance el equilibrio de temperatura.

6.1.6 Aspirar un blanco.

6.1.7 Aspirar una disolución estándar de cobre de 2 ppm (ver punto 5.1.10), la que debe dar 0.2 unidades de absorbancia, \pm lo establecido en los resultados obtenidos de las validaciones analíticas.

7. Cálculos

7.1 Interpolan los valores de absorbancia o altura de pico de la muestra analizada en la curva de calibración, para obtener la concentración en mg/l (A). En seguida realizar los cálculos, tomando en cuenta los factores de dilución y peso de la muestra con la fórmula siguiente:

$$\frac{mg}{kg} = \frac{AxBxFD}{C} \quad (2)$$

donde:

A: Concentración en mg/l de la muestra a interpolar en la curva de calibración.

B: Volumen al que se llevó la muestra (ml).

C: Peso de la muestra (g).

FD: Factor de dilución.

En los instrumentos que tienen integrado un procesador de datos, se puede obtener directamente la concentración del elemento.

7.2 Reporte de resultados

7.2.1 No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de cuantificación.

7.2.2 Reportar los resultados del análisis en mg/kg.

8. Interferencias

Probablemente no existirá nunca un método analítico que esté totalmente libre de alguna interferencia por parte de la naturaleza de la muestra, sin embargo, en absorción atómica, por ser una técnica muy específica, las interferencias están bien definidas como también los medios para su tratamiento.

8.1 Interferencia por matriz: la principal interferencia para este tipo de muestras es la presencia de materia orgánica y sólidos en suspensión, lo que se elimina mediante una adecuada digestión de la muestra.

8.2 Interferencia de absorción no específica (fondo). La absorción molecular y la dispersión de la luz causadas por partículas sólidas en la flama pueden causar errores positivos. Para evitar este problema se debe utilizar la corrección de fondo del instrumento. Estos sólidos además de presentar una barrera física al paso de la luz de la lámpara en la flama, forman depósitos en la cabeza del quemador, sin embargo, esto se puede evitar aspirando continuamente agua acidulada.

8.3 Interferencias físicas. Están relacionadas con las diferentes propiedades existentes entre las muestras y los estándares. Las cuales pueden afectar a la aspiración y eficiencia de nebulización en el sistema de atomización. Si las soluciones presentan diferencias de viscosidad y/o tensión superficial, la eficiencia de nebulización no será igual y los resultados analíticos se ven afectados. La presencia de otros compuestos además del elemento de interés puede afectar a los resultados analíticos. Estas interferencias pueden ser corregidas utilizando el método de adición interna (adición de estándares).

8.4 Las interferencias en generador de hidruros se presentan por presencia de otros elementos o moléculas presentes en la muestra. Los efectos se ven reflejados en una disminución de la cantidad de hidruro formado y, por lo tanto, en una disminución de la señal analítica. La forma de eliminar este tipo de interferencias es modificando la concentración del ácido y/o del borohidruro de sodio.

9. Manejo de residuos

9.1 Cada laboratorio debe considerar dentro de su programa de control de calidad (CC) el tratamiento de los residuos generados durante la determinación.

9.2 Confinamiento. El laboratorio debe contar con áreas especiales, que tengan señalamientos adecuados, para almacenar temporalmente las soluciones contaminadas con metales pesados.

9.3 Todas las muestras que cumplan con la norma de descarga al alcantarillado pueden descargarse en el mismo.

ANEXO VII

CONTENIDO DE LA BITACORA DE CONTROL DE LODOS Y BIOSOLIDOS

1.- Generador

2.- Producción en base seca (Ton.) por: día y mes

3.- Fecha muestreo

4.- Laboratorio que analizó

5.- Salida del producto:

- fecha
- cantidad en base seca (Ton.)
- destinatario

ANEXO III

Bases de datos.

ETAPA I. EVALUACIÓN DEL TIPO ÁCIDO ÁCIDO ACÉTICO

Dosis, ppm	Concentración de la solución ácida, % v/v	pH	Sólidos totales, %	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Huevos de helminto viables, huevos/g ST
22/06/1999					
0		5.57	6.37	7.04	61.5
3700	50%	4.80	6.21	5.63	12.3
7300	50%	4.49	6.16	2.63	7.0
11000	50%	4.31	6.15	1.86	19.0
14700	50%	4.19	6.06	1.48	3.0
18400	50%	4.08	6.09	1.48	2.0
22000	50%	4.01	5.98	1.48	1.3
12/07/1999					
0		4.96	4.88	7.18	117.0
3700	50%	4.02	4.88	6.97	3.3
7300	50%	3.78	4.87	5.38	3.5
11000	50%	3.69	4.86	2.88	5.0
14700	50%	3.6	4.82	2.88	9.0
18400	50%	3.56	4.74	2.88	2.3
22000	50%	3.54	4.78	2.63	4.5
03/08/1999					
0		5.48	4.26	8.66	104.8
3700	50%	4.32	4.38	6.66	6.5
7300	50%	4.03	4.36	6.66	19.0
11000	50%	3.89	4.32	2.63	32.0
14700	50%	3.8	4.3	2.38	12.0
18400	50%	3.72	4.32	2.46	14.0
22000	50%	3.63	4.29	2.28	8.0

ÁCIDO PERACÉTICO

Dosis, ppm	Concentración de la solución ácida, % v/v	pH	Sólidos totales, %	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Huevos de helminto viables, huevos/g ST
08/06/1999					
0		5.3	6.70	6.18	67.8
1000	3.7%	4.34	6.42	0.48	5.5
1700	3.7%	4.12	6.35	0.48	15.0
2500	3.7%	3.95	6.38	0.48	13.0
3300	3.7%	3.88	6.06	0.48	15.5
4200	3.7%	3.74	5.82	0.48	11.0
5000	3.7%	3.71	5.70	0.48	7.8
12/07/1999					
0		4.96	4.88	7.18	117.0
1000	3.7%	4.24	4.92	0.48	3.5
1700	3.7%	3.98	4.59	0.48	10.8
2500	3.7%	3.88	4.51	0.48	2.5
3300	3.7%	3.81	4.33	0.48	9.0
4200	3.7%	3.75	4.17	0.48	4.0
5000	3.7%	3.65	4.09	0.48	24.5
03/08/1999					
0		5.48	4.26	8.66	104.8
1000	3.7%	4.56	3.87	0.48	16.0
1700	3.7%	4.18	4.07	0.48	13.0
2500	3.7%	4.03	4.18	0.48	6.8
3300	3.7%	3.93	3.92	0.48	11.3
4200	3.7%	3.78	3.76	0.48	5.5
5000	3.7%	3.76	3.68	0.48	29.5

ÁCIDO PERCLÓRICO

Dosis, ppm	Concentración de la solución ácida, % v/v	pH	Sólidos totales, %	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Huevos de helminto viables, huevos/g ST
12/06/1999					
0		4.95	6.56	6.36	113.8
2600	20%	3.19	6.97	3.38	31.0
3500	20%	2.84	7.13	3.38	28.8
5100	20%	2.01	7.24	3.38	24.5
8000	20%	1.70	7.39	3.38	43.0
14400	20%	1.20	8.10	3.38	3.3
32900	20%	0.78	8.44	2.36	3.3
26/10/1999					
0		5.07	5.02	6.36	111.5
2600	20%	3.98	5.23	4.97	8.7
3500	20%	3.76	5.59	4.97	9.7
5100	20%	3.5	5.59	2.86	6.7
8000	20%	3.18	5.72	2.18	7.5
14400	20%	2.65	6.14	2.18	6.6
32900	20%	1.08	6.34	0.48	3.4
30/11/1999					
0		5.60	4.31	5.95	104.4
2600	20%	4.17	4.31	4.38	28.5
3500	20%	3.94	4.51	4.38	19.9
5100	20%	3.65	4.68	3.38	6.3
8000	20%	3.22	5.09	2.63	11.9
14400	20%	2.05	5.23	2.55	7.7
32900	20%	1.43	5.48	0.47	6.7

ÁCIDO SULFÚRICO

Dosis, ppm	Concentración de la solución ácida, % v/v	pH	Sólidos totales, %	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Huevos de helminto viables, huevos/g ST
25/05/1999					
0		4.96	6.70	6.18	78.0
4400	20%	3.18	6.69	3.04	50.5
6100	20%	2.86	6.88	2.38	76.5
8900	20%	2.44	6.92	2.38	60.3
14000	20%	1.86	7.10	1.97	53.0
25100	20%	1.60	7.46	1.63	53.8
57600	20%	1.43	8.96	1.36	30.3
26/10/1999					
0		5.07	5.02	6.36	111.5
4400	20%	4.72	5.65	4.66	17.5
6100	20%	3.43	5.82	3.38	11.0
8900	20%	3.01	5.98	2.36	7.3
14000	20%	1.81	6.4	0.48	8.4
25100	20%	1.37	6.78	0.48	2.0
57600	20%	1.01	8.15	0.48	4.2
30/11/1999					
0		5.60	4.31	5.95	104.4
4400	20%	3.51	4.69	2.36	42.4
6100	20%	2.85	4.69	2.36	10.4
8900	20%	2.19	4.97	2.95	6.7
14000	20%	1.92	5.38	0.47	10.6
25100	20%	1.53	5.92	0.47	5.8
57600	20%	1.14	7.73	0.47	29.5

ETAPA II. RECRECIMIENTO EN LODO LÍQUIDO TRATADO CON ÁCIDO ACÉTICO.

pH, PRUEBA A							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	5.39	4.33	4.12	3.98	3.9	3.76	3.71
8d	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21d	6.44	5.79	5.58	4.43	3.46	3.76	3.71
35 d	7.44	6.79	6.80	6.10	5.28	4.03	4.00

pH, PRUEBA B							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	5.43	4.04	3.84	3.70	3.60	3.58	3.49
8d	5.39	4.57	4.19	4.07	3.96	3.88	3.82
21d	5.54	4.58	4.31	4.05	3.93	3.87	3.78
35 d	6.26	5.07	4.75	4.39	4.10	4.07	3.95

SÓLIDOS TOTALES, PRUEBA A							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	5.27%	5.29%	5.16%	5.12%	5.04%	4.99%	4.91%
8d	5.27%	5.38%	5.29%	5.22%	5.14%	5.13%	5.08%
21d	4.79%	5.17%	5.11%	5.55%	4.89%	4.72%	5.40%
35 d	7.98%	7.85%	7.12%	8.04%	7.71%	7.18%	8.55%

SÓLIDOS TOTALES, PRUEBA B

Tiempo	Dosis de ácido acético, ppm						
	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	4.70%	4.62%	4.59%	4.66%	4.61%	4.51%	4.50%
8d	4.47%	4.59%	4.50%	4.57%	4.59%	4.51%	4.48%
21d	4.54%	4.63%	4.62%	4.51%	4.62%	4.56%	4.63%
35 d	4.44%	4.61%	4.59%	4.62%	4.56%	4.63%	4.57%

SÓLIDOS VOLÁTILES, PRUEBA A, % de ST

Tiempo	Dosis de ácido acético, ppm						
	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	73.13%	72.63%	73.67%	73.77%	73.91%	73.62%	73.65%
8d	71.99%	73.31%	73.08%	73.59%	73.61%	73.61%	73.81%
21d	69.26%	71.57%	72.08%	72.63%	72.84%	72.42%	72.92%
35 d	68.36%	72.82%	72.09%	73.16%	73.44%	73.27%	73.97%

SÓLIDOS VOLÁTILES, PRUEBA B, % de ST

Tiempo	Dosis de ácido acético, ppm						
	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	72.3%	71.6%	71.7%	73.0%	72.0%	72.1%	71.3%
8d	70.9%	71.9%	71.8%	72.2%	72.1%	72.1%	71.7%
21d	71.4%	71.9%	73.4%	72.1%	72.3%	72.4%	73.0%
35 d	70.3%	71.8%	71.5%	72.3%	72.4%	72.1%	72.0%

COLIFORMES FECALES, PRUEBA A, log(NMP/g ST)							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	8.04	4.38	4.38	4.38	5.04	3.46	2.96
8d	6.48	5.04	2.96	3.97	3.97	3.36	3.36
21d	4.56	6.04	3.36	3.36	3.36	1.48	1.48
35 d	4.38	6.97	3.97	4.38	3.36	1.48	1.48

COLIFORMES FECALES, PRUEBA B, log(NMP/g ST)							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	8.38	5.66	4.32	4.63	4.66	3.86	3.56
8d	5.97	3.36	3.36	2.96	2.96	2.96	2.56
21d	4.18	3.36	3.36	2.96	2.56	2.56	2.48
35 d	3.63	3.36	3.36	3.36	0.48	0.48	0.48

SALMONELLA spp., PRUEBA A, log(NMP/g ST)							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	5.18	3.72	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48
8d	3.36	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48
21d	4.04	3.63	1.48	1.48	1.48	1.48	1.48
35 d	3.56	3.18	2.48	2.96	1.48	1.48	1.48

<i>SALMONELLA</i> spp., PRUEBA B, log(NMP/g ST)							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	6.36	4.11	3.36	3.52	3.11	2.36	1.98
8d	3.15	2.86	2.66	0.48	0.48	0.48	0.48
21d	2.32	2.48	2.48	2.48	0.48	0.48	0.48
35 d	1.48	1.48	1.48	1.48	0.48	0.48	0.48

ÁCIDO ACÉTICO RESIDUAL, PRUEBA B, g/L							
Dosis de ácido acético, ppm							
Tiempo	0	3,700	7,300	11,000	14,700	18,400	22,000
30 min	0	3.6	7.1	10.6	14.0	17.4	20.7
8d	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
21d	0.6	3.0	4.8	7.8	13.8	17.1	20.7
35 d	0.6	2.4	3.0	6.6	14.1	17.1	22.2

ETAPA III. DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE CONTACTO ÁCIDO ACÉTICO

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles		
25/08/2000	4.98	3.92	3.8%	72.2%		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	5.75E+06	6.8	5.25E+04	4.7	116.0	5.0
5	1.08E+04	4.0	9.75E+01	2.0	92.0	19.0
10	2.33E+03	3.4	1.80E+01	1.3	20.0	19.0
15	1.08E+03	3.0	9.75E+00	1.0	23.0	25.0
30	9.00E+01	2.0	3.00E+00	0.5	7.0	20.0

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles		
28/08/2000	5.14	3.77	3.8%	72.2%		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	5.75E+05	5.8	5.25E+03	3.7	92.0	9.0
5	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	49.0	22.0
10	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	30.0	20.0
15	5.00E+01	1.7	3.00E+00	0.5	31.0	24.0
30	3.00E+00	0.5	3.00E+00	0.5	9.0	13.0

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C		
16/10/2000	5.38	3.68	4.2%	74.1%	20		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST	
0	1.03E+07	7.0	2.28E+05	5.4	62.0	10.0	
2	1.03E+05	5.0	9.83E+02	3.0	29.0	42.0	
5	2.23E+05	5.3	2.88E+02	2.5	31.0	10.0	
10	5.52E+04	4.7	2.88E+02	2.5	32.0	3.0	
15	1.03E+05	5.0	8.63E+02	2.9	24.0	5.0	
30	3.12E+04	4.5	5.76E+02	2.8	32.0	9.0	

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C		
16/10/2000	5.38	3.68	4.2%	74.1%	26		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST	
0	1.03E+07	7.0	9.89E+06	7.0	62.0	10.0	
2	1.80E+05	5.3	8.97E+02	3.0	16.0	11.0	
5	5.76E+05	5.8	1.47E+04	4.2	17.0	20.0	
10	1.10E+06	6.0	2.99E+04	4.5	29.0	16.0	
15	3.60E+03	3.6	1.22E+03	3.1	7.0	3.0	
30	5.52E+02	2.7	2.53E+01	1.4	11.0	25.0	

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C		
13/11/2000	5.13	3.66	3.8%	75.7%	20		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST	
0	1.1E+05	5.1	3.01E+02	2.5	98.0	22.0	
2	2.4E+03	3.4	7.85E+01	1.9	40.0	34.0	
5	6.0E+02	2.8	7.85E+01	1.9	32.0	30.0	
10	6.0E+02	2.8	7.85E+01	1.9	35.0	59.0	
15	6.0E+02	2.8	7.85E+00	0.9	41.0	48.0	
30	6.0E+02	2.8	7.85E+00	0.9	32.0	31.0	
Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C		
13/11/2000	5.13	3.66	3.8%	75.7%	26		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST	
0	1.13E+05	5.1	2.88E+02	2.5	98.0	22.0	
2	9.42E+01	2.0	6.02E+02	2.8	40.0	20.0	
5	9.42E+01	2.0	7.85E+00	0.9	40.0	23.0	
10	9.42E+01	2.0	7.85E+00	0.9	29.0	22.0	
15	9.42E+01	2.0	7.85E+00	0.9	28.0	20.0	
30	3.00E+00	0.5	3.00E+00	0.5	21.0	19.0	

ÁCIDO PERACÉTICO

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles		
28/09/2000	5.39	4.47	3.9%	74.4%		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	5.75E+06	6.8	4.00E+04	4.6	142.0	17.0
2	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	10.0	11.0
5	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	6.0	20.0
10	1.08E+03	3.0	2.28E+00	0.4	2.0	18.0
15	9.00E+02	3.0	3.00E+00	0.5	5.0	10.0
30	3.75E+02	2.6	3.00E+00	0.5	5.0	6.0

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles		
28/09/2000	5.39	4.47	3.9%	74.4%		
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	2.28E+06	6.4	1.15E+04	4.1	82.0	13.0
2	5.75E+02	2.8	3.75E+01	1.6	16.0	28.0
5	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	6.0	20.0
10	3.00E+00	0.5	3.00E+00	0.5	9.0	37.0
15	3.00E+00	0.5	3.00E+00	0.5	8.0	39.0
30	3.00E+00	0.5	3.00E+00	0.5	6.0	8.0

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C	
23/10/2000	6.09	4.71	3.8%	75.7%	20	
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	2.8E+08	8.4	9.75E+06	7.0	74.0	4.0
2	5.8E+02	2.8	3.00E+01	1.5	19.0	8.0
5	5.8E+02	2.8	2.33E+01	1.4	11.0	9.0
10	7.5E+01	1.9	3.00E+00	0.5	9.0	2.0
15	9.0E+01	2.0	3.00E+00	0.5	10.0	2.0
30	NR		NR		9.0	14.0

Fecha	pH crudo	pH acidificado	Sólidos Totales	Sólidos volátiles	Temperatura, °C	
23/10/2000	6.09	4.66	3.8%	75.7%	25	
Tiempo	Coliformes fecales, NMP/g ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	Salmonella spp., log(NMP/g ST)	Salmonella spp., NMP/g ST	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST	Huevos de helmintos no viables, huevos/g ST
0	2.75E+08	8.4	9.75E+06	7.0	74.0	4.0
2	9.00E+01	2.0	3.00E+00	0.5	16.0	6.0
5	9.00E+01	2.0	3.00E+00	0.5	11.0	8.0
10	3.25E+01	1.5	3.00E+00	0.5	4.0	8.0
15	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	3.0	10.0
30	2.28E+02	2.4	3.00E+00	0.5	4.0	11.0

ETAPA IV. DESHIDRATACIÓN Y RECRECIMIENTO

ÁCIDO ACÉTICO (26/03/2001)

Tiempo	pH	Sólidos totales, %	Sólidos volátiles, % de ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	<i>Salmonella</i> spp., log(NMP/g ST)	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST
Crudo	5.53	4.41	70.84	9.00	6.92	58.0
Estabilizado y deshidratado	3.40	9.83	73.26	2.41	0.48	7.0
8 d	3.82	9.97	74.68	1.48	0.48	7.0
21 d	4.00	10.01	73.54	1.56	0.48	6.0
42 d	3.75	9.95	73.63	1.81	0.48	4.0

ÁCIDO PERACÉTICO (26/03/2001)

Tiempo	pH	Sólidos totales, %	Sólidos volátiles, % de ST	Coliformes fecales, log(NMP/g ST)	<i>Salmonella</i> spp., log(NMP/g ST)	Huevos de helmintos viables, huevos/g ST
Crudo	5.53	4.41	70.84	9.00	6.92	58.0
Estabilizado y deshidratado	4.8	7.56	71.5	2.48	0.48	5.0
8 d	4.72	7.6	73.07	1.48	0.48	7.0
21 d	5.22	7.44	70.25	1.97	0.48	7.0
42 d	4.82	7.44	71.32	1.97	0.48	3.0

RESISTENCIA ESPECÍFICA A LA FILTRACIÓN EN LODO TRATADO CON ÁCIDO ACÉTICO Y ACONDICIONADO CON POLÍMERO ECOFLOC 6120

Resistencia Especifica de la torta		7.3E+12 m/kg	1.1E+12 m/kg	7.9E+11 m/kg	1.1E+12 m/kg	2.3E+12 m/kg					
Volumen de polímero añadido al lodo crudo (mL)		0.5	1	1.5	2	2.5					
Pendiente de la recta $t/V=mV+b$		0.1183	0.0145	0.011	0.017	0.0377					
Sequedad de la torta (%)		9.26	13.07	12.1	10.04	8.91					
Peso de la torta (g)		34.38	25.34	28.55	32.88	37.99					
Tiempo		Volumen t/v		Volumen t/v		Volumen t/v		Volumen t/v		Volumen t/v	
(min)	(s)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)
0.00	0	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
0.17	10	4	2.50	15	0.67	13	0.77	10	1.00	5	2.00
0.33	20	5	4.00	30	0.67	26	0.77	20	1.00	8	2.50
0.50	30	7	4.29	43	0.70	39	0.77	30	1.00	12	2.50
0.67	40	8	5.00	50	0.80	52	0.77	37	1.08	15	2.67
0.83	50	10	5.00	55	0.91	60	0.83	44	1.14	20	2.50
1.00	60	12	5.00	60	1.00	63	0.95	50	1.20	24	2.50
1.17	70	14	5.00	63	1.11	66	1.06	54	1.30	31	2.26
1.33	80	15	5.33	65	1.23	68	1.18	57	1.40	34	2.35
1.50	90	17	5.29	82	1.10	68	1.32	60	1.50	37	2.43
1.67	100	18	5.56	83	1.20	71	1.41	50	2.00	40	2.50
1.83	110	19	5.79	84	1.31	73	1.51	53	2.08	43	2.56
2.00	120	21	5.71	84	1.43	76	1.58	59	2.03	45	2.67
2.17	130	22	5.91	85	1.53	78	1.67	60	2.17	47	2.77
3	140	23	6.09	86	1.63	83	1.69	71	1.97	49	2.86
4	150	24	6.25	86	1.74	87	1.72	78	1.92	51	2.94
5	160	25	6.40	86	1.86	88	1.82	82	1.95	52	3.08
10	170	26	6.54	87	1.95	90	1.89	88	1.93	53	3.21
	180		6.67							54	3.33
	190		6.79							55	3.45
	200		6.90							56	3.57

Tiempo		Volumen	t/v								
(min)	(s)	(mL)	(s/mL)								
	210	30	7.00							57	3.68
	220	31	7.10							58	3.79
	230	32	7.19							58.5	3.93
	240	33	7.27							59	4.07
	250	34	7.35							59.5	4.20
	260	35	7.43							60	4.33
	270	36	7.50								
	280	37	7.57								
	290	38	7.63								
	300	39	7.69								
	310	40	7.75								
	320	40.5	7.90								
	330	41	8.05								
	340	42	8.10								
	350	43	8.14								
	360	44	8.18								
	370	45	8.22								
	380	46	8.26								
	390	47	8.30								
	400	47.5	8.42								
	410	48	8.54								
	420	48.5	8.66								
	430	49	8.78								
	440	49.5	8.89								
	450	50	9.00								

RESISTENCIA ESPECÍFICA A LA FILTRACIÓN EN LODO TRATADO CON ÁCIDO ACÉTICO Y ACONDICIONADO CON POLÍMERO ECOFLOC 6520

Resistencia Específica de la torta	3.128E+12 m/kg	2.36E+12 m/kg	1.38E+12 m/kg	1.07E+12 m/kg					
Volumen de polímero añadido al lodo crudo (mL)	2.0	2.5	3.0	3.5					
Pendiente de la recta $t/V=mV+b$	0.0545	0.0388	0.0213	0.0171					
Secedad de la torta (%)	8.48	9.14	9.99	9.56					
Peso de la torta (g)	41.12	36.76	33.55	36.16					
Tiempo (min)	Tiempo (s)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)
0.00	0	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
0.17	10	10	1.00	10	1.00	20	0.50	24	0.42
0.33	20	17	1.18	20	1.00	32	0.63	39	0.51
0.50	30	23	1.30	26	1.15	40	0.75	46	0.65
0.67	40	27	1.48	31	1.29	45	0.89	52	0.77
0.83	50	30	1.67	35	1.43	50	1.00	56	0.89
1.00	60	33	1.82	39	1.54	53	1.13	59	1.02
1.17	70	36	1.94	41	1.71	56	1.25	61	1.15
1.33	80	39	2.05	45	1.78	60	1.33		
1.50	90	41	2.20	47	1.91				
1.67	100	43	2.33	50	2.00				
1.83	110	45	2.44	52	2.12				
2.00	120	47	2.55	53	2.26				
2.17	130	49	2.65	55	2.36				
3	140	51	2.75	57	2.46				
4	150	52	2.88	58	2.59				
5	160	53	3.02	60	2.67				
10	170	54	3.15						
	180	56	3.21						
	190	57	3.33						
	200	58	3.45						
	210	60	3.50						

RESISTENCIA ESPECÍFICA A LA FILTRACIÓN EN LODO TRATADO CON ÁCIDO ACÉTICO Y ACONDICIONADO CON POLÍMERO ECOFLOC 6520

Resistencia Específica de la torta		3.128E+12 m/kg	2.36E+12 m/kg	1.38E+12 m/kg	1.07E+12 m/kg				
Volumen de polímero añadido al lodo crudo (mL)		2.0	2.5	3.0	3.5				
Pendiente de la recta $t/V=mV+b$		0.0545	0.0388	0.0213	0.0171				
Sequedad de la torta (%)		8.48	9.14	9.99	9.56				
Peso de la torta (g)		41.12	36.76	33.55	36.16				
Tiempo		Volumen	t/v	Volumen	t/v	Volumen	t/v	Volumen	t/v
(min)	(s)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)
0.00	0	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
0.17	10	10	1.00	10	1.00	20	0.50	24	0.42
0.33	20	17	1.18	20	1.00	32	0.63	39	0.51
0.50	30	23	1.30	26	1.15	40	0.75	46	0.65
0.67	40	27	1.48	31	1.29	45	0.89	52	0.77
0.83	50	30	1.67	35	1.43	50	1.00	56	0.89
1.00	60	33	1.82	39	1.54	53	1.13	59	1.02
1.17	70	36	1.94	41	1.71	56	1.25	61	1.15
1.33	80	39	2.05	45	1.78	60	1.33		
1.50	90	41	2.20	47	1.91				
1.67	100	43	2.33	50	2.00				
1.83	110	45	2.44	52	2.12				
2.00	120	47	2.55	53	2.26				
2.17	130	49	2.65	55	2.36				
3	140	51	2.75	57	2.46				
4	150	52	2.88	58	2.59				
5	160	53	3.02	60	2.67				
10	170	54	3.15						
	180	56	3.21						
	190	57	3.33						
	200	58	3.45						
	210	60	3.50						

RESISTENCIA ESPECÍFICA A LA FILTRACIÓN EN LODO TRATADO CON ÁCIDO PERACÉTICO Y ACONDICIONADO CON POLÍMERO ECOFLOC 6120

Resistencia Específica de la torta		5.12E+12 m/kg		3.93E+12 m/kg		7.49E+11 m/kg		7.97E+11 m/kg	
Volumen de polímero añadido al lodo crudo		1.5		2.0		2.5		3.0	
Pendiente de la recta $t/V=mV+b$		0.1198		0.088		0.0122		0.0123	
Sequedad de la torta (%)		6.49		6.7		9.25		10.04	
Peso de la torta (g)		47.31		50.15		34.7		32.88	
Time (min)	Time (s)	Volume (mL)	t/V (s/mL)						
0.00	0	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
0.17	10	5	2.00	5	2.00	15	0.67	20	0.50
0.33	20	7	2.86	7	2.86	30	0.67	35	0.57
0.50	30	9	3.33	10.5	2.86	42	0.71	46	0.65
0.67	40	11	3.64	12.5	3.20	50	0.80	55	0.73
0.83	50	13	3.85	15	3.33	58	0.86	60	0.83
1.00	60	15	4.00	17	3.53				
1.17	70	16.5	4.24	18.5	3.78				
1.33	80	18	4.44	20	4.00				
1.50	90	19.5	4.62	21.5	4.19				
1.67	100	21	4.76	23	4.35				
1.83	110	22	5.00	24	4.58				
2.00	120	23.5	5.11	25.5	4.71				
2.17	130	25	5.20	27	4.81				
3	140	26.5	5.28	28	5.00				
4	150	28	5.36	29.5	5.08				
5	160	29	5.52	30.5	5.25				
10	170	30.5	5.57	31.5	5.40				
	180	31	5.81	32.5	5.54				
	190	32	5.94	34	5.59				
	200	33.5	5.97	40	5.00				
	210	34.5	6.09	41	5.12				
	220	35.5	6.20	42	5.24				
	230	36.5	6.30	43	5.35				

Tiempo		Volumen	t/v	Volumen	t/v	Volumen	t/v	Volumen	t/v
(min)	(s)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)
	240	37.5	6.40	43.5	5.52				
	250	38.5	6.49	44.5	5.62				
	260	39.5	6.58	45.5	5.71				
	270	40.5	6.67	46.5	5.81				
	280	41	6.83	47	5.96				
	290	42	6.90	48	6.04				
	300	43	6.98	49	6.12				
	310	44	7.05	50	6.20				
	320	44.5	7.19						
	330	45	7.33						
	340	46	7.39						
	350	47	7.45						
	360	48	7.50						
	370	48.5	7.63						
	380	49.5	7.68						

RESISTENCIA ESPECÍFICA A LA FILTRACIÓN EN LODO TRATADO CON ÁCIDO PERACÉTICO Y ACONDICIONADO CON POLÍMERO ECOFLOC 6520

Resistencia Especifica de la torta	7.01E+12 m/kg	8.63E+11 m/kg	1.06E+12 m/kg						
Volumen de polímero añadido al lodo									
crudo (mL)	4.50	6.5	7.5						
Pendiente de la recta $t/V=mV+b$	0.1174	0.0147	0.0189						
Sequedad de la torta (%)	8.91	8.72	8.23						
Peso de la torta (g)	37.99	35.48	38.65						
Tiempo		Volumen		t/V		Volumen		t/V	
(min)	(s)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)	(mL)	(s/mL)
0.00	0	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
0.17	10	5	2.00	12	0.83	10	1.00		
0.33	20	8	2.50	27	0.74	20	1.00		
0.50	30	11	2.73	36	0.83	27	1.11		
0.67	40	13.5	2.96	45	0.89	33	1.21		
0.83	50	16	3.13	50	1.00	40	1.25		
1.00	60	17.5	3.43	55	1.09	46	1.30		
1.17	70	19	3.68	60	1.17	52	1.35		
1.33	80	20.5	3.90			55	1.45		
1.50	90	22	4.09			59	1.53		
1.67	100	23	4.35			61	1.64		
1.83	110	25	4.40						
2.00	120	26.5	4.53						
2.17	130	28	4.64						
3	140	29.5	4.75						
4	150	30.5	4.92						
5	160	31	5.16						
10	170	33	5.15						
	180	34	5.29						
	190	35	5.43						
	200	36	5.56						
	210	37	5.68						
	220	38	5.79						
	230	39	5.90						

Tiempo (min)	(s)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)	Volumen (mL)	t/v (s/mL)
	240	40	6.00				
	250	41	6.10				
	260	42	6.19				
	270	43	6.28				
	280	44	6.36				
	290	45	6.44				
	300	46	6.52				
	310	46.5	6.67				
	320	47.5	6.74				
	330	48	6.88				
	340	49	6.94				
	350	50	7.00				

ETAPA V. SOLUBILIZACIÓN DE METALES EN LODO ACIDIFICADO.**LODO TRATADO CON ÁCIDO ACÉTICO**

26/07/2000					
METAL	Concentración total	Concentración soluble		FSc	FSt
	en lodo crudo	Lodo crudo	Lodo tratado		
Arsénico total	0.0700	0.0000	0.0000	0%	0%
Cadmio total	0.0230	0.0000	0.0000	0%	0%
Cromo total	0.0208	0.0130	0.0190	62%	91%
Cobre total	1.6900	0.0270	0.0080	2%	0%
Níquel total	0.1730	0.0180	0.0220	10%	13%
Plomo total	1.6820	0.0230	0.1210	1%	7%
Zinc total	8.3240	0.0540	1.1290	1%	14%

22/08/2000					
METAL	Concentración total	Concentración soluble		FSc	FSt
	en lodo crudo	Lodo crudo	Lodo tratado		
Arsénico total	0.088	0.0000	0.0000	0%	0%
Cadmio total	0.060	0.0000	0.0000	0%	0%
Cromo total	0.570	0.0580	0.0800	10%	14%
Cobre total	3.778	0.0210	0.0150	1%	0%
Mercurio total	0.004	0.0009	0.0008	21%	19%
Níquel total	0.384	0.0250	0.0280	7%	7%
Plomo total	1.025	0.0000	0.0000	0%	0%
Zinc total	10.339	0.0980	0.3930	1%	4%

FSc: Fracción soluble en lodo crudo

FSt: Fracción soluble en lodo tratado

LODO TRATADO CON ÁCIDO PERACÉTICO

27/09/2000					
METAL	Concentración total	Concentración soluble		FSc	FSt
	en lodo crudo	Lodo crudo	Lodo tratado		
Arsénico total	0.138	0.000	0.0115	0%	8%
Cadmio total	0.019	0.000	0.0000	0%	0%
Cromo total	0.461	0.000	0.0000	0%	0%
Cobre total	3.628	0.000	0.1600	0%	4%
Níquel total	0.322	0.000	0.0250	0%	8%
Plomo total	2.120	0.000	0.0000	0%	0%
Zinc total	14.255	0.137	3.8860	1%	27%

FSc: Fracción soluble en lodo crudo

FSt: Fracción soluble en lodo tratado

ETAPA VI. ESTABILIZACIÓN DE LODO BIOLÓGICO CON ÁCIDO PERACÉTICO

21/01/2002

Dosis ppm	pH	Sólidos totales %	Coliformes fecales NMP/g ST	Huevos de helmintos, huevos/g ST		
				Viables	No viables	Totales
0	7.28	1.04	1.70E+06	62.1	3.0	65.1
250	5.02	0.91	6.34E+03	50.7	11.8	62.6
500	4.38	0.91	1.52E+02	33.8	47.3	81.1
750	4.21	0.91	3.00E+00	27.9	44.0	71.9
1000	4	0.86	3.00E+00	10.7	68.0	78.7

04/02/2002

Dosis ppm	pH	Sólidos totales %	Coliformes fecales NMP/g ST	Huevos de helmintos, huevos/g ST		
				Viables	No viables	Totales
0	7.3	0.90	2.11E+06	68.2	1.2	69.3
250	4.7	0.92	2.83E+02	37.3	10.7	48.0
500	4.25	0.63	1.49E+01	29.7	29.7	59.4
750	4.1	0.93	3.00E+00	11.2	26.4	37.7
1000	3.91	0.85	3.00E+00	3.7	36.7	40.4

11/02/2002

Dosis ppm	pH	Sólidos totales %	Coliformes fecales NMP/g ST	Huevos de helmintos, huevos/g ST		
				Viables	No viables	Totales
0	7.34	1.07	5.62E+06	57.6	3.9	61.5
250	4.81	1.08	9.35E+02	35.5	11.5	47.0
500	4.37	1.22	4.90E+01	11.9	16.2	28.1
750	4.16	1.16	3.00E+00	9.9	21.6	31.5
1000	4.05	1.13	3.00E+00	3.7	36.1	39.8

ANEXO IV

Análisis estadísticos

ANEXO IV. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

A.3.1. Etapa I.

Para determinar la dosis recomendable del ácido acético, se hizo un análisis de varianza por medio de un diseño de bloques completamente al azar, en donde la variable de respuesta fue la eficiencia de remoción de los microorganismos (coliformes fecales y huevos de helminto) y los tratamientos las dosis de ácido acético (0, 3,700, 7,300, 11,000, 14,700, 18,400 y 22,000). El análisis se hizo por separado, es decir uno para coliformes fecales y otro para huevos de helminto.

A.3.1.1 Ácido acético

Coliformes fecales.

Para el análisis de los resultados de coliformes fecales de la Etapa I se plantearon las siguientes hipótesis:

- $H_0: t_1 = t_2 = t_3 \dots$ es decir que no hay diferencia significativa entre los tratamientos.
- $H_1: t_1 \neq t_2 \neq t_3 \dots$ es decir que al menos uno de los tratamientos es diferente.

Los resultados experimentales se muestran en la Tabla A.3.1.

Tabla A.3.1. Destrucción de coliformes fecales en los tratamientos con ácido acético (en unidades log).

Dosis Factor	Repeticiones (bloques)			Y_i
	1	2	3	
0	0.0	0.0	0.0	0.00
3700	1.4	0.2	2.0	3.62
7300	4.4	1.8	2.0	8.21
11000	5.2	4.3	6.0	15.51
14700	5.6	4.3	6.3	16.14
18400	5.6	4.3	6.2	16.06
22000	5.6	4.6	6.4	16.49
Y_j	27.68	19.46	28.89	76.03

Con los resultados fue posible realizar el análisis de varianza que se muestra en la Tabla A.3.2.

Tabla A.3.2. Análisis de varianza para el experimento de destrucción de coliformes fecales con distintas dosis de ácido acético.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀
T (Dosis)	95.21	6.00	15.87	35.15
B				
(muestrcos)	7.52	2.00	3.76	8.33
Error	5.42	12	0.45	
Total	108.14	20		

Para la F de tablas, se utilizó un nivel de confianza del 95%, lo que implica un error $\alpha=0.05$. Así el valor de $F_{0.05, 6, 12} = 3.00$, que al compararlo con el calculado de 35.15 se comprueba que $F_{calculada} \gg F_{tablas}$, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Una vez comprobado que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, por efecto del ácido acético, se procede a realizar una comparación estadística de medias múltiples de Duncan (Montgomery, 1991), para comparar las medias entre los tratamientos. Para ésto, se colocaron los promedios de remoción de coliformes fecales (en unidades log) en forma ascendente como se muestra en la Tabla A.3.3.

Tabla A.3.3. Remociones promedio de coliformes fecales con cada tratamiento (en unidades log).

	Promedio
Y1	0.00
Y2	1.21
Y3	2.74
Y4	5.17
Y6	5.35
Y5	5.38
Y7	5.50

Posteriormente, se definió el error estándar de cada promedio con la fórmula:

$$SY_i = \sqrt{\frac{MS_E}{b}} \quad (A.3.1)$$

Donde

SY_i: error estándar

MS_E: media de la suma de cuadrados del error

B: número de bloques

Sustituyendo

$$SY_i = \sqrt{\frac{0.54}{3}} = 0.42 \text{ para 12 grados de libertad y un } \alpha=0.05.$$

A continuación se obtienen los intervalos significativos de Duncan, $\gamma\alpha(p, f)$ donde: $\gamma\alpha$ = intervalo obtenido de la tabla de γ correspondiente con α , p = tratamientos y f =grados de libertad. El número de intervalos se obtienen con $a - 1$ ($7-1=6$), y se muestran en la Tabla A.3.4.

Tabla A.3.4. Intervalos significativos de Duncan para el tratamiento con ácido acético (coliformes fecales).

Número	Intervalo	R(0.05, GL)	R.
1	R2	3.08	1.19
2	R3	3.23	1.25
3	R4	3.33	1.29
4	R5	3.36	1.30
5	R6	3.40	1.32
6	R7	3.42	1.33

Para realizar las comparaciones entre los promedios de los tratamientos se elaboró la tabla A.3.5, en la cual se indica en la última columna si existe o no diferencia significativa entre los tratamientos comparados en cada uno de los renglones.

Tabla A.3.5. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo tratado con ácido acético.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
22000 Vs 0	5.50	1.33	R7	Diferente
22000 Vs 3700	4.29	1.32	R6	Diferente
22000 Vs 7300	2.76	1.30	R5	Diferente
22000 Vs 11000	0.33	1.29	R4	
22000 Vs 18400	0.14	1.25	R3	
22000 Vs 14700	0.12	1.19	R2	
14700 Vs 0	5.38	1.32	R6	Diferente
14700 Vs 3700	4.17	1.30	R5	Diferente
14700 Vs 7300	2.64	1.29	R4	Diferente
14700 Vs 11000	0.21	1.25	R3	
14700 Vs 18400	0.03	1.19	R2	
18400 Vs 0	5.35	1.30	R5	Diferente
18400 Vs 3700	4.15	1.29	R4	Diferente
18400 Vs 7300	2.62	1.25	R3	Diferente
18400 Vs 11000	0.18	1.19	R2	
11000 Vs 0	5.17	1.29	R4	Diferente
11000 Vs 3700	3.96	1.25	R3	Diferente
11000 Vs 7300	2.43	1.19	R2	Diferente
7300 Vs 0	2.74	1.25	R3	Diferente
7300 Vs 3700	1.53	1.19	R2	Diferente
3700 Vs 0	1.21	1.19	R2	Diferente

De acuerdo con la tabla anterior, se puede observar que en la mayoría de los tratamientos existen diferencias significativas que indican que hay un efecto en la remoción de los coliformes fecales debido a la adición del ácido acético con excepción de las dosis mayores o iguales a 11,000 ppm. Con base en ello, es posible emplear una dosis de 11,000 ppm o mayor para reducir la concentración de coliformes fecales. Sin embargo, es necesario comparar las concentraciones alcanzadas con esta dosis para determinar si cumplen con los límites de la normatividad para lodos clase C.

Huevos de helmintos

Para el análisis de los resultados de huevos de helmintos se siguió el mismo procedimiento descrito en el punto A.1.1, para lo cual se plantearon las siguientes hipótesis:

- $H_0: t_1 = t_2 = t_3 \dots$ es decir, no hay diferencia significativa entre los tratamientos.
- $H_1: t_1 \neq t_2 \neq t_3 \dots$ es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Los resultados de inactivación de huevos de helmintos se muestran en la Tabla A.3.6.

Tabla A.3.6. Eficiencias de remoción de huevos de helmintos obtenidas en los tratamientos con ácido acético.

Dosis Factor	Repeticiones (bloques)			Y_i
	1	2	3	
0	0.00	0.00	0.00	0.00
3700	80.00	97.18	93.80	270.98
7300	88.62	97.01	81.87	267.50
11000	69.11	95.73	69.47	234.30
14700	95.12	92.31	88.55	275.98
18400	96.75	98.03	86.64	281.42
22000	97.89	96.15	92.37	286.41
Y.j	527.48	576.41	512.69	1616.58

Con los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza que se muestra en la Tabla A.3.6.

Tabla A.3.6. Análisis de varianza para el experimento de remoción de huevos de helmintos con distintas dosis de ácido acético.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0
T (Dosis)	21312.52	6.00	3552.09	78.27
B (muestreos)	317.77	2.00	158.88	3.50
Error	544.61	12	45.38	
Total	22174.90	20		

La F de tablas, con nivel de confianza del 95 %, sería $F_{0.05, 6, 12} = 3.00$, que al compararla con la F calculada de 78.27 se comprueba que $F_{calculada} \gg F_{tablas}$, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica que al menos un tratamiento es significativamente diferente con una confianza del 95%.

Posteriormente se procedió a comparar las medias con un análisis de Duncan. Para ello se siguió el mismo procedimiento que con los conformes fecales. Los promedios de inactivación de huevos de helmintos se muestran en la Tabla A.3.7.

Tabla A.3.7. Inactivaciones promedio de huevos de helmintos con cada tratamiento.

	Promedio
Y1	0.00
Y4	78.10
Y3	89.17
Y2	90.33
Y5	91.99
Y6	93.81
Y7	95.47

Posteriormente, se definió el error estándar de cada promedio con la fórmula A.3.1 obteniendo un valor de 4.35 para 12 grados de libertad y un $\alpha=0.05$. El número de intervalos se obtienen con $a - 1(7-1=6)$, y se muestran en la Tabla A.3.8.

Tabla A.3.8. Intervalos significativos de Duncan para el tratamiento con ácido acético (huevos de helmintos).

Número	Intervalo	R(0.05, GL)	R.
1	R2	3.08	11.98
2	R3	3.23	12.56
3	R4	3.33	12.95
4	R5	3.36	13.07
5	R6	3.40	13.22
6	R7	3.42	13.30

Al igual que con los coliformes fecales, para comparar los promedios de los tratamientos se elaboró la Tabla A.3.9 en donde se indica si existe diferencia significativa entre los tratamientos comparados en cada renglón.

Tabla A.3.9. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido acético.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
22000 Vs 0	95.5	13.30	R7	Diferente
22000 Vs 11000	17.4	13.2	R6	Diferente
22000 Vs 7300	6.3	13.1	R5	
22000 Vs 3700	5.1	13.0	R4	
22000 Vs 14700	3.5	12.6	R3	
22000 Vs 18400	1.7	12.0	R2	
18400 Vs 0	93.8	13.2	R6	Diferente
18400 Vs 11000	15.7	13.1	R5	Diferente
18400 Vs 7300	4.6	13.0	R4	
18400 Vs 3700	3.5	12.6	R3	
18400 Vs 14700	1.8	12.0	R2	
14700 Vs 0	92.0	13.1	R5	Diferente
14700 Vs 11000	13.9	13.0	R4	Diferente
14700 Vs 7300	2.8	12.6	R3	
14700 Vs 3700	1.7	12.0	R2	
3700 Vs 0	90.3	13.0	R4	Diferente
3700 Vs 11000	12.2	12.6	R3	
3700 Vs 7300	1.2	12.0	R2	
7300 Vs 0	89.2	12.6	R3	Diferente
7300 Vs 11000	11.1	12.0	R2	
11000 Vs 0	78.1	12	R2	Diferente

Con este análisis se puede afirmar que sólo existen diferencias significativas entre los tratamientos con la dosis inicial y entre las dosis de 11,000 ppm y mayores.

A.3.1.2. Ácido peracético

El análisis de los resultados obtenidos con ácido peracético se realizó de manera similar al de los resultados de las pruebas con ácido acético. Por tal motivo, en este apartado así como en los apartados de los ácidos perclórico y sulfúrico únicamente se presentarán los resultados de la prueba de ANOVA para indicar si existe o no diferencia entre los tratamientos. En caso afirmativo, se presentará además la tabla de comparación de medias de Duncan para determinar aquellos tratamientos entre los que existan dichas diferencias.

Coliformes fecales.

Del análisis de varianza para una F de tablas $F_{0.05,6,12}=3.00$ y una F calculada $F_o=90.69$, se concluye que el factor dosis es significativo, rechazándose la hipótesis nula $T=T=0$ y se acepta la hipótesis alterna T son diferentes de $=0$ al menos para un tratamiento. Por lo tanto después de realizar la comparación de las medias de Duncan se obtuvieron los resultados de la Tabla A.3.10.

Tabla A.3.10. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo tratado con ácido peracético.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
5000 Vs 0	6.86	2.46	R7	Diferente
5000 Vs 1000	0.00	2.45	R6	
5000 Vs 1700	0.00	2.42	R5	
5000 Vs 2500	0.00	2.40	R4	
5000 Vs 3300	0.00	2.33	R3	
5000 Vs 4200	0.00	2.22	R2	
4200 Vs 0	6.86	2.45	R6	Diferente
4200 Vs 1000	0.00	2.42	R5	
4200 Vs 1700	0.00	2.40	R4	
4200 Vs 2500	0.00	2.33	R3	
4200 Vs 3300	0.00	2.22	R2	
3300 Vs 0	6.86	2.42	R5	Diferente
3300 Vs 1000	0.00	2.40	R4	
3300 Vs 1700	0.00	2.33	R3	
3300 Vs 2500	0.00	2.22	R2	
2500 Vs 0	6.86	2.40	R4	Diferente
2500 Vs 1000	0.00	2.33	R3	
2500 Vs 1700	0.00	2.22	R2	
1700 Vs 0	6.86	2.33	R3	Diferente
1700 Vs 1000	0.00	2.22	R2	
1000 Vs 0	6.86	2.22	R2	Diferente

De acuerdo con lo anterior, no existen diferencias significativas entre los tratamientos con ácido peracético, únicamente con la dosis de 0 ppm (lodo crudo).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Huevos de helmintos.

Al comparar la F de tablas ($F_{0.05,6,12}=3.00$) con la F calculada ($F_o=83.54$), se concluye que el factor dosis es significativo, por lo cual se realizó la comparación de las medias de Duncan y se obtuvo la Tabla A.3.11.

Tabla A.3.11. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido peracético.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
5000 Vs 0	91.7	12.48	R7	Diferente
5000 Vs 1000	11.9	12.4	R6	
5000 Vs 1700	6.3	12.3	R5	
5000 Vs 2500	5.5	12.1	R4	
5000 Vs 3300	1.0	11.8	R3	
5000 Vs 4200	0.5	11.2	R2	
4200 Vs 0	91.2	12.4	R6	Diferente
4200 Vs 1000	11.4	12.3	R5	
4200 Vs 1700	5.8	12.1	R4	
4200 Vs 2500	5.0	11.8	R3	
4200 Vs 3300	0.5	11.2	R2	
3300 Vs 0	90.7	12.3	R5	Diferente
3300 Vs 1000	10.9	12.1	R4	
3300 Vs 1700	5.3	11.8	R3	
3300 Vs 2500	4.5	11.2	R2	
2500 Vs 0	86.2	12.1	R4	Diferente
2500 Vs 1000	6.4	11.8	R3	
2500 Vs 1700	0.8	11.2	R2	
1700 Vs 0	85.4	11.8	R3	Diferente
1700 Vs 1000	5.6	11.2	R2	
1000 Vs 0	79.8	11.2	R2	Diferente

Al igual que en el caso de los coliformes fecales, no existieron diferencias entre los tratamientos con ácido peracético en los resultados de inactivación de huevos de helmintos, únicamente se presentaron diferencias entre los tratamientos con APA y la dosis de 0 ppm (lodo crudo).

A.3.1.3. Ácido perclórico.

Coliformes fecales.

Para la F de tablas, se uso un nivel de confianza del 95%, lo que implica un error $\alpha=0.05$. Así el valor de $F_{0.05, 6, 12} = 3.00$, que al compararlo con la calculada de 14.52 se comprueba que $F_{calculada} >> F_{tablas}$, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir que sí existen diferencias significativas entre los tratamientos. Por ello, se procedió a realizar en análisis de medias de Duncan, con lo cual se obtuvo la Tabla A.3.12.

Tabla A.3.12. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo tratado con ácido perclórico.

Comparación	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
32900 Vs 0	5.12	1.45	R7	Diferente
32900 Vs 2600	3.14	1.44	R6	Diferente
32900 Vs 3500	3.14	1.42	R5	Diferente
32900 Vs 5100	2.10	1.41	R4	Diferente
32900 Vs 8000	1.63	1.37	R3	Diferente
32900 Vs 14400	1.60	1.30	R2	Diferente
14400 Vs 0	3.52	1.44	R6	Diferente
14400 Vs 2600	1.54	1.42	R5	Diferente
14400 Vs 3500	1.54	1.41	R4	Diferente
14400 Vs 5100	0.50	1.37	R3	
14400 Vs 8000	0.03	1.30	R2	
8000 Vs 0	3.49	1.42	R5	Diferente
8000 Vs 2600	1.51	1.41	R4	Diferente
8000 Vs 3500	1.51	1.37	R3	Diferente
8000 Vs 5100	0.48	1.30	R2	
5100 Vs 0	3.02	1.41	R4	Diferente
5100 Vs 2600	1.04	1.37	R3	
5100 Vs 3500	1.04	1.30	R2	
3500 Vs 0	1.98	1.37	R3	Diferente
3500 Vs 2600	0.00	1.30	R2	
2600 Vs 0	1.98	1.30	R2	Diferente

Por lo anterior, se puede afirmar que la dosis más alta de 32,900 ppm presentó diferencias significativas con las dosis de 2,600, 3,500 y 5,100 ppm. Por lo demás, no existen diferencias significativas entre las otras dosis, excepto con la dosis de 0 ppm (lodo crudo).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A.1.3.2. Huevos de helmintos.

Al obtener la F de tablas, con nivel de confianza del 95% ($F_{0.05, 6, 12} = 3.00$) y compararla con la F calculada ($F_o=59.42$) se comprueba que $F_{calculada} >> F_{tablas}$, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica que al menos un tratamiento es significativamente diferente con una confianza del 95%. Por lo tanto se procedió a realizar la comparación de las medias de Duncan con lo cual se elaboró la Tabla A.3.13 para verificar los tratamientos entre los que existen diferencias.

Tabla A.3.13. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido perclórico.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
32900 Vs 0	95.9	14.88	R7	Diferente
32900 Vs 2600	16.7	14.8	R6	Diferente
32900 Vs 8000	14.5	14.6	R5	
32900 Vs 3500	13.5	14.5	R4	
32900 Vs 5100	7.1	14.1	R3	
32900 Vs 14400	1.3	13.4	R2	
14400 Vs 0	94.6	14.8	R6	Diferente
14400 Vs 2600	15.4	14.6	R5	Diferente
14400 Vs 8000	13.2	14.5	R4	
14400 Vs 3500	12.2	14.1	R3	
14400 Vs 5100	5.8	13.4	R2	
5100 Vs 0	88.8	14.6	R5	Diferente
5100 Vs 2600	9.6	14.5	R4	
5100 Vs 8000	7.4	14.1	R3	
5100 Vs 3500	6.4	13.4	R2	
3500 Vs 0	82.4	14.5	R4	Diferente
3500 Vs 2600	3.2	14.1	R3	
3500 Vs 8000	1.0	13.4	R2	
8000 Vs 0	81.4	14.1	R3	Diferente
8000 Vs 2600	2.1	13.4	R2	
2600 Vs 0	79.2	13.4	R2	Diferente

Con este análisis se puede afirmar que sólo existen diferencias significativas entre los tratamientos con la dosis de 0 ppm (lodo crudo) y entre las dosis de 32,900 y 14,400 con la de 2,600.

A.3.1.3 Ácido sulfúrico

Coliformes fecales

Del análisis de varianza se obtuvo que la F calculada ($F_0=25.54$) es mayor que la F de tablas ($F_{.05,6,12}=3.00$) con lo que se concluye que el factor dosis es significativo. Por ello se realizó el análisis de medias de Duncan con lo que se obtuvo la Tabla A.3.14.

Tabla A.3.14. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo tratado con ácido sulfúrico.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
57600 Vs 0	5.39	1.33	R7	Diferente
57600 Vs 4400	2.58	1.32	R6	Diferente
57600 Vs 6100	1.94	1.31	R5	Diferente
57600 Vs 8900	1.79	1.30	R4	Diferente
57600 Vs 14000	0.20	1.26	R3	
57600 Vs 25100	0.09	1.20	R2	
25100 Vs 0	5.30	1.32	R6	Diferente
25100 Vs 4400	2.49	1.31	R5	Diferente
25100 Vs 6100	1.85	1.30	R4	Diferente
25100 Vs 8900	1.70	1.26	R3	Diferente
25100 Vs 14000	0.11	1.20	R2	
14000 Vs 0	5.19	1.31	R5	Diferente
14000 Vs 4400	2.38	1.30	R4	Diferente
14000 Vs 6100	1.73	1.26	R3	Diferente
14000 Vs 8900	1.59	1.20	R2	Diferente
8900 Vs 0	3.60	1.30	R4	Diferente
8900 Vs 4400	0.79	1.26	R3	
8900 Vs 6100	0.14	1.20	R2	
6100 Vs 0	3.46	1.26	R3	Diferente
6100 Vs 4400	0.65	1.20	R2	
4400 Vs 0	2.81	1.20	R2	Diferente

De acuerdo con la Tabla A.3.14, no existen diferencias significativas entre las dosis superiores a 14,000 ppm así como entre las dosis de 4,400/8,900, 4,400/6,100 y 6,100/8,900, mientras que entre el resto sí existieron dichas diferencias.

Huevos de helmintos.

Del análisis de varianza se obtiene una F calculada ($F_o=6.23$) mayor a la F de tablas ($F_{.05,6,12}=3.00$) por lo que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Así, se procedió a realizar el análisis de medias de Duncan y se elaboró la Tabla A.3.15.

Tabla A.3.15. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido sulfúrico.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
57600 Vs 0	76.4	36.7	R7	Diferente
57600 Vs 4400	16.7	36.5	R6	
57600 Vs 6100	15.7	36.0	R5	
57600 Vs 8900	6.5	35.7	R4	
57600 Vs 14000	4.9	34.7	R3	
57600 Vs 25100	1.8	33.0	R2	
25100 Vs 0	74.6	36.5	R6	Diferente
25100 Vs 4400	14.9	36.0	R5	
25100 Vs 6100	13.9	35.7	R4	
25100 Vs 8900	4.6	34.7	R3	
25100 Vs 14000	3.1	33.0	R2	
14000 Vs 0	71.5	36.0	R5	Diferente
14000 Vs 4400	11.8	35.7	R4	
14000 Vs 6100	10.8	34.7	R3	
14000 Vs 8900	1.5	33.0	R2	
8900 Vs 0	69.9	35.7	R4	Diferente
8900 Vs 4400	10.3	34.7	R3	
8900 Vs 6100	9.2	33.0	R2	
6100 Vs 0	60.7	34.7	R3	Diferente
6100 Vs 4400	1.0	33.0	R2	
4400 Vs 0	59.6	33	R2	Diferente

De los resultados se obtuvo que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con ácido sulfúrico, únicamente entre aquellos que recibieron ácido y el lodo crudo (0 ppm).

A.3.2. Etapa III.

En esta etapa se realizaron pruebas para determinar el efecto del tiempo de contacto en coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helmintos al añadir ácidos acético y peracético.

A.3.2.1 Ácido acético.

Coliformes fecales.

De acuerdo con el análisis de varianza, la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$) es mayor que la F calculada ($F_0=1.76$) con lo que se concluye que no existe diferencia significativa entre los tratamientos y por lo tanto el tiempo de contacto en el intervalo estudiado (2 a 30 min) no es significativo.

Salmonella spp.

Como resultado del análisis de varianza se obtuvo que la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$) es mayor que la F calculada ($F_0=2.68$) por lo que no existe diferencia significativa entre los tratamientos y el tiempo de contacto no es significativo.

Huevos de helmintos

Al realizar el análisis de varianza para los huevos de helmintos, la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$) es menor que la F calculada ($F_0=41.19$) por lo que el tiempo es un factor significativo en la reducción de este parámetro. Por lo anterior, se realizó el análisis de medias de Duncan para determinar aquellos tratamientos entre los que existe diferencia significativa. Los resultados se muestran en la Tabla A.3.16.

TESIS CON
FALLA DE CUBIEN

Tabla A.3.16. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido acético a diferentes tiempos de contacto.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
15 Vs 0	69.90	5.75	R6	Diferente
15 Vs 10	10.82	5.67	R5	Diferente
15 Vs 2	8.45	5.56	R4	Diferente
15 Vs 5	7.62	5.41	R3	Diferente
15 Vs 30	0.76	5.15	R2	
30 Vs 0	69.14	5.67	R5	Diferente
30 Vs 10	10.06	5.56	R4	Diferente
30 Vs 2	7.69	5.41	R3	Diferente
30 Vs 5	6.86	5.15	R2	Diferente
5 Vs 0	62.28	5.56	R4	Diferente
5 Vs 10	3.20	5.41	R3	
5 Vs 2	0.83	5.15	R2	
2 Vs 0	61.45	5.41	R3	Diferente
2 Vs 10	2.37	5.15	R2	
10 Vs 0	59.08	5.15	R2	Diferente

De acuerdo con la Tabla A.3.16, existen diferencias entre todos los tratamientos, con excepción de aquellos realizados a 30 y 15 minutos, así como entre los tiempos 2/5, 2/10 y 5/10 minutos.

A.3.2.2. Ácido Peracético.

Coliformes fecales

En este caso, el análisis de varianza demostró que la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$) es mayor que la F calculada ($F_0=2.65$), por lo que el tiempo no presenta diferencias significativas en cuanto a este parámetro.

Salmonella spp.

Al igual que para los coliformes fecales, este parámetro no presentó diferencias significativas de acuerdo con el análisis de varianza, el cual demostró que la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$) es mayor que la F calculada ($F_0=2.25$).

Huevos de helmintos

Para este parámetro, el análisis de varianza demostró que existen diferencias entre los tratamientos (tiempos) ya que la F calculada ($F_0=464.50$) fue mayor que la F de tablas ($F_{0.05,5,15}=2.90$). Por ello, se procedió al análisis de las medias de Duncan el cual arrojó los datos de la Tabla A.3.17.

Tabla A.3.17. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de huevos de helmintos en lodo tratado con ácido peracético a diferentes tiempos de contacto.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
30 Vs 0	92.90	5.75	R6	Diferente
30 Vs 2	11.36	5.67	R5	Diferente
30 Vs 5	3.22	5.56	R4	
30 Vs 15	0.61	5.41	R3	
30 Vs 10	0.39	5.15	R2	
10 Vs 0	92.51	5.67	R5	Diferente
10 Vs 2	10.98	5.56	R4	Diferente
10 Vs 5	2.83	5.41	R3	
10 Vs 15	0.22	5.15	R2	
15 Vs 0	92.29	5.56	R4	Diferente
15 Vs 2	10.75	5.41	R3	Diferente
15 Vs 5	2.61	5.15	R2	
5 Vs 0	89.68	5.41	R3	Diferente
5 Vs 2	8.14	5.15	R2	Diferente
2 Vs 0	81.54	5.15	R2	Diferente

Del análisis presentado se obtiene que no existen diferencias significativas al emplear tiempos superiores a 5 minutos, mientras que sí existen éstas entre todos los tratamientos al compararlos con los tiempos de 0 y 2 minutos.

A.3.3. Etapa VI

Esta etapa analizó los resultados de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodo biológico tratado con diferentes dosis de ácido peracético. El análisis estadístico siguió los lineamientos mencionados en los incisos previos y se muestra a continuación.

Coliformes fecales

Del análisis de varianza se obtuvo una F calculada mayor que la F de tablas (36.8 vs. 3.26) por lo que se procedió a realizar el análisis de medias de Duncan para determinar aquellas dosis entre las que existen diferencias significativas. Los resultados se presentan en la Tabla A.3.18.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla A.3.18. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo biológico tratado con diferentes dosis de ácido peracético.

Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
1000 Vs 0	6.0	0.73	R5	Diferente
1000 Vs 250	2.6	0.72	R4	Diferente
1000 Vs 500	1.2	0.71	R3	Diferente
1000 Vs 750	0.0	0.68	R2	
750 Vs 0	6.0	0.72	R4	Diferente
750 Vs 250	2.6	0.71	R3	Diferente
750 Vs 500	1.2	0.68	R2	Diferente
500 Vs 0	4.8	0.71	R3	Diferente
500 Vs 250	1.4	0.68	R2	Diferente
250 Vs 0	3.4	0.68	R2	Diferente

De acuerdo con lo anterior, todos los tratamientos presentaron diferencias significativas, con excepción de las dosis de 750 y 1000 ppm, debido a que en éstas se alcanzaron concentraciones por debajo del límite de detección de la técnica. Por tal motivo, la dosis requerida para lograr la estabilización será aquella que cumpla con los límites de la normatividad propuesta.

Huevos de helmintos.

Del análisis de varianza se obtuvo que existen diferencias significativas en al menos un tratamiento ya que la F calculada es mayor que la F de tablas (49.8 vs. 3.26). Por lo anterior, el análisis de las medias de Duncan se presenta en la Tabla A.3.19.

Tabla A.3.18. Comparación entre los tratamientos mediante las medias múltiples de Duncan para los resultados de coliformes fecales en lodo biológico tratado con diferentes dosis de ácido peracético.

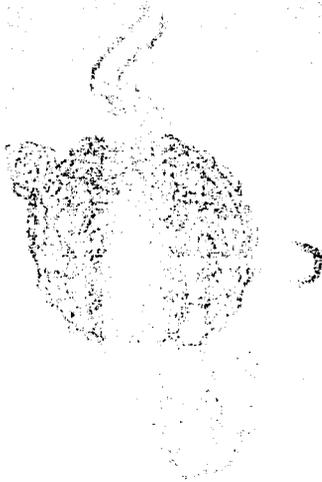
Comparaciones	Resta de Promedios	Promedio del Intervalo	Intervalo	Diferencia Significativa
1000 Vs 0	90.3	17.71	R5	Diferente
1000 Vs 250	56.3	17.46	R4	Diferente
1000 Vs 500	29.9	17.05	R3	Diferente
1000 Vs 750	16.5	16.40	R2	Diferente
750 Vs 0	73.8	17.46	R4	Diferente
750 Vs 250	39.8	17.05	R3	Diferente
750 Vs 500	13.4	16.40	R2	
500 Vs 0	60.4	17.1	R3	Diferente
500 Vs 250	26.4	16.4	R2	Diferente
250 Vs 0	34.0	16.4	R2	Diferente

Con este análisis se puede afirmar que existen diferencias significativas entre los tratamientos excepto con las dosis de 750 y 500 ppm. Así, la dosis de ácido peracético necesaria para cumplir con los límites de la normatividad propuesta es de 500 ppm.

TESIS CON
FALLA DE CALIFICACIÓN

ANEXO V

Fotografías de huevos de *Ascaris suum* dañados con ácido peracético

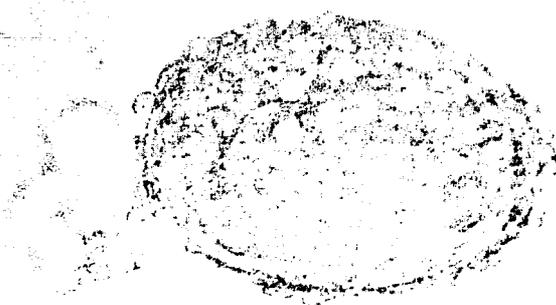


330 ppm



330 ppm

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



330 ppm



330 ppm

ANEXO VI

Uso de unidades logarítmicas para expresar la concentración de bacterias

Debido a las altas concentraciones de bacterias encontradas en la naturaleza, así como en los cultivos y estudios de laboratorio, generalmente se emplea la notación científica para expresar sus densidades. Adicionalmente, cuando se estudian procesos de desinfección las remociones son expresadas en unidades logarítmicas (base 10) para facilitar su comprensión. Esto debido a que no tiene mucho sentido expresar una reducción de 99 % (de 10^{10} a 10^8 , equivalente a 2 logs) y compararla con una de 99.99% (de 10^{10} a 10^6 , equivalente a 4 logs) puesto que uno pudiera pensar que la diferencia en concentraciones finales con las remociones anteriores es despreciable cuando en realidad es significativa y puede representar la diferencia entre cumplir o no con un valor límite de norma. Así, para expresar la concentración en unidades logarítmicas, basta con obtener el logaritmo base 10 de la concentración en número decimal o notación científica. Por su parte, para obtener la remoción en unidades logarítmicas debe restarse la concentración final a la concentración inicial, ambas expresadas como unidades log y el resultado serán los logs de remoción. La tabla A.VI.1 presenta un resumen de lo anterior.

Tabla A.VI.1. Formas de expresar la concentración de bacterias y remociones correspondientes.

Concentración de bacterias			Remoción	
NMP/g ST ^(a)	Unidades log		%	Unidades log
10,000,000,000	1×10^{10}	10	---	
1,000,000,000	1×10^9	9	90.00000000%	1
100,000,000	1×10^8	8	99.00000000%	2
10,000,000	1×10^7	7	99.90000000%	3
1,000,000	1×10^6	6	99.99000000%	4
100,000	1×10^5	5	99.99900000%	5
10,000	1×10^4	4	99.99990000%	6
1,000	1×10^3	3	99.99999000%	7
100	1×10^2	2	99.99999900%	8
10	1×10^1	1	99.99999990%	9
1	1×10^0	0	99.99999999%	10

^(a) Estas unidades son ilustrativas, pudieran ser NMP o UFC/100 mL.

Para calcular la concentración promedio, por ejemplo inicial o final, a partir de varios valores, se emplea la media geométrica en el caso de los valores decimales o en notación científica, y la media aritmética cuando se utilicen unidades log. El siguiente ejemplo ilustra lo anterior.

- Calcular la concentración promedio de bacterias si se tienen valores de 2.3×10^5 , 3.8×10^6 , 4.0×10^5 y 6.3×10^7 .

La ecuación de la media geométrica es

$$G = \sqrt[n]{x_1 * x_2 * \dots * x_n}$$

Donde

G: media geométrica

n: número de valores

x_{1-n} : valores de la concentración

Así, aplicando los valores del ejemplo se tendría que

$$G = \sqrt[4]{(2.3 \times 10^5) \times (3.8 \times 10^6) \times (4.0 \times 10^5) \times (6.3 \times 10^7)} = 2.2 \times 10^6$$

Mientras que al emplear unidades log el cálculo sería a través de la ecuación de la media aritmética

$$\bar{x} = \frac{(\log x_1) + (\log x_2) + \dots + (\log x_n)}{n}$$

Y el resultado sería el siguiente

$$\bar{x} = \frac{[\log(2.3 \times 10^5) + \log(3.8 \times 10^6) + \log(4.0 \times 10^5) + \log(6.3 \times 10^7)]}{4} = 6.34$$

Si se calcula el antilogaritmo base 10 del resultado anterior se obtiene 2.2×10^6 , resultado idéntico al obtenido con la media geométrica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO VII

Publicaciones generadas por el presente estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Artículos Internacionales:

- Barrios, J.A., Jiménez, B. y Maya, C. (2002). Tratamiento ácido de lodos residuales fisicoquímicos para reducir el contenido de microorganismos. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún, México, 27 al 31 de octubre.
- Barrios, J.A., Jiménez, B., Rodríguez, A., González, A. y Maya, C. (2001). Application of peracetic acid to physicochemical sludge to reduce its microbial content. 6th European and Organic Residuals Conference, Workshop and Exhibition. Wakefield, Inglaterra. pp. 11-14. Nov. 11-14.
- Barrios, J. A., Jiménez, B., Salgado, G., Garibay A. and Castrejón, A. (2001). Growth of faecal coliforms and *Salmonella* spp. in physicochemical sludge treated with acetic acid, *Water Science and Technology*, Vol. 44, No. 10, pp. 85-90.
- Barrios, J.A., Jiménez, B., Salgado, G., Garibay, A. and Castrejón, A. (2001). Growth of faecal coliforms and *Salmonella* spp. in physicochemical sludge treated with acetic acid. Sludge Management Entering the 3rd Millennium – Industrial, combined, water and wastewater residues. International Water Association, Taipei, Taiwan, Marzo 25-28, pp. 342-347.
- Barrios, J.A., Jiménez, B., Maya, C. y Salgado, G. (2000). Comparación de la estabilización alcohólica y el tratamiento ácido para la destrucción de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos. 2º Simposio Internacional de Tratamiento y Reúso de Aguas Residuales y Residuos Industriales. México, Nov. 6-10.

Artículos Internacionales Citados

- Barrios, J. A., Jiménez, B., Salgado, G., Garibay A. and Castrejón, A. (2001). Growth of faecal coliforms and *Salmonella* spp. in physicochemical sludge treated with acetic acid, *Water Science and Technology*, Vol. 44, No. 10, pp. 85-90. citado en Fukushi, K., Babel, S. and Bhatkral, S. (2003) Survival of *Salmonella* spp. in a simulated acid-phase anaerobic digester treating sewage sludge. *Bioresour. Technology*. Vol. 86, pp. 53-57.

Artículos Nacionales

- González, A., Rodríguez, A., Barrios, J. A., Maya, C. y Jiménez, B. Evaluación del tratamiento de lodo fisicoquímico con ácidos acético y peracético para producir biosólidos XIII Congreso Nacional FEMISCA 2002. "Una Gestión Ambiental por el Bien del Planeta". Tomo I, pp. 251-255. Abril del 2002.
- Barrios, J. A., Jiménez, B., González, O., Salgado, G., Sanabria, L. e Iturbe R. Destrucción de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos por vía ácida. XII Congreso Nacional 2000. Ciencia y Conciencia "Compromiso Nacional con el Medio Ambiente". Morelia, Michoacán, 21 al 24 de marzo del 2000. pp 683-692.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN