



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA

CAMPUS MORELOS

ESTABILIZACIÓN Y DESECACIÓN DE LODOS DE FOSAS
SÉPTICAS EN UN HUMEDAL ARTIFICIAL

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

(AMBIENTAL-AGUA)

P R E S E N T A:

JUAN FRANCISCO DE LEÓN IBARRA

TUTOR:

DRA. GABRIELA E. MOELLER CHÁVEZ



MÉXICO D.F. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. María del Carmen Durán Domínguez

Secretario: Dr. Enrique César Váldez

Vocal: Dra. Gabriela Eleonora Moeller Chávez

1^{er.} Suplente: Dra. Petia Mijaylova Nacheva

2^{do.} Suplente: Dr. Jorge Luis de Victorica Almeida

Lugar donde se realizó la tesis:

Facultad de Ingeniería, UNAM, Campus Jiutepec

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA), Paseo Cuauhnáhuac No.8532, Col.
Progreso, 62550 Jiutepec, Morelos, México

TUTOR DE TESIS:

Dra. Gabriela E. Moeller Chávez

*A mi familia, por ser siempre fuente de apoyo
que se derrama de su cauce
y me ayuda a crear el canal de mi vida.*

*A Gabriela y Leonardo por ser mi corazón,
mi esencia y el motor que impulsa mi anhelo
de seguir construyendo esta realidad.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), a la Facultad de Ingeniería campus morelos, al Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt).

A mis sinodales, Dra. Gabriela Moeller Chavez, Dra. Petia Mijaylova, Dr. Jorge Luis de Victorica Almeida, Dr. Enrique César Váldez y a la Dra. Ma. Del Carmen Durán de Bazúa, cuyos comentarios y sugerencias sirvieron para enriquecer éste trabajo.

Durante el desarrollo de la investigación fue fundamental el apoyo brindado por el laboratorio de calidad del agua específicamente en las áreas de Microbiología y Físico-Químicos del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua; especialmente quiero agradecer a Lorena y Minerva por la capacitación que me brindaron para la realización de los análisis de esta tesis.

Reconozco muy especialmente el apoyo solidario y desinteresado brindado por Alfonso Falcón, Beatriz Peña y Yuridia Velasco, quienes me ayudaron en el muestreo y determinación de algunos parámetros y en general al resto de compañeros y amigos de la generación 2010-2011 de la maestría en ingeniería ambiental que hicieron menos tediosas las largas jornadas de estudio y trabajo de laboratorio.

ÍNDICE

RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1: OBJETIVOS Y ALCANCES.....	1
1.1.- Justificación	1
1.2.- Objetivos	2
1.2.1.- Objetivo general	2
1.2.2.- Objetivos específicos	2
1.3.- Metas	3
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES	4
2.1.- Lodos	4
2.1.1.- Lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR)	4
2.1.2.- Lodos provenientes de fosas sépticas	5
2.1.3.- Tratamiento convencional de lodos	5
2.1.3.1.- Espesamiento	6
2.1.3.2.- Estabilización	6
2.1.3.3.- Acondicionamiento	6
2.1.3.4.- Deshidratación de los lodos	6
2.1.3.5.- Disposición de los lodos	7
2.1.4.- Normativa ambiental mexicana respecto a los lodos y biosólidos	7
2.2.- Humedales	8
2.2.1.- Humedales naturales	8
2.2.2.- Humedales construidos para el tratamiento de aguas residuales	8
2.2.2.1.- Humedales de flujo superficial	10
2.2.2.2.- Humedales de flujo subsuperficial	11
2.2.3.- Especies vegetales usadas en la construcción de humedales	13
2.2.4.- Procesos bioquímicos en el lecho sembrado	18
2.2.5.- Humedales construidos para el tratamiento de lodos	21
2.2.5.1.- Historia y desarrollo	22
2.2.5.2.- Diseño actual	23

2.2.5.3.- Hidráulica de los humedales de lodos.....	24
2.2.5.4.- Problemas en la operación.....	25
2.2.5.5. - Calidad del producto final.....	26
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	27
3.1.- Construcción.....	28
3.1.1.- Empaques.....	28
3.1.2.- Especies vegetales	32
3.1.3.- Sistema de recolección de lixiviados y drenaje	32
3.2.- Aclimatación y arranque.....	33
3.3.- Operación	33
3.3.1.- Recepción y manejo de lodos crudos.....	34
3.3.2.- Aplicación de los lodos a los humedales	34
3.3.3.- Parámetros a medir y métodos de muestreo	35
3.3.3.1- Lodos crudos	35
3.3.3.2.- Lixiviados	37
3.3.3.3.- Lodos tratados.....	42
3.3.3.4.- Resumen de los parámetros medidos y los métodos usados.....	43
3.4.- Análisis estadístico de los datos obtenidos	44
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
4.1.- Aclimatación.....	46
4.2.- Operación del sistema	50
4.2.1.- Primera aplicación de lodos	50
4.2.2.- Segunda y tercera aplicaciones de lodos.....	53
4.3.- Seguimiento del lodo acumulado	57
4.4.- Discusión de los resultados obtenidos por parámetro	59
4.4.1.- Materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO)	59
4.4.2.- Grado de estabilización de los lodos medido como reducción de los sólidos volátiles	61
4.4.3.- Fósforo.....	65
4.4.4.- Nitrógeno	69
4.4.5.- Organismos coliformes	73
4.5.- Análisis estadístico de los resultados obtenidos	76

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
5.1.- Conclusiones	78
5.2.- Recomendaciones	80
ANEXO I: ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO	81
ANEXO II: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ORGANISMOS COLIFORMES FECALES EN LODOS Y BIOSÓLIDOS	90
ANEXO III: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTO EN LODOS Y BIOSÓLIDOS	101
ANEXO IV: MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA AUSENCIA O PRESENCIA DE <i>Salmonella</i> spp	112
ANEXO V: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL	116
ANEXO VI: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL FÓSFORO TOTAL.....	124
ANEXO VII: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)	130
ANEXO VIII: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LOS SÓLIDOS.....	135
ANEXO IX: CRECIMIENTO VEGETATIVO DE LAS PLÁNTULAS EN LAS CELDAS A Y B DURANTE LA FASE DE ACLIMATACIÓN	141
ANEXO X: CURVAS DE ELUCIÓN	147
ANEXO XI: CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL USADA DURANTE EL PERÍODO DE ACLIMATACIÓN.....	149
ANEXO XII: RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS EN LODOS CRUDOS, LIXIVIADO Y LODO ACUMULADO	150
ANEXO XIII: ANÁLISIS ESTADÍSTICO	152
ANEXO XIV: HIDRÁULICA DE LOS HUMEDALES DE FLUJO VERTICAL.....	168
BIBLIOGRAFÍA.....	178

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: Composición típica de lodos de fosas sépticas	5
Tabla 2.2: Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos	7
Tabla 2.3: Aprovechamiento de biosólidos.....	8
Tabla 3.1: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lodos crudos	36
Tabla 3.2: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lixiviados	41
Tabla 3.3: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lixiviados	42
Tabla 3.4: Resumen de parámetros a medir	43
Tabla 3.5: Esquema para el diseño de experimentos aplicado	45
Tabla 4.1: Caracterización del agua residual usada para el riego durante la aclimatación	47
Tabla 4.2: Caracterización del lodo crudo (influyente) y lixiviados (efluente) de las celdas A, B y C, para la primera carga de lodos.....	51
Tabla 4.3: Valores de los parámetros analizados para la segunda carga de lodos (influyente) y efluentes en las celdas B y C	54
Tabla 4.4: Valores de los parámetros analizados para la tercera carga de lodos (influyente) y efluentes en las celdas B y C	55
Tabla 4.5: Caracterización de los parámetros analizados en el lodo acumulado a los 42 días.....	58
Tabla 4.6: Demanda química de oxígeno total (DQO) en el influente y los efluentes lixiviados de las celdas del humedal de lodos.....	59
Tabla 4.7: Sólidos totales, sólidos totales volátiles, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos totales volátiles en las celdas experimentales	62
Tabla 4.8: Fósforo total (PT) en el influente y los efluentes lixiviados de las celdas del humedal de lodos.	66
Tabla 4.9: Formas de nitrógeno medidos en el lodo crudo (influyente), lixiviados y lodo acumulado en la planta piloto durante su evaluación	71
Tabla 4.10: Organismos coliformes fecales en el influente, lixiviados y lodo acumulado de las celdas del humedal de lodos de la planta piloto	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Humedal construido de flujo superficial (Kadlec & Wallace, 2009)	10
Figura 2.2: Humedal construido de flujo horizontal o HSSF (Geller & Höner, 2003).....	11
Figura 2.3: Humedal construido de flujo vertical o VF (Geller & Höner, 2003).....	12
Figura 2.4: Sistema de transporte de oxígeno en plantas acuáticas (Wissing & Hofmann, 2002)	13
Figura 2.5: Balance de oxígeno en un humedal construido para el tratamiento de lodos sembrado con <i>Phragmites australis</i> (Wissing & Hofmann, 2002)	14
Figura 2.6: <i>Phragmites australis</i> (University of Florida, 2009)	15
Figura 2.7: <i>Arundo donax</i> (University of Florida, 2009)	16
Figura 2.8: <i>Juncus effusus</i> (University of Florida, 2009).....	16
Figura 2.9: <i>Typha latifolia</i> (University of Florida, 2009)	17
Figura 2.10: <i>Iris pseudacorus</i> (University of Florida, 2009)	17
Figura 2.11: Corte de una planta de tratamiento de lodos (Nielsen, 2003).....	23
Figura 3.1: Detalle en planta de la estación piloto (Dibujo propio) (PE-MD= Polietileno de densidad media, en inglés, MDPE; NTN= Nivel del terreno natural; DN = Diámetro nominal; PVC = Cloruro de polivinilo).....	27
Figura 3.2: Detalle en corte de la celda A (Dibujo propio con base en Rivas, 2004)	29
Figura 3.3: Detalle en corte de la celda B (Dibujo propio con base en Nielsen, 2003; Troesch y otros, 2009; Luna-Pabello & Durán-Domínguez-de-Bazúa, 1998)	30
Figura 3.4: Detalle en corte de la celda C (Dibujo propio con base en Metcalf & Eddy Inc., 2003)	31
Figura 3.5: Contenido de agua en los puntos de la celda A	37
Figura 3.6: Efluente acumulado para la celda A.....	38
Figura 3.7: Contenido de agua en los puntos de la celda B	38
Figura 3.8: Efluente acumulado para la celda B.....	39
Figura 3.9: Contenido de agua en los puntos de la celda C	39
Figura 3.10: Efluente acumulado para la celda C.....	40
Figura 4.1: Crecimiento de las plántulas en las celdas A y B durante el período de aclimatación.....	48
Figura 4.2: Cantidad de tallos promedio por m ² en la celda A y B durante el período de aclimatación.....	49
Figura 4.3: Contenido de agua en el perfil del empaque de la celda A.....	50
Figura 4.4: Eficiencia de remoción de contaminantes por celda para la 1 ^a carga de lodos	52
Figura 4.5: Concentración de contaminantes remanentes por celda para la 2 ^a carga de lodos (influyente y efluentes)	56
Figura 4.6: Concentración de contaminantes remanentes por celda para la 3 ^a carga de lodos (influyente y efluentes)	56
Figura 4.7: Comportamiento de la demanda química de oxígeno (DQO) para las tres cargas de lodos realizadas durante la operación de la planta piloto (influyente-efluente) ..	60
Figura 4.8: Remoción de la DQO (%) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto	61

Figura 4.9: Remoción de sólidos totales y sólidos totales volátiles para las celdas B y C del humedal 63

Figura 4.10: Fotografía del lodo acumulado en la celda C 63

Figura 4.11: Fotografía del lodo acumulado en la celda B 64

Figura 4.12: Comportamiento del fósforo total (PT) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto 68

Figura 4.13: Remoción de fósforo total (PT) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto 68

Figura 4.14: Comportamiento del nitrógeno total Kjeldahl (NTK) para las tres cargas de lodos realizadas durante la operación de la planta piloto 73

Figura 4.15: Comportamiento de los organismos coliformes fecales para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto 76

Figura A-XIV-1: Modelo experimental usado por Darcy (Jury & Horton, 2004)..... 168

Figura A-XIV-2: Substrato porosos típicos, contenido de agua y conductividad hidráulica en función de la presión, h_s = Presión a saturación, K_s = Conductividad hidráulica en régimen saturado, θ_s = Contenido de agua en régimen saturado y θ_r = Contenido de agua residual (Kadlec & Wallace, 2009) 174

Figura A-XIV-3: Perfiles de contenido de agua para un sistema de flujo vertical operado por pulsos. Ciclo de operación, 4 horas (Kadlec & Wallace, 2009) 175

Figura A-XIV-4: Curvas de drenado para un humedal de flujo vertical operado por pulsos (Kadlec & Wallace, 2009) 176

NOMENCLATURA

A.- área de la sección transversal del medio poroso

A.- mL de ácido sulfúrico gastados en la titulación de la muestra

AASHTO.- *American Association of State Highway and Transportation Officials*

ADH.- Test cuyo componente activo es L-arginina

APHA.- *American Public Health Association*

API 20 E.- Es un sistema estandarizado que permite la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes, que incluye 21 test bioquímicos miniaturizados, así como una base de datos

ASTM.- *American Society for Testing and Materials*

AWWA.- *American Water Works Association*

B.- mL de ácido sulfúrico gastados en la titulación del blanco

b.- ordenada al origen

- B.R.-** bandeja de residuos
- c .-** Constante adimensional cuyo valor depende del medio poroso
- C.L.-** Caldo lactosado con púrpura de bromocresol
- C.L.T.-** Caldo lauril-triptosa con púrpura de bromocresol
- CC.-** Coeficiente de curvatura de las partículas constituyentes de un suelo
- CIT.-** Test cuyo componente activo es citrato de sodio
- CU.-** Coeficiente de uniformidad de un suelo
- d .-** diámetro medio del poro
- D₁₀.-** Diámetro donde pasa el 10 % del material cribado
- D₃₀.-** Diámetro donde pasa el 30 % del material cribado
- D₆₀.-** Diámetro donde pasa el 60 % del material cribado
- DBO₅.-** Demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días
- DN.-** Diámetro nominal de una tubería
- DQO.-** Demanda química de oxígeno
- DS.-** P o N contenido en el lodo acumulado sobre los empaques, mgP ó mgN/(m²*día)
- EFF.-** P o N presente en el lixiviado, mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2
- EPA.-** U.S. *Environmental Protection Agency*
- G.-** es la masa de la cápsula vacía, en mg a masa constante
- g.-** fuerza relativa de centrifugación
- g.-** la aceleración de la gravedad.
- G1.-** es la masa de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en mg
- G2.-** es la masa de la cápsula con el residuo, después de la calcinación, en mg
- G3.-** es la masa del crisol con el disco a masa constante, en mg

- G4.-** es la masa del crisol con el disco y el residuo seco, en mg
- G5.-** es la masa del crisol con el residuo, después de la calcinación, en mg;
- GEL.-** Test cuyo componente activo es Gelatina (origen bovino)
- h.-** carga piezométrica, m
- H.-** Número de huevos de helminto leídos en la muestra
- h₁-** carga hidráulica sobre el medio poroso
- h₂-** carga hidráulica de succión
- H₂S.-** Test cuyo componente activo es tiosulfato de sodio
- IMTA.-** Instituto Mexicano de Tecnología del Agua
- IND.-** Prueba del Indol en la cual se usa el reactivo JAMES
- INF.-** P o N presente en el agua residual usada en el proceso de aclimatación, más el P o N presente en el lodo de fosa séptica, mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2
- JAMES.-** Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E
- k .-** conductividad específica del medio poroso
- k.-** constante cuyo valor es 89.456
- K.-** constante de proporcionalidad, denominada conductividad hidráulica o permeabilidad
- K.-** porcentaje de muestra que pasó el tamiz de 10 mm (3/8")
- ℓ.-** es la longitud del medio poroso
- LDC.-** Test cuyo componente activo es L-lisina
- M.-** es la molaridad de la disolución de sulfato ferroso amoniacal utilizada en la determinación.



m.- pendiente

M1.- masa del material (grava o arena) a ensayar (g)

M2.- sumatoria de masas retenidas (g)

MDPE.- Polietileno de densidad media por sus siglas en inglés (medium density polyethylene) o PE-MD

Medio EC.- Medio utilizado para el recuento de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua, alimentos y otros materiales

Mf.- muestra de ensayo

Mt.- Cantidad mínima recomendada para realizar el análisis granulométrico de un suelo (masa total de la muestra seca, g)

n.- es la porosidad del empaque

N.- Nitrógeno

N.- normalidad del ácido sulfúrico

NH₃- Nitrógeno amoniacal

NIT 1.- Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E

NIT 2.- Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E

NL.- N-NH₄ que se pierde típicamente en los humedales construidos de flujo vertical, mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2

N-NH₄- Amonio

NO₂- Nitrito

NO₃- Nitrato

NOM.- Norma oficial mexicana

NTK.- Nitrógeno total Kjeldahl

NTN.- Nivel del terreno natural

ODC.- Test cuyo componente activo es L-ornitina



p .- presión hidrostática del punto en cuestión

P.- Fósforo

PB.- P o N contenido en la biomasa de las plantas, mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2

p_c .- presión manométrica

PR.- P o N retenido por el material del empaque, mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2

PRC.- masa retenida en cada criba (g)

PRM.- masa retenida en cada malla (g)

PT.- Fósforo total

PTAR.- Planta de tratamiento de aguas residuales

PVC.- *polyvinyl chloride* (cloruro de polivinilo)

q es la velocidad promedio sobre la sección transversal

$Q_{\text{máx}}$.- Gasto máximo

q .- Tasa hidráulica de alimentación instantánea, m/d

r .- radio de la centrífuga en cm

Re.- número de Reynolds

RPM.- Revoluciones por minuto

SDT.- son las sales disueltas totales, en mg/L

SEMARNAT.- Secretaria del Medio Ambiente y Recurso Naturales

SST.- Sólidos suspendidos totales

SSV.- Sólidos suspendidos volátiles

ST.- Sólidos totales

STV.- Sólidos totales volátiles

t .- tiempo que el agua tarda en atravesar el medio.



TDA.- Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E

TRH.- Tiempo de residencia hidráulica

UNA.- Paradero desconocido para el balance mgP ó mgN/(m²*día), ecuaciones 4-1 y 4-2

URE.- Test cuyo componente activo es Urea

USCS.- *Unified Soil Classification System*

V.- volumen de muestra, en mL

V.- volumen total de suelo,

v.- velocidad promedio del fluido en los poros de la sección transversal

V₁- es el volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración del testigo

V₂- es el volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración de la muestra

V₃- es el volumen en mL de la muestra

VP 1.- Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E

VP 2.- Reactivo para la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes el sistema API 20 E

VP.- Test cuyo componente activo es piruvato de sodio

V_w.- volumen de agua

WEF.- *Water Environment Federation*

X.- concentración (mgP/L)

x.- distancia vertical, m

Y.- absorbancia

z.- es la altura del punto en cuestión (entrada, salida o cualquier punto intermedio en el medio poroso) respecto de un cierto nivel de referencia

ρ .- la densidad del agua

$\psi (\theta)$.- El potencial capilar

θ .- Contenido volumétrico de humedad, m^3/m^3

%P.- Porcentaje de pérdida en el proceso de cribado

%RC.- Porcentaje del material retenido en las cribas

%RM.- Porcentaje del material retenido en las mallas

, Separación de millares

. Separación de decimales

μ .- viscosidad del líquido

1 Darcy= $0.987 \times 10^{-8} \text{ cm}^2$

14.- masa equivalente del nitrógeno

Nota: Esta tesis usa el punto decimal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002: Modificación del inciso 0, el encabezado en la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado signo decimal de la Tabla 21

RESUMEN

El objetivo de este proyecto fue evaluar dos diferentes composiciones de lecho filtrante (empaques) en un humedal artificial (escala piloto) para el tratamiento de lodos provenientes de fosas sépticas. Las configuraciones empleadas fueron las siguientes: granulometría uniforme sembrada inicialmente con 9 plántulas/m² de *Phragmites australis* (Celda A); granulometría estratificada sembrada inicialmente con 9 plántulas/m² de *Phragmites australis* (Celda B) y finalmente granulometría estratificada sin plantas (Celda C) como control. Las dimensiones de las celdas donde se aplicaron los empaques fueron de 2.0 x 1.0 m y 60 cm de profundidad. El período de operación de la planta piloto fue de 227 días, el cual se dividió en una fase de aclimatación (70 días), otra de carga de lodos (114 días) y, finalmente, una de seguimiento de los lodos acumulados (42 días). Durante el período de carga de los lodos se realizaron tres cargas con lodos provenientes de distintas fosas sépticas del estado de Morelos y se evaluaron los lodos crudos y los efluentes de las celdas (lixiviados), producto de la percolación. Se obtuvieron remociones de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO) por arriba del 85% y de sólidos suspendidos totales (SST) arriba del 90% para las celdas B y C. En la celda A las remociones fueron arriba de 40 y de 85%, respectivamente, debido muy probablemente al tiempo de residencia hidráulico (TRH) prácticamente nulo dada la granulometría del empaque. En cuanto a los nutrientes evaluados (nitrógeno y fósforo) la operación del sistema demostró cuán dependiente de la composición del empaque es su remoción, ya que en las celdas B y C (en ambas existe un estrato de arena) las remociones estuvieron por encima del 85%, no así en la celda A donde apenas se alcanzó una remoción cerca del 15% en ambos parámetros. Durante la tercera carga de lodos se presentó el fenómeno de colmatación del empaque en la celda C, y fue necesario picar la superficie del empaque a fin de que el agua se pudiese percolar. En la etapa de seguimiento se analizó el lodo acumulado en la superficie de los empaques y se obtuvieron reducciones de sólidos suspendidos volátiles (SSV) de alrededor del 40%, lo que es característico de un lodo estabilizado. Además los análisis de fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT) revelaron que el residuo es rico en N y P, por lo que puede ser un buen acondicionador de suelos. En cuanto a los organismos patógenos hubo una reproblicación de los coliformes. Las bacterias potencialmente patógenas, como *Salmonella*, estuvieron presentes en todas las fases del experimento. No se detectaron huevos de helminto. Debido a esto, los usos que se le podrían dar a este lodo tratado son: Usos forestales, mejoramiento de suelos y uso agrícola sin contacto directo con el usuario.

ABSTRACT

The objective of this project was evaluate 2 different compositions of a filter bed (packaging) used in a pilot scale artificial wetland with the specific objective to treat septic tank sludge. The packing materials used were as follows: uniform particle size seeded initially with 9 sprouts/m² of *Phragmites australis* (Cell A); stratified particle size seeded initially with 9 sprouts/m² of *Phragmites australis* (Cell B) and finally a stratified packing without plants (Cell C). The Cell dimensions used were 2.0 x 1.0 m and 60 cm deep. The wetland operated 227 days. This period was divided into an acclimatization phase (70 days), another where the sludge was loaded (114 days) and finally a follow-up and monitoring of the accumulated sludge (42 days). During the sludge loading period, the sludge was loaded 3 times. The sludge was obtained from different septic tanks from the state of Morelos. The raw sludge and leachate were monitored. In the follow-up period the sludge accumulated on the surface of the packaging was analyzed. During the loading period the cell effluent (leachate) was evaluated, in COD removals were at least 85% and for TSS also at least 90% for cells B and C. In cell A, 40% and 85% for COD and TSS were obtained due to granulometry problems (a very short HRT was obtained). Related to nutrient behavior, it was found a direct relation between granulometry and their removal. In cells B and C (both containing a sand layer) removals were at least 85% on the opposite side; in cell A less than 15% removals were attained. During the operation of the system in cell C was presented a phenomenon of clogging of the packing during the 3rd charge of sludge and was necessary to prick the surface of the packaging so that water could percolate. During the follow-up phase VSS reductions in the sludge accumulated were around 40% which is characteristic of a stabilized sludge; also the TP and TN analysis revealed that the residue is rich in these elements. This indicates it can be a good soil conditioner. Related to pathogenic organisms a regrowth of coliforms was observed, Salmonella was present in all phases of the experiment and no helminthes eggs were detected. Because of this, applications that could be given to the treated sludge are for: forest uses, soil amendment and agricultural use without direct contact to the user.

CAPÍTULO 1: OBJETIVOS Y ALCANCES

1.1.- Justificación

El tanque o fosa séptica es la unidad de pretratamiento de aguas residuales más usada en sistemas de tratamiento de aguas residuales descentralizados. El tanque se puede usar solo, o bien, en combinación con otros procesos para tratar el agua residual cruda antes de que sea descargada a un sistema de infiltración subsuperficial. Las fosas sépticas proveen tratamiento primario, creando condiciones estables en el interior de un tanque sellado. El tanque puede ser de forma rectangular, ovalada o cilíndrica y está usualmente enterrado (EPA, 2002).

En México, el porcentaje de casas particulares conectadas a una fosa séptica al año 2005, era de 15.9%; sin embargo, habría que agregar las 77 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) a nivel municipal, que tratan un caudal promedio de $0.13 \text{ m}^3/\text{s}$, lo que representa un 0.16% del caudal nacional tratado (Conagua, 2010). El número aproximado de personas que usan una fosa séptica en la República Mexicana es de 16.5 millones. Se considera que usando fosas sépticas, una persona genera en promedio, entre $0.19\text{-}0.26 \text{ m}^3/\text{año}$ de lodos (EPA, 1994). Se habla de una generación promedio anual de $3,750,000 \text{ m}^3$ de lodos con características muy especiales, que son una fuente importante de contaminación, dada su composición típica (altas concentraciones de materia orgánica, patógenos y otros contaminantes), así como por el poco o nulo tratamiento que se les da y su incorrecta disposición en el medio ambiente.

En México, en el sector agrícola, se usa el 76.75% del agua potable concesionada y la cobertura de alcantarillado es de 61.8% (Conagua, 2010). La utilización de estos lodos, correctamente tratados, permitiría contribuir a la restauración de los suelos de cultivo, ya que: *“estos mejoran las características del suelo, tales como la textura y la capacidad de absorción de agua, las cuales brindan condiciones más favorables para el crecimiento de las raíces e incrementan la tolerancia de la vegetación a la sequía”* (EPA, 1994).

La normativa nacional para lodos y biosólidos, NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002), requiere que los sólidos de las aguas residuales sean tratados antes de ser aplicados o incorporados al terreno. Este proceso de tratamiento, denominado “estabilización”, ayuda a minimizar la generación de olores, destruir los agentes patógenos y reducir las probabilidades de atracción de vectores. Existen diversos métodos para la estabilización de los sólidos de las aguas residuales, incluyendo:

- El ajuste del pH, o la estabilización alcalina.
- La biodegradación (aerobia o anaerobia).
- El compostaje.
- El secado térmico.

Para esto se debe dar preferencia al uso de tecnologías baratas, efectivas, y de fácil construcción, operación y mantenimiento, que permitan tratar ese lodo a un costo económicamente atractivo.

En este trabajo se evaluó el uso de humedales construidos para el tratamiento de los lodos residuales provenientes de fosas sépticas. Esta tecnología se viene usando en diversos países del mundo, desde los años 60. Concretamente en Europa (Rheinhofer, 2004) y en otros países como Tailandia (Koottatep y otros, 2005), y ha demostrado ser una tecnología apropiada para este fin y una alternativa económica a los sistemas de tratamiento tradicionales.

1.2.- Objetivos

1.2.1.- Objetivo general

Evaluar el desempeño de dos diferentes composiciones de lecho filtrante en un humedal artificial para el tratamiento de lodos provenientes de fosas sépticas.

1.2.2.- Objetivos específicos

Medir el grado de estabilización de los lodos tratados con base en la:

- a. Reducción de sólidos suspendidos volátiles
- b. Reducción de las densidades de los siguientes organismos patógenos e indicadores:
 - i. Coliformes fecales
 - ii. *Salmonella spp.*
 - iii. Huevos de helminto

Del lixiviado generado evaluar el comportamiento de:

- i. Coliformes fecales
- ii. *Salmonella spp.*
- iii. Huevos de helminto
- iv. Demanda química de oxígeno
- v. Sólidos suspendidos totales y volátiles
- vi. Nitrógeno total
- vii. Fósforo total

1.3.- Metas

- i. Evaluación de la calidad del producto final (lodo estabilizado) en cuanto a la remoción de coliformes fecales, salmonella, huevos de helminto y reducción de sólidos suspendidos volátiles, a fin de cumplir con los límites establecidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002) , para el aprovechamiento de biosólidos.
- ii. Evaluación de la calidad del efluente de los humedales mediante el muestreo, y análisis de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos: demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), coliformes fecales y huevos de helminto, a fin de determinar si cumple con los límites máximos permisibles para estos parámetros, conforme a lo establecido en la normativa vigente, NOM-001-SEMARNAT-1996 (SEMARNAT, 1996a).

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES

2.1.- Lodos

Los sólidos y biosólidos (llamados *lodos*) son el resultado de las operaciones y procesos de tratamiento de las aguas residuales. Estos están en forma líquida o semilíquida, con contenidos típicos de 0.25 a 12% de sólidos en masa, dependiendo de los procesos de tratamiento de los cuales provengan (Metcalf & Eddy Inc., 2003).

De los constituyentes removidos por tratamiento, sólidos y biosólidos son por mucho los más grandes en volumen, y su procesamiento, “reúso” (reutilización) y/o disposición presentan el problema más complejo que puede enfrentar un ingeniero en el campo del tratamiento de las aguas residuales.

2.1.1.- Lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR)

En las instalaciones de tratamiento de aguas residuales el lodo generado se compone del lodo primario proveniente de la etapa de sedimentación primaria (tratamiento físico) y del lodo secundario (tratamiento biológico) que proviene de la etapa de sedimentación de la biomasa producida.

La porción de lodos, que proviene de la etapa de sedimentación primaria, está compuesta principalmente de arena y partículas orgánicas gruesas que se sedimentan, mientras que la porción proveniente de la etapa biológica está compuesta predominantemente por biomasa. Además, el lodo primario contiene materiales orgánicos y minerales así como sustancias tóxicas y metales pesados; pero sobre todo está compuesto de una alta proporción de agua (aproximadamente 98%) (Metcalf & Eddy Inc., 2003).

2.1.2.- Lodos provenientes de fosas sépticas

El lodo de fosas sépticas es un residuo con una alta variabilidad en su composición orgánica, que usualmente contiene grandes cantidades de grasa, arena, cabello, etc. Se caracteriza por un olor y aspecto desagradable, así como por su dificultad para sedimentarse o deshidratarse. Estas características hacen difícil el manejar y tratar los residuos sépticos. Un inadecuado manejo o tratamiento puede originar enfermedades en la población pues el lodo alberga una gran cantidad de virus, bacterias y parásitos (EPA, 1994). La Tabla 2.1 presenta la composición típica de los lodos de fosas sépticas.

Tabla 2.1: Composición típica de lodos de fosas sépticas

Parámetros	Concentración (mg/L)		
	Promedio	Mínimo	Máximo
Sólidos totales	34,106	1,132	130,475
Sólidos volátiles totales	23,100	353	71,402
Sólidos suspendidos totales	12,862	310	93,378
Sólidos suspendidos volátiles	9,027	95	51,500
DBO	6,480	440	78,600
DQO	31,900	1,500	703,000
Nitrógeno total Kjeldahl	588	66	1,060
Nitrógeno amoniacal	97	3	116
Fósforo total	210	20	760
Alcalinidad	970	522	4,190
Grasa	5,600	208	23,368
pH	---	1.5	12.6

FUENTE: (EPA, 1994)

2.1.3.- Tratamiento convencional de lodos

Un tratamiento adecuado de lodos debe consistir en las siguientes etapas: espesamiento, estabilización, acondicionamiento, deshidratación y disposición o “reúso” (reutilización).

2.1.3.1.- Espesamiento

El espesamiento de lodos es un procedimiento usado para incrementar la concentración de sólidos de los lodos removiendo una porción de la fracción líquida (Metcalf & Eddy Inc., 2003). Dependiendo de las fuerzas físicas utilizadas para realizar el proceso de espesamiento se han desarrollado diferentes métodos para su realización: espesamiento por gravedad en tanques fijos, espesamiento por gravedad en bandas, espesamiento por flotación con aire disuelto o bien centrifugación.

2.1.3.2.- Estabilización

La estabilización de lodos en una PTAR se lleva a cabo usualmente con los sólidos espesados procedentes de la sedimentación primaria y del excedente de los lodos secundarios generados en el proceso biológico de tratamiento. Su propósito es reducir el contenido de sólidos volátiles y de patógenos en el lodo para que se pueda disponer o aplicar en el suelo con seguridad, se reduce también la cantidad de sólidos. Los procesos biológicos típicos de estabilización de lodos son: la degradación aerobia, la degradación anaerobia y el compostaje; asimismo, un proceso químico típico es la estabilización con cal.

2.1.3.3.- Acondicionamiento

El acondicionamiento es un proceso que sirve para mejorar las características de deshidratación de los lodos. Este proceso puede ser: térmico (congelamiento-descongelamiento o precalentamiento de los lodos) o bien usando acondicionadores químicos (cloruro férrico, cal, alúmina y polímeros orgánicos). El acondicionamiento químico resulta en la coagulación de los sólidos y la liberación del agua absorbida en estos (Metcalf & Eddy Inc., 2003).

2.1.3.4.- Deshidratación de los lodos

Los procesos de deshidratación de lodos consisten en la eliminación del agua de lodos de plantas de tratamiento para disminuir el costo de procesos de tratamiento posterior o anterior a la eliminación de los lodos como un líquido concentrado. Los procesos típicos de deshidratación de lodos incluyen:

deshidratación por prensa de filtro de cinturón, deshidratación centrífuga, deshidratación por prensa de tornillo, deshidratación por placa y marco (Metcalf & Eddy Inc., 2003).

2.1.3.5.- Disposición de los lodos

Cuando el lodo procesado supera los límites máximos permisibles de la correspondiente normativa según sea el caso, se dispondrán, ya sea en un relleno sanitario, en un confinamiento controlado si es residuo peligroso y, muy rara vez, es incinerado. El lodo estabilizado procedente de aguas residuales domésticas, en el que la densidad de los microorganismos patógenos ha disminuido hasta límites aceptables, puede ser usado como mejorador de suelos por su rico contenido en nutrientes y materia orgánica.

2.1.4.- Normativa ambiental mexicana respecto a los lodos y biosólidos

Los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en lodos y biosólidos se establecen en la Tabla 2 de la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002), la que a su vez se presenta en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2: Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos

CLASE	INDICADOR BACTERIOLÓGICO DE CONTAMINACIÓN	PATÓGENOS	PARÁSITOS
	Coliformes fecales NMP/g en base seca	Salmonella spp. NMP/g en base seca	Huevos de helmintos/g en base seca
A	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2,000,000	Menor de 300	Menor de 35

(a) Huevos de helminto viables, NMP= Número más probable

FUENTE: (SEMARNAT, 2002).

El aprovechamiento de los biosólidos se establece en función del tipo, de la clase y de su contenido de humedad (hasta en un 85%), como se especifica en la Tabla 3 de la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002), la cual se presenta en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3: Aprovechamiento de biosólidos

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

FUENTE: (SEMARNAT, 2002)

2.2.- Humedales

2.2.1.- Humedales naturales

Un humedal es una zona de tierras, generalmente planas, en la que la superficie se inunda permanente o intermitentemente. Al cubrirse regularmente de agua, el suelo se satura, quedando desprovisto de oxígeno, dando lugar a un ecosistema híbrido entre los puramente acuáticos y los terrestres.

La categoría biológica de humedal comprende zonas de propiedades geológicas diversas: bañados, ciénagas, esteros, marismas, pantanos, turberas, así como las zonas de costa marítima que presentan anegación periódica por el régimen de mareas (manglares) (Wikipedia, 2009).

2.2.2.- Humedales construidos para el tratamiento de aguas residuales

Los humedales artificiales son sistemas diseñados y construidos para tratar aguas residuales, con los cuales se aumenta la capacidad depuradora o eficiencia

de tratamiento, mediante la optimización de los procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren en esos ecosistemas. Mayas, xochimilcas y aztecas los utilizaron, inclusive a manera de islas flotantes. En Europa, los alemanes redescubrieron esta tecnología y en 1970 empezaron a estudiar la elaboración de este tipo de modelos, con el propósito de explorar su funcionamiento.

Algunos autores definen los humedales de tratamiento construidos como: "... sistemas preponderantemente biológico-naturales en los cuales el filtro de materiales inertes, las plantas de pantano y los microorganismos trabajan conjuntamente en armonía, para poder limpiar el agua residual y paralelamente filtrarla. Su componente principal es el empaque de materiales inertes, sobre los que se siembra plantas de pantano, las cuales crecen soportadas en él" (Wissing & Hofmann, 2002).

"Es necesaria la implementación de un pretratamiento que facilite la remoción de los sólidos suspendidos de fácil sedimentación y que prolongue la vida útil del humedal artificial (previniendo su rápido azolvamiento)..." "...Para la construcción de los humedales artificiales el suelo de la zona se remueve del sitio que ocupará el lecho con una profundidad de entre 0.6 y 1.5 m por debajo de donde se alimenta el agua. El suelo de esta excavación se impermeabiliza con tierra-cemento, cubierta sintética (geomembrana) o asfalto para retener el agua e impedir la infiltración al subsuelo y/o a los mantos acuíferos, al mismo tiempo que se construyen los muros de contención, que pueden hacerse con material procedente de la zona, con concreto o con ladrillo recubierto de cemento" (Luna-Pabello y otros, 1997).

El agua residual se reparte sobre el lecho a través de una red de tuberías perforadas, se filtra, y ya tratada es captada y enviada a un pozo de control con ayuda de una tubería de drenaje enterrada en la parte inferior del humedal.

La eficiencia del lecho filtrante -en un humedal de tratamiento- depende del tipo de materiales que lo componen y la granulometría de estos, así como por largos periodos sin alimentación. En los periodos sin alimentación existe oxígeno

disponible, de tal manera que el carbono y el nitrógeno pueden oxidarse (Geller & Höner, 2003).

En el lecho filtrante, debido al paso del agua residual, tiene lugar un proceso en el que la materia orgánica es descompuesta o biodegradada; además, el agua residual es liberada de sólidos sedimentables.

Las plantas no son las responsables del proceso de tratamiento, si bien son ellas las que favorecen la vida y reproducción de miles de microorganismos que hacen posible la desintegración de la materia orgánica. Las raíces de las plantas mejoran las condiciones de vida de miles de microorganismos, que colonizan el interior del filtro, al introducir oxígeno vía sus aerénquimas y de esta manera crear zonas micro-aerobias en su interior. La función de las plantas no termina ahí, sino que, también ayudan a mantener la porosidad en el cuerpo del filtro, ya que, sin las raíces de las plantas éste se compactaría y tataría con el transcurso del tiempo.

2.2.2.1.- Humedales de flujo superficial

Estos humedales contienen por diseño áreas abiertas donde el agua fluye libremente, la vegetación puede ser flotante o emergente. A medida que el agua residual fluye a través del humedal, ésta es tratada por procesos de sedimentación, filtración, oxidación, reducción, adsorción y precipitación (Kadlec & Wallace, 2009).

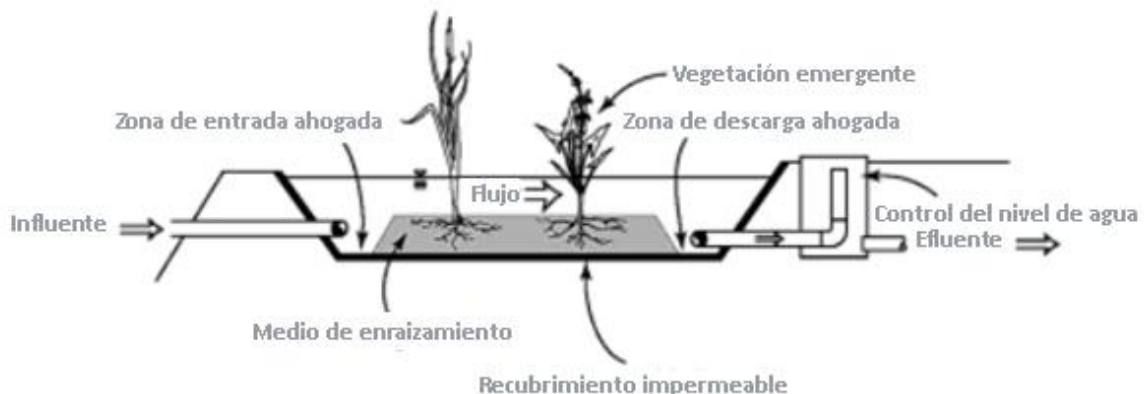


Figura 2.1: Humedal construido de flujo superficial (Kadlec & Wallace, 2009)

2.2.2.2.- Humedales de flujo subsuperficial

El agua residual permanece por debajo de la superficie en todo momento. Ésta fluye a través del filtro de materiales de diferentes granulometrías y alrededor de los tallos y rizomas de las plantas.

a).- De flujo horizontal: cuando el agua fluye de un lado al otro del filtro de manera horizontal varios centímetros debajo de la superficie, se dice que son humedales de flujo horizontal subsuperficial o *HSSF (horizontal subsurface flow)* (Kadlec & Wallace, 2009). En la Figura 2.2 se presenta el esquema típico de este tipo de humedales. Se observa que el agua entra en donde está ubicada la capa de mayor granulometría (dren de grava) y que seguidamente se encuentra con una capa de granulometría menor (capa de transición) la que ayuda a evitar taponamiento y a que se establezca el flujo de agua a través del corazón del filtro del humedal. La alimentación del agua en este tipo de humedales es continua, debido a esto las condiciones anaerobias o anóxicas prevalecen y por ello son ideales para la remoción de materia orgánica (Luna-Pabello & Durán-Domínguez-de-Bazúa, 1998; Wissing & Hofmann, 2002).

Debido a que el agua en todo momento permanece debajo de la superficie se minimiza el riesgo de exposición de los seres humanos o la vida silvestre a organismos patógenos o vectores como los mosquitos (Kadlec & Wallace, 2009).

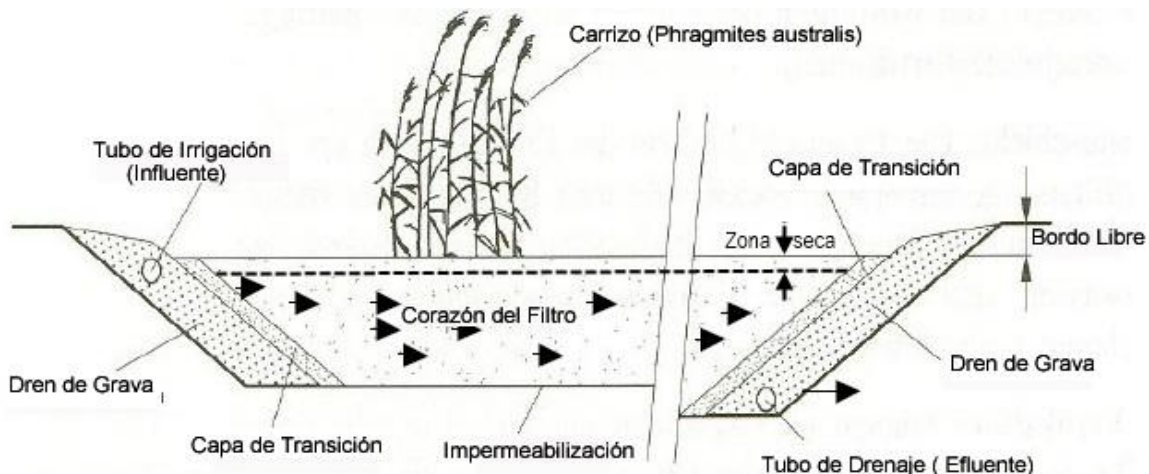


Figura 2.2: Humedal construido de flujo horizontal o HSSF (Geller & Höner, 2003)

b).- De flujo vertical: cuando el agua fluye de arriba hacia abajo a través del filtro se habla de humedales de flujo vertical o *VF (vertical flow)* (Kadlec & Wallace, 2009). En la Figura 2.3 se presenta el esquema típico de este tipo de humedales, se observa que el agua residual es repartida de manera uniforme por una red de tuberías perforadas colocadas sobre el empaque del humedal. Este tipo de humedales pueden ser de granulometría uniforme o bien estratificada como el que se muestra en la Figura 2.3, en este caso, la capa superior es usualmente una capa de grava de granulometría gruesa en donde se establece el flujo del agua, a través del corazón del filtro para finalmente, ya tratada, recolectarla con un sistema de drenaje.

Los humedales de flujo vertical se usan principalmente en Europa con un tipo de alimentación por pulsos. Fueron desarrollados para proporcionar mayores niveles de transferencia de oxígeno, lo que produce un efluente nitrificado (Fenoglio-Limón y otros, 2001; Kadlec & Wallace, 2009).

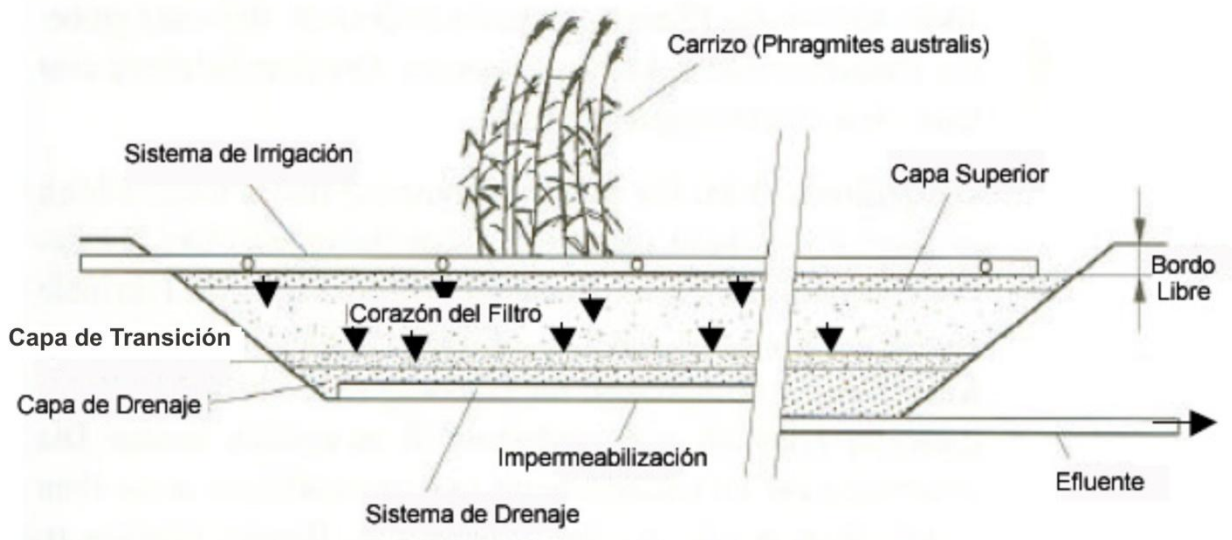


Figura 2.3: Humedal construido de flujo vertical o VF (Geller & Höner, 2003)

2.2.3.- Especies vegetales usadas en la construcción de humedales

Para plantar el empaque de un humedal son adecuadas las plantas de pantano, que se encuentran normalmente en zonas de tierra que se inundan periódicamente. Este tipo de plantas crece bajo el agua y emergen en las riveras de lagos y pantanos (hidrófitas emergentes o halófitas), son por naturaleza resistentes a las aguas con alto contenido de materia orgánica y en condiciones controladas crecen sin ningún problema.

El oxígeno juega un papel muy importante en los procesos de tratamiento de aguas residuales, ya que sin él las bacterias aerobias no pueden realizar sus actividades metabólicas. También las plantas necesitan oxígeno para el crecimiento de sus raíces, que en suelos bien ventilados obtienen del aire que circula por los poros del suelo hasta las raíces. Sin embargo, las plantas de pantano crecen en suelos completamente saturados donde la mayoría de las veces hay muy poco o nada de oxígeno; esto es posible gracias a que hojas, tallos y raíces se encuentran interconectados mediante una serie de canales que transportan el oxígeno desde las hojas hacia las raíces y viceversa, con lo que se tiene un proceso de aireación natural sumamente efectivo. En el caso del carrizo este mecanismo sigue funcionando aunque la parte vegetal esté aparentemente seca. La Figura 2.4 representa el sistema de transporte de oxígeno en plantas acuáticas.

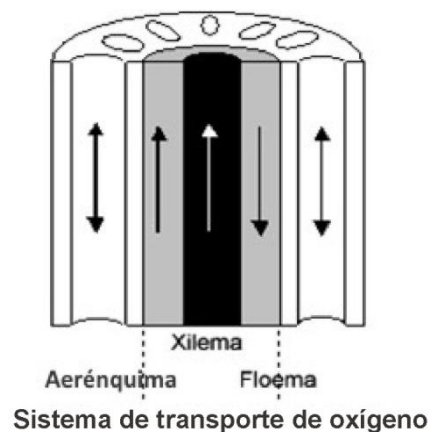


Figura 2.4: Sistema de transporte de oxígeno en plantas acuáticas (Wissing & Hofmann, 2002)

Una parte del oxígeno es transferido al interior del empaque a través de los rizomas, sin embargo, la mayor parte la transfieren las raíces más delgadas que están asociadas a los rizomas, por lo cual se crea un mosaico de zonas aerobias y anaerobias al interior del empaque, lo cual hace posible que se den al mismo tiempo y con éxito los procesos de nitrificación y desnitrificación (Wissing & Hofmann, 2002).

En el tratamiento del agua residual colaboran las plantas sólo de manera indirecta. Su función más importante es proporcionar un medio propicio para la desintegración aerobia de los nutrientes y la nitrificación, así como, mantener la porosidad y la aireación del empaque, a través de la creación de nuevos canales debido al crecimiento de las raíces; además, estas plantas consumen una gran parte de los nutrientes para seguir creciendo.

La Figura 2.5 presenta esquemáticamente el balance de oxígeno en un humedal construido para el tratamiento de lodos sembrado con *Phragmites australis*. En ella se observa que la introducción de oxígeno a través del sistema de rizomas en un filtro sembrado con carrizo (*Phragmites australis*) asciende a 5 g/m² por día, lo que corresponde al menos a 15 litros de aire al día (Wissing & Hofmann, 2002).

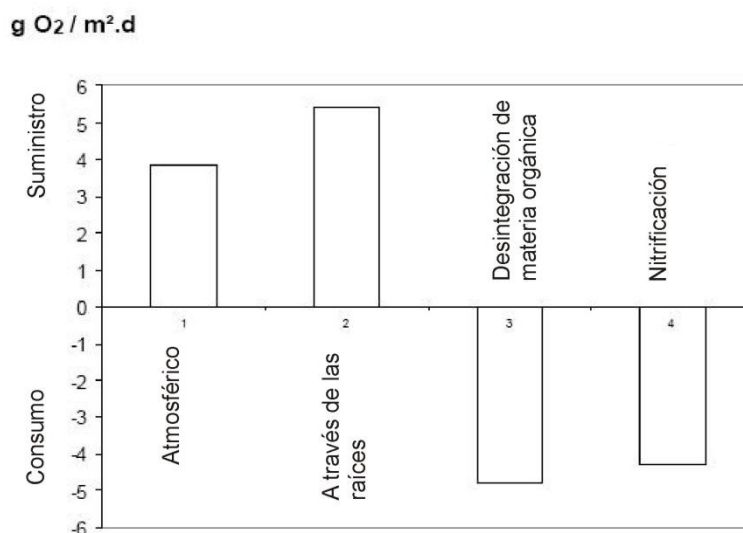


Figura 2.5: Balance de oxígeno en un humedal construido para el tratamiento de lodos sembrado con *Phragmites australis* (Wissing & Hofmann, 2002)

Hay muchas plantas de pantano que se pueden usar para plantar un humedal construido, sin embargo, sólo con pocas especies se han llevado a cabo experimentos exhaustivos, por lo que se recomienda usar cualquiera de las siguientes especies vegetales: Carrizo (*Phragmites australis*), caña de castilla (*Arundo donax*), junco (*Juncus effusus*), tule y/o tulinillo (*Typha angustifolia*, *T. latifolia* u.a. Arten) e iris amarillo (*Iris pseudacorus*) (Geller & Höner, 2003).

La decisión final sobre qué especie se usará, dependerá mucho de la disponibilidad de dicha planta en el lugar de la construcción, así como de las características del agua residual a tratar. Finalmente, esta elección deberá atenerse a la normativa vigente sobre protección de la biodiversidad (si la hubiese) en cuanto a especies invasoras se refiere. A continuación se detallan - a modo de guía - algunas de las características de las especies arriba mencionadas:



Carrizo (*Phragmites australis*): el carrizo es una gramínea que habita en las márgenes de lagos y arroyos en lugares soleados. Los rizomas crecen horizontal y verticalmente y pueden llegar hasta una profundidad de 1.5 –2 m. Esta planta puede resistir aguas altamente contaminadas con sustancias orgánicas y se alimenta de los nutrientes, en particular nitrógeno. Debido a su adaptabilidad, esta planta se encuentra distribuida en todo el mundo. El carrizo es la especie más usada en la construcción de humedales (Wissing & Hofmann, 2002). La Figura 2.6 presenta una fotografía de esta especie vegetal.

Figura 2.6: *Phragmites australis*
(University of Florida, 2009)

Caña de castilla (*Arundo donax*)*: esta especie desarrolla rizomas gruesos y nudosos que crecen hasta 2 m de profundidad, mientras que los tallos alcanzan los 8 m de alto (Wissing & Hofmann, 2002). La Figura 2.7 presenta una fotografía de esta especie vegetal.



Figura 2.7: *Arundo donax*
(University of Florida, 2009)



Figura 2.8: *Juncus effusus*
(University of Florida, 2009)

Junco (*Juncus effusus*): esta planta crece entre 40 y 60 cm de alto y las raíces aproximadamente 30-50 cm de profundidad (Wissing & Hofmann, 2002). La Figura 2.8 presenta una fotografía de esta especie vegetal.

Tule y tulillo (*Typha angustifolia*, *T. latifolia* u.a. Arten): las raíces de esta planta alcanzan aproximadamente los 50 cm de profundidad y la parte aérea hasta los 2 m de alto (Wissing & Hofmann, 2002). La Figura 2.9 presenta una fotografía de esta especie vegetal.



Figura 2.9: *Typha latifolia*
(University of Florida, 2009)



Figura 2.10: *Iris pseudacorus*
(University of Florida, 2009)

Iris amarillo (*Iris pseudacorus*): las raíces crecen hasta una profundidad de 40 cm, mientras que los tallos alcanzan los 100 cm y poseen flores amarillas (Wissing & Hofmann, 2002). La Figura 2.10 presenta una fotografía de esta especie vegetal.

2.2.4.- Procesos bioquímicos en el lecho sembrado

Dentro de la composición del agua residual se encuentran sólidos suspendidos y disueltos, tanto de origen orgánico como inorgánico, que deben retirarse del agua a través de los procesos de tratamiento.

En la etapa de sedimentación primaria se retienen la gran mayoría de los sólidos suspendidos, lo que libra al agua residual de aproximadamente un tercio de su carga orgánica. Después, el agua llega al empaque y a través de procesos biológicos, físicos y químicos íntimamente ligados continúa su purificación. Los microorganismos en el empaque del humedal toman los nutrientes del agua residual, crecen, se reproducen y, finalmente, mueren (Geller & Höner, 2003).

Para la mayoría de procesos de degradación, transformación y fijación es necesario un abastecimiento continuo y suficiente de oxígeno. Así, la degradación aerobia de materia orgánica como los compuestos de carbono (nitrificación y fijación de fósforo) dependen en gran medida de la presencia de oxígeno. El contenido de materia orgánica en el agua residual se mide mediante los parámetros: demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) y demanda química de oxígeno (DQO).

Los procesos de degradación aerobia oxidan los compuestos orgánicos a través de diversas etapas de descomposición hasta que se convierten en productos finales como dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O). En el caso de la degradación anaerobia, ésta transforma los compuestos orgánicos en biogás (CH_4 y dióxido de carbono, CO_2). En general, la oxidación de las sustancias orgánicas sigue el siguiente proceso:



Además de los microorganismos responsables de la descomposición de los compuestos orgánicos, existen otros organismos que viven de otros procesos de oxidación mineral y que son los responsables de las transformaciones de los compuestos de nitrógeno, que se retienen en el sistema (orina y proteínas), éstos

compuestos se deben de descomponer, a través, de un proceso de oxidación del nitrógeno orgánico y amoniacal (nitrificación y amonificación). A continuación se describe el proceso por medio del cual se da la descomposición de cada uno de estos compuestos:

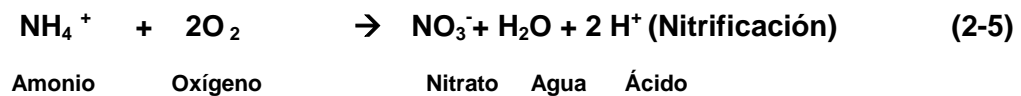
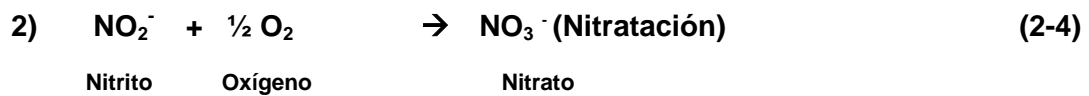
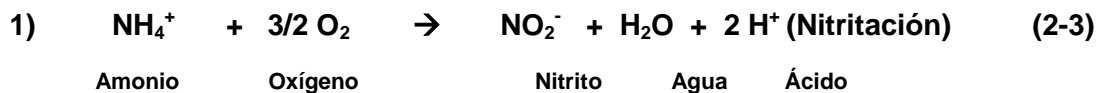
Orina: la orina, constituida principalmente por urea, se disocia a través de actividad enzimática en amoniaco y dióxido de carbono; a este proceso se le conoce como amonificación:



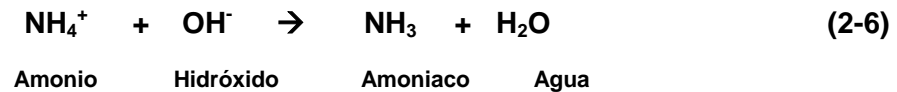
Proteínas: las proteínas están compuestas por aminoácidos en los cuales el nitrógeno es un compuesto muy importante. Los aminoácidos se descomponen en compuestos de amonio, una parte preponderante de esa amonificación se da en el drenaje, en donde el amoniaco se convierte en amonio.

Amonio: el amonio es una forma de nitrógeno fácilmente asimilable por las plantas acuáticas y las algas. Es producido a partir de nitrógeno molecular por algunas bacterias fijadoras de nitrógeno.

El amonio se oxida en nitrito y nitrato, el proceso puede desarrollarse de dos maneras distintas (Geller & Höner, 2003):

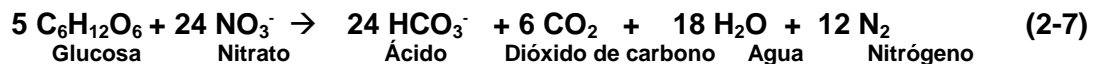


La transformación a amoníaco sucede, cuando el pH se encuentra por encima de 7 (medio alcalino):

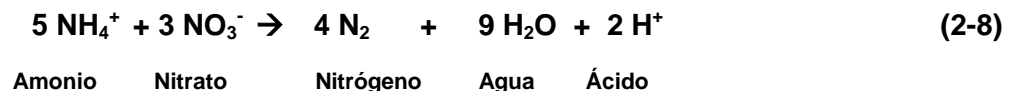


Puesto que el amoníaco es una sustancia venenosa para la mayoría de los microorganismos se deberá vigilar que el pH del agua residual no esté por encima de 7. Donde hay poca disposición de oxígeno, continúa el proceso de desnitrificación. De esa manera, el nitrato producido se reduce a nitrógeno molecular (N_2). Por esa razón las plantas de tratamiento tecnificadas deben poseer también un proceso anaerobio. Por el contrario, en los humedales, este paso no se necesita, pues en el lecho sembrado existe un mosaico de zonas ricas y pobres en oxígeno, que permiten que se den los procesos de nitrificación y desnitrificación al mismo tiempo (Wissing & Hofmann, 2002). Para la reducción de nitratos es decisiva la presencia de una fuente de carbono (por ejemplo: glucosa).

El proceso de desnitrificación se describe a continuación:



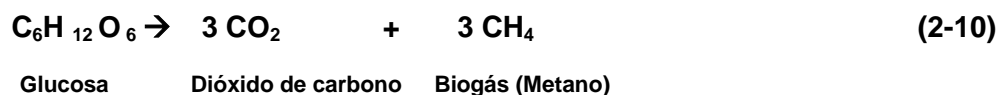
También el amonio puede reducirse anaerobiamente a través de determinados microorganismos bajo la presencia de nitrato (medio anóxico):



Descomposición aerobia de la glucosa:



Descomposición anaerobia de la glucosa:



La energía, que se libera por la oxidación del amonio, nitrito y glucosa es utilizada por todos los agentes nitrificantes para construir nueva biomasa:

El tratamiento de lodos en lechos de carrizo combina elementos de la deshidratación de lodos en lechos de secado, del compostaje de lodos y de humedales construidos de flujo subsuperficial del tipo vertical.

2.2.5.1.- Historia y desarrollo

A principios de los años 60 del siglo XX, Seidel en Alemania, realizó los primeros intentos para combinar plantas de pantano con lodos primarios. El primer intento para tratar los lodos de una PTAR municipal en Alemania se dio en el año 1974 en el distrito de Augsburg, Baviera.

En los años 80 y 90 del siglo XX, se construyeron numerosos proyectos piloto con el fin de desarrollar esta tecnología, como los de: Hoffman en el sur de Alemania, Pauly en Alemania del norte y Rheinhoffer en Austria (Wissing & Hofmann, 2002).

Así mismo a partir de la década de los 80 se establecieron muchos de estos sistemas en otros países de Europa como: Polonia, Suecia, Noruega, Francia y España.

En la actualidad, en Francia se encuentran en operación alrededor de 300 plantas de este tipo, de las cuales, la mayor tiene una capacidad de tratamiento de 600 toneladas de lodos al año.

Así mismo, en Dinamarca, existen más de 120 sistemas, la mayoría de ellos con una capacidad de entre 200 a 1,000 toneladas de lodo por año.

El mayor de estos sistemas fue puesto en marcha recientemente con una capacidad de 2,000 a 3,500 toneladas anuales (Nielsen, 2010).

Algunos ejemplos concretos son las estaciones construidas en las ciudades de: Aurich (Alemania), Hoenflur (Francia) y Mölltall (Austria) diseñadas para tratar el lodo residual producido por 47,000, 25,000 y 17,000 personas, respectivamente.

2.2.5.2.- Diseño actual

En esta tecnología generalmente se usan celdas individuales de secado y el diseño tradicional es a base de capas de arena y grava, así como un sistema de drenaje para el efluente. En la figura 2.11 se presenta el corte típico de una estación para el tratamiento de lodos, en ella se resumen las partes constructivas, así como los procesos físico químicos que se dan en el interior.

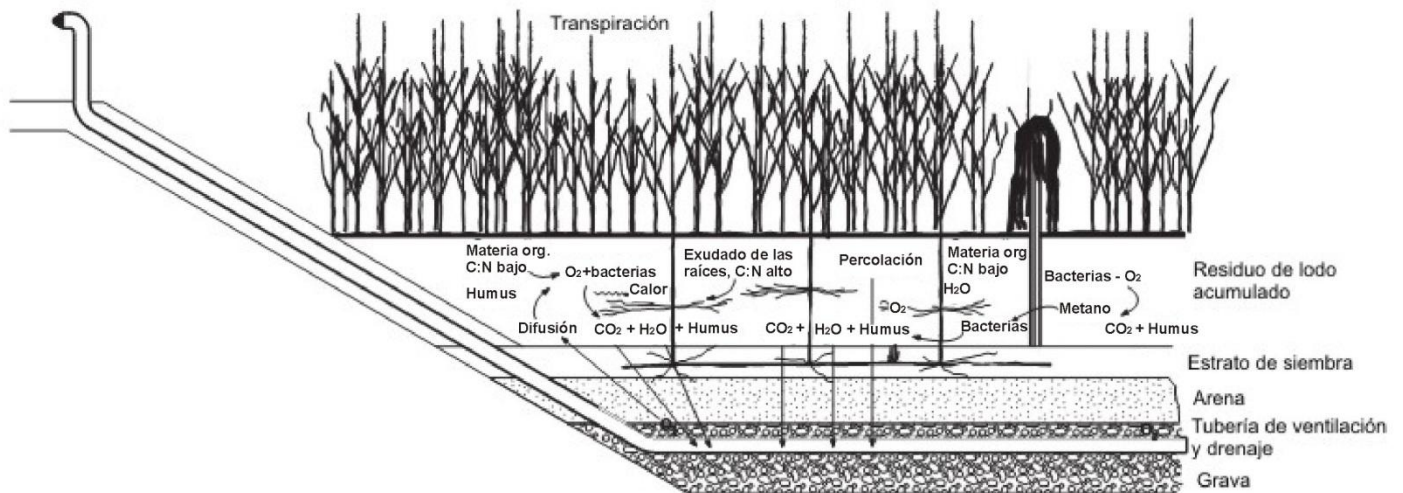


Figura 2.11: Corte de una planta de tratamiento de lodos (Nielsen, 2003)

La reducción del volumen de lodo ocurre por deshidratación y mineralización. Cuando el lodo residual se ha drenado hasta aproximadamente un 20% de materia seca el proceso de deshidratación continúa mediante evapotranspiración hasta alcanzar el contenido en masa seca del 40% (Nielsen, 2003).

El lodo proveniente de plantas de tratamiento (de 2,500 – 125,000 habitantes equivalentes) es tratado en humedales construidos plantados con *Phragmites australis* de entre 1 a 18 celdas con cargas de 25 a 2,200 toneladas/ año de lodos a lo largo de 10 años.

- Este tipo de sistema es capaz de tratar muchos tipos diferentes de lodos con un contenido de masa seca de aproximadamente 0.5 a 3-5%
- El dimensionamiento de la estación obedece a diversos factores como: producción de lodos, tiempo de la producción de los lodos, clima, y calidad y tipo de lodos. Dependiendo del tipo de lodo se recomienda una carga superficial de 50-60 kg de materia seca/ m² año.
- La profundidad de la celda no deberá ser menor a 1.70-1.80 m
- El filtro consiste de diversas capas construidas con 30-45 cm de grava, geomembrana o geotextil, 15 cm de arena y la capa en la que crecen las plantas. La profundidad total del filtro es de 0.55-0.60 m antes de que se aplique el lodo.
- Las plantas (*Phragmites australis*) contribuyen a la desecación del lodo incrementando la evapotranspiración. El movimiento de los tallos con el viento y el complejo sistema de raíces contribuyen a mantener la porosidad del medio, además de transferir oxígeno al interior de los lodos y el filtro vía sus aerénquimas. El crecimiento de raíces y nuevos tallos mantiene la porosidad del filtro y evita que éste se tapone (Nielsen, 2003).

2.2.5.3.- Hidráulica de los humedales de lodos

Contrariamente a lo que sucede con los humedales para el tratamiento de aguas residuales (Anexo XIV), el diseño de los humedales de lodos es típicamente gobernado por la tasa de aplicación de materia orgánica (kg/m²año) y no por la tasa de aplicación hidráulica. La tubería de desagüe inferior está usualmente sobredimensionada desde el punto de vista hidráulico porque una de las principales funciones de estos tubos es servir de ventilación al cuerpo del filtro del humedal. Como resultado, la mayoría de las cuestiones hidráulicas, en lo que respecta a los humedales de lodos, están relacionadas con el bombeo de los lodos a la superficie del lecho y la distribución uniforme de la carga de sólidos sobre éste (Kadlec & Wallace, 2009).

A medida que el contenido de sólidos en los lodos aumenta, también lo hace la viscosidad del fluido (de una manera no lineal muy marcada). La tasa de

aplicación y el área por cada distribuidor son importantes a fin de asegurar una aplicación uniforme del lodo a todo lo largo de la superficie del humedal. De manera general se recomienda que el sistema de aplicación de lodos deba ser capaz de aplicar 15 cm de líquido en una hora y que la colocación de los distribuidores no deberá exceder los 250 m² por distribuidor (Nielsen, 2003).

2.2.5.4.- Problemas en la operación

Asociados a la rutina de alimentación y a la heterogeneidad del sistema se pueden presentar una serie de problemas en la operación:

- Baja eficiencia en la desecación y mineralización del lodo
- Cobertura vegetal pobre
- Malos olores

Estos problemas se deben principalmente a alguno o a la combinación de varios de los siguientes factores: una mala construcción del filtro, conexión capilar pobre, número inadecuado de celdas, área inadecuada de las celdas y a la sobrecarga de las celdas en el periodo de establecimiento vegetal y en la posterior operación (Nielsen, 2005). La carga de lodos que se aplica a cada celda depende en gran medida del desarrollo y grado de cobertura vegetal. Dicha carga deberá ser planeada de tal manera que no inhiba el establecimiento de las plantas y que el incremento en el grosor de la capa de lodos no sea tan rápido que las plantas no puedan colonizarla horizontal y verticalmente.

Es importante también que las celdas individuales reciban una carga de lodos rápida y de corta duración, seguida de un periodo de aeración superficial de los residuos. Un indicador visual de una buena aeración de los lodos es que, en particular, la capa superior de éstos se agriete y quiebre durante el periodo de descanso. Si este proceso de agrietamiento no se produce debido a la ineficiencia en la deshidratación o a los residuos de lodos que forman una capa espesa, entonces existe el riesgo de formación de condiciones anaerobias y, por ende, producción de metano, lo cual puede inhibir el crecimiento vegetativo. Si la vegetación falta del todo o se establece pobremente, la eficiencia en la

deshidratación también se reduce, así como la actividad mecánica de las raíces al “excavar” el filtro.

Si la conexión capilar entre 2 capas se rompe, una situación conocida como “agua colgante” puede presentarse. La presión descendente del agua en una capa saturada superior es excedida por la resistencia impuesta dada la falta de la conexión capilar entre las capas superior e inferior. Dado esto, el agua “cuelga” sobre las capas subyacentes en lugar de infiltrarse. La falta de funcionamiento capilar se debe a un inapropiado incremento en el tamaño del poro del filtro de materiales en las capas adyacentes (Nielsen, 2005).

2.2.5.5. - Calidad del producto final

Se han realizado análisis para evaluar la reducción de patógenos en el lodo residual, al cabo de un período de 3 a 4 meses después de la última aplicación de lodo crudo. Estos análisis demuestran que el contenido de patógenos se redujo a < 2 NMP/100g (Salmonella) ,10 UFC/g (Enterococos) y 200 NMP/100g (E. coli). Para enterococos y E. coli la reducción fue de aproximadamente 5 logaritmos y entre 6 a 7 logaritmos, respectivamente. En el mismo período el lodo alcanzó un contenido de sólidos secos de 20 a 35% (Nielsen, 2007).

Con estos fundamentos, a continuación se presenta la metodología seguida en esta investigación.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

Se diseñaron y construyeron 3 celdas de 2 m² de área superficial cada una, con dos diferentes configuraciones de lecho de empaque. Una tercera fue usada como blanco (sin especies vegetales). Todas fueron alimentadas con lodo proveniente de una fosa séptica, a través de un sistema de bombeo y provistas de un sistema de tuberías para el drenaje de los lixiviados. En la Figura 3.1 se muestra el detalle en planta y perfil del modelo piloto, así como sus acotaciones principales.

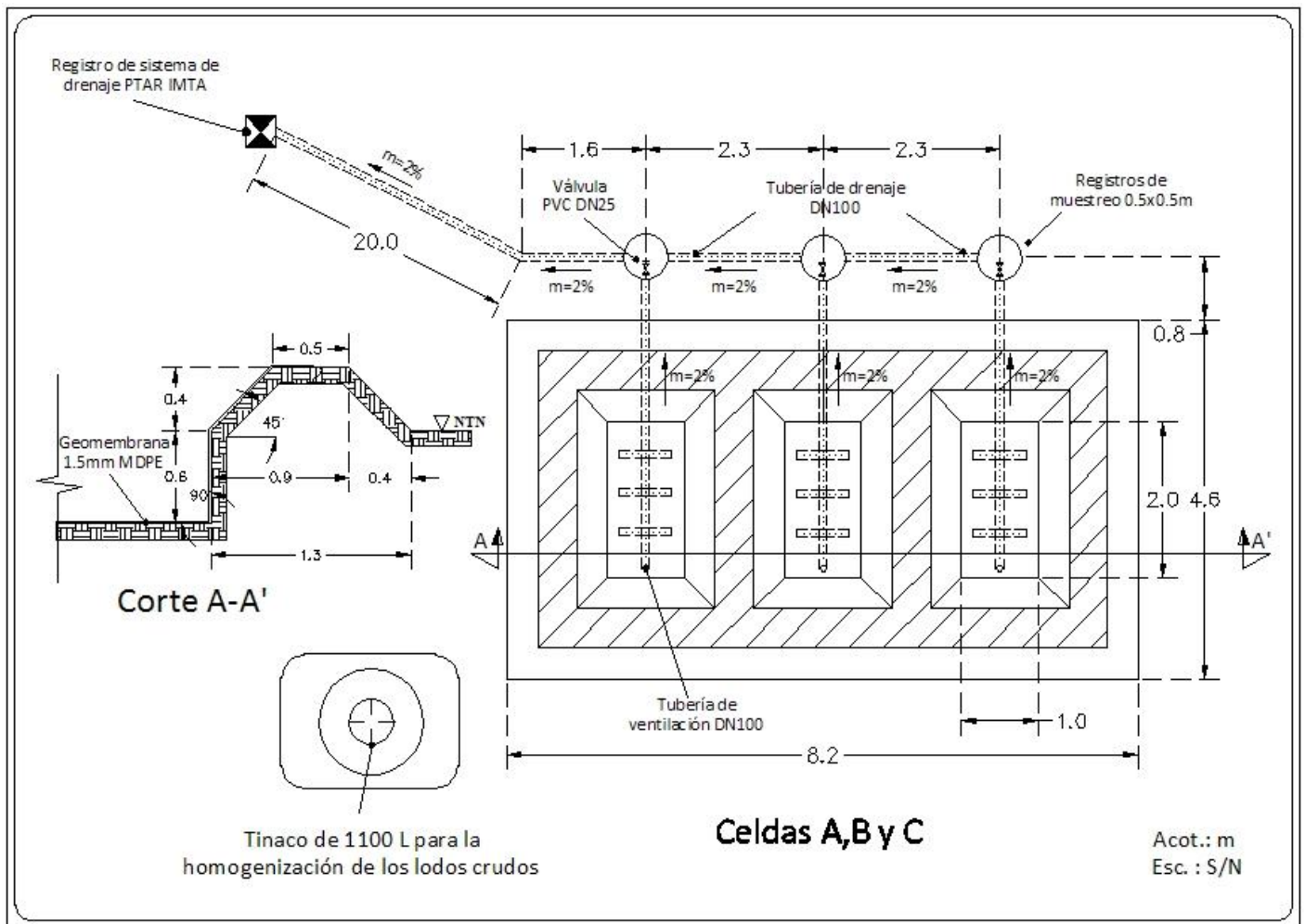


Figura 3.1: Detalle en planta de la estación piloto (Dibujo propio) (PE-MD= Polietileno de densidad media, en inglés, MDPE; NTN= Nivel del terreno natural; DN = Diámetro nominal; PVC = Cloruro de polivinilo)

3.1.- Construcción

3.1.1.- Empaques

La correcta construcción del filtro o empaque es un aspecto crítico para la efectividad del sistema. La composición de las capas individuales, así como la conexión capilar entre las diversas capas -especialmente entre la capa superior del filtro y la de lodo residual- se debe cuidar en todo momento (Nielsen, 2005).

Los empaques se aplicaron en excavaciones de 2.0 m de largo x 1.0 m de ancho, 0.6 m de profundidad y 0.4 m de bordo libre, que fueron recubiertas con polietileno de densidad media (PE-MD también llamado MDPE, por sus siglas en inglés) de 1.5 mm de espesor.

Para protección de la geomembrana se afinaron las paredes de la excavación y se lanzó concreto a fin de que no existiesen salientes que pudieran punzarla o rasgarla; además, se ancló a la corona de los bordos perimetrales de la excavación.

Las excavaciones ya impermeabilizadas (celdas) se llenaron con materiales calcáreos para formar los tres empaques, los cuales fueron escogidos de la bibliografía especializada.

A continuación se detalla el llenado de cada celda y se incluye un perfil de la misma:

Celda A: En la primera celda se aplicó un empaque de 60 cm de profundidad usando solamente grava de 30 mm de diámetro ($d_{10}=18$, $CU=1.27$), con base en los diseños de los humedales construidos por el IMTA en el área del lago de Pátzcuaro, Michoacán (Rivas, 2004).

En la Figura 3.2 se muestra el detalle constructivo en perfil de la celda A, así como sus acotaciones principales.

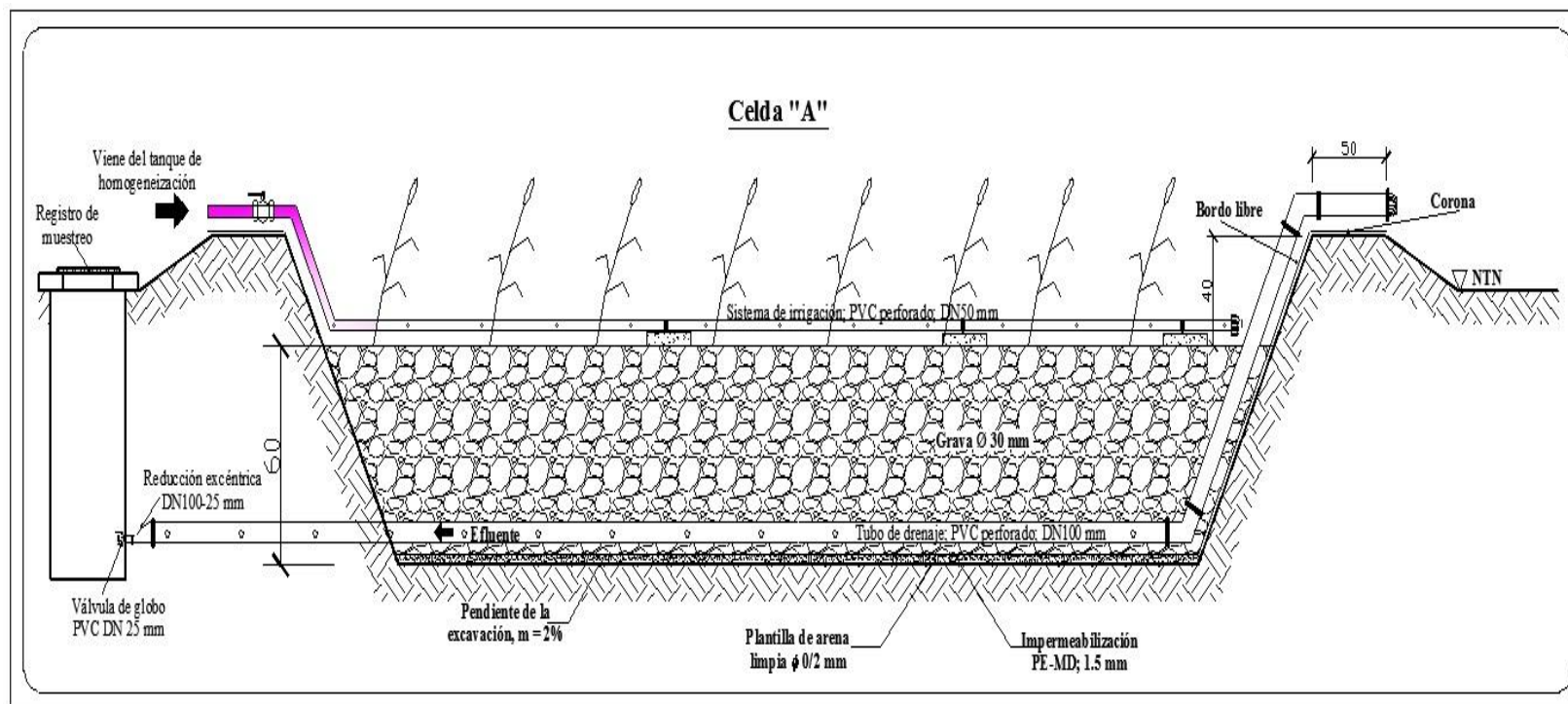


Figura 3.2: Detalle en corte de la celda A (Dibujo propio con base en Rivas, 2004)

Celda B: El segundo empaque consistió de diversas capas de materiales de diferentes granulometrías con una profundidad total de 60 cm, basado en lo reportado por diversos autores en la modalidad de tratamiento de lodos (Nielsen, 2003; Troesch y otros, 2009) y en la modalidad de tratamiento de aguas residuales (Luna-Pabello & Durán-Domínguez-de-Bazúa, 1998). El empaque se aplicó como sigue:

- ✓ Capa inferior de drenaje con espesor de 20 cm a base de grava redondeada ϕ 30-60 mm ($d_{10}=18$, $CU=1.27$).
- ✓ Capa de transición con espesor de 10 cm constituida por grava triturada de ϕ 15-25 mm ($d_{10}=5.0$, $CU=2.4$).
- ✓ Capa superior con espesor de 20 cm a base de gravilla ϕ 2-6 mm ($d_{10}=3.5$, $CU=1.57$).
- ✓ Medio de siembra con un espesor de 10 cm a base de una capa de arena fina lavada con ϕ 0-2 mm ($d_{10}=0.29$, $CU=3.08$).

En la Figura 3.3 se muestra el detalle constructivo en perfil de la celda B, así como sus acotaciones principales.

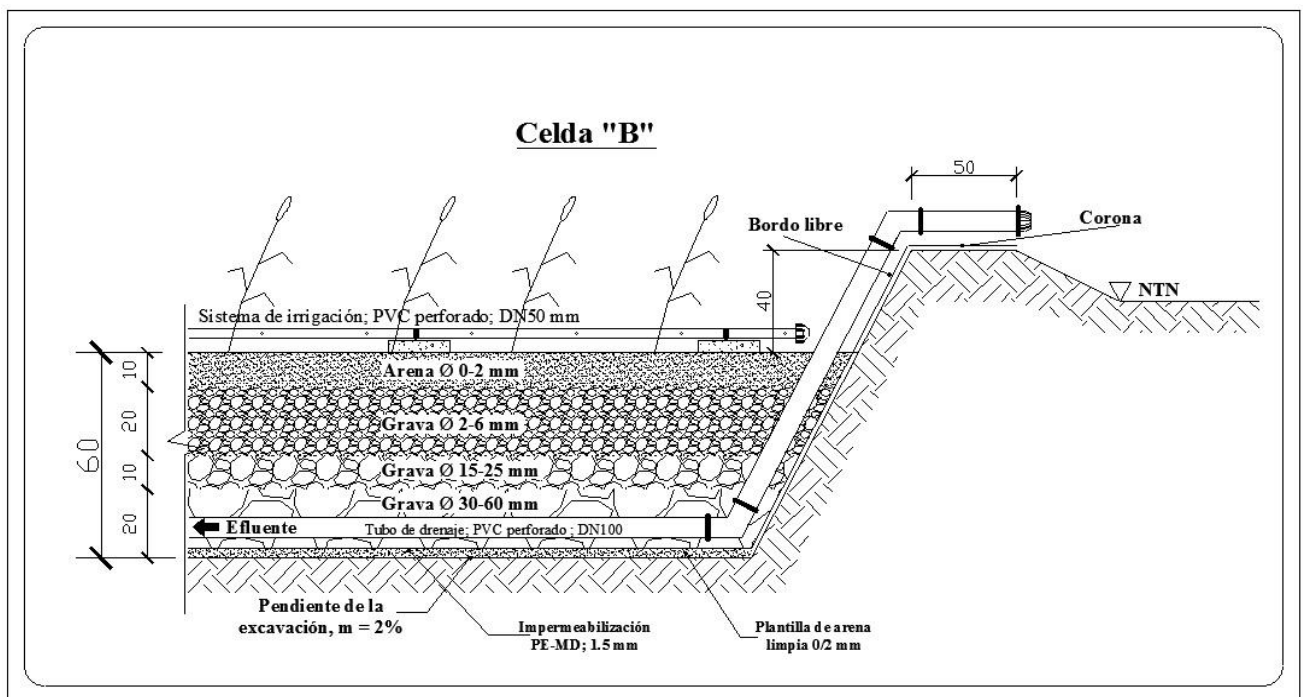


Figura 3.3: Detalle en corte de la celda B (Dibujo propio con base en Nielsen, 2003; Troesch y otros, 2009; Luna-Pabello & Durán-Domínguez-de-Bazúa, 1998)

Celda C: El tercer empaque se aplicó, siguiendo las recomendaciones para los filtros de arena convencionales usados en la deshidratación de lodos (Metcalf & Eddy, 2003), como sigue:

- ✓ Capa inferior de drenaje de 25 cm usando grava gruesa redondeada con ϕ 30-60 mm ($d_{10}=18$, $CU=1.27$).
- ✓ Capa de grava mediana, 7.5 cm de espesor con ϕ 15-25 mm ($d_{10}=5.0$, $CU=2.4$).
- ✓ Capa de grava fina, 7.5 cm de espesor con ϕ 2-6 mm ($d_{10}=3.5$, $CU=1.57$).
- ✓ Capa de arena gruesa, 7.5 cm de espesor con ϕ 1/2 - 1 mm ($d_{10}=0.12$, $CU=3.25$).
- ✓ Capa de arena fina, 15 cm de espesor con ϕ 1/8 - 1/4 mm ($d_{10}=0.1$, $CU=3.9$).

En la Figura 3.4 se muestra el detalle constructivo en perfil de la celda C, así como sus acotaciones principales.

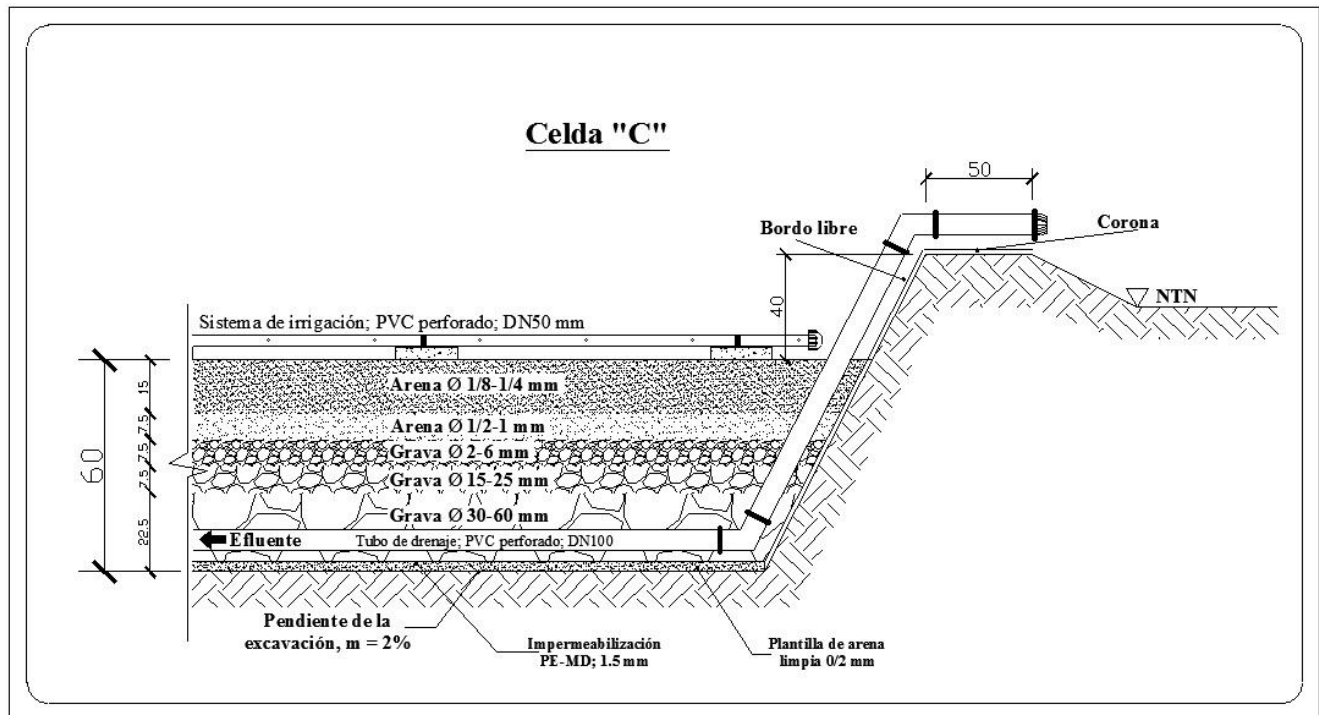


Figura 3.4: Detalle en corte de la celda C (Dibujo propio con base en Metcalf & Eddy Inc., 2003)

En este reactor no se usaron plantas, por lo que sirvió como blanco de pruebas para determinar el beneficio de usar especies vegetales en el sistema (Kim & Smith, 1997).

La distribución granulométrica de los empaques se determinó por el método de cribado por mallas (ver Anexo I).

3.1.2.- Especies vegetales

La especie vegetal que se usó fue carrizo (*Phragmites spp*), debido a que se recomienda en la literatura especializada, dadas las altas concentraciones de materia orgánica contenidas en el lodo de fosas sépticas 440 -78,600 mg/L de DBO₅ (EPA, 1994) y otros contaminantes que, para otras especies, podrían resultar inhibitorios o mortales.

La densidad de siembra usada fue de 9 plántulas por m² (Troesch y otros, 2009), lo que aseguró una rápida colonización del filtro y un periodo de establecimiento vegetal menor.

3.1.3.- Sistema de recolección de lixiviados y drenaje

En el fondo de la celda se colocó un sistema construido con tubería de PVC de DN 100 mm. La tubería se perforó a cada 5 cm, con broca de 3/8". La función de dicho sistema fue la de recolectar los lixiviados y el agua de cada celda y conducirlos a los registros. La pendiente de dicha tubería fue de al menos 2%.

Se sacaron chimeneas de ventilación al menos 50 cm por encima de la excavación y se orientaron hacia el viento. Las chimeneas se protegieron con codos y malla de mosquitero para evitar la entrada de insectos y/o lluvia.

Dentro de cada registro se instaló una válvula de PVC DN 25mm con el fin de poder regular el flujo de agua y lixiviados proveniente de las celdas. La válvula se instaló a 10 cm del fondo del registro para asegurar la entrada del muestreador y que la toma de muestras de las celdas se pudiera realizar a descarga libre.

Los registros de cada celda se proveyeron de una tapa metálica con cierre hermético para garantizar que no hubiese infiltraciones de agua de lluvia hacia el drenaje.

3.2.- Aclimatación y arranque

Antes de la entrada en operación de la planta piloto, las plántulas de *Phragmites spp* pasaron por un período de adaptación de 70 días aunque en la literatura se recomienda de 1.5-2 años (Nielsen, 2003); sin embargo, por carecer de tiempo, el período de establecimiento se aceleró regando diariamente las celdas con agua residual de la PTAR del IMTA, dada su disponibilidad y características. El uso de agua residual se hace con el fin de que las plantas se desarrollen lo más rápido posible y que la densidad de tallos en cada una de las celdas sea de al menos 250 tallos/m² antes del vertido de los lodos (Troesch y otros, 2009), dado que durante los primeros meses de desarrollo las plántulas son sensibles sobre todo a altas concentraciones de sales disueltas, especialmente amonio que resultan tóxicas (de-la-Paz-Arquier, 2007).

Durante esta fase, el grado de colonización vegetal de los empaques fue determinado contando manualmente el número de tallos en cada celda, así como midiendo la altura de estos y sacando un promedio. Estos parámetros se midieron al inicio de la fase de aclimatación y posteriormente a la 3^a, 6^a y 9^a semanas (Ver Anexo IX).

3.3.- Operación

El período de operación de la planta piloto fue de 156 días, el cual se dividió en una fase de adición de lodos (114 días) y, una de seguimiento de los lodos acumulados (42 días). Durante el período de adición de los lodos se realizaron tres cargas con lodos provenientes de distintas fosas sépticas del estado de Morelos y se evaluaron los lodos crudos y los lixiviados, producto de la percolación. También en esta etapa se continuó irrigando las celdas con agua residual cruda una vez por semana. La válvula de control de las celdas se cerró a fin de mantener la humedad necesaria para que las plantas no resultaran

afectadas. Los lixiviados se canalizaron posteriormente hacia el cárcamo de bombeo de la PTAR del IMTA para su tratamiento. En la etapa de seguimiento se analizó el lodo acumulado en la superficie de los empaques.

3.3.1.- Recepción y manejo de lodos crudos

Los lodos evaluados provinieron de distintas fosas sépticas del municipio de Cuernavaca. La recepción y homogeneización de los lodos, así como su espesamiento se llevó a cabo en dos tinacos marca ROTOPLAS de 2500 L cada uno. La homogeneización de los lodos se realizó con ayuda de una bomba peristáltica con la cual se recirculó la mezcla, asegurando un mezclado continuo. Los datos de la bomba se muestran a continuación:

Marca: Cole Palmer **Modelo:** 77110-00 **Potencia:** 1/2 hp **RPMmáx.:** 300

Q máx.: 30 L/min **Ø descarga:** 3/4"

Previamente a la recepción de los lodos, los tinacos se lavaron y marcaron con marcador indeleble a cada 300 L de volumen.

Durante el manejo de los lodos se usó el equipo de protección y se observaron las medidas de seguridad acordes con lo establecido en el Anexo II: Método de muestreo de lodos y biosólidos de la NOM 004-SEMARNAT-2002 (ver Anexo II) (SEMARNAT, 2002).

3.3.2.- Aplicación de los lodos a los humedales

El proceso de espesamiento se llevó a cabo durante una semana en la cual se dejó sedimentar el lodo dentro de los tinacos por 48 horas y se retiró el sobrenadante usando un sifón de mano, una vez que el sobrenadante fue retirado se realizó un mezclado del lodo sedimentado recirculándolo dentro de los tinacos para lo cual se usó la bomba peristáltica anteriormente descrita.

Una vez que se tuvieron concentrados aproximadamente 2000 L de lodos se procedió a realizar la primera aplicación a las celdas. La distribución de los lodos

sobre las celdas se realizó con una manguera flexible de diámetro nominal (DN) de 19 mm como sigue:

1. Los lodos se mezclaron con ayuda de la bomba durante 60 min, corroborando visualmente la homogeneidad de la mezcla, posteriormente se vertieron a la primera celda 300L de la mezcla tomada de la parte baja del tinaco.
2. Se procedió de la misma manera hasta haber vertido 300 L en cada celda de la planta piloto.

Lo anterior equivale a una carga volumétrica de 150 L/m^2 por aplicación o a aproximadamente 15 cm de altura, el tiempo requerido para el vertido de los 300L fue de aproximadamente 8 min. Acorde con lo sugerido por diversos autores (Nielsen, 2005; Rheinhofer, 2004), los lodos se dejaron airear superficialmente a fin de conseguir el fenómeno de agrietamiento necesario para impedir la formación de capas anaerobias en el perfil de lodo residual (ver apartado 2.2.5.4).

3.3.3.- Parámetros a medir y métodos de muestreo

Se evaluó el desempeño de los empaques realizando análisis de parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos en lodos crudos, lixiviados y lodos deshidratados.

3.3.3.1- Lodos crudos

Las muestras a analizar se obtuvieron acorde con lo establecido en el punto 2.1.4 Tanques, de la NOM-004-SEMARNAT-2002, para lo cual se mezcló completamente el tanque y colectaron varias muestras a diferentes profundidades y puntos. Posteriormente, se juntaron todas las muestras en una sola antes de realizar el análisis (SEMARNAT, 2002). Los parámetros de control fisicoquímico y microbiológico que se midieron, así como los métodos usados se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lodos crudos

Parámetro	Técnica de análisis	Frecuencia de muestreo
Potencial redox (mV)	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	1 muestreo por cada aplicación de lodos
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	
pH	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	
Sólidos totales, ST (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos totales volátiles, SVT (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos suspendidos totales, SST (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos suspendidos volátiles, SSV (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Demanda química de oxígeno, DQO (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitrógeno total Kjeldahl, NT_k (mg/L)	Macro-Kjeldahl de los Métodos Estándar*	
Nitrógeno amoniacal, N-NH_3 (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitratos, N-NO_3 (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitritos, N-NO_2 (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Fósforo total, PT (mg/L)	Método del cloruro estano de los Métodos Estándar*	
Coliformes fecales, (NMP/100mL)	Tubos múltiples, Anexo III: NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002)	

* (APHA,AWWA, WEF, 1998)

3.3.3.2.- Lixiviados

Se muestrearon los lixiviados a la salida de cada celda en los registros ubicados para este efecto, a fin de determinar los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos del efluente y de esta manera evaluar la eficiencia de remoción de la celda contra los parámetros de entrada.

Las muestras a analizar se escogieron usando la curva de elución que se construyó con base en el parámetro de conductividad eléctrica como indicador de la concentración de contaminantes (ver Anexo X).

El tiempo de residencia hidráulico de las celdas se obtuvo usando una modelación matemática, la cual fue realizada en el programa *Hydrus 1D* (PC-Progress Inc., EEUU). Los resultados se muestran en las siguientes gráficas (Figuras 3.5 a 3.10):

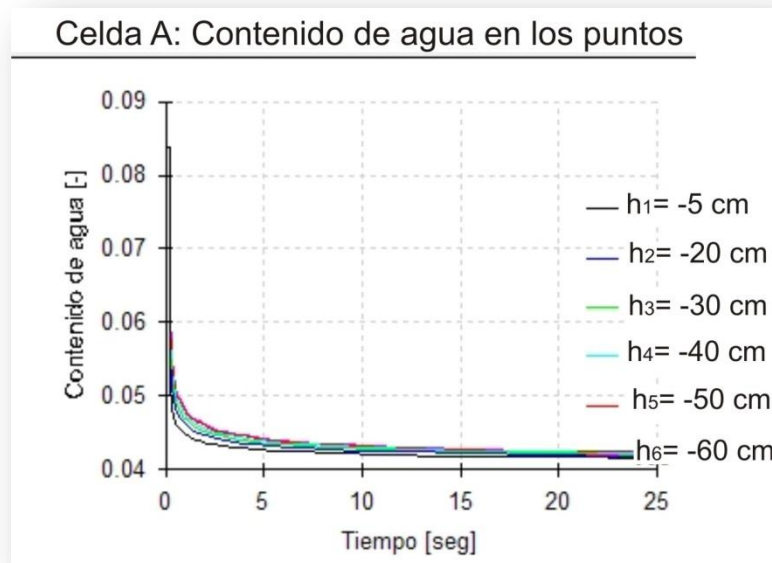


Figura 3.5: Contenido de agua en los puntos de la celda A

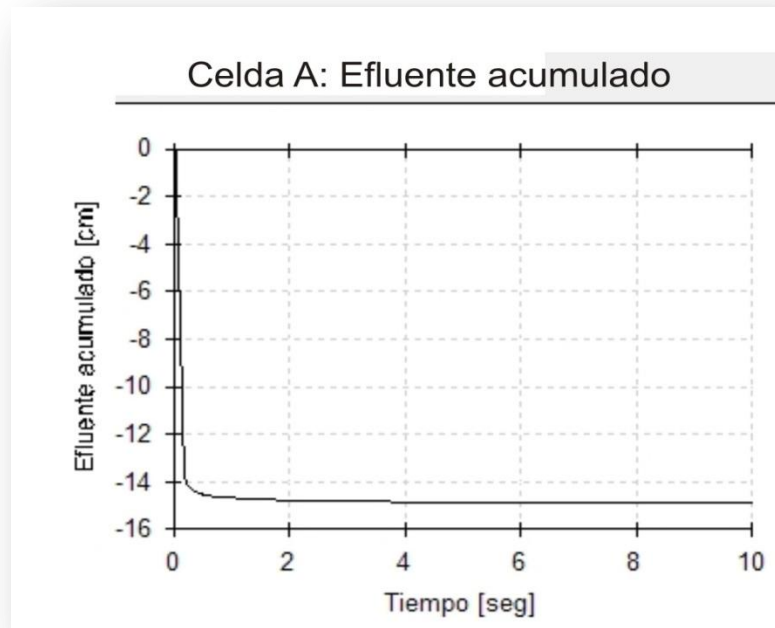


Figura 3.6: Efluente acumulado para la celda A

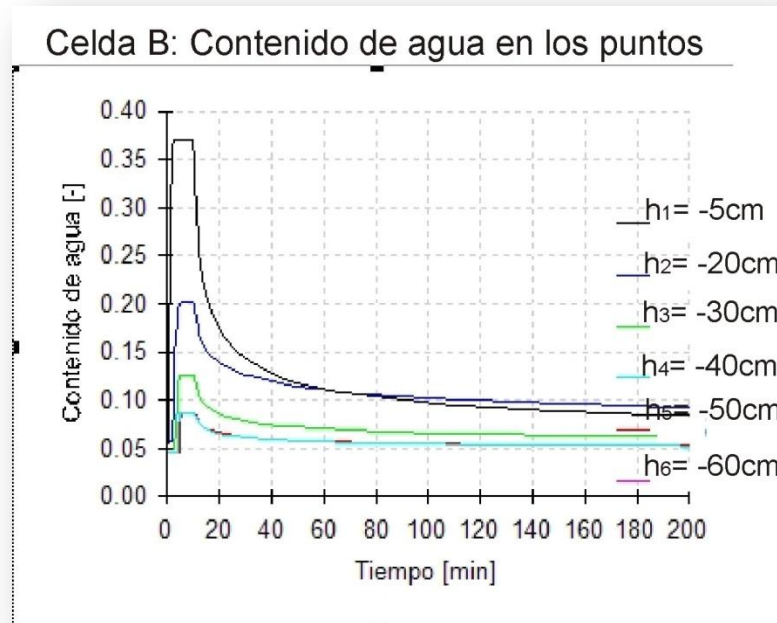


Figura 3.7: Contenido de agua en los puntos de la celda B

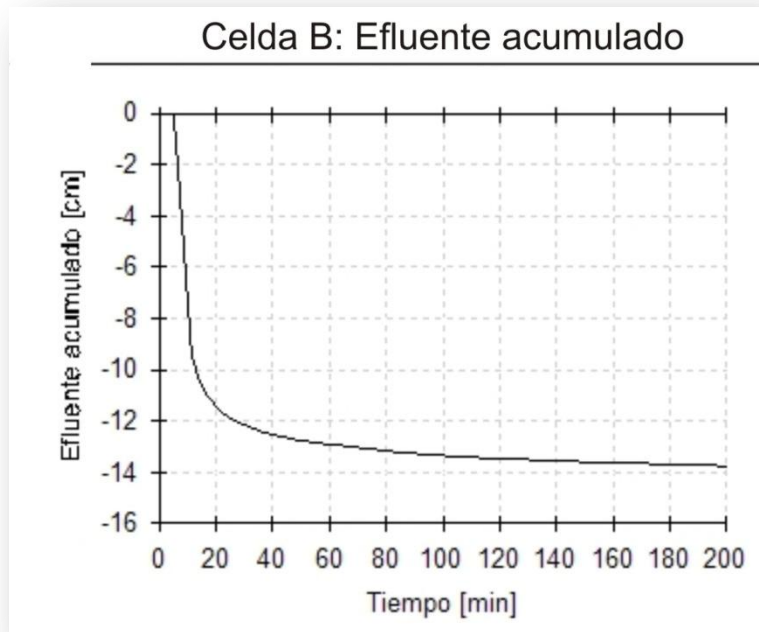


Figura 3.8: Efluente acumulado para la celda B

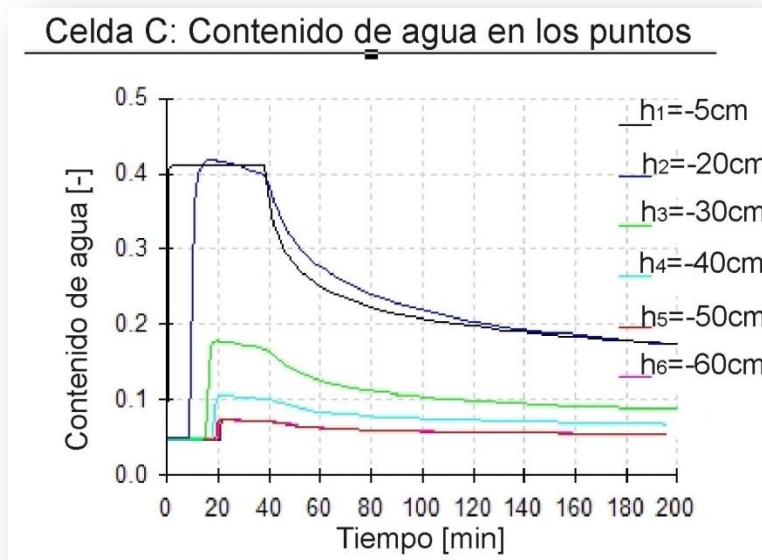


Figura 3.9: Contenido de agua en los puntos de la celda C

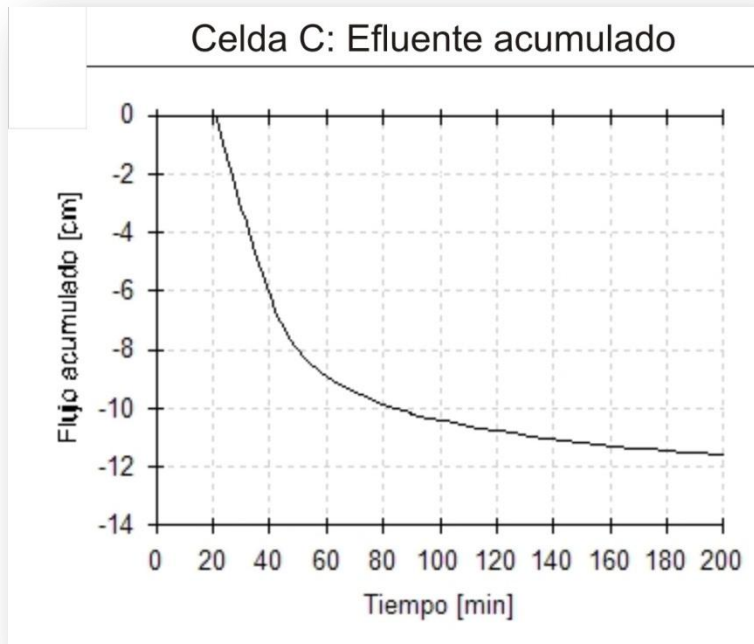


Figura 3.10: Efluente acumulado para la celda C

Las gráficas obtenidas por medio de la modelación permiten delimitar mejor el intervalo de muestreo. Así, para la celda A, se ve la necesidad de operar la válvula en caso de que se requiera de tomar las muestras, dado que el TRH es prácticamente nulo. En la celda B se observa que el TRH inicial fue de 5 min pero, para que la celda se drene casi completamente, pasan 45 min, lo cual se pudo corroborar con mediciones en campo. Finalmente, en la celda C el TRH inicial fue de 20 min y para que la celda se drenara pasaron 60 min. Estos datos igualmente se corroboraron en campo.

Los tiempos de muestreo fueron:

- Para la celda A se tomaron muestras de 250 mL cada minuto a partir del tiempo 0 y hasta que el agua dejó de salir
- Para la celda B se tomaron muestras de 250 mL cada 2 minutos a partir del min 5 y hasta el min 45
- Para la celda C se tomaron muestras de 250 mL cada 2 minutos a partir del min 20 y hasta el min 60

Los parámetros de control medidos en los lixiviados y la frecuencia de muestreo, así como las técnicas utilizadas se muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lixiviados

Parámetro	Técnica de análisis	Frecuencia de muestreo
Potencial redox (mV)	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	1 muestreo por cada aplicación de lodos
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	
pH	Equipo multiparámetros marca HANNA- Instruments	
Sólidos totales, ST (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos totales volátiles, SVT (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos suspendidos totales, SST (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Sólidos suspendidos volátiles, SSV (mg/L)	Gravimétrica NMX-AA-034-SCFI-2001	
Demanda química de oxígeno, DQO (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitrógeno total Kjeldahl, NTK (mg/L)	Macro-Kjeldahl de los Métodos Estándar*	
Nitrógeno amoniacal, N-NH ₃ (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitratos, N-NO ₃ (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Nitritos, N-NO ₂ (mg/L)	Espectrofotometría HACH DR2400	
Fósforo total, PT (mg/L)	Método del cloruro estanoso de los Métodos Estándar*	
Coliformes fecales, (NMP/100mL)	Tubos múltiples, Anexo III: NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002)	

* (APHA,AWWA, WEF, 1998)

3.3.3.3.- Lodos tratados

Se determinó la reducción del contenido de humedad, sólidos volátiles y de la presencia de organismos patógenos en el perfil de lodo residual acumulado, a efectos de evaluar su aptitud sanitaria y agronómica.

Para conformar las muestras a analizar se usó el método del cuarteo, para lo cual, se retiró la totalidad del lodo acumulado en cada celda (excepto la celda A, dado que en ella no hay acumulación de lodo residual) y se depositan en montículo, el material se traspalea, hasta obtener una mezcla homogénea. A continuación, la pila resultante se divide en cuatro partes aproximadamente iguales A, B, C y D y se eliminan las partes opuestas A y C o B y D. Esta operación se repite hasta dejar 10 kg aproximadamente de lodo o biosólido (SEMARNAT, 2002).

Los parámetros de control medidos en los lodos tratados y la frecuencia de muestreo, así como las técnicas utilizadas se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3: Técnicas y frecuencia de muestreo utilizadas para medir los parámetros en los lixiviados

Parámetro	Técnica de análisis	Frecuencia de muestreo
Humedad	NMX AA 016-1984/ ANEXO AS NOM 021 SEMARNAT 2005	1 solo muestreo
Sólidos totales, ST (mg/L)	Gravimétrica 2540G de los Métodos Estándar*	
Sólidos totales volátiles, SVT (mg/L)	Gravimétrica 2540G de los Métodos Estándar*	
Nitrógeno total Kjeldahl, NTK (mg/L)	Macro-Kjeldahl de los Métodos Estándar*	
Fósforo total, PT (mg/L)	Método del cloruro estano de los Métodos Estándar*	
Coliformes fecales (NMP/100mL)	Tubos múltiples, Anexo III: NOM- 004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002)	

* (APHA,AWWA, WEF, 1998)

3.3.3.4.- Resumen de los parámetros medidos y los métodos usados

Los parámetros medidos y los métodos analíticos usados se resumen en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4: Resumen de parámetros a medir

Parámetros	Lodo crudo	Lodo ya tratado	Lixiviados	Técnica
Temperatura (°C)	✓		✓	Equipo multiparámetros HANNA-Instruments
pH	✓		✓	
Conductividad (µS/cm)	✓		✓	
Potencial de óxido-reducción (mV)	✓		✓	
pH en suelos		✓		EPA 9045D-2004 (EPA, 2004)
Humedad		✓		NMX AA 016-1984 (DOF, 1984)
Nitrógeno total Kjeldahl (mg/L)	✓	✓	✓	Macro Kjeldhal
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	✓		✓	Espectrofotometría a HACH DR2400
Nitratos (mg/L)	✓		✓	
Nitritos (mg/L)	✓		✓	
Fósforo total (mg/L)	✓	✓	✓	Cloruro estanoso
DQO (mg/L)	✓		✓	Dicromato de Potasio
ST (mg/L)	✓		✓	Gravimétrica acorde a lo establecido en la NMX-AA-034-SCFI-2001 (DOF, 2001)
STV (mg/L)	✓		✓	
SST (mg/L)	✓		✓	
SSV (mg/L)	✓		✓	
ST en suelos y biosólidos (mg/L)		✓		Método 2540G de los Métodos Estándar
STV en suelos y biosólidos (mg/L)		✓		
Coliformes fecales NMP/100 mL	✓	✓	✓	Tubos múltiples
Huevos de helminto #/5L	✓		✓	Conteo en microscopio
Salmonella Spp	✓		✓	Ausencia-presencia por API 20E



3.4.- Análisis estadístico de los datos obtenidos

Con los resultados obtenidos de los análisis de laboratorio se realizaron comparaciones entre los 3 tipos de empaque usando un diseño de comparaciones pareadas con submuestreo, el cual, es un caso especial del diseño en bloques aleatorizados (Montgomery, 2006).

Las comparaciones realizadas en los lixiviados fueron:

- Entre la celda A (granulometría uniforme con plantas) y la celda B (granulometría estratificada con plantas): Esto sirvió para determinar la influencia de la granulometría en la eficiencia de tratamiento de los dos sistemas, así como los efectos de usar una granulometría de diámetro uniforme o una estratificada.
- Entre la celda B (granulometría estratificada con plantas) y la celda C (granulometría estratificada y ausencia de plantas): Esto sirvió para determinar la influencia de usar especies vegetales en la eficiencia de tratamiento de los sistemas.

Y en los lodos acumulados:

- Entre la celda B (granulometría estratificada con plantas) y la celda C (granulometría estratificada y ausencia de plantas).

Nota: Para la celda A (granulometría uniforme con plantas) no se realizaron análisis, dado que en ella no se acumuló lodo residual debido a la granulometría usada.

El esquema del diseño de experimentos usado se muestra en la Tabla 3.5. Para realizar los cálculos se usó el software estadístico Statgraphics Centurión V15 (Statpoint Technologies, EEUU).

Tabla 3.5: Esquema para el diseño de experimentos aplicado

Tiempos	Parámetro ambiental (Bloques)												OBSERVACIONES	
	I			II			III			...	N			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	...	1	2		3
Celdas (Tratamiento)													OBSERVACIONES	
A	AI1	AI2	AI3	AII1	AII2	AII3	AIII1	AIII2	AIII3	...	AN1	AN2		AN3
B	BI1	BI2	BI3	BII1	BII2	BII3	BIII1	BIII2	BIII3	...	BN1	BN2		BN3

A y B = Celdas a comparar; I,II,III...N = Parámetro ambiental analizado; N= N'esimo parámetro y 1,2,3 = Observaciones

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Aclimatación

El período de aclimatación de las plántulas de *Phragmites spp* comprendió desde el 23 de agosto hasta el 01 de noviembre del 2010 y se dividió en 2 etapas, durante las cuales las plántulas en las celdas A y B fueron irrigadas con agua residual cruda proveniente del cárcamo de bombeo del pretratamiento de la PTAR del IMTA. La caracterización promedio del agua residual que se usó para el riego durante el proceso de aclimatación se muestra en la Tabla 4.1.

Como mencionan Kadlec y Wallace (2009) diversos autores coinciden en que la productividad primaria de las plantas se incrementa por la disponibilidad de agua, luz y nutrientes. El agregar agua residual a las plántulas generalmente incrementa la disponibilidad de agua y nutrientes y, consecuentemente, esto redundó en una mayor estimulación de la productividad primaria gruesa y neta, de las especies usadas en los humedales construidos.

La *productividad primaria gruesa* es normalmente definida como la asimilación de materia orgánica por la comunidad de plantas durante un periodo específico, incluida la cantidad usada por la planta en su respiración. La *producción neta primaria* se define como la biomasa que es incorporada al interior de la comunidad de plantas durante un intervalo de tiempo excepto el tiempo en el que la planta realiza su respiración (Kadlec & Wallace, 2009).

Como se observa en la Tabla 4.1, el agua residual usada durante el proceso de aclimatación es rica en nitrógeno (41 mg/L) del cual más del 50% (24.8 mg/L) es nitrógeno amoniacal. Esta cantidad resultó adecuada para promover el desarrollo de las plántulas sin que resultase tóxico para ellas. Así mismo, el agua en cuestión posee poca materia orgánica así como sólidos suspendidos lo que permitió que las plantas colonizaran eficientemente el medio sin que existiesen taponamientos parciales o totales en los empaques del humedal.

Tabla 4.1: Caracterización del agua residual usada para el riego durante la aclimatación

Parámetro	Valor
Nitrógeno total (mg/L)	42.25
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	26.87
Nitratos (mg/L)	3.08
Nitritos (mg/L)	10.83
Fósforo total (mg/L)	9.56
DBO (mg/L)	96.00
DQO (mg/L)	241.88
SST (mg/L)	57.17
SSV (mg/L)	50.83
Coliformes totales NMP/100 mL	2.75E+07
Coliformes fecales NMP/100 mL	1.70E+07
Huevos de helminto #/5L	7

Durante el periodo comprendido del 23 de agosto hasta el 6 de septiembre del 2010 (primera y segunda semana) las tres celdas fueron irrigadas con 200 L diarios por inundación; sin embargo, al término de la segunda semana se observó la mortandad de tres plántulas en la celda A. Esto se atribuye a que la granulometría excesivamente gruesa del empaque no permitió la retención de humedad el suficiente tiempo como para que la zona radicular de la planta la pudiese aprovechar. Debido a esto, a partir de la tercera semana se modificó el tipo de alimentación a las celdas como sigue:

- La celda A (empaque de granulometría uniforme con plántulas) se regó por goteo con riego focalizado a cada plántula en alimentación continua con un gasto aproximado de 285L/d por plántula.
- Las celdas B (empaque de granulometría estratificada con plántulas) y C (empaque de granulometría estratificada sin plántulas) se alimentaron a razón de 200 L cada 2 días por inundación.

En las Figuras 4.1 y 4.2 se pueden observar el crecimiento vegetativo de las plántulas sembradas en cada celda y la cantidad promedio por m² de tallos, lo que

según Kadlec y Wallace (2009) es un indicador indirecto de la colonización del medio filtrante, la densidad de los tallos es importante dado que, su movimiento provocado por el aire, ayuda a quebrar mecánicamente el residuo acumulado de lodo en el humedal. Además, el efecto de degradación de los lodos debido a la evapotranspiración es sustancialmente incrementado cuanto mayor es la densidad de estos (Nielsen, 2003).

Acorde con Kadlec y Wallace (2009) para la especie usada (*Phragmites australis*) una densidad promedio de 250 tallo/m² es normal en climas tropicales.

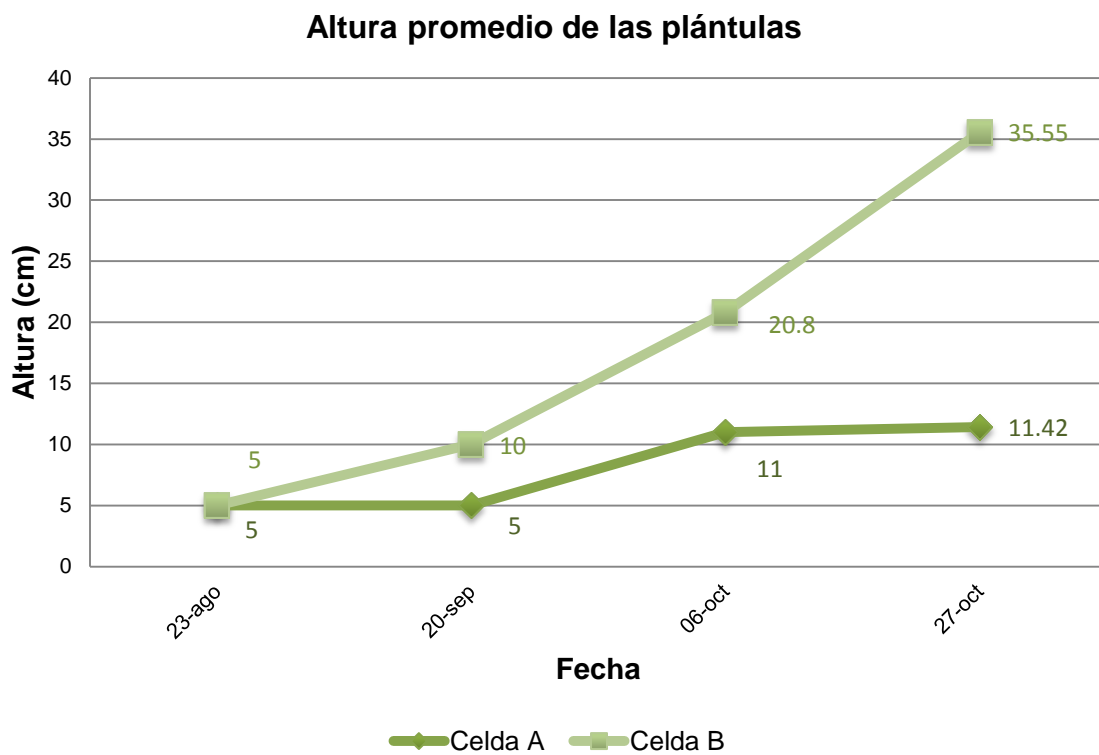


Figura 4.1: Crecimiento de las plántulas en las celdas A y B durante el período de aclimatación

Como se observa en las Figuras 4.1 y 4.2 la altura promedio y el número de tallos por m² en la celda B (granulometría estratificada) fue, al término del período de aclimatación, de tres veces más que los tallos en la celda A. Esto se debió a que, como se aprecia en la Figura 4.3, la disponibilidad de agua para las plántulas de la celda A estuvo limitada debido al tipo de alimentación escogido, la que nunca fue adecuada dada la granulometría tan gruesa del empaque.

Kadlec y Wallace (2009) recomiendan que en este caso lo más adecuado es dejar inundada la celda hasta aproximadamente 5 cm por debajo de la zona radicular, así mismo otros autores (Troesch y otros, 2009) lo corroboran en su trabajo.

Las plántulas de la celda B crecieron sin ningún problema. Esto se debió a que el estrato de siembra (arena) de este empaque permitió retener la humedad y los nutrientes a modo de que pudiesen ser aprovechados por las plántulas.

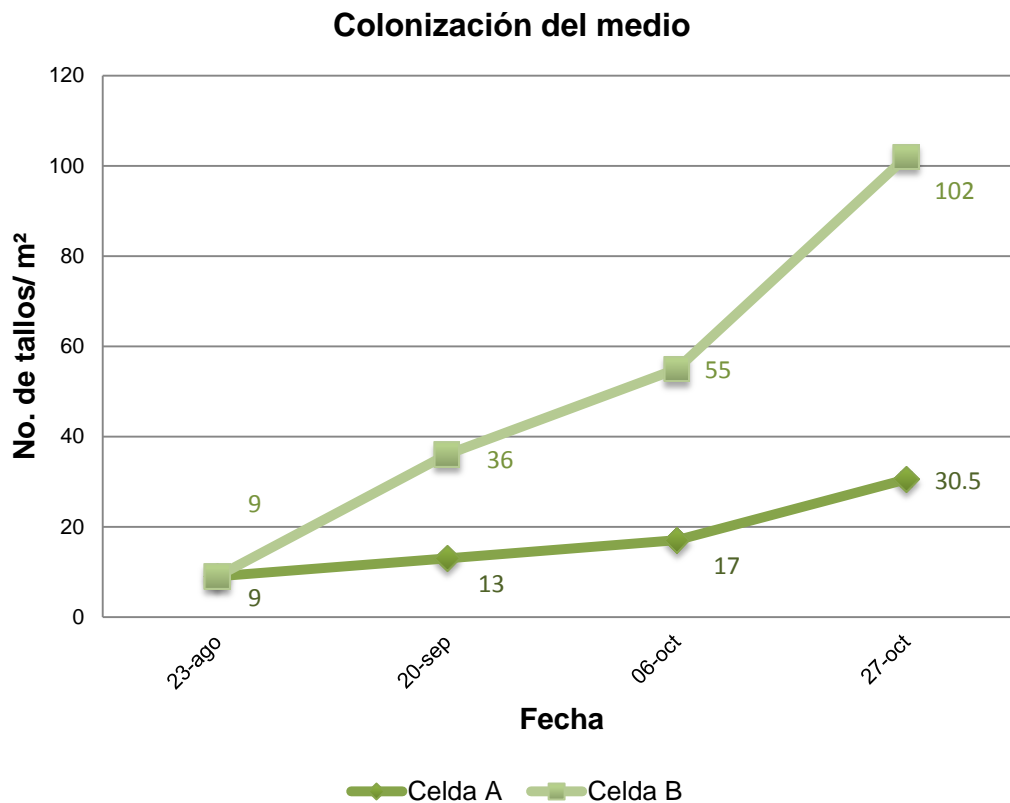


Figura 4.2: Cantidad de tallos promedio por m² en la celda A y B durante el período de aclimatación

Diversos autores (Nielsen , 2003 ; Troesch y otros, 2009) insisten en la necesidad de que al menos existan 250 tallos por m² antes de que el humedal de lodos entre en operación. En este caso debido a lo ajustado de los tiempos se decidió aplicar los lodos una vez alcanzada una densidad de 100 tallos por m² en al menos una de las celdas.

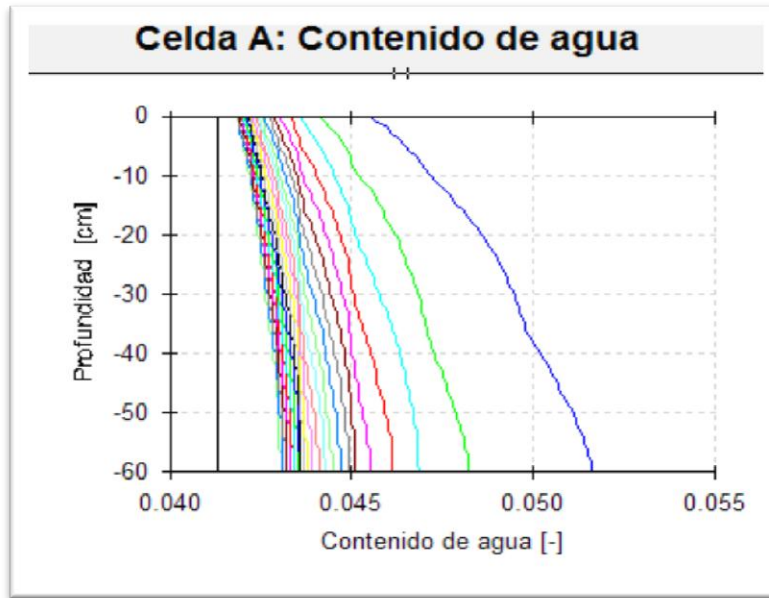


Figura 4.3: Contenido de agua en el perfil del empaque de la celda A

4.2.- Operación del sistema

Una vez concluida la fase de aclimatación de las plántulas de *Phragmites* spp se procedió a realizar la alimentación de lodos a cada una de las 3 celdas de la planta piloto. En esta fase del experimento se evaluaron 3 cargas distintas de lodos provenientes de distintas fosas sépticas del municipio de Cuernavaca.

4.2.1.- Primera aplicación de lodos

La primera aplicación se realizó el 01 de noviembre del 2010 recién terminada la fase de aclimatación, el lodo utilizado provino de una fosa séptica domiciliar del municipio de Emiliano Zapata en Cuernavaca, Morelos. En la Tabla 4.2 se presentan los valores para los distintos parámetros evaluados para estos lodos crudos (influyente), así como de los lixiviados (efluente). De este lodo se debe destacar:

- El contenido de sólidos, 2.05 kg de sólidos totales/m³ de los cuales más de la mitad (1.074 kg) son de origen orgánico. Además de esto

hay que recalcar el hecho de que el 42% (0.880 kg) de estos sólidos son sólidos suspendidos.

- La alta conductividad eléctrica 3.33 mS/cm revela un alto contenido de sales.
- Prácticamente el 100% del nitrógeno presente es de tipo amoniacal.
- Debido al bajo contenido de sólidos suspendidos no se acumuló lodo residual en la superficie de los empaques, por lo cual fue necesario modificar la metodología de aplicación para la 2^a y 3^a carga

Tabla 4.2: Caracterización del lodo crudo (influyente) y lixiviados (efluente) de las celdas A, B y C, para la primera carga de lodos

Parámetro	Influyente	Efluente celda A	Efluente celda B	Efluente celda C
Temperatura (°C)	24.0	24.0	24.0	24.0
pH	7.9	8.0	7.8	7.5
Conductividad (µS/cm)	3.33 x10 ³	2.88 x10 ³	1.58 x10 ³	0.78 x10 ³
Potencial de óxido-reducción (mV)	-125.0	-45.0	46.0	72.0
Nitrógeno total Kjeldahl(mg/L)	287.7	242.9	73.0	5.2
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	276.0	238.0	113.5	6.5
Nitratos (mg/L)	0.0	0.0	0.0	0.0
Nitritos (mg/L)	0.0	0.0	0.0	0.0
Fósforo total (mg/L)	23.5	19.3	7.8	3.0
DQO (mg/L)	1,020.0	580.0	121.0	39.3
ST (mg/L)	2,056.0	1,354.0	916.0	558.0
• STV (mg/L)	1,074.0	528.0	252.0	108.0
• STF (mg/L)	982.0	826.0	664.0	450.0
SST (mg/L)	880.0	130.0	30.0	30.0
• SSV (mg/L)	660.0	110.0	8.0	2.0
• SSF (mg/L)	220.0	20.0	22.0	28.0
SDT (mg/L)	1,176.0	1,224.0	886.0	528.0
Coliformes fecales NMP/100 mL	2.4 x 10 ⁷	1.1 x 10 ⁶	2.4 x 10 ⁵	1.1 x 10 ⁴
Salmonella Spp	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
Huevos de helminto #/5L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En la Figura 4.4 se presenta la cantidad remanente de los contaminantes más representativos para los lixiviados de cada celda respecto del lodo crudo:

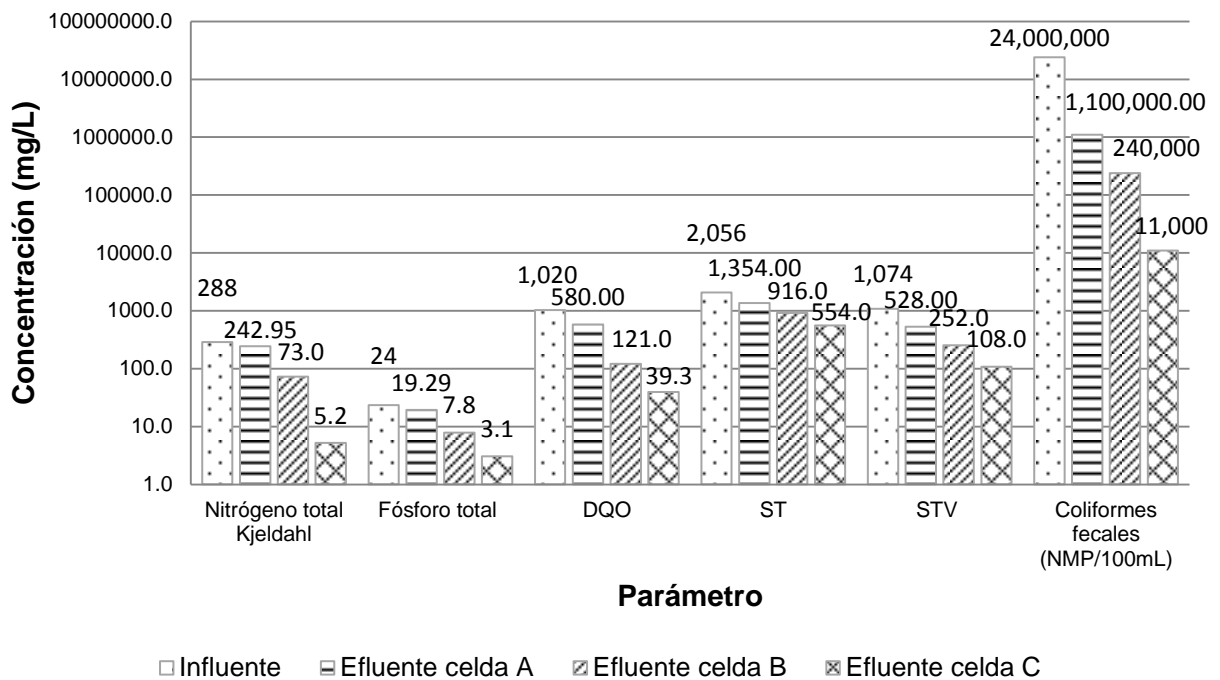


Figura 4.4: Eficiencia de remoción de contaminantes por celda para la 1ª carga de lodos

En este experimento se dio el caso de que el 60% de las plántulas en la celda A murieron inmediatamente después de realizada la primera aplicación del lodo y el otro 40% quedaron severamente afectadas. Presumiblemente esto se debió al poco desarrollo de las plantas (30.5 tallos/m²) que, en general, se presentó en dicha celda durante la etapa de aclimatación por las razones expuestas en el apartado 4.1.

Este resultado concuerda con lo reportado por de-la-Paz-Arquier (2007) al respecto de la sensibilidad de las plántulas cuando éstas se exponen a altos contenidos de sales disueltas (> 230 mg/L) mientras se encuentran en la etapa de crecimiento. Al respecto Troesch y otros (2009) evaluaron el tratamiento de lodos de fosa séptica y de una mezcla de ellos con lodo primario de una PTAR y encontraron que las plantas no sufrieron afectación alguna en su desarrollo o signos de intoxicación a pesar de la septicidad del lodo, siempre y cuando se

asegurara una densidad de 200 tallos/m² antes de la puesta en marcha propiamente del sistema.

Las plántulas de la celda B (100 tallos/m²), a diferencia de lo sucedido en la celda A, solamente presentaron una ligera coloración amarilla en la base de las hojas, la cual desapareció al cabo de una semana. Este hecho respalda la necesidad de que se dé un adecuado periodo de aclimatación y crecimiento de las plántulas antes del vertido propiamente de los lodos.

Para seguir con la experimentación y a fin de poder evaluar la degradación en el residuo de lodo acumulado se realizaron dos aplicaciones más. Para este fin se siguió el proceso de espesamiento descrito en el apartado 3.3.2, a fin de asegurar un alto contenido de sólidos y, como consecuencia, un residuo de lodo suficientemente espeso como para poder ser analizado.

4.2.2.- Segunda y tercera aplicaciones de lodos

La segunda y tercera aplicaciones de lodos se realizaron durante el mes de febrero del año 2011, los días 14 y 23 respectivamente. En esta fase de la experimentación ya no se alimentó la celda A, dado que la mayoría de las plantas murieron durante la primera aplicación de lodos y las que quedaron afectadas no se pudieron recuperar. Por tanto, se consideró inviable seguir analizando esta celda.

En las Tablas 4.3 y 4.4 se muestran los valores de los parámetros analizados para la 2^a y 3^a carga de lodos (influentes), así como los efluentes líquidos (lixiviados) de las celdas B y C.

De estos lodos es necesario resaltar las siguientes características:

- Las cargas de sólidos para la 2^a y 3^a aplicación fueron de 18.54 y de 15.56 kg de sólidos totales/m³, respectivamente. En estos casos el porcentaje de sólidos de origen orgánico estuvo por debajo del 50%, lo que sitúa la relación STV/ST en 0.46. Esta relación caracteriza al lodo como un lodo parcialmente estabilizado, lo que se pudo corroborar en campo.

- El potencial de óxido reducción (ORP) estuvo apenas por debajo de cero (-20 mV) y el lodo no presentó prácticamente olor séptico durante su manejo.
- La conductividad eléctrica fue del orden de 1.6 mS/cm.

Tabla 4.3: Valores de los parámetros analizados para la segunda carga de lodos (influyente) y efluentes en las celdas B y C

Parámetro	Carga de lodos # 2		
	Influyente	Efluente celda B n=3	Efluente celda C n=3
T (°C)	27.7	27.7	27.7
pH	6.8	6.8	7.0
Conductividad (µS/cm)	1,530.0	1,245.7	1,560.0
Potencial de óxido-reducción (mV)	-30.0	213.3	202.0
ST (mg/L)	18,540.0	779.3	880.7
• STV (mg/L)	8,596.0	139.3	291.3
• STF (mg/L)	9,944.0	640.0	589.4
SST (mg/L)	17,520.0	17.8	202.2
• SSV(mg/L)	8,540.0	12.9	148.9
• SSF (mg/L)	8,980.0	4.9	53.3
SDT (mg/L)	1,020.0	761.5	678.5
DQO (mg/L)	16,150.0	89.3	434.0
NTK (mg/L)	608.7	26.9	102.7
N-NO ₃ (mg/L)	0.0	4.6	26.4
N-NO ₂ (mg/L)	0.0	3.5	15.4
N-NH ₃ (mg/L)	330.0	15.3	94.8
PT (mg/L)	119.4	4.3	8.7
Coliformes fecales (NMP/100 mL)	2,800.0	1,020.3	11,800.0
Huevos de helminto #/5L	Ausencia	Ausencia	Ausencia

- El nitrógeno y el fósforo total se encuentran en concentraciones bastante importantes. Presumiblemente el fósforo se debería encontrar en forma de fosfatos debido a los detergentes en polvo usados en el hogar y al tipo de tratamiento que se da en las fosas sépticas (sedimentación). Se demostró en la caracterización que más del 50% del nitrógeno cuantificado como Nitrógeno total Kjeldahl fue de origen amoniacal.

- Finalmente, los organismos coliformes fecales encontrados fueron bajos. Esto se pudo deber al grado de estabilización del lodo crudo antes de su vertido a las celdas.

Tabla 4.4: Valores de los parámetros analizados para la tercera carga de lodos (influyente) y efluentes en las celdas B y C

Parámetro	Carga de lodos # 3		
	Influyente	Efluente celda B n=3	Efluente celda C n=3
T (°C)	26.1	26.1	26.1
pH	7.2	7.0	7.0
Conductividad (µS/cm)	1,590.0	1,557.3	2366.7
Potencial de óxido-reducción (mV)	-34.0	203.0	182.0
ST (mg/L)	15,562.0	904.0	1,712.7
• STV (mg/L)	7,310.0	242.7	564.0
• STF (mg/L)	8,252.0	661.3	1,148.7
SST (mg/L)	13,140.0	13.3	22.0
• SSV (mg/L)	6,160.0	12.0	17.3
• SSF (mg/L)	6,980.0	1.3	4.7
SDT (mg/L)	2,422.0	890.7	1,690.7
DQO (mg/L)	9,931.0	115.3	97.9
NTk (mg/L)	140.4	53.2	7.7
N-NO ₃ (mg/L)	37.0	10.5	37.7
N-NO ₂ (mg/L)	0.0	5.8	24.7
N-NH ₃ (mg/L)	75.6	25.6	4.1
PT (mg/L)	80.5	6.4	3.3
Coliformes fecales (NMP/100 mL)	2,000.0	700.0	54.3
Huevos de helminto #/5L	Ausencia	Ausencia	Ausencia

En las Figuras 4.5 y 4.6, se resumen los valores de entrada y salida de los contaminantes más representativos para los lixiviados de cada celda con respecto del lodo crudo.

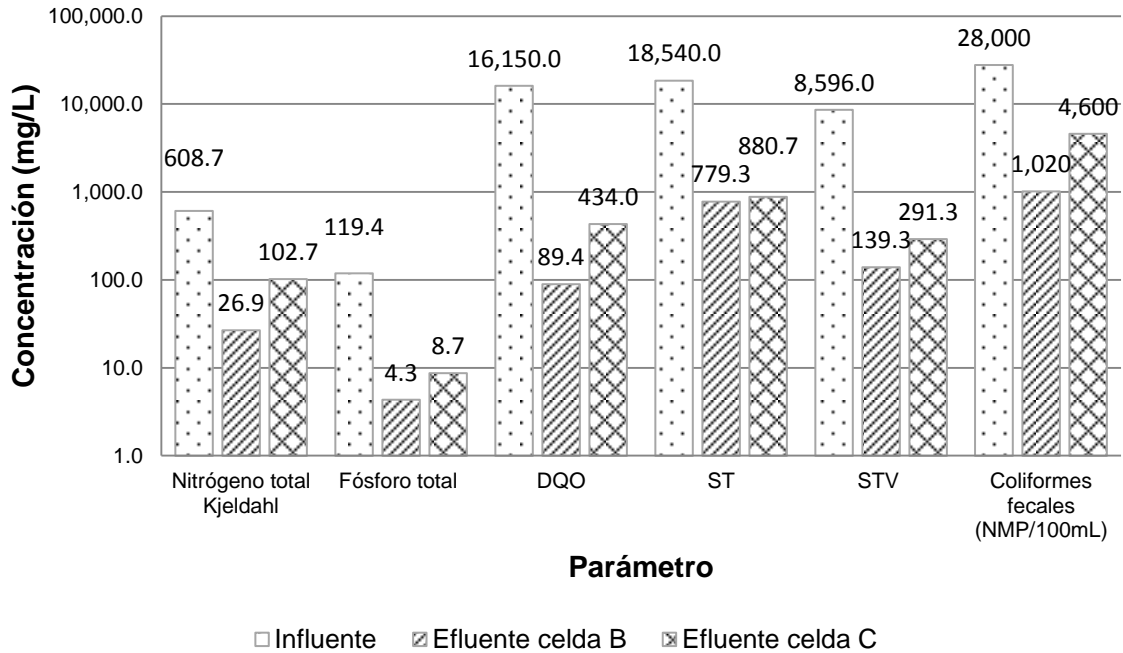


Figura 4.5: Concentración de contaminantes remanentes por celda para la 2ª carga de lodos (influyente y efluentes)

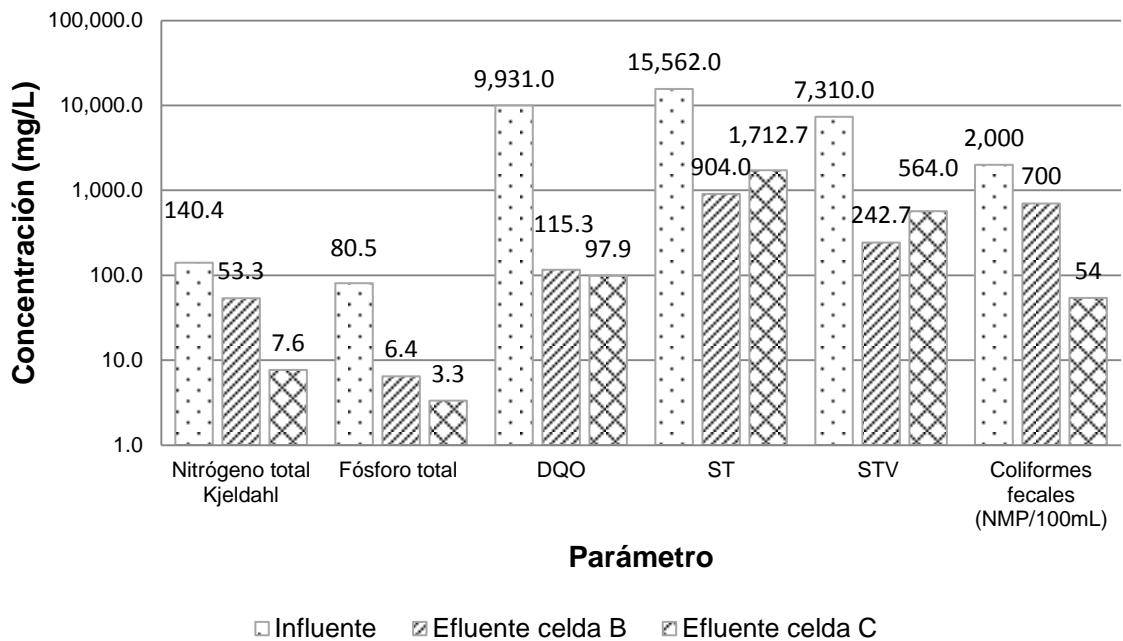


Figura 4.6: Concentración de contaminantes remanentes por celda para la 3ª carga de lodos (influyente y efluentes)

4.3.- Seguimiento del lodo acumulado

Una vez realizadas las tres aplicaciones de lodo que estaban previstas se llevó a cabo un seguimiento del lodo acumulado en las celdas, a fin de determinar su viabilidad agronómica como biosólido. El muestreo se realizó 42 días después de la última aplicación de lodo crudo. Durante este tiempo la celda B se irrigó una vez por semana con agua residual del cárcamo de bombeo de la PTAR del IMTA para mantener las plantas con la suficiente humedad para que sobreviviesen mientras se daba el proceso de desecación y estabilización de los lodos. Acorde con lo establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002) se retiró la totalidad del lodo acumulado y se conformaron las muestras a analizar (ver apartado 3.3.3.3).

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.5. Es importante resaltar lo siguiente:

- El porcentaje de humedad presente en el residuo de lodo de la celda B es mayor que el de la celda C. Esto podría deberse a que las plantas bloquean los rayos del sol y, por tanto, el proceso de desecación en esa celda no se da en la misma proporción de lo medido en la celda C.
- El contenido de sólidos secos en las celdas B y C pasó de 1.7 a 89.5% y 96.4%, respectivamente, después de 42 días de realizada la última aplicación de lodos.
- Los organismos coliformes fecales presentes en la celda B resultaron 3 logaritmos más altos que los presentes en el residuo de lodo deshidratado en la celda C. Esto se puede deber a que, las plantas en la celda B proporcionan sombra, lo que favorece una mayor humedad en el residuo de lodo, además de bloquear la luz UV que es en gran medida la responsable de la reducción de estos y otros organismos patógenos en estos sistemas de tratamiento de lodos.

- El nitrógeno total presente en el lodo deshidratado es, en promedio, de 18,947 mg/kg ST para el lodo deshidratado en la celda B y de 19,415 mg/kg ST para el de la celda C.
- El fósforo total remanente en el lodo deshidratado en la celda B fue del 54.35% y de 60.98% para el de la celda C, respecto del fósforo contenido en el influente. El valor promedio en la celda B es de 5,431 mg/ kg ST y de 6,093 mg/ kg ST para la C, por lo que, se puede considerar un material rico en este nutriente y apto para la agricultura (SEMARNAT, 2000).
- El residuo contenido en la celda C (sin plantas) posee una concentración ligeramente mayor de fósforo y de nitrógeno respecto al de la celda B. Esto se debe a que las plantas en la celda B requieren de una cantidad de estos nutrientes para su desarrollo; sin embargo, se aprecia en la comparación que esta fracción es pequeña.

Tabla 4.5: Caracterización de los parámetros analizados en el lodo acumulado a los 42 días

Parámetro	Lodo acumulado celda B	Lodo acumulado celda C
Humedad (%)	10.5 ^a	3.6 ^b
ST (g/kg ST)	895.3 ^a	964.3 ^a
STV (g/kg ST)	390.4 ^a	374.37 ^a
NTK (mg/kg ST)	18,947.0 ^a	19,415.0 ^a
PT (mg/ kg ST)	5,431.0 ^a	6,093.0 ^a
Coliformes fecales (NMP/g de ST)	1.57E+07 ^a	2.10E+04 ^a
%STV/ST	43.6 ^a	38.8 ^a

^{a,b} Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre los valores (p<0.05)

4.4.- Discusión de los resultados obtenidos por parámetro

En este apartado se discuten los resultados obtenidos en la operación del sistema para los siguientes parámetros monitoreados:

- Demanda química de oxígeno
- Reducción de sólidos volátiles
- Fósforo total
- Nitrógeno total Kjeldahl
- Coliformes fecales

4.4.1.- Materia orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO)

Durante la operación de la planta piloto se determinó la eficiencia de remoción de materia orgánica, medida como DQO. Kadlec y Wallace (2009) sostienen que en los humedales de lodos, análogamente a lo que sucede en los humedales de flujo vertical, la DQO es un parámetro agrupado en dos partes, la soluble y la particulada. Si la materia orgánica se puede segregar, en la superficie del humedal, esto contribuirá a la eliminación de altas concentraciones de DBO contenidas en el influente. Este parámetro fue medido en el influente a las celdas del humedal de lodos y en sus efluentes lixiviados (ver Tabla 4.6).

Tabla 4.6: Demanda química de oxígeno total (DQO) en el influente y los efluentes lixiviados de las celdas del humedal de lodos

Fecha	Influente (mg/L)	Efluente celda A (mg/L)	Efluente celda B (mg/L)	Efluente celda C (mg/L)	Remoción celda A (%)	Remoción celda B (%)	Remoción celda C (%)
01/11/2010	1,020.0	580.0	121.0	39.3	43.0	88.0	96.0
14/02/2011	16,150.0	-----	89.3	434.0	-----	98.0	89.0
23/02/2011	9,931.0	-----	115.3	97.9	-----	98.8	99.0

En las Figuras 4.7 y 4.8 puede observarse el desempeño de cada una de las celdas del humedal en cuanto a remoción de materia orgánica debida a las 3

cargas de lodos que se aplicaron durante los 4 meses de operación del sistema. Puede observarse que la eficiencia de remoción de la materia orgánica medida como DQO total para las celdas B y C permanece arriba del 85% durante los 4 meses e incluso se incrementa levemente en ambas celdas a pesar de que la carga contaminante es bastante mayor en las cargas 2 y 3 respecto de la primera.

Debido a que el humedal es relativamente joven (las plantas, así como la biopelícula en el empaque, están aún en crecimiento), estos datos deben tomarse con ciertas reservas. Además, es claro que la mayor parte de la materia orgánica es retenida en forma de sólidos en la superficie del humedal lo cual se comprobó visualmente (Ver Figuras 4.10 y 4.11) y se corroboró con los datos de DQO soluble obtenidos para la 3ª carga de lodos, los cuales fueron de 263 mg/L y de 295 mg/L para las celdas B y C, respectivamente.

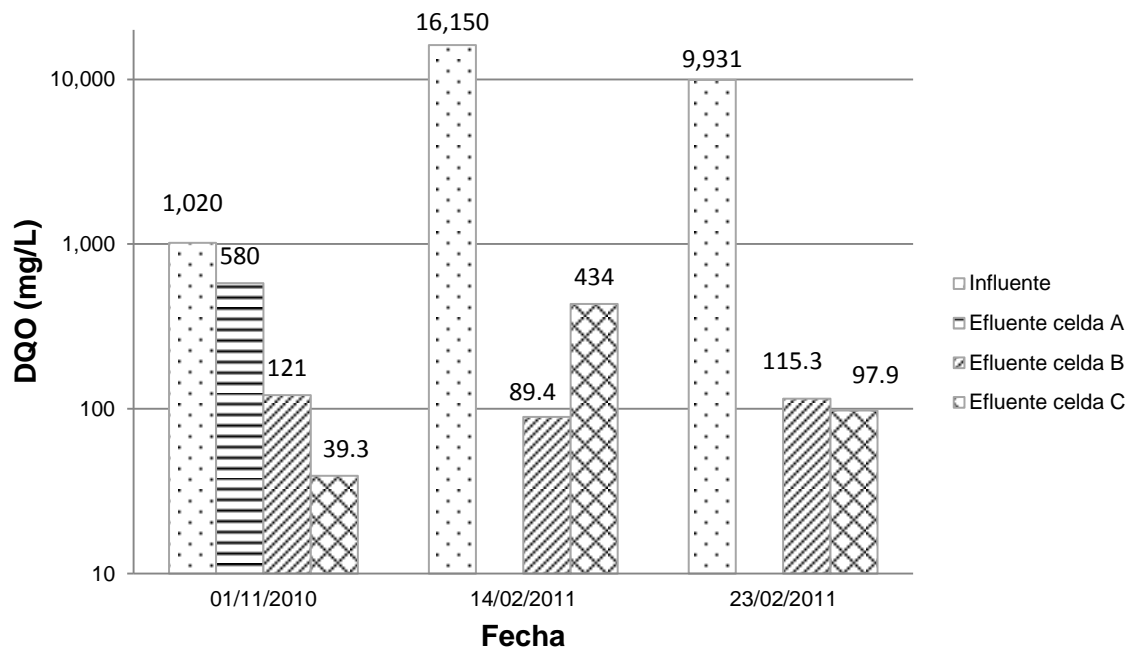


Figura 4.7: Comportamiento de la demanda química de oxígeno (DQO) para las tres cargas de lodos realizadas durante la operación de la planta piloto (influyente-efluente)

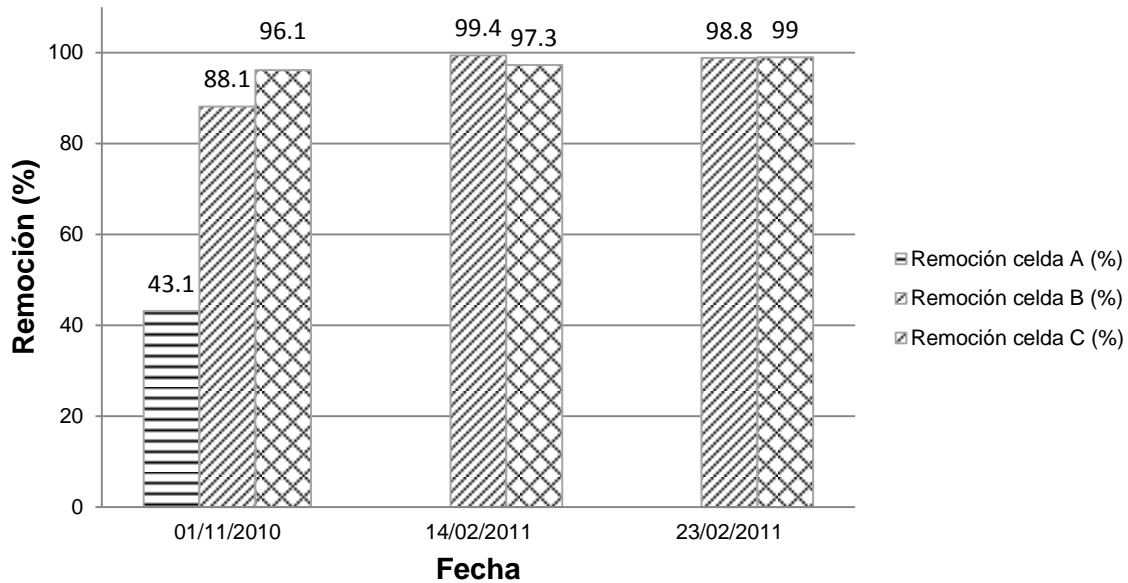


Figura 4.8: Remoción de la DQO (%) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto

4.4.2.- Grado de estabilización de los lodos medido como reducción de los sólidos volátiles

Típicamente, los humedales de lodos usan como estrato superior de siembra un medio de arena relativamente fina ($d_{10} \approx 0.25$ mm). Con este empaque, el depósito y filtración de materia particulada es un mecanismo dominante de remoción de los SST entrantes, especialmente cerca de la superficie del humedal. Además, se puede formar una biopelícula superficial en la parte superior del humedal en respuesta a la carga orgánica total entrante (Kadlec y Wallace, 2009). En este experimento el d_{10} del estrato superior de arena para las celdas B y C fue de 0.29 y de 0.10, respectivamente.

La reducción de sólidos volátiles es una manera indirecta de medir el grado de estabilización de un lodo crudo, dado que la relación STV/ST aproxima la cantidad de materia orgánica presente en los sólidos totales. Durante este experimento se midieron los parámetros: Sólidos totales (ST) y sólidos totales volátiles (STV), así como la concentración de los SST y SSV. Estos parámetros fueron medidos en el

influyente a las celdas del humedal de lodos, en sus efluentes lixiviados y finalmente en el lodo acumulado (ver Tabla 4.7).

Tabla 4.7: Sólidos totales, sólidos totales volátiles, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos totales volátiles en las celdas experimentales

Fecha	Parámetro	Influente	Efluente celda A	Efluente celda B	Efluente celda C	Remoción celda A (%)	Remoción celda B (%)	Remoción celda C (%)
01/11/2010	ST (mg/L)	2,056.0	1,354.0	916.0	558.0	34.1	55.4	72.9
	STV (mg/L)	1,074.0	528.0	252.0	108.0	50.8	76.5	89.9
	STV/ST %	52.2	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	SST (mg/L)	880.0	130.0	30.0	30.0	85.2	96.6	96.6
	SSV (mg/L)	660.0	110.0	8.0	2.0	83.3	98.8	99.7
14/02/2011	ST (mg/L)	18,540.0	-----	779.3	880.7	-----	95.8	95.2
	STV (mg/L)	8,596.0	-----	139.3	291.3	-----	98.4	96.6
	STV/ST %	46.4	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	SST (mg/L)	17,520.0	-----	17.8	202.2	-----	99.9	98.8
	SSV (mg/L)	8,540.0	-----	12.9	148.9	-----	99.8	98.3
23/02/2011	ST (mg/L)	15,562.0	-----	904.0	1712.7	-----	94.2	89.0
	STV (mg/L)	7,310.0	-----	242.7	564.0	-----	96.7	92.3
	STV/ST %	47.0	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	SST (mg/L)	13,140.0	-----	13.3	22.0	-----	99.9	99.8
	SSV (mg/L)	6,160.0	-----	12.0	17.3	-----	99.8	99.7
06/04/2011 Lodo acumulado	ST (mg/kg ST)	-----	-----	895.3	964.3	-----	-----	-----
	STV (mg/kg ST)	-----	-----	390.4	374.4	-----	-----	-----
	STV/ST %	-----	-----	43.6	38.8	-----	-----	-----

En la Figura 4.9 se pueden observar, de manera comparativa, los valores de los influentes y efluentes para los parámetros de sólidos totales (ST) y sólidos totales volátiles (STV) para las 3 cargas de lodos realizadas durante la operación del sistema. Se observa que la primera carga de lodos correspondió a un lodo de bajo contenido de sólidos totales, mientras que las dos cargas posteriores fueron de lodos con una alta carga de sólidos.

La acumulación de sólidos en la superficie de los empaques del humedal se comprobó visualmente (Ver Figuras 4.10 y 4.11) y, además, se corrobora con los datos obtenidos en el apartado de remoción.

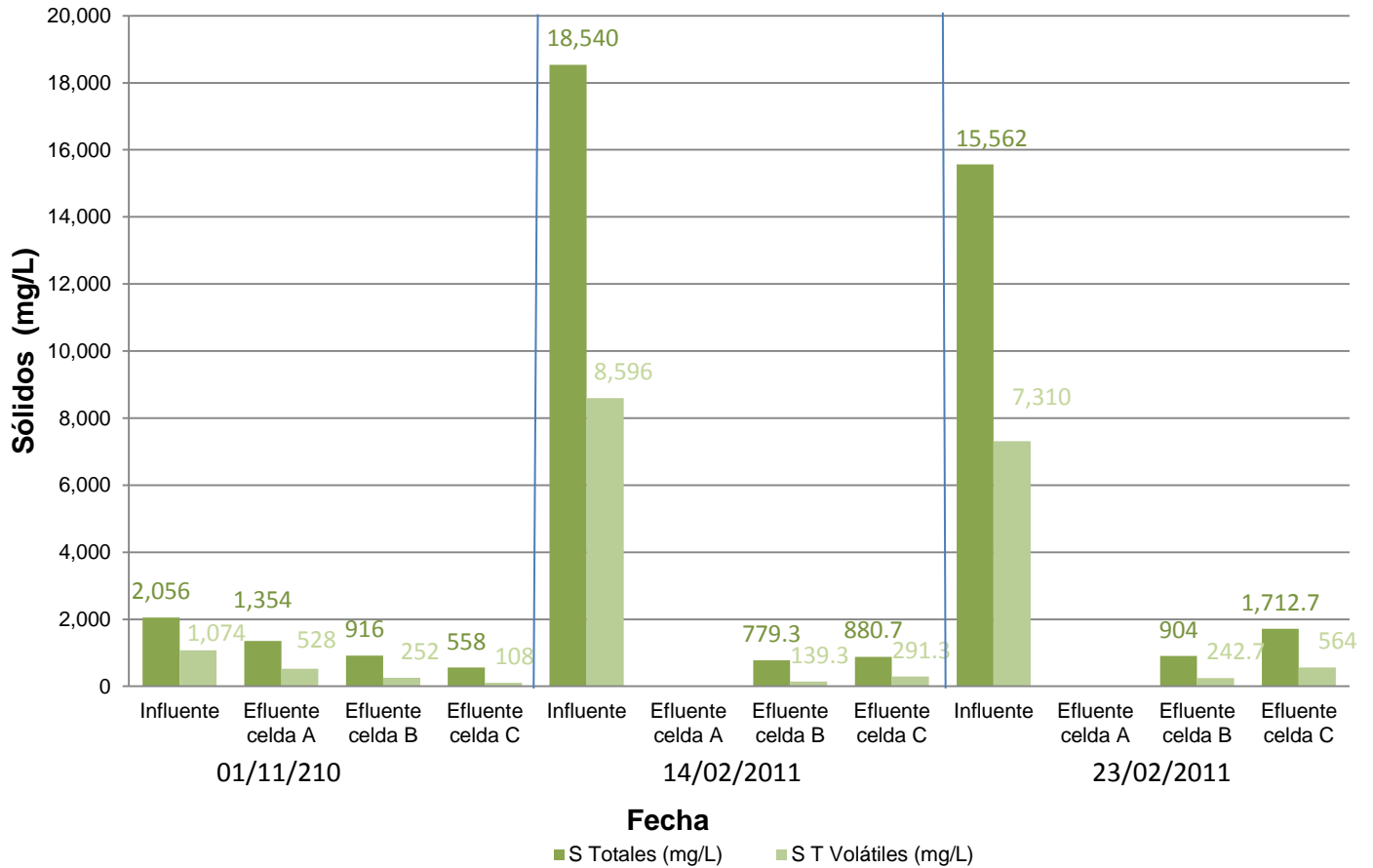


Figura 4.9: Remoción de sólidos totales y sólidos totales volátiles para las celdas B y C del humedal

Se calculó que para la celda C la remoción promedio de ST fue de 86% mientras que para la celda B fue de 82%. Es de destacar que la mayor diferencia de remociones se dio para la 1ª aplicación de lodos; sin embargo, está diferencia no fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$)



Figura 4.10: Fotografía del lodo acumulado en la celda C

Lo anterior se debió a que:

- El contenido de sólidos del lodo vertido fue bastante bajo, aproximadamente 0.2%.
- Por ser la primera aplicación de lodos, aún no se había formado ninguna biopelícula superficial.
- La capa superior de arena de la celda B es más gruesa ($d_{10}=0.29$) que la de la celda C ($d_{10}=0.1$)



Figura 4.11: Fotografía del lodo acumulado en la celda B

La remoción de sólidos en estos sistemas, como se ha puntualizado anteriormente en este escrito, se debe básicamente a la acumulación de sólidos en la parte superior de los empaques, por lo que no es conveniente solamente tomar los porcentajes de remoción con base en el contenido de sólidos en los lixiviados (Véase Figura 4.9).

La reducción de sólidos volátiles se midió como la diferencia entre el promedio de las relaciones STV/ST en el influente para las tres cargas de lodos realizadas y la relación STV/ST en el lodo residual acumulado. Para la celda B, la reducción fue de 4.93%, mientras que para la C fue de 9.73%. En la Tabla 4.7 se observa que el lodo introducido en la 2ª y 3ª aplicaciones ya estaba parcialmente estabilizado ($STV/ST \approx 46\%$), y que después de 42 días las relaciones presentes en el lodo

residual acumulado fueron de 43.6% para la celda B y de 38.8% para la celda C. Estas relaciones corresponden a un lodo estabilizado y poco susceptible a la putrefacción. El mayor contenido de humedad en la celda B, debido a las plantas, puede ser causa de una menor reducción de sólidos volátiles; sin embargo, el corto tiempo de seguimiento (42 días) de los residuos no permite concluir acerca de este punto.

Por último, respecto de la acumulación de sólidos en la superficie, habría que puntualizar que la celda C presentó taponamiento durante la aplicación de la 3ª carga de lodos, por lo que fue necesario picar la superficie del empaque con una varilla metálica para asegurar la infiltración del agua. Esto se debió probablemente, a que al no tener plantas en su interior la biomasa proliferó sin ningún tipo de control. Además, probablemente se dio un fenómeno de compactación natural, como ocurre en los suelos. Sin embargo, no se puede afirmar que éstas hayan sido las causas dado que no se realizaron mediciones al respecto, por lo que será importante en un estudio futuro estudiar la hidráulica de los dos empaques analizados (Ver Anexo XIV).

4.4.3.- Fósforo

La capacidad de los humedales artificiales para remover fósforo es un problema que aún no se ha resuelto satisfactoriamente, ya que, el potencial de eliminación de fósforo en los humedales construidos es limitado y depende en gran medida de la naturaleza de los materiales utilizados para su construcción. Otros factores que podrían afectar la eficiencia de remoción incluyen el crecimiento de la biopelícula adherida al medio, lo que reduce el contacto y la interacción entre el material y las aguas residuales, y la naturaleza no homogénea del empaque de los humedales, que no garantiza un rendimiento consistente de los sistemas (Arias & Brix, 2005).

Estudios previos de estos autores han demostrado que la capacidad de eliminación de fósforo del medio se relaciona con su composición química y, en particular, su contenido de calcio.

La eliminación del fósforo de las aguas residuales, a través de la biomasa de las plantas, se puede colocar en el orden de 3-6 g P/m² al año. Esto es menos del 3% de la contaminación anual producida por una persona (Wissing & Hofmann, 2002), así mismo la capacidad de absorción de las arenas según algunos autores se encuentra en el orden de 2 kg P/m³año (Arias & Brix, 2005).

En este experimento se evaluó la concentración de fósforo medida como fósforo total en el influente a cada una de las celdas del humedal, así como en sus efluentes líquidos (lixiviados). Así mismo, se determinó la concentración presente en el lodo deshidratado acumulado en la superficie de las celdas B y C (Ver Tabla 4.8)

Tabla 4.8: Fósforo total (PT) en el influente y los efluentes lixiviados de las celdas del humedal de lodos.

Fecha	Carga	Punto de medición	Fósforo total, PT (mg/L)	Remoción (%)
01/11/2010	1ª Carga	Influente	23.5	-----
		Efluente celda A	19.3	18.0
		Efluente celda B	7.8	66.7
		Efluente celda C	3.1	87.0
14/02/2011	2ª carga	Influente	119.4	
		Efluente celda B	4.3	96.4
		Efluente celda C	8.7	92.7
23/02/2011	3ª carga	Influente	80.5	
		Efluente celda B	6.4	92.0
		Efluente celda C	3.3	95.9
06/04/2011	Lodo acumulado	Lodo celda B	54.3	-----
		Lodo celda C	60.9	-----
09/07/2011	Biomasa	Celda B	30.2	-----

El balance de fósforo puede ser calculado para estos sistemas como sigue:

$$INF = EFF + PB + DS + PR + UNA \quad (4-1)$$

donde:

INF = P presente en el agua residual usada en el proceso de aclimatación, más el P presente en el lodo de fosa séptica, mgP/ (m²*día);

EFF = P presente en el lixiviado, mgP/ (m²*día);

PB = P contenido en la biomasa de las plantas, mgP/ (m²*día);

DS = P contenido en el lodo acumulado sobre los empaques, mgP/(m²*día);

PR = P retenido por el material del empaque, mgP/ (m²*día);

UNA = Paradero desconocido para el balance mgP/ (m²*día)

En este experimento no se realizaron pruebas para medir el fósforo total retenido en el empaque, por lo que la cantidad retenida se tomará de literatura como 2 kg P/m³*año (Arias & Brix, 2005). De los datos obtenidos durante la experimentación, el balance para la celda B (granulometría estratificada con plantas) queda como sigue:

$$22,853.3 = 1,938.7 + 39.9 + 5,430.7 + 5,479.4 + \text{UNA}$$

$$22,853.3 = 12,831.1 + \text{UNA}$$

$$\text{UNA} = 9,964.5 \text{ mgP/d}$$

Así, Considerando el gasto utilizado, se puede calcular que el fósforo cuyo paradero se desconoce dentro del proceso es equivalente a 33 mgP/L.

En lo que se refiere al balance de fósforo para la celda C (granulometría estratificada sin plantas), éste queda como sigue:

$$22,853.31 = 1,550.83 + 6,093 + 5,479.45 + \text{UNA}$$

$$22,853.31 = 13,123.28 + \text{UNA}$$

$$\text{UNA} = 9,730.03 \text{ mgP/d} = 32.43 \text{ mgP/L}$$

Así, considerando el gasto utilizado, se puede calcular que el fósforo cuyo paradero se desconoce dentro del proceso es equivalente a 32 mgP/L. Presumiblemente, el fósforo se habría solubilizado y sería lavado del empaque debido a los posteriores rehumedecimientos del medio; sin embargo, este valor no se midió y se requerirían más datos para poder concluir al respecto.

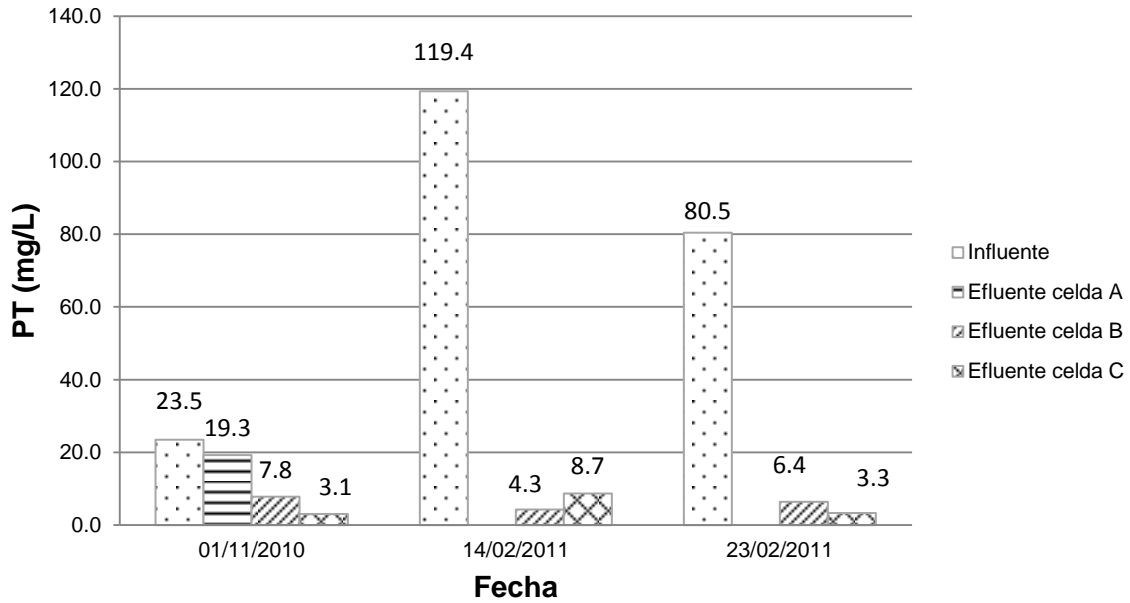


Figura 4.12: Comportamiento del fósforo total (PT) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto

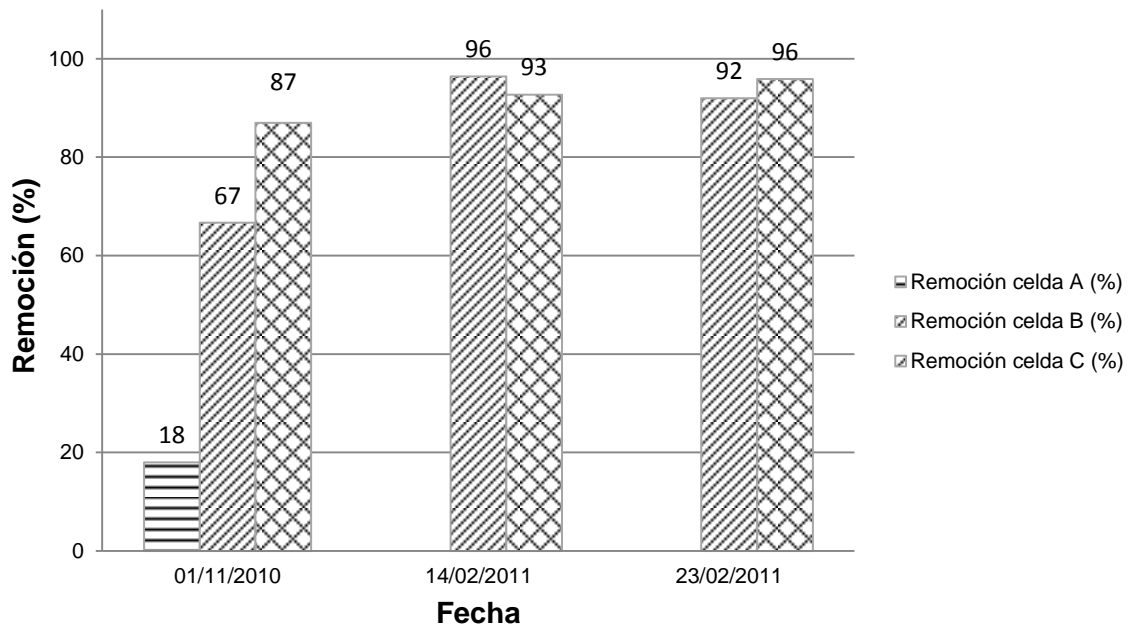


Figura 4.13: Remoción de fósforo total (PT) para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto

En las Figuras 4.12 y 4.13 se presenta el desempeño de las celdas A, B y C del humedal, en cuanto a remoción de fósforo para las 3 cargas de lodos aplicadas. Se aprecia que la eficiencia de remoción sube de 67 a 93% y de 87 a 93% para ambas celdas entre la 1ª y la 2ª aplicación y que se mantiene para la 3ª aplicación, esto se debió a que durante el período de evaluación las plantas estaban en crecimiento y a que la arena del empaque era nueva y pudo absorber una gran cantidad de fósforo. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la vida útil de un humedal es bastante más amplia que el período evaluado y que una vez que la arena de los empaques se encuentre saturada de fósforo ésta debería empezar a desorberlo. Además, se debe contabilizar el hecho de que las plantas del humedal tienen un ciclo vegetativo donde las partes de ellas que se secan y mueren (hojas y tallos) se pudrirán sobre el humedal y esto reintegraría al sistema parte del fósforo acumulado en la biomasa de las plantas.

4.4.4.- Nitrógeno

Varios autores concuerdan que, en el caso del nitrógeno, la remoción de este compuesto se da en los humedales de flujo vertical por varias vías: nitrificación (si el contenido de oxígeno en el medio lo permite), desnitrificación, consumo de las plantas para su desarrollo vegetativo (principalmente como NO_3^-), adsorción en el medio (NH_4^+) y volatilización como NH_3 , aunque este proceso es altamente dependiente del pH (Green y otros, 1998; Durán de Bazúa y otros, 2008).

Kadlec y Wallace (2009) mencionan que “la presencia de oxígeno en los humedales de flujo vertical permite que el nitrógeno amoniacal (NH_3) absorbido por el medio pueda oxidarse a nitrato (NO_3^-), el cual no está ligado al sustrato y, por ende, es fácilmente lavable en los subsecuentes rehumedecimientos del medio”. Así mismo, mencionan que la vegetación de los humedales utiliza el nitrógeno en forma de nitrato y amoníaco para su crecimiento, pero los procesos de descomposición vegetal reintegran gran parte del nitrógeno previamente almacenado en la biomasa de las plantas al agua.

Existen dos efectos directos de la vegetación en el procesamiento y la eliminación del nitrógeno en los humedales artificiales:

- El crecimiento de las plantas guarda y libera nitrógeno de manera cíclica y estacional proporcionando así un efecto de retorno para una misma etapa de evaluación.
- Acrecienta la formación de nuevos sedimentos en el humedal. Estos residuos contienen nitrógeno como parte de su estructura y, por lo tanto, representa una mejora en el proceso de fijación del nitrógeno al nuevo suelo (Kadlec & Wallace, 2009).

Al momento, pocas publicaciones han discutido la transformación del nitrógeno en humedales para el tratamiento de lodos provenientes de fosas sépticas. Panuvatvanich y otros (2009), basándose en la literatura disponible, mencionan que entre 55-60% del nitrógeno sería removido vía sedimentación y filtración en el empaque del humedal, menos del 1% sería ocupado por las plantas y menos del 10% acabaría en el lixiviado. Además, mencionan que en teoría la principal razón por la que desaparece el amoníaco de estos sistemas es el proceso microbiano de nitrificación-desnitrificación secuencial.

El balance de nitrógeno puede ser calculado para estos sistemas usando la siguiente ecuación (Panuvatvanich y otros, 2009):

$$INF = EFF + PB + DS + NL + UNA \quad (4-2)$$

donde:

INF = N presente en el influente como lodo de fosa séptica, gN/(m²*Semana);

EFF = N presente en el lixiviado, gN/(m²*Semana);

PB = N contenido en la biomasa de las plantas, gN/(m²*Semana);

DS = N contenido en el lodo acumulado, gN/(m²*Semana);

NL = N-NH₄ que se pierde típicamente en los humedales construidos de flujo vertical, gN/(m²*Semana);

UNA = Paradero desconocido para el balance, gN/(m²*Semana)

En este experimento, se midió la concentración de nitrógeno como nitrógeno total Kjeldahl, el cual se define a su vez como la suma del nitrógeno orgánico y del nitrógeno amoniacal, el nitrógeno amoniacal (N-NH₃), así como las formas de nitrógeno oxidado nitritos y nitratos (N-NO₂ y N-NO₃) para el influente (lodo de fosa séptica) y los lixiviados. Para el lodo acumulado solamente se determinó el contenido de nitrógeno como Nitrógeno total Kjeldahl (Ver Tabla 4.9).

Tabla 4.9: Formas de nitrógeno medidas en el lodo crudo (influyente), lixiviados y lodo acumulado en la planta piloto durante su evaluación

Fecha	Carga	Punto de medición	Nitrógeno total Kjeldahl, NTK (mg/L)	Nitratos, N-NO ₃ (mg/L)	Nitritos, N-NO ₂ (mg/L)	Nitrógeno amoniacal, N-NH ₄ (mg/L)
01/11/2010	1ª Carga	Influente	287.7	0.0	0.0	276.0
		Efluente celda A	242.9	0.0	0.0	238.0
		Efluente celda B	73.0	0.0	0.0	113.5
		Efluente celda C	5.2	0.0	0.0	6.5
14/02/2011	2ª carga	Influente	608.7	0.0	0.0	330.0
		Efluente celda B	26.9	4.6	3.5	15.3
		Efluente celda C	102.7	26.4	15.4	94.8
23/02/2011	3ª carga	Influente	140.4	37.0	0.0	75.6
		Efluente celda B	53.2	10.6	5.8	25.6
		Efluente celda C	7.6	37.7	24.7	4.1
06/04/2011	Lodo acumulado	Efluente celda B	189.5	-----	-----	-----
		Efluente celda C	194.1	-----	-----	-----
09/07/2011	Biomasa	Celda B	456.0	-----	-----	-----

De los datos obtenidos durante la experimentación, el balance de nitrógeno para la celda B (granulometría estratificada con plantas) queda como sigue:

$$105,966.52 = 18,706.28 + 602.64 + 18,947.00 + \text{UNA}$$

$$105,966.52 = 38,255.92 + \text{UNA}$$

$$\text{UNA} = 67,710.6 \text{ mgN/d}$$

Así, Considerando el gasto utilizado, se puede calcular que el nitrógeno cuyo paradero se desconoce dentro del proceso es equivalente a 226 mgN/L.

En lo que se refiere al balance de nitrógeno para la celda C (granulometría estratificada sin plantas) este queda como sigue:

$$105,966.52 = 12,731.52 + 19,416.00 + \text{UNA}$$

$$105,966.52 = 32,147.52 + \text{UNA}$$

$$\text{UNA} = 73,818.99 \text{ mgN/d}$$

Así, Considerando el gasto utilizado, se puede calcular que el nitrógeno cuyo paradero se desconoce dentro del proceso es equivalente a 246 mgN/L.

El nitrógeno total restante se supone que se pierde en los humedales verticales de flujo subsuperficial (VFCW) como resultado de la absorción biológica de los microorganismos, la absorción de NH_4 y NO_3^- en los sustratos del empaque, la volatilización del amoníaco (NH_3), y las reacciones de nitrificación / desnitrificación; sin embargo, estos valores no se midieron y se requerirían más datos para poder concluir al respecto.

En la Figura 4.14 se presenta el comportamiento del nitrógeno medido como nitrógeno total Kjeldahl en las celdas A, B y C del humedal, para las 3 cargas de lodos aplicadas durante la operación del sistema. Se aprecia que, de manera general, la celda B es la que mejor remueve el nitrógeno. Así mismo, para el contenido de nitrógeno en el lodo acumulado se puede decir que es muy similar en ambas celdas (B y C).

Al igual que sucede con el fósforo, el nitrógeno asimilado por la planta sería reintroducido al sistema si no se cosecha la parte vegetativa de las plantas y se deja que éstas mueran y se pudran dentro del humedal, por lo que es necesario contabilizar un programa de manejo de este subproducto (Gaitán- Zamora y Durán-de-Bazúa, 2006).

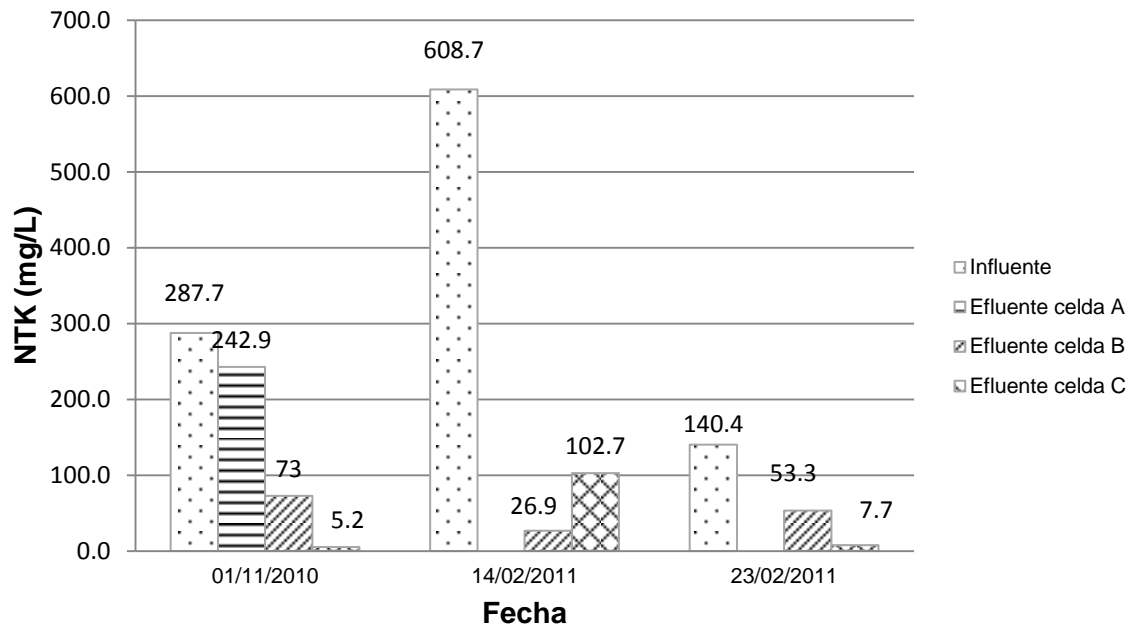


Figura 4.14: Comportamiento del nitrógeno total Kjeldahl (NTK) para las tres cargas de lodos realizadas durante la operación de la planta piloto

4.4.5.- Organismos coliformes

En general, se sabe que los humedales plantados superan los controles sin plantar en cuanto a la remoción de organismos patógenos, principalmente debido a que la rizosfera de las plantas estimula las comunidades microbianas. Sin embargo, las interacciones fundamentales entre plantas y microorganismos asociados siguen siendo poco conocidas. Se ha sugerido que la rizosfera de las plantas aumenta la densidad y la actividad microbiana proporcionando la superficie de las raíces para el desarrollo de los microorganismos, además de proporcionar una fuente de carbono a través de los exudados de la raíces y un



entorno microaerobio gracias al oxígeno liberado por las raíces (Gagnon y otros, 2007).

Los humedales construidos usualmente alcanzan de 1-2 unidades logarítmicas de remoción para la mayoría de los indicadores bacterianos (una unidad de remoción logarítmica correspondería a 90% de reducción de la concentración de organismos bacterianos y dos unidades al 99%). Así mismo, la remoción de los indicadores bacterianos está relacionada con la remoción de los sólidos suspendidos totales (SST) (Green y otros, 1997).

Algunos autores proporcionan evidencia de una mayor supervivencia de los virus y bacterias a mecanismos de eliminación biológica en los sedimentos de los humedales construidos. La mortalidad de las bacterias en los sedimentos parece estar correlacionada con el tamaño de los sedimentos, siendo menor en los sedimentos que contienen grandes cantidades de partículas del tamaño de las arcillas. Los patógenos atrapados en los sedimentos pueden ser removilizados y resuspendidos en la columna de agua como agentes infecciosos. Varios estudios hallaron una fuerte correlación negativa entre la tasa de flujo y la eficiencia de remoción de organismos indicadores patógenos en humedales construidos de flujo superficial (Ghermandi y otros, 2007)

En este experimento se llevó a cabo un seguimiento del parámetro coliformes fecales para el influente, efluente líquido (lixiviados), además se determinó la concentración de estos organismos en el lodo acumulado sobre los empaques de las celdas B y C de la planta piloto (Ver Tabla 4.10).

En la Figura 4.15 se puede observar de manera gráfica y en escala logarítmica la remoción de los organismos coliformes fecales para cada una de las tres aplicaciones de lodos realizadas. Es importante resaltar la baja concentración de estos organismos para la 2ª y 3ª aplicación, aunque esto es lógico dado el alto grado de estabilización con que llegaron los lodos a la planta piloto.

La reducción de los coliformes fecales alcanzada durante la operación de la planta piloto fue de aproximadamente 2 unidades logarítmicas para los efluentes líquidos

(lixiviados), lo que concuerda con lo que se reporta en la literatura para estos sistemas.

Para el caso del lodo acumulado se observó, inclusive, un aumento en la concentración de estos organismos patógenos. Esto se puede deber a varios factores:

- La capa de sólidos acumulada fue lo suficientemente gruesa como para impedir la entrada de luz UV que es la principal causa de la reducción de estos organismos en sistemas expuestos a la intemperie.
- La humedad atrapada dentro de la capa de sólidos contribuyó a la preservación de los organismos coliformes y a su posterior desarrollo.
- La celda B continuó irrigándose con agua residual cruda para asegurar la supervivencia de las plantas. Esto pudo contribuir en cierta medida al efecto observado, aunque debe tenerse en cuenta que, de acuerdo con los datos obtenidos en la celda C en donde no se aplicó agua residual cruda, de todas maneras la concentración de coliformes se incrementó.

Tabla 4.10: Organismos coliformes fecales en el influente, lixiviados y lodo acumulado de las celdas del humedal de lodos de la planta piloto

Fecha	Carga	Punto de medición	Coliformes totales (NMP/100mL)
01/11/2010	1ª Carga	Influente	2.4 E+07
		Efluente celda A	1.1E+06
		Efluente celda B	2.4E+05
		Efluente celda C	1.1E+04
14/02/2011	2ª carga	Influente	2,800
		Efluente celda B	1,020
		Efluente celda C	11,800
23/02/2011	3ª carga	Influente	2,000
		Efluente celda B	700
		Efluente celda C	54
06/04/2011	Lodo acumulado (NMP/g ST)	Efluente celda B	1.5E+07
		Efluente celda C	1.7E+07

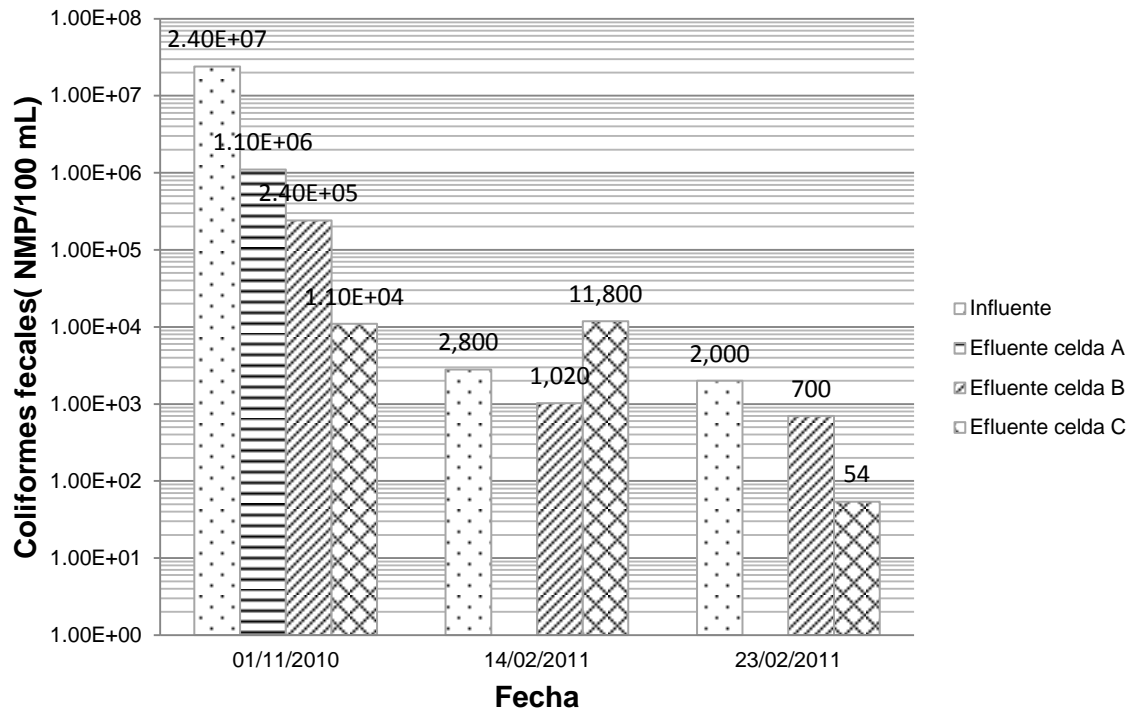


Figura 4.15: Comportamiento de los organismos coliformes fecales para las tres cargas de lodos, realizadas durante la operación de la planta piloto

4.5.- Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó un diseño de experimentos del tipo comparaciones pareadas con submuestreo para cada parámetro de control. Debido a los problemas que se enfrentaron con el empaque de la celda A no se tomó en cuenta ésta para las comparaciones, por lo que sólo se pudieron comparar los resultados obtenidos para la celdas B y C.

Comparación por parámetro entre las celdas B (granulometría estratificada con plantas) y C (granulometría estratificada sin plantas):

- DQO: No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 2 variables con un nivel del 95.0% de confianza.
- ST: No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza

- PT: No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza
- NTK: No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza
- Coliformes fecales: No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza.

Los resultados obtenidos del diseño de experimentos no son concluyentes dada la cantidad tan reducida de resultados que se evaluaron, que fueron de 3 cuando la cantidad recomendada es al menos 15 (Montgomery, 2006). La diferencia en cuanto a la remoción de los parámetros evaluados no es estadísticamente diferente y por el momento no se podría concluir que las plantas ayuden o no en el proceso de tratamiento de lodos.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.- Conclusiones

De acuerdo con el objetivo de esta investigación puede concluirse que:

- ⊙ La configuración de la celda B con granulometría estratificada con plantas fue exitosa para estabilizar lodos provenientes de fosas sépticas.
- ⊙ Para los parámetros fósforo total (PT) y sólidos suspendidos totales (SST), los lixiviados generados por las celdas en estudio cumplieron con los límites máximos permisibles establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996 (SEMARNAT, 1996a) y NOM-002-SEMARNAT-1996 (SEMARNAT, 1996b), para las tres cargas de lodos realizadas, pero no fue así para el nitrógeno total Kjeldahl (NTK).
- ⊙ La eficiencia de remoción de la materia orgánica medida como DQO total para las celdas B y C fue mayor al 85% durante los 114 días del período de aplicación de los lodos a los humedales, e incluso se incrementa levemente en ambas celdas a pesar de que el nivel de contaminantes es bastante mayor en las cargas 2^a y 3^a respecto de la primera.
- ⊙ La reducción de materia orgánica en el lodo acumulado a los 42 días fue de 4.93% para la celda B, mientras que para la C fue de 9.73%.
- ⊙ La relación STV/ST (%) final fue, para la celda B (con plantas) de 43.61%, mientras que para la celda C (sin plantas) fue de 38.82%. Ésta relación corresponde a un lodo estabilizado y poco susceptible a la putrefacción (Metcalf & Eddy Inc., 2003).
- ⊙ El producto obtenido (lodo estabilizado) es rico en fósforo y nitrógeno por lo que podría ser un buen acondicionador de suelos (SEMARNAT, 2000), tomando en cuenta los puntos que siguen de huevos de helminto y bacterias coliformes fecales.

- ⊙ No se encontraron huevos de helminto en ninguna de las caracterizaciones del lodo, de los efluentes lixiviados o del lodo tratado.
- ⊙ Las bacterias Salmonella spp. se encontraron presentes tanto en el influente como en los efluentes lixiviados, por lo que el uso del lodo estabilizado como mejorador de suelo debe ser cuidadosamente evaluado.
- ⊙ La reducción de organismos coliformes fecales para los lixiviados estuvo en el orden de los 2 logaritmos, lo cual es lo normal para este tipo de sistemas.
- ⊙ En el lodo acumulado de las celdas B y C, se encontraron concentraciones de coliformes fecales superiores a los que permite el límite máximo de la NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2002), establecido para un biosólido clase B (<1,000 NMP/g en base seca).
- ⊙ Dadas las concentraciones de patógenos en el producto final, éste se puede emplear en: Usos forestales, mejoramiento de suelos y uso agrícola sin contacto directo con el usuario (SEMARNAT, 2002).
- ⊙ Debido a lo reducido de los tiempos y a las pocas cargas de lodos que se realizaron no fue posible determinar si existe alguna diferencia estadística respecto de los resultados obtenidos, que permitan concluir que las plantas aportan un beneficio en el tratamiento de estos lodos.
- ⊙ La celda que no tenía plantas (celda C) presentó taponamiento del empaque durante la aplicación de la 3ª carga de lodos. Por el contrario la celda con plantas (celda B) no presentó ninguna reducción apreciable de su conductividad hidráulica dado que el crecimiento de las raíces dentro del empaque permitió evitar el fenómeno de compactación.
- ⊙ La mejor configuración de las tres evaluadas fue la de la celda B.

5.2.- Recomendaciones

El tiempo de vida útil de estos sistemas es muy grande, ya que operan en ciclos de 10-12 años. Por ello, algunas recomendaciones para continuar con esta línea de investigación en trabajos futuros serían:

- ⦿ Evaluar con plantas la configuración del empaque usado en la celda C, usando la misma densidad de siembra que se usó para las celdas A y B (9 plántulas/m²)
- ⦿ Operar semanalmente el sistema por un período de al menos 1 año (idealmente 2 ó 3) para poder evaluar el grado de estabilización de este tipo de lodos a lo largo de la temporada de secas y de lluvias.
- ⦿ Evaluar otro tipo de materiales y estratificación de los empaques.
- ⦿ Evaluar otras especies vegetales.

ANEXO I: ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO

La finalidad del análisis granulométrico es obtener la distribución por tamaño de las partículas presentes en una muestra de suelo. Así es posible también su clasificación mediante sistemas como el del *American Association of State Highway* (AASHTO) o el del *Unified Soil Classification System* (USCS). El ensayo es importante, ya que gran parte de los criterios de aceptación de suelos para ser utilizados en bases o sub-bases de carreteras, presas de tierra o diques, drenajes, etc., depende de este análisis.

Para obtener la distribución de tamaños, se emplean tamices normalizados y numerados, dispuestos en orden decreciente. Para suelos con tamaño de partículas mayor a 0.074 mm (74 micrones) se utiliza el método de análisis mecánico mediante tamices de abertura y numeración indicado en la Tabla I.1. Para suelos con partículas de tamaño inferior, se utiliza el método del hidrómetro, basado en la ley de Stokes.

Tamiz (ASTM)	Tamiz (Nch) (mm)	Abertura real (mm)	Tipo de suelo
3"	80	76.12	GRAVA
2"	50	50.80	
1 1/2"	40	38.10	
1"	25	25.40	
3/4"	20	19.05	
3/8"	10	9.52	
Nº4	5	4.76	ARENA GRUESA
Nº10	2	2.00	ARENA MEDIA
Nº20	0.90	0.84	
Nº40	0.50	0.42	
Nº60	0.30	0.25	ARENA FINA
Nº140	0.10	0.105	
Nº200	0.08	0.074	

Figura A.I.1: Tabla de numeración y abertura de tamices (Juárez Badillo y Rico Rodríguez, 2001)



I.1 Método para análisis mecánico

Equipo necesario:

- Un juego de tamices normalizados según la tabla anterior.
- Dos balanzas: con capacidades superiores a 20 kg y 2000 g y precisiones de 1 g y 0.1 g, respectivamente.
- Horno de secado con circulación de aire y temperatura regulable capaz de mantenerse en $110 \pm 5^\circ \text{C}$.
- Un vibrador mecánico.
- Herramientas y accesorios. Bandeja metálica, cuchara, recipientes plásticos y escobilla.

Procedimiento:

Se homogeneiza cuidadosamente el total de la muestra en estado natural (desmenuzándola con un mazo), tratando de evitar romper sus partículas individuales, especialmente si se trata de un material blando, piedra arenosa u otro similar.

Se reduce por cuarteo una cantidad de muestra levemente superior a la mínima recomendada según el tamaño máximo de partículas del árido, indicado en la tabla de la Figura A.I.2.

Se seca el material ya sea al aire a temperatura ambiente o bien dentro de un horno a una temperatura inferior a 60°C , hasta conseguir pesadas consecutivas constantes en la muestra cada 30 minutos. Cuando esté seca se obtiene la cantidad mínima recomendada (M_t) a ensayar según la antes mencionada.



Tamaño máximo de partículas (mm)	Cantidad mínima a ensayar (kg)
5	0.50
25	10.0
50	20.0
80	32.0

Figura A.I.2: Tabla de cantidad mínima a ensayar según tamaño de partículas de numeración y abertura de tamices (Juárez Badillo y Rico Rodríguez, 2001)

Inmediatamente, obtenido el tamaño de muestra a ensayar, se separa a través del tamiz 3/8" ASTM (10 mm). La fracción retenida en este tamiz, se pesa y se lava con el fin de eliminar todo el material fino menor a 0.074 mm. Para esto, se remoja el suelo en un recipiente con agua hasta que las partículas más finas se suelten, enseguida se lava el suelo colocando como filtro la malla N° 200 ASTM (0.08 mm), hasta observar que el agua utilizada salga limpia. El material retenido en la malla se deposita en una bandeja y se coloca en el horno durante 24 horas. Cumplido el tiempo de secado y una vez enfriada la muestra, se pesa. A este peso se le llamará muestra de ensayo (Mf) y, por diferencia con respecto a la cantidad mínima recomendada (Mt), se obtiene el material fino por lavado.

A continuación, se deposita el material en la criba superior del juego de tamices, los que deberán encontrarse limpios y ordenados en forma decreciente hasta la criba de 3/8" (10mm). El juego deberá contar de una tapa en la parte superior y una bandeja de residuos en la inferior.

Se hace vibrar el conjunto durante 5 a 10 minutos (Figura A.I.3), tiempo después del cual se retira del vibrador y se registra el peso del material retenido en cada tamiz.



Figura A.I.3.: Juego de tamices (Juárez Badillo y Rico Rodríguez, 2001)

Para la fracción de muestra que pasó el tamiz 3/8" (10mm), el procedimiento es similar, salvo que una vez lavada y seca, se ensaya una muestra representativa de 500 g utilizando los tamices comprendidos entre las mallas N° 4 y 200 ASTM (5 y 0.08 mm).

Cálculos y gráficos:

De acuerdo con los valores de las masas retenidas en cada tamiz, registrar los siguientes datos en la hoja de cálculos:

- Porcentaje retenido en cribas (%RC):

$$\%RC = PRC / Mt * 100 \quad (\%) \quad (A-1)$$

donde:

PRC = masa retenida en cada criba (g)

Mt = masa total de la muestra seca (g)

- Porcentaje retenido en mallas (%RM):

$$\%RM = PRM * K / 500 \quad (\%) \quad (A-2)$$

donde:

PRM = masa retenida en cada malla (g)

K = porcentaje de muestra que pasó el tamiz 3/8"

500 = masa representativa de la muestra (g)

- Porcentajes retenidos acumulados, suma acumulativa de los porcentajes retenidos en cribas y mallas.
- Porcentajes que pasa, los que consisten en restar a 100% el porcentaje retenido acumulado en cribas y mallas.

Se calcula el porcentaje de pérdida (%P) para cada fracción de material, mediante la siguiente expresión:

$$\%P = (M1 - M2) / M1 * 100 \quad (\%) \quad (\text{A-3})$$

donde:

M1 = masa del material (grava o arena) a ensayar (g)

M2 = sumatoria de masas retenidas (g)

Graficar la curva granulométrica, donde la ordenada será el porcentaje de masa que pasa por cada tamiz en escala natural y la abscisa el tamaño (diámetro equivalente) de las partículas en escala logarítmica. De esta curva se obtiene el porcentaje de gravas, arenas, finos y diámetros mayores a 3" del suelo.

Se calcula el coeficiente de uniformidad (C_u), el cual es una medida de uniformidad (graduación) del suelo y el coeficiente de curvatura (C_c), el cual es un dato complementario para definir la uniformidad de la curva, mediante las siguientes expresiones:

$$C_u = D_{60} / D_{10} \quad (\text{A-4})$$

$$C_c = (D_{30})^2 / (D_{60} * D_{10}) \quad (A-5)$$

donde:

D_{10} = tamaño donde pasa el 10% del material

D_{30} = tamaño donde pasa el 30% del material

D_{60} = tamaño donde pasa el 60% del material

Observaciones:

- Si una vez extraída la muestra de ensayo (Mf), existen partículas mayores a 80 mm (3”), se deberá extraer esta fracción, pesar y expresarla en porcentaje del total de la muestra. Luego, al efectuar el análisis granulométrico, se considerará como el 100% al suelo restante que pasó completamente la criba de 80 mm (3” ASTM).
- El proceso de lavado de la muestra debe ser realizado cuidadosamente de modo de no dañar el tamiz o producir pérdidas de suelo al ser lanzado éste fuera del tamiz.
- En suelos limpios de finos, las fracciones separadas en el tamiz de 10 mm (3/8” ASTM), se someten directamente al tamizado. Esto se denomina granulometría vía seca.
- Para la fracción de material retenido en el tamiz de 10mm (3/8” ASTM), el tiempo de vibrado estará en función de la forma de las partículas. Mientras más angulares sean éstas, mayor será el tiempo de vibrado.
- Durante el proceso de tamizado, si la cantidad de material retenido en determinados tamices es tal que el juego no puede ser bien ajustado, se agita éste en forma manual con movimientos horizontales y verticales combinados, hasta lograr un buen ajuste para colocarlo en la máquina vibradora.

- Alternativamente, el tamizado podrá realizarse en forma manual, depositando la muestra en cada uno de los tamices, ordenados en forma decreciente y tomando luego el tamiz en forma inclinada. Se golpea por los costados con la palma de la mano 150 veces por minuto, girando cada 25 golpes.
- Un material se podrá señalar como bien graduado, si el coeficiente de uniformidad es mayor a 4, si se trata de una grava y mayor a 6, para una arena. Además, el coeficiente de curvatura deberá estar comprendido entre 1 y 3.
- Si la suma de las masas parciales retenidas difiere en más de un 3% para las arenas y más de 0.5% para las gravas, con respecto a la masa inicial de la muestra de suelo empleada en cada fracción, el ensayo es insatisfactorio y deberá repetirse.

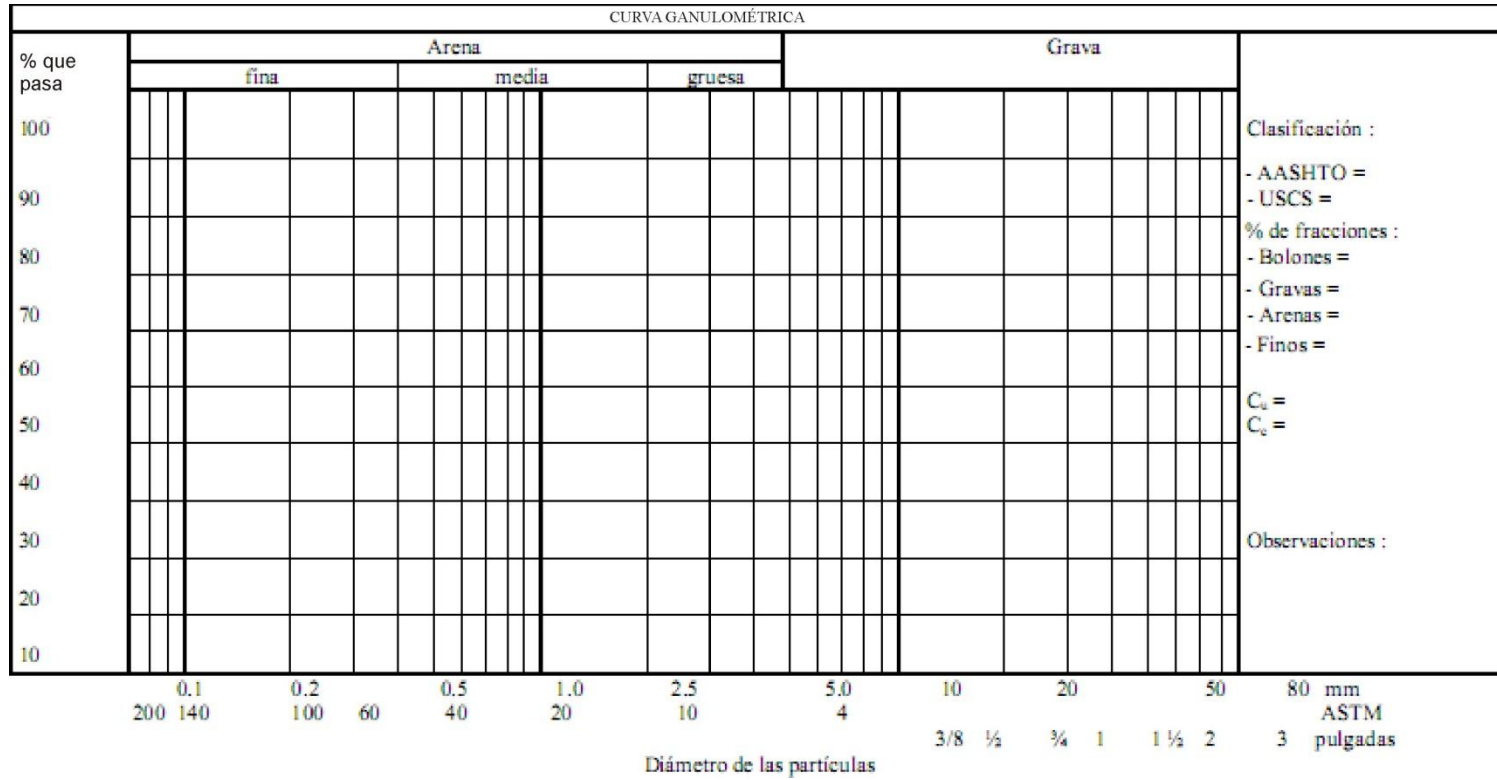


Figura A.I.5.: Formato para trazar la curva granulométrica (Juárez Badillo y Rico Rodríguez, 2001)

ANEXO II: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ORGANISMOS COLIFORMES FECALES EN LODOS Y BIOSÓLIDOS

NOM 004-SEMARNAT-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL - LODOS Y BIOSÓLIDOS - ESPECIFICACIONES Y LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINATES PARA SU APROVECHAMIENTO Y DISPOSICIÓN FINAL (SEMARNAT, 2002)

El presente método establece la técnica para llevar a cabo la cuantificación del grupo de organismos 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 desarrollo 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 masa y, posteriormente, se obtendrá la masa en fresco que corresponda a 4 g de sólidos totales.

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 Monofosfato de potasio.

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 rosca (13 mm x 100 mm).

4. Aparatos e instrumentos

4.1 Autoclave a una presión de 1.05 kg/cm^2 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 $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$.
- 4.5 Estufa de esterilización con capacidad para medir temperatura de $170 \pm 10^\circ\text{C}$.
- 4.6 Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$.
- 4.7 Parrilla con agitación y calentamiento.
- 4.8 Potenciómetro con intervalo de medición de $6.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$.
- 4.9 Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura entre 2 y $4 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

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, g	20.00
Lactosa, g	05.00
Difosfato de potasio (K_2HPO_4), g	2.75
Monofosfato de potasio (KH_2PO_4), g	2.75
Cloruro de sodio (NaCl), g	5.00
Lauril sulfato de sodio, g	00.10
Púrpura de bromocresol, g	0.01
Agua destilada, mL	1000.00

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, g	06.00
Peptona, g	05.00
Lactosa, g	2.75
Púrpura de bromocresol, g	2.75
Agua destilada, g	5.00

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, g	5.00
Triptosa, g	20.00
Cloruro de sodio (NaCl), g	5.00
Salicina, g	0.50
Éter p-isooctilfenil de polietilenglicol (Tritón X-100 y Haas, o equivalentel), mL	01.00
Agua destilada, mL	1000.00

Calentar hasta la disolución de los ingredientes sólidos. Añadir el éter p-isooctifenil 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

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.

Fórmula	
Triptosa o tripticasa, g	20.00
Lactosa, g	05.00
Mezcla de sales biliares, g	1.50
Difosfato de potasio (K_2HPO_4), g	4.00
Monofosfato de potasio (KH_2PO_4), g	1.50
Cloruro de sodio (NaCl), g	5.00
Agua destilada, mL	1000.00

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

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

5.1.5 Solución madre de amortiguadora A

Fórmula	
Monofosfato de potasio (KH_2PO_4), g	34.00
Agua destilada, mL	1000.00

Disolver el monofosfato de potasio en 500 mL de agua destilada, ajustar el pH a 7.2 ± 0.2 con la solución de hidróxido de sodio 1 N y aforar a 1 L de agua destilada.

Esterilizar en autoclave a 121°C, durante 15 minutos y almacenar en refrigeración (entre 2 y 4°C). La solución es estable durante meses. Desechar cuando se observe turbiedad.

5.1.6 Solución madre de amortiguadora B

Disolver el cloruro de sodio de magnesio en 500 mL de agua destilada y aforar a 1,000 mL con agua destilada, posteriormente esterilizar en autoclave a 121°C

durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración (entre 2 y 4°C). La solución es estable durante meses, desechar cuando haya turbiedad.

Fórmula	
Cloruro de magnesio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), g	8.10
Agua destilada, mL	1000.00

Solución amortiguadora de fosfatos (agua de dilución).

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

5.1.8 Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

Fórmula	
Hidróxido de sodio (NaOH), g	04.00
Agua recién destilada, mL	1000.00

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), g	40.00
Agua recién destilada, mL	1000.00

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 con 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 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 degradación 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 degradación 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.

ANEXO III: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE HUEVOS DE HELMINTO EN LODOS Y BIOSÓLIDOS

NOM 004-SEMARNAT-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL - LODOS Y BIOSÓLIDOS - ESPECIFICACIONES Y LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES PARA SU APROVECHAMIENTO Y DISPOSICIÓN FINAL (SEMARNAT, 2002)

El presente método tiene por objeto establecer la técnica para la detección, enumeración, determinación y la viabilidad, en caso requerido, de huevos de helminto 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 helminto 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 masa para, posteriormente, tomar en los recipientes la masa en fresco (X) que corresponda a 2 g de ST, para todo tipo de lodos.

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

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

3. Reactivos y materiales

3.1 Reactivos

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

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

3.1.3 Ácido acético (CH_3COOH) (opcional)

3.1.4 Ácido 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 Éter 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 "Tween 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 Kitasato 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 $800 \pm 0.2 \text{ g}$

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 Centrífuga, capaz de mantener los intervalos de operación de $660 \pm 300 \text{ g}$

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 $26 \pm 0.2^\circ\text{C}$.

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 ± 0.2 unidades de precisión

4.15 Refrigerador con capacidad para operar a una temperatura de $4 \pm 0.2^\circ\text{C}$

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 1000 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 1000 mL con 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 ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) en 1000 mL con 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 deben 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 la masa fresca 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 el homogeneizado y los enjuagues del vaso de la licuadora en un recipiente de plástico de 2 L, utilizando para ello 800 mL de la solución de “Tween 80” al 0.1%.

c) Dejar sedimentar la muestra al menos durante 3 horas.

d) Aspirar el sobrenadante por vacío y filtrar el sedimento a través del tamiz de poro seleccionado (150 a 170 μm). Enjuagar recipiente y tamiz con 1 L de agua destilada, para lo cual se recomienda utilizar una piseta.

El filtrado y los enjuagues se recuperan en el recipiente de plástico de 2 L.

e) Dejar sedimentar al menos durante 3 horas.

f) Aspirar el sobrenadante por vacío y recuperar sedimento y enjuagues, con agua destilada, en un tubo de centrifuga de 200 mL o mayor capacidad.

g) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.

h) Aspirar el sobrenadante por vacío y desecharlo. Resuspender la pastilla en 150 mL de la solución de sulfato de zinc. Homogeneizar la pastilla con ayuda de un agitador de tubos y, sólo en caso de ser necesario, utilizar aplicadores de plástico o espátula de teflón para lograr su completa disolución.

i) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.

j) En caso de contar con un tamiz de 20 μm de poro se recomienda efectuar un segundo filtrado, cuya finalidad es remover el detritus de menor tamaño y facilitar la a 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 piseta), en un tubo de 200 mL de centrifuga, desechar el 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, incluyendo 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 $26 \pm 0.2^\circ C$. 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 Sedgwich Rafter o Disco Doncaster. En caso necesario, y para evitar la sobreposición de estructuras y del detritus no eliminado, distribuir en alícuotas y homogeneizar con agua destilada. Sólo aquellos huevos donde se observe la larva se consideran viables.

c) Como paso opcional, y antes de realizar la lectura al microscopio, añadir hipoclorito de sodio (10%) en igual volumen al sedimento final y dejar reposar durante 10 minutos. Aforar con agua destilada.

d) Centrifugar a 660 g durante 5 minutos y decantar hasta dejar 5 mL del sobrenadante.

e) Realizar un segundo enjuague con agua destilada y centrifugar bajo las mismas condiciones. 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:

$$g = \frac{r \text{ (rpm)}}{k} \quad (\text{A-6})$$

donde:

g = fuerza relativa de centrifugación

k = constante cuyo valor es 89.456

r = radio de la centrífuga 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:

$$\% \text{ de sólidos totales} = 100\% - \% \text{ de humedad} \quad \textbf{(A-7)}$$

7. Expresión de resultados

$$\% \text{ de sólidos totales} = 100\% - \% \text{ de humedad} \quad \textbf{(A-8)}$$

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

$$H/2g \text{ ST} \quad \textbf{(A-9)}$$

donde:

H = número de huevos leídos en la muestra

gST = 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 alícuotas 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 reemplazar el H₂SO₄ 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 IV: MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA AUSENCIA O PRESENCIA DE *Salmonella* spp

API 20E: Sistema de identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes (bioMérieux, 2011)

INTRODUCCIÓN

API 20 E es un sistema estandarizado que permite la identificación de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos no exigentes, que incluye 21 test bioquímicos miniaturizados, así como una base de datos.

PRINCIPIO

La galería del sistema API 20 E se compone de 20 microtubos que contienen los sustratos deshidratados. Los microtubos se inoculan con una suspensión bacteriana que reconstituye las pruebas. Las reacciones producidas durante el periodo de incubación se traducen en cambios de colores espontáneos o revelados mediante la adición de reactivos.

La lectura de estas reacciones se lleva a cabo utilizando la tabla de lectura y la identificación se obtiene con la ayuda del catálogo analítico o del software de identificación.

REACTIVOS

- Medio API NaCl 0.85%, 5 mL
- Caja de reactivos API 20 E
- Reactivos individuales :
 - TDA
 - JAMES
 - VP 1 + VP 2

- NIT 1 + NIT 2

- Reactivos Zn
- Oxidasa
- Aceite de parafina
- Catálogo analítico API 20 E o software de identificación apiweb™

MATERIAL

- Pipetas Pasteur
- Gradillas para ampollas
- Protege-ampollas
- Equipo general de laboratorio de bacteriología

AISLAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- Preparación de caldo nutritivo (8 g/L)
- Dosificar 20 mL de caldo nutritivo en frascos lecheros previamente esterilizados
- Agregar 20 mL de muestra a cada frasco y meter a incubar 24 h a 35 ± 0.5 °C
- De los frascos con proliferación (tonalidad naranja) se resiembra con aza en frascos lecheros con caldo Selenito Cistina y Caldo Tetrionato y posteriormente se incuban 24 h a 35 ± 0.5 °C. Los medios se preparan como sigue:
 - Caldo Selenito Cistina (23 g/L)
 - Caldo Tetrionato (46 g/L), adicionar cristales de Yodo (6.0 g/20mL) y yoduro de potasio (5.0 g/ 20 mL)
- De cada frasco se resiembra con Aza en Agar *Salmonella Shigella* y Agar XLD y posteriormente se incuban 24 h a 35 ± 0.5 °C. Los agares se preparan como sigue:
 - Agar *Salmonella Shigella* (60 g/L) dosificando 20 mL en cajas estériles.
 - Agar XLD (55g/L) dosificando 20 mL en cajas estériles.

- Realizar la prueba de oxidasa para cada colonia previamente aislada en las cajas, anotando el resultado:
 - o Colocar un poco de reactivo de oxidasa Biomeriux en un pedazo de papel filtro
 - o Con un palillo estéril tomar una colonia aislada y presionar fuertemente contra el papel filtro empapado
 - o Observar la reacción:
 - Incoloro: Oxidasa (-) implica posible *Salmonella*
 - Morado: Oxidasa (+) descarta *Salmonella*
- Se resiembra una colonia aislada de cada caja en agar base sangre y posteriormente se incuban 24 h a $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

PREPARACIÓN DE LA GALERÍA

- Reunir el fondo y la tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 mL de agua destilada en los alvéolos para crear la atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara.
- Sacar la galería API de su envase y colocarla en la cámara de incubación.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

- Con un palillo estéril raspar las colonias, cuidando de no recoger Agar en el proceso.
- Sumergir y agitar el palillo en el tubo de solución salina.
- Agitar en el “vortex” hasta que desaparezcan todos los grumos.

INOCULACIÓN DE LA GALERÍA

- Con una pipeta Pasteur se llenan las celdas cuidando de que no queden burbujas en su interior:
 - o Las celdas CIT, VP y GEL se llenan hasta la cúpula
 - o Para las otras pruebas se llenaron solamente los tubos

- Para las pruebas: ADH, LDC, ODC, H₂S y URE crear una atmósfera anaerobia llenando la cúpula con aceite mineral.
- Las galerías se meten a incubar 24 h a 35±0.5°C.

LECTURA DE LA GALERÍA

- Después de la incubación la lectura de la galería debe hacerse remitiéndose a la “Tabla de Lectura”.
- Para la prueba TDA: agregar 1 gota del reactivo TDA. Un color marrón rojizo indica una reacción positiva que deberá anotarse en la hoja de resultados.
- Prueba IND: agregar 1 gota del reactivo JAMES. Un color rosado que se difumina en toda la cúpula indica una reacción positiva.
- Prueba VP: agregar 1 gota de los reactivos VP1 y VP2. Esperar un mínimo de 10 minutos. Un color rosa o rojo indica una reacción positiva que se anotará en la hoja de resultados. Una débil coloración rosa que aparece después de 10 minutos debe ser considerada como negativa.
 - NOTA: La prueba de investigación sobre la producción del indol debe ser realizada en último lugar, pues esta reacción libera gases que pueden alterar la interpretación de las otras pruebas de la galería.

INTERPRETACIÓN

- La identificación se realiza a partir del perfil numérico el cual se obtiene sumando los 3 dígitos de los grupos en los que está dividida la galería para los resultados leídos como positivos
- Este código de 7 dígitos se introduce manualmente en la página de la denominada **Apiweb™**



ANEXO V: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL

NMX-AA-026-SCFI-2001: ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (DOF, 2001a)

PRINCIPIO DEL MÉTODO

En el método Kjeldahl los compuestos nitrogenados de la muestra se descomponen con ácido sulfúrico concentrado en caliente, transformándose el nitrógeno de la mayoría de los grupos funcionales orgánicos en amonio. Cuando la descomposición se ha completado la disolución se enfría, se diluye y se alcaliniza con hidróxido de sodio concentrado. El amoniaco liberado se destila y se absorbe en una disolución de concentración conocida de ácido bórico.

Los grupos amino y amido se convierten cuantitativamente a ión amonio. Sin embargo, los grupos nitro, azo o azoxi pueden generar en las mismas condiciones, otros productos nitrogenados (N_2 u óxidos de nitrógeno).

REACTIVOS Y PATRONES

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

- Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:
 - a) Resistividad, megaohm-cm a 25°C: 0.2 mínimo
 - b) Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C: 5.0 máximo, y
 - c) pH: 5.0 a 8.0.
- Tetraborato de sodio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)
- Hidróxido de sodio (NaOH)

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Ácido bórico (H_3BO_3)
- Indicador de rojo de metilo
- Indicador de azul de metileno
- Alcohol etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)
- Sulfato de cobre (II) anhidro (CuSO_4)
- Sulfato de potasio (K_2SO_4)
- Tiosulfato de sodio pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- Carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3), patrón primario
- Cloruro de amonio (NH_4Cl) patrón primario
- Disolución indicadora de ácido bórico. Secar aproximadamente 30 g de ácido bórico en un desecador que contenga sílice en gel como desecante por 24 h. Pesar aproximadamente 20.0 g de ácido bórico seco; disolver en 500 mL agua, agregar 10 mL de la mezcla de indicadores y diluir a 1 L. Guardar la disolución en un envase de plástico o en un contenedor libre de boro, preparar mensualmente.
- Disolución de tetraborato de sodio (0.025M). Pesar aproximadamente pero con precisión 9.50 g de tetraborato de sodio decahidratado en 50 mL de agua y llevar a 1 L con agua posteriormente.
- Disolución amortiguadora de boratos. Añadir 88 mL de la disolución de NaOH 0.10 N a 500 mL de disolución de tetraborato de sodio 0.025 M y diluir a 1 L en un matraz aforado.
- Disolución de hidróxido de sodio (0.10 N). Pesar aproximadamente 4.0 g de hidróxido de sodio y disolver en 500 mL de agua, dejar enfriar a temperatura ambiente y llevar a 1 L.
- Disolución valorada de ácido sulfúrico (0.02 N). Preparar una disolución de ácido sulfúrico aproximadamente 0.1 N diluyendo 3 mL de ácido sulfúrico concentrado en 1 L de agua. Diluir 200 mL de esta disolución en 1 L de agua. Titular el ácido sulfúrico aproximadamente 0.02 N con carbonato de sodio, pesando aproximadamente y con precisión 0.0318 g de carbonato de

sodio anhidro, secado en horno a 140°C. Calcular la normalidad exacta de la disolución (1 mL = 0.28 mg de N-amoniaco).

- Mezcla de indicadores. Pesar aproximadamente 200.0 mg de indicador rojo de metilo aforar a 100 mL con alcohol etílico. Pesar aproximadamente 100.0 mg de indicador azul de metileno y aforar a 50 mL con alcohol etílico. Mezclar las dos disoluciones en un frasco de vidrio. Preparar mensualmente.
- Reactivo para la digestión. Pesar aproximadamente y con precisión 134.0 g de sulfato de potasio y 7.3 g de sulfato de cobre (II) anhidro disolver en 800 mL de agua destilada libre de amoniaco, agregar cuidadosamente 134 mL de ácido sulfúrico concentrado. Dejar enfriar a temperatura ambiente y diluir la mezcla a 1 L con agua. Almacenar la disolución a una temperatura de 20°C para evitar la cristalización.
- Disolución reactivo de hidróxido - tiosulfato de sodio. Pesar aproximadamente y con precisión 500.0 g de hidróxido de sodio y 25.0 g de tiosulfato de sodio pentahidratado disolver en agua libre de amoniaco y llevar a 1 L.
- Disolución de hidróxido de sodio (6 N). Pesar aproximadamente 240.0 g de hidróxido de sodio y llevar a 1 L con agua libre de amoniaco.
- Disolución madre de amonio (1 mL = 1.0 mg de nitrógeno amoniaco). Pesar aproximadamente y con precisión 3,819 g de cloruro de amonio y aforar a 1 L con agua.
- Disolución patrón de amonio (1.0 mL = 0.01 mg de nitrógeno amoniaco). Tomar una alícuota de 10.0 mL de la disolución madre de amonio y aforar a 1 L con agua.

EQUIPO Y MATERIALES

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

- Equipo
 - Para determinación de nitrógeno tipo Kjeldahl que consta de: Digestor con sistema de extracción de humos y destilador con sistema de condensación para mantener la temperatura por abajo de 29°C.
 - Potenciómetro para medición de pH reproducible hasta 0.02 unidades de pH, con compensador de la temperatura y sus respectivos electrodos.
 - Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
 - Balanza granataria con precisión de 0.1 g

- Materiales

Todo el material usado en esta determinación debe ser exclusivo para este procedimiento. Para el lavado del material remojar durante 1 h en una disolución de ácido sulfúrico al 10% y enjuagar con agua desionizada. Los detergentes con base de hidróxido de amonio o amoniaco no deben usarse para la limpieza del material. Su uso debe restringirse dentro del laboratorio.

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado.

- Frasco de polietileno o vidrio con tapa de 2 L de capacidad
- Matraz tipo Kjeldahl de 800 mL
- Bureta

RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Deben tomarse un mínimo de 2.0 L de muestra en un envase de polietileno. Pueden utilizarse muestras compuestas o simples. Debe preservarse la muestra con ácido sulfúrico a un pH de 1.5 a 2.0. Posteriormente, mantener a 4°C hasta su análisis. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 7 días.

PROCEDIMIENTO

Limpia el equipo de destilación antes de utilizarlo, destilando una mezcla (1:1) agua-disolución hidróxido - tiosulfato de sodio hasta que el destilado esté libre de amonio. Repetir esta operación cada vez que el equipo se vaya a utilizar, si no se emplea en intervalos de menos de 4 h también se requiere realizar esta operación.

Selección de volumen de muestra: Determinar el volumen de la muestra de acuerdo con la tabla; si es necesario, ajustar el volumen aproximadamente a 500 mL y neutralizar a pH 7. Colocar la muestra medida en un matraz Kjeldahl de 800 mL.

Tabla V.1: Selección del volumen de muestra

Cantidad de nitrógeno en la muestra (mg/L)	Volumen de muestra necesario (mL)
0-1	500
1-10	250
10-20	100
20-50	50.0
50-100	25.0

- Nitrógeno amoniacal

Tomar una muestra dependiendo de las concentraciones esperadas, de acuerdo con la Tabla V.1 y diluir con agua hasta 500 mL. Preparar un blanco con 500 mL de agua y darle el mismo tratamiento que a la muestra como sigue:

- Añadir 25 mL de la disolución amortiguadora de boratos y ajustar el pH a 9.5 con disolución de hidróxido de sodio 6 N utilizando potenciómetro o

papel indicador para verificar. Transferir la disolución a un matraz Kjeldahl y añadir unas cuentas de vidrio o perlas de ebullición.

- Conectar el matraz Kjeldahl al bulbo del aparato de destilación, destilar la muestra cuidando que la temperatura del condensador no pase de 302 K (29°C), recolectando el condensado con la punta del tubo del refrigerante sumergido en 50 mL de la disolución amortiguadora de boratos.
- La destilación se completa cuando se hayan recolectado 300 mL de destilado aproximadamente, incluyendo los 50 mL de la disolución amortiguadora de boratos con la disolución mezcla de indicadores.
- Retirar el matraz colector y titular con solución de ácido sulfúrico 0.02 N hasta que la solución vire de un verde esmeralda a morado.

- Nitrógeno orgánico

Enfriar el residuo contenido en el matraz Kjeldahl.

Digestión: Adicionar cuidadosamente 50 mL de reactivo para la digestión al matraz de destilación y mezclar perfectamente. Añadir unas cuentas de vidrio o piedras de ebullición. Si se encuentran presentes grandes cantidades de materia orgánica libre de nitrógeno adicionar 50 mL de reactivo de digestión por cada gramo de materia sólida en la muestra. Mezclar y calentar a ebullición bajo una campana de extracción (eliminar los vapores de SO_3) hasta que el volumen de la disolución se reduzca aproximadamente entre 25 mL y 50 mL y se observe gran desprendimiento de vapores blancos (estos vapores pueden oscurecerse cuando la muestra presenta grandes cantidades de materia orgánica).

Continuar la digestión durante 30 min más. En este período, la disolución cambia de turbia hasta ser transparente e incolora o con una ligera coloración amarillo pálido. Durante la digestión el matraz Kjeldahl debe permanecer inclinado. Enfriar el matraz y su contenido, diluir a 300 mL con agua y mezclar.

Cuidadosamente añadir 50 mL de la disolución de hidróxido-tiosulfato de sodio, para formar una capa alcalina en el fondo del matraz, conectar el matraz a un equipo de destilación y sumergir la punta del condensador en un matraz que contenga 50 mL de disolución de ácido bórico y la mezcla de indicadores por abajo del nivel de esta disolución. Agitar hasta asegurarse que está completamente mezclado, el pH de la disolución debe ser mayor a 11.0.

- Destilación

Destilar y colectar aproximadamente 200 mL de destilado; no permitir que la temperatura en el condensador suba por arriba de 29°C. Cuando se alcance un volumen aproximado de 250 mL en el matraz colector del destilado, sacar la punta del condensador del destilado sin retirarlo del matraz y continuar la destilación durante 1 min o 2 min para limpiar el condensador.

- Titulación del destilado

Titular el volumen destilado con disolución valorada de ácido sulfúrico 0.02 N hasta el cambio del indicador de verde esmeralda a morado.

- Blanco

Llevar un blanco durante todos los pasos del método.

CÁLCULOS

Usar la siguiente ecuación para calcular la concentración de nitrógeno total (NT):

$$\text{mg NTK / L} = (\text{A-B}) (\text{N}) (14) (1\ 000) / \text{V} \quad (\text{A-8a})$$

$$\text{mg NH}_3\text{-N/ L} = (\text{A-B}) (\text{N}) (14) (1\ 000) / \text{V} \quad (\text{A-8b})$$

$$\text{mg N-ORG/ L} = (\text{A-B}) (\text{N}) (14) (1\ 000) / \text{V} \quad (\text{A-8c})$$

$$\text{mg NTK / L} - = \text{mg NH}_3\text{-N/ L} + \text{mg N-ORG/ L} \quad (\text{A-8d})$$

donde:

A son los mL de ácido sulfúrico gastados en la titulación de la muestra;

B son los mL de ácido sulfúrico gastados en el blanco;

N es la normalidad del ácido sulfúrico;

V son los mL de muestra, y

14 es la masa equivalente del nitrógeno.

ANEXO VI: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL FÓSFORO TOTAL

NMX-AA-029-SCFI-2001: ANÁLISIS DE AGUAS - DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (DOF, 2001b)

MÉTODO CLORURO ESTANOSO

PRINCIPIO

Este método se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido molíbdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la reacción:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo (VI) y Mo (V), que absorbe a 690 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido. El método es aplicable cuando el contenido de fósforo en las muestras se encuentra entre las concentraciones de 0.01 mg P/L a 6.0 mg P/L.

Todo el fósforo contenido en la muestra debe estar como ión ortofosfato (PO_4)³⁻, ya que el método espectrofotométrico es esencialmente específico para este ión ortofosfato (PO_4)³⁻. La materia orgánica de la muestra se descompone por medio de una digestión con persulfato de amonio y ácido sulfúrico, rompiendo las ligaduras orgánicas del fósforo (C-P y/o C-O-P) e hidrolizando los polifosfatos a ortofosfatos.



REACTIVOS Y PATRONES

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo analítico, a menos que se indique otro grado.

- Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:
 - a) Resistividad, megaohm-cm a 25°C: 0.2 mínima,
 - b) Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C: 5.0 máxima y
 - c) pH: 5.0 a 8.0.
- Fosfato monobásico de potasio anhidro (KH_2PO_4)
- Disolución madre de fosfato. Pesar aproximadamente y con precisión 219.5 mg de fosfato monobásico de potasio anhidro previamente secado a 105°C durante dos horas, aforar con agua a 1 L; 1.0 mL = 50.0 μg de P como PO_4^{3-}
- Fenolftaleína
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Persulfato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ o persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Disolución de ácido fuerte. Cuidadosamente adicionar 300 mL de ácido sulfúrico concentrado a aproximadamente 600 mL de agua. Dejar enfriar y agregar 4 mL de ácido nítrico concentrado y aforar a 1 L con agua.
- Ácido nítrico concentrado (HNO_3)
- Glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)
- Cloruro estano dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Heptamolibdato de amonio tetrahidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$
- Disolución de ácido fuerte: Cuidadosamente adicionar 300 mL de ácido sulfúrico concentrado a aproximadamente 600 mL de agua. Dejar enfriar y agregar 4 mL de ácido nítrico concentrado y aforar a 1L con agua.

- Disolución de cloruro estanoso: Pesar aproximadamente y con precisión 2.5 g de cloruro estanoso dihidratado y disolver en 100 mL de glicerol. Calentar en baño de agua y agitar con una varilla de vidrio. El reactivo es estable y no requiere de la adición de conservadores o almacenamiento especial.
- Disolución de heptamolibdato de amonio tetrahidratado: Disolver 25 g de heptamolibdato de amonio tetrahidratado en 75 mL de agua. Con mucho cuidado agregar 280 mL de ácido sulfúrico a 400 mL de agua, enfriar y adicionar al heptamolibdato de amonio tetrahidratado y diluir a 1 L.

EQUIPO Y MATERIALES

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son de relevancia para este método.

- Equipo
 - Balanza analítica con precisión de 0.1 mg.
 - Placa de calentamiento: Una superficie de 30 cm por 50 cm es adecuada.
 - Autoclave: Puede utilizarse una autoclave capaz de alcanzar de 98 kPa a 137 kPa en lugar de la placa de calentamiento.
 - Espectrofotómetro: Para utilizarse de 190 nm a 900 nm y equipado con celda de 1 cm de paso óptico de luz.
- Materiales

Todo el material volumétrico utilizado en este procedimiento debe ser clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado.

- Embudo de filtración y papel filtro cualitativo Whatman 42 o equivalente.

RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Tomar un mínimo de 500 mL de muestra en envases de plástico. Pueden utilizarse muestras compuestas o simples. Si la muestra solamente es analizada para determinar la forma de fósforo disuelto, filtrar la muestra inmediatamente después de la colecta a través de un papel filtro de poro fino.

Conservar en refrigeración a 4°C. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días.

PROCEDIMIENTO

- Digestión de la muestra

Preparación de la muestra por medio de la digestión con persulfato:

Usar 50 mL o la porción adecuada de la muestra bien mezclada. Adicionar una gota de fenolftaleína. Si aparece un color rojo, adicionar gota a gota ácido sulfúrico concentrado hasta que desaparezca el color. Posteriormente adicionar 1 mL de disolución de ácido fuerte y 0.4 g de persulfato de amonio o 0.5 g persulfato de potasio.

Calentar hasta que rompa la ebullición y mantenerla sobre la placa de calentamiento, por 30 min o 40 min o hasta que el volumen final alcanzado sea de 10 mL. Los compuestos organofosforados pueden requerir de 1.5 a 2 h para su digestión completa. Enfriar, diluir a 30 mL con agua, adicionar una gota de fenolftaleína y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio. Alternativamente, calentar por 30 min en un autoclave u olla de presión de 98 kPa a 137 kPa. Enfriar, añadir una gota de fenolftaleína y neutralizar hasta desvanecer a un color rosa pálido con la disolución de hidróxido de sodio. Aforar a 100 mL con agua destilada. En algunas muestras puede formarse un precipitado en esta fase, pero no se debe filtrar. Mezclar bien para cualquier subdivisión de la muestra. El precipitado

(posiblemente de fosfato de calcio) se redisuelve bajo condiciones ácidas de la prueba colorimétrica para determinar fósforo.

- Método cloruro estanoso

Ajustar el pH de la muestra. A 100 mL de muestra que contenga no más de 200 µg P y libre de color y turbidez adicionar 1 gota de fenolftaleína. Si la disolución tiene un color rosado, adicionar unas cuantas gotas de disolución de ácido fuerte para neutralizar.

Desarrollo del color en la muestra. Adicionar, agitando fuertemente después de cada adición, 4.0 mL de disolución de heptamolibdato de amonio tetrahidratado y 0.5 mL (10 gotas) de disolución de cloruro estanoso. La intensidad del color depende de la temperatura ambiente de la disolución final, incrementándose ésta alrededor de 1% por cada grado centígrado más de temperatura ambiente. Por esto es importante realizar las mediciones a la misma temperatura.

Medición de color. El tiempo en el cual se realiza la medición es importante para tener un buen resultado, la medición debe de efectuarse después de 10 min de haber desarrollado el color, pero antes de 12 min, utilizar el mismo intervalo de tiempo para todas las mediciones, medir la intensidad de color espectrofotométricamente a 690 nm y comparar contra la curva de calibración, utilizar como blanco agua.

NOTA.- Es necesario tener un blanco de agua y un blanco de reactivos. Debido a que el color se desarrolla primero de manera progresiva y posteriormente se desvanece, mantener siempre condiciones iguales de tiempos de desarrollo de color y medición para muestras y estándares. Preparar al menos un estándar por cada lote de muestras o una cada día que se realiza la prueba. La curva de calibración es lineal en un intervalo de concentraciones de 0.3 a 2.0 mg/L.



CÁLCULOS

Calcular la concentración de la muestra por medio de la ecuación obtenida de la curva de calibración y que es representada por la siguiente ecuación:

$$Y = mX + b \quad (\text{A-9})$$

donde:

m es la pendiente;

b es la ordenada al origen;

Y es la absorbancia, y

X es la concentración (mg P/L).

En caso de haber dilución de la muestra a lo largo del desarrollo del método (digestión y alícuota de muestra), utilizar la siguiente ecuación:

$$\text{mg P/L} = \text{concentración} \times \text{Factor de dilución}$$

Reportar los resultados en mg P/L con dos décimas, con la precisión correspondiente.

ANEXO VII: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

NMX-AA-030-SCFI-2001: ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (DOF, 2001c)

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos son oxidados con una mezcla de ácido crómico y sulfúrico a ebullición. La muestra se coloca a reflujo en una disolución de ácido fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$). Después de la digestión, el dicromato no reducido se mide por titulación para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia oxidable en términos de equivalentes de oxígeno.

REACTIVOS Y PATRONES

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo, a menos que se indique otro grado.

- Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:
 - a) Resistividad: megaohm-cm a 25°C: 0.2 mínimo,
 - b) Conductividad: $\mu S/cm$ a 25°C: 5.0 máximo y
 - c) pH: 5.0 a 8.0.
- Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)
- Sulfato ferroso amoniacal hexahidratado ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$)
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Sulfato de plata (Ag_2SO_4)
- 1.10 fenantrolina ($C_{12}H_8N_2$)

- Sulfato mercurico (HgSO_4)
- Biftalato de potasio patrón primario ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$)
- Sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- Disolución estándar de dicromato de potasio (para concentraciones altas), (0.041 7M). Pesar aproximadamente y con precisión 12.259 g de dicromato de potasio previamente secado durante 2 h a $105 \pm 1^\circ\text{C}$, disolver y aforar a 1 L con agua y homogeneizar.
- Disolución estándar de dicromato de potasio (para concentraciones bajas), (0.0041 7M). Pesar aproximadamente y con precisión 12.259 g de dicromato de potasio previamente secado durante 2 h a $105 \pm 1^\circ\text{C}$, disolver y aforar a 1L con agua y homogeneizar.
- Disolución de sulfato ferroso amoniacal (0.25M); disolver en 800 mL de agua 98.0 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado, agregar cuidadosamente 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, enfriar, llevar a 1 L con agua y homogeneizar.
- Normalización de la disolución de sulfato ferroso amoniacal (0.25M). Tomar una alícuota de 10 mL de la disolución estándar de dicromato de potasio 0.041 7M. Diluir con agua hasta 100 mL, agregar cuidadosamente 30 mL de ácido sulfúrico concentrado y homogeneizar, enfriar y valorar con la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0.25M, utilizando 3 gotas de 1.10-fenantrolina como indicador, hasta el cambio de color de azul verdoso a café rojizo. Esta disolución debe normalizarse cada vez que se utilice.
- Disolución de sulfato ferroso amoniacal (0.025M). Diluir 100 mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0.25M a 1 L.
- Valorar con la disolución de dicromato de potasio 0.0041 7M.
- Disolución de ácido sulfúrico-sulfato de plata. Disolver cristales o polvo de sulfato de plata en ácido sulfúrico concentrado en una relación 5.5 g $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{kg H}_2\text{SO}_4$. Se requieren de 1 a 2 días para que se disuelva completamente el sulfato de plata.

- Disolución indicadora de 1.10-fenantrolina. Pesar con precisión 1.485 g de 1.10-fenantrolina y aproximadamente 0.695 g de sulfato ferroso heptahidratado, diluir y aforar a 100 mL con agua y homogeneizar.
- Disolución estándar de biftalato de potasio (500 mg O₂/mL). Pesar con precisión 0.425 g de biftalato de potasio patrón primario (ver inciso 4.2.7 de la NMX-AA-030-SCFI-2001, DOF, (2001c)) previamente secado a 120°C durante 2 h, disolver y aforar a 1 L con agua. El biftalato tiene una DQO teórica de 1.176 mg O₂/mg de biftalato, por lo que la DQO teórica de esta disolución es de 500 mg O₂/mL. Esta disolución es estable hasta por 3 meses si se mantiene en refrigeración y en ausencia de crecimiento biológico visible.

EQUIPO Y MATERIALES

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son de relevancia para este método.

EQUIPO

- Equipo de destilación con parrilla de calentamiento que asegure la ebullición del contenido del matraz de reflujo y condensadores tipo Friedrich, con mangueras.

MATERIAL

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser de clase A con certificado, o en su caso debe estar calibrado.

- Bureta

RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

La muestra se debe analizar inmediatamente después de su toma, en caso contrario debe conservarse en refrigeración a 4°C, además de la adición de ácido sulfúrico hasta pH < 2.

El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días.

PROCEDIMIENTO

Para niveles mayores de 50 mg/L de demanda química de oxígeno:

- Transferir una muestra de 50 mL (o dilución) al matraz Erlenmeyer de 500 mL. Agregar una cantidad adecuada de sulfato mercúrico (aproximadamente 1 g, la relación de sulfato mercúrico/cloruros debe ser 10 a 1) y algunas perlas de vidrio. Adicionar una alícuota de 25.0 mL de la disolución estándar de dicromato de potasio 0.041 7M y mezclar mediante un movimiento circular. Se pueden utilizar cantidades menores de muestra conservando la proporción de los reactivos.
- Conectar el matraz Erlenmeyer al condensador tipo Friedrich y hacer circular el agua de enfriamiento.
- Por el extremo superior del condensador agregar lentamente 75 mL de la disolución de ácido sulfúrico-sulfato de plata y agitar con movimiento circular para homogeneizar.
- Calentar el matraz que contiene la mezcla y mantener a reflujo durante 2 h a partir del momento en que empieza la ebullición. Dejar enfriar y lavar el condensador con 25 mL de agua.
- Añadir agua por el extremo superior del condensador hasta completar un volumen aproximado de 300 mL, retirar el matraz del condensador y enfriar a temperatura ambiente.
- Agregar 3 gotas de disolución Indicadora de 1.10 fenantrolina. como indicador y titular con la disolución de sulfato ferroso amoniacal 0.25M.



Tomar como punto final el primer cambio de color de azul verdoso a café rojizo.

- Llevar simultáneamente un testigo preparado con agua y todos los reactivos que se utilizan en el procedimiento.

CÁLCULOS

La demanda química de oxígeno, expresada en mg O₂ /L, se calcula con la ecuación:

$$DQO = \frac{V_1 - V_2 \times M \times 8\,000}{V_3} \quad (\text{A-10})$$

donde:

V₁ es el volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración del testigo;

V₂ es el volumen en mL de la disolución de sulfato ferroso amoniacal requerido para la valoración de la muestra;

V₃ es el volumen en mL de la muestra, y M es la molaridad de la disolución de sulfato ferroso amoniacal utilizada en la determinación.

ANEXO VIII: MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LOS SÓLIDOS

NMX-AA-034-SCFI-2001: ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA (DOF, 2001d)

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El principio de este método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y sales disueltas así como la cantidad de materia orgánica contenidos en aguas naturales y residuales, mediante la evaporación y calcinación de la muestra filtrada o no, en su caso, a temperaturas específicas, en donde los residuos son pesados y sirven de base para el cálculo del contenido de estos.

EQUIPO Y MATERIALES

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

- Equipo :
 - Bomba de vacío
 - Estufa eléctrica, para operar de 103 a 105°C
 - Balanza analítica con precisión de 0.1 mg
 - Mufla eléctrica para operar a 500± 50°C

- Materiales
 - Cápsulas de evaporación adecuadas al volumen de la muestra
 - Desecador, provisto con un desecante que contenga un indicador colorido de humedad
 - Crisol Gooch de poro fino con adaptador de hule para el equipo de filtración
 - Matraz Kitasato de 1 L a 2 L de capacidad
 - Filtro de fibra de vidrio de tamaño adecuado al crisol Gooch utilizado con una porosidad de 2 µm o menor

- Pinzas para crisol
- Guantes para protección al calor
- Careta para protección al calor

RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Deben tomarse un mínimo de 500 mL de muestra en envases de polietileno y taparse inmediatamente después de la colecta. Pueden utilizarse muestras compuestas o simples. No se requiere de ningún tratamiento específico en campo. Debe preservarse la muestra a 4°C hasta su análisis.

El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 7 días. Sin embargo, se recomienda realizar el análisis dentro de las 24 h posteriores a su colecta. Las muestras deben estar a temperatura ambiente al momento del análisis.

PROCEDIMIENTO

- Preparación de cápsulas de porcelana:

Las cápsulas se introducen a la mufla a una temperatura de $550\pm 50^{\circ}\text{C}$, durante 20 min como mínimo. Después de este tiempo transferirlas a la estufa a $103\text{-}105^{\circ}\text{C}$ aproximadamente 20 min.

Pesar las cápsulas y registrar los datos.

Repetir el ciclo hasta alcanzar la masa constante, el cual se obtendrá hasta que no haya una variación en la masa mayor a 0.5 mg. Registrar como masa G.

- Preparación de crisoles Gooch:

Introducir el filtro de fibra de vidrio en el crisol con la cara rugosa hacia arriba, mojar el filtro con agua para asegurar que se adhiera al fondo del crisol. Los crisoles se introducen a la mufla a una temperatura de $550\pm 50^{\circ}\text{C}$, durante 20 min como mínimo. Después de este tiempo transferirlos a la estufa a $103\text{-}105^{\circ}\text{C}$



aproximadamente 20 min. Sacar y enfriar a temperatura ambiente dentro de un desecador.

Pesar los crisoles y repetir el ciclo hasta alcanzar masa constante, el cual se obtiene hasta que no haya una variación en la masa mayor a 0.5 mg. Registrar como G3.

- Preparación de la muestra :

Sacar las muestras del sistema de refrigeración y permitir que alcancen la temperatura ambiente. Agitar las muestras para asegurar la homogeneización de la muestra.

- Medición para sólidos totales (ST) y sólidos totales volátiles (SVT)

- Determinación para sólidos totales (ST):

En función de la cantidad de sólidos probables tomar una cantidad de muestra que contenga como mínimo 25 mg/L de sólidos totales. Generalmente, 100 mL de muestra es un volumen adecuado.

Transferir la muestra a la cápsula de porcelana que previamente ha sido puesta a masa constante.

Llevar a sequedad la muestra en la estufa a 103-105°C.

Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y determinar su masa hasta alcanzar masa constante. Registrar como masa G1.

- Determinación para sólidos totales volátiles (SVT):

Introducir la cápsula conteniendo el residuo a la mufla a 550±50°C durante 15 a 20 min, transferir la cápsula a la estufa a 103-105°C aproximadamente 20 min, sacar la cápsula, enfriar a temperatura ambiente en desecador y determinar su masa hasta alcanzar masa constante. Registrar como masa G2.

Cuando se determinen muestras por duplicado o triplicado, los resultados como máximo pueden tener una variación del 5 por ciento del promedio de los resultados.

- Sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos totales volátiles (SSTV)

- Determinación de los sólidos suspendidos totales (SST):

Medir con una probeta, un volumen adecuado de la cantidad seleccionada de muestra previamente homogeneizada la cual depende de la concentración esperada de sólidos suspendidos.

Filtrar la muestra a través del crisol Gooch preparado anteriormente aplicando vacío, lavar el disco tres veces con 10 mL de agua, dejando que el agua drene totalmente en cada lavado.

Suspender el vacío y secar el crisol en la estufa a una temperatura de 103 a 105°C durante 1 h aproximadamente. Sacar el crisol, dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente y determinar su masa hasta alcanzar masa constante registrar como masa G4.

- Determinación de sólidos suspendidos totales volátiles (SSTV):

Introducir el crisol que contiene el residuo y el disco a la mufla, a una temperatura de 550±50°C durante 15 a 20 min. Sacar el crisol, de la mufla e introducirlo a la estufa a una temperatura de 103-105°C durante 20 min aproximadamente. Sacar y enfriar a temperatura ambiente en desecador y determinar su masa hasta alcanzar masa constante. Registrar como masa G5.

- Sales disueltas totales (SDT)

La determinación de las sales disueltas totales es por diferencia entre los sólidos totales menos sólidos suspendidos totales.



CÁLCULOS

Calcular el contenido de sólidos totales de las muestras como sigue:

$$ST = (G1 - G) * 1\ 000 / V \quad (A-11)$$

donde:

ST son los sólidos totales, en mg/L;

G1 es la masa de la cápsula con el residuo, después de la evaporación, en mg;

G es la masa de la cápsula vacía, en mg a masa constante, y

V es el volumen de muestra, en mL.

Calcular el contenido de sólidos totales volátiles de las muestras como sigue:

$$SVT = (G1 - G2) * 1\ 000 / V \quad (A-12)$$

donde:

SVT es la materia orgánica total, en mg/L;

G2 es la masa de la cápsula con el residuo, después de la calcinación, en mg, y

V es el volumen de muestra, en mL.

Calcular el contenido de sólidos suspendidos totales de las muestras como sigue:

$$SST = (G4 - G3) * 1\ 000 / V \quad (A-13)$$

donde:

SST son los sólidos suspendidos totales, en mg/L;



G3 es la masa del crisol con el disco a masa constante, en mg;

G4 es la masa del crisol con el disco y el residuo seco, en mg, y

V es el volumen de muestra, en mL.

Calcular el contenido de sólidos suspendidos totales de las muestras como sigue:

$$\text{SST} = (G4 - G5) * 1\ 000 / V \quad (\text{A-14})$$

donde:

SST son los sólidos suspendidos totales, en mg/L;

G5 es la masa del crisol con el residuo, después de la calcinación, en mg;

V es el volumen de muestra, en mL.

Calcular el contenido de sales disueltas totales de las muestras como sigue:

$$\text{SDT} = \text{ST} - \text{SST} \quad (\text{A-15})$$

donde:

SDT son las sales disueltas totales, en mg/L

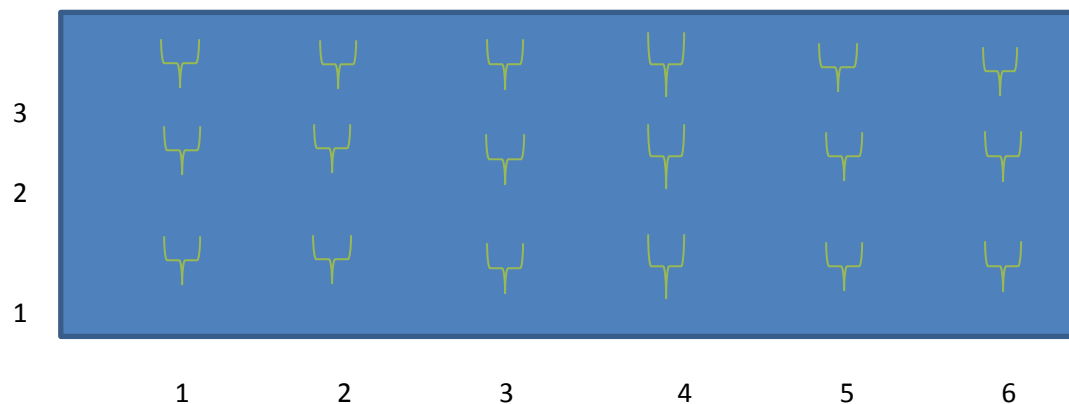
ST son los sólidos totales, en mg/L

SST son los sólidos suspendidos totales, en mg/L

Reportar los valores obtenidos de la muestra control junto con los resultados del análisis en mg/L.

ANEXO IX: CRECIMIENTO VEGETATIVO DE LAS PLÁNTULAS EN LAS CELDAS A Y B DURANTE LA FASE DE ACLIMATACIÓN

Codificación en las celdas A y B



Clasificación:

Escaso	<10 cm
Bueno	10-20 cm
Muy bueno	20-30 cm
Excelente	>30 cm

Datos de crecimiento vegetativo

Fecha	Plántula	Estado	Desarrollo	Tallos	Altura (cm)	Altura Promedio (cm)
23/08/2010	A11	Viva	Escaso	1	5	
	A12	Viva	Escaso	1	5	
	A13	Viva	Escaso	2	7	
	A14	Viva	Escaso	3	5	
	A15	Viva	Escaso	1	6	
	A16	Viva	Escaso	1	5	
	A21	Viva	Escaso	1	5	

	A22	Viva	Escaso	2	5	
	A23	Viva	Escaso	8	5	
	A24	Viva	Escaso	6	5	
	A25	Viva	Escaso	7	5	
	A26	Viva	Escaso	1	5	
	A31	Viva	Escaso	1	5	
	A32	Viva	Escaso	1	5	
	A33	Viva	Escaso	3	5	
	A34	Viva	Escaso	2	5	
	A35	Viva	Escaso	1	5	
	A36	Viva	Escaso	1	5	5.2 cm
				Densidad	20	
					Tallos/m²	
	B11	Viva	Escaso	1	5	
	B12	Viva	Escaso	1	5	
	B13	Viva	Escaso	1	5	
	B14	Viva	Escaso	1	5	
	B15	Viva	Escaso	1	5	
	B16	Viva	Escaso	1	10	
	B21	Viva	Escaso	1	5	
	B22	Viva	Escaso	1	5	
	B23	Viva	Escaso	2	5	
	B24	Viva	Escaso	1	7	
	B25	Viva	Escaso	1	7	
	B26	Viva	Escaso	1	6	
	B31	Viva	Escaso	1	5	
	B32	Viva	Escaso	1	5	
	B33	Viva	Escaso	1	5	
	B34	Viva	Escaso	1	5	
	B35	Viva	Escaso	2	5	
	B36	Viva	Escaso	1	5	5.6 cm
				Densidad	10	
					Tallos/m²	

Fecha	Plántula	Estado	Desarrollo	Tallos	Altura (cm)	Altura promedio (cm)	
20/09/2010	A11	Viva	Escaso	1	5		
	A12	Muerta					
	A13	Viva	Escaso	1	8		
	A14	Viva	Escaso	4	7		
	A15	Viva	Escaso	1	6		
	A16	Viva	Escaso	3	5		
	A21	Muerta					
	A22	Viva	Escaso		3	5	
	A23	Viva	Escaso		2	9	
	A24	Viva	Escaso		1	7	
	A25	Viva	Escaso		2	8	
	A26	Viva	Escaso		1	5	
	A31	Muerta					
	A32	Viva	Escaso		1	5	
	A33	Viva	Escaso		2	5	
	A34	Viva	Escaso		1	6	
	A35	Viva	Escaso		2	7	
	A36	Viva	Bueno		1	6	6.3 cm
					Densidad	13	
						Tallos/m²	
	B11	Viva	Bueno		3	8	
	B12	Viva	Bueno		4	9	
	B13	Viva	Excelente		6	6	
	B14	Viva	Excelente		5	7	
	B15	Viva	Excelente		5	21	
	B16	Viva	Bueno		3	12	
	B21	Viva	Bueno		2	5	
	B22	Viva	Excelente		5	7	
	B23	Viva	Excelente		5	8	
B24	Viva	Excelente		3	15		
B25	Viva	Excelente		4	16		
B26	Viva	Excelente		4	11		
B31	Viva	Excelente		4	13		
B32	Viva	Excelente		4	7		

	B33	Viva	Excelente	3	6	
	B34	Viva	Excelente	3	17	
	B35	Viva	Excelente	4	16	
	B36	Viva	Excelente	5	8	10.7 cm
				Densidad	36	
					Tallos/m²	

Fecha	Plántula	Estado	Desarrollo	Tallos	Altura (cm)	Altura promedio (cm)
06/10/2010	A11	Viva	Escaso	1	5	
	A12	Muerta				
	A13	Viva	Bueno	3	20	
	A14	Viva	Escaso	5	10	
	A15	Viva	Escaso	1	10	
	A16	Viva	Escaso	2	5	
	A21	Muerta				
	A22	Viva	Escaso	5	5	
	A23	Viva	Bueno	3	20	
	A24	Viva	Bueno	2	15	
	A25	Viva	Bueno	3	20	
	A26	Viva	Escaso	1	5	
	A31	Muerta				
	A32	Viva	Escaso	1	5	
	A33	Viva	Escaso	1	5	
	A34	Viva	Escaso	1	10	
	A35	Viva	Bueno	3	15	
	A36	Viva	Bueno	2	15	11.0 cm
					17 Tallos	
					/m²	
	B11	Viva	Bueno	5	15	
	B12	Viva	Bueno	7	20	
	B13	Viva	Bueno	9	15	
	B14	Viva	Bueno	7	15	
	B15	Viva	Excelente	9	40	
	B16	Viva	Bueno	4	20	

	B21	Viva	Escaso	3	10	
	B22	Viva	Bueno	6	20	
	B23	Viva	Bueno	7	15	
	B24	Viva	Muy Bueno	6	30	
	B25	Viva	Excelente	7	35	
	B26	Viva	Muy Bueno	5	25	
	B31	Viva	Muy Bueno	7	25	
	B32	Viva	Bueno	5	15	
	B33	Viva	Escaso	5	10	
	B34	Viva	Muy Bueno	5	25	
	B35	Viva	Muy Bueno	7	25	
	B36	Viva	Bueno	7	15	20.8 cm
					55.5 Tallos/m²	

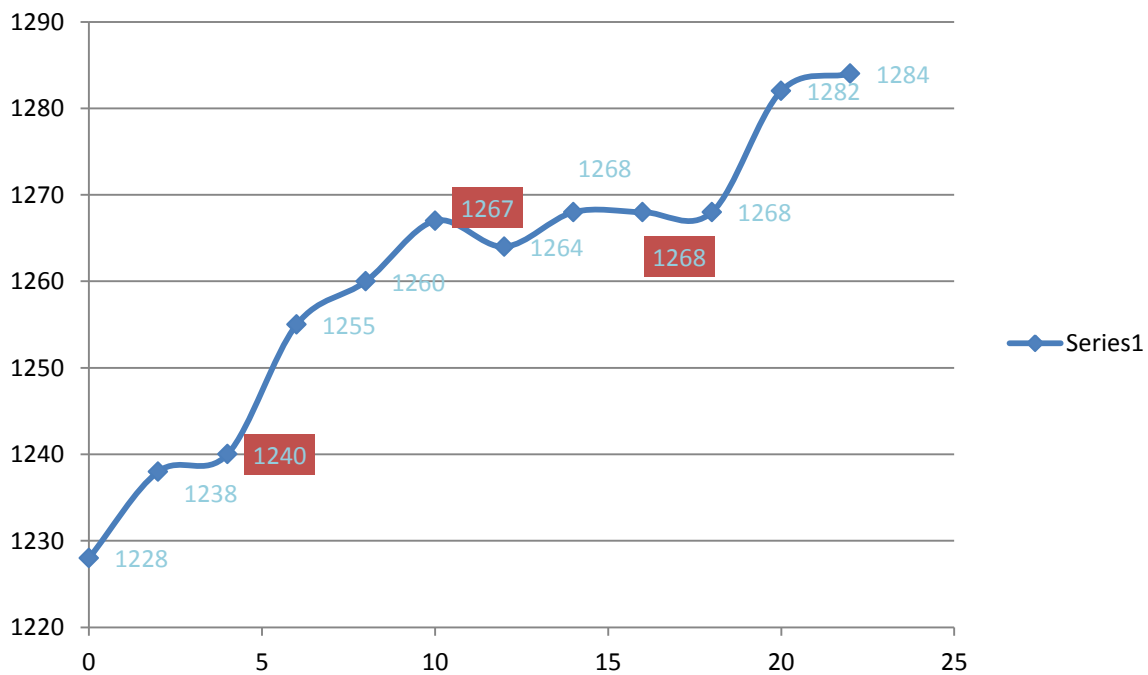
Fecha	Plántula	Estado	Desarrollo	Tallos	Altura (cm)	Altura promedio (cm)
27/10/2010	A11	Muerta				
	A12	Muerta				
	A13	Viva	Bueno	6	20	
	A14	Viva	Excelente	10	10	
	A15	Viva	Escaso	2	10	
	A16	Viva	Escaso	1	5	
	A21	Muerta				
	A22	Viva	Escaso	8	5	
	A23	Viva	Bueno	5	15	
	A24	Viva	Bueno	4	25	
	A25	Viva	Excelente	6	20	
	A26	Viva	Escaso	1	5	

	A31	Muerta				
	A32	Viva	Bueno	3	10	
	A33	Viva	Escaso	2	5	
	A34	Viva	Escaso	4	5	
	A35	Viva	Bueno	4	10	
	A36	Viva	Bueno	5	15	11.4 cm
					30.5 Tallos/m²	
	B11	Viva	Muy Bueno	9	30	
	B12	Viva	Excelente	14	40	
	B13	Viva	Bueno	13	20	
	B14	Viva	Muy Bueno	13	30	
	B15	Viva	Excelente	14	70	
	B16	Viva	Excelente	9	35	
	B21	Viva	Escaso	6	10	
	B22	Viva	Muy Bueno	10	30	
	B23	Viva	Bueno	14	20	
	B24	Viva	Excelente	13	50	
	B25	Viva	Excelente	13	60	
	B26	Viva	Excelente	7	50	
	B31	Viva	Excelente	15	40	
	B32	Viva	Muy Bueno	8	30	
	B33	Viva	Bueno	8	15	
	B34	Viva	Excelente	10	50	
	B35	Viva	Excelente	11	40	
	B36	Viva	Bueno	17	20	35.6 cm
					102 Tallos/m²	

ANEXO X: CURVAS DE ELUCIÓN

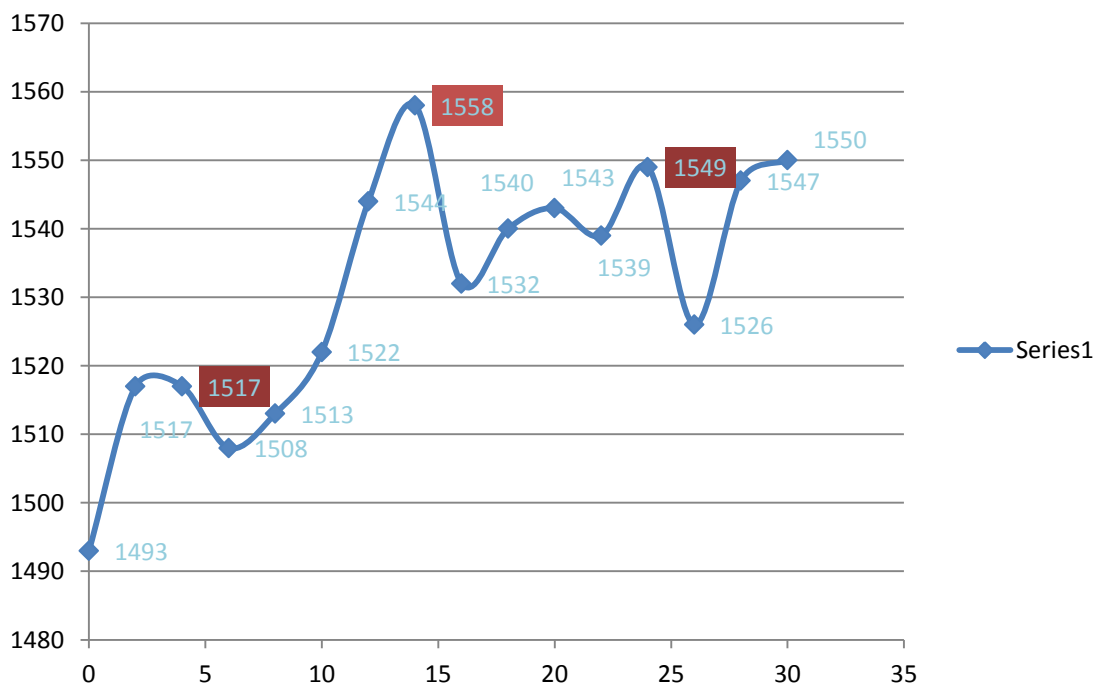
Celda B (Granulometría estratificada plantada originalmente con 9 plántulas/m²)

# Muestra	T (min)	Conductividad eléctrica (μS/cm)
0	0	1228
1	2	1238
2	4	1240
3	6	1255
4	8	1260
5	10	1267
6	12	1264
7	14	1268
8	16	1268
9	18	1268
10	20	1282
11	22	1284



Celda C (Granulometría estratificada sin plantar)

# Muestra	T (min)	Conductividad eléctrica (μS/cm)
0	0	1493
1	2	1517
2	4	1517
3	6	1508
4	8	1513
5	10	1522
6	12	1544
7	14	1558
8	16	1532
9	18	1540
10	20	1543
11	22	1539
12	24	1549
13	26	1526
14	28	1547
15	30	1550



ANEXO XI: CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL USADA DURANTE EL PERÍODO DE ACLIMATACIÓN

No. de Control	Fecha	NTK (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)	N-NO ₃ (mg/L)	N-NO ₂ (mg/L)	Fósforo total (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	Coliformes totales NMP/100 mL	Coliformes fecales NMP/100 mL	Huevos de helminto #/5L
432/2010	13-Jul	36	22	2.6	11	11.2	88	192	46	43	-----	-----	7
443/2010	27-Jul	35	19	0.7	12	8.1	93	222	39	39	-----	-----	8
455/2010	10-Ago	52	27.6	5.4	16	12.5	110	212	47	34	9.20E+06	5.40E+06	6
492/2010	24-Ago	41	25	0.6	15	8.3	83	237	46	44	9.20E+06	2.80E+06	7
506/2010	07-Sep	10	7.2	1.1	0.0	0.8	No se tomó muestra	228	No se Tomó muestra		75	No se Tomó muestra	No se Tomó muestra
528/2010	21-Sep	27	21.6	3.4	1	5.2	100	248	95	70	2.20E+07	1.40E+07	-----
567/2010	05-Oct	52	35	3.6	13	14.8	102	277	70		3.50E+07	1.30E+07	-----
600/2010	19-Oct	40	25.6	1.5	10	8.5	-----	319	-----	-----	3.50E+07	1.70E+07	-----
630/2010	04-Nov	55	40.2	3.2	11	8	-----	-----	-----	-----	2.80E+07	1.30E+07	-----
696/2010	30-Nov	48	28.4	5.3	13	13.1	-----	-----	-----	-----	5.40E+07	5.40E+07	-----
707/2010	07-Dic	56	35	4.8	15	12.4	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
747/2010	14-Dic	55	36	4.7	13	11.8	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Promedio		42.25	26.87	3.08	10.83	9.56	96.00	241.88	57.17	50.83	1.35E+07	7.40E+06	7

NTK= Nitrógeno total Kjeldahl, N-NH₃= Nitrógeno amoniacal, N-NO₃=Nitratos, N-NO₂, DBO₅= Demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días, DQO= Demanda química de oxígeno, SST= Sólidos suspendidos totales, SSV= Sólidos suspendidos volátiles

ANEXO XII: RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS EN LODOS CRUDOS, LIXIVIADO Y LODO ACUMULADO

Parámetro	1a Carga				2a Carga			3a Carga		
	Lodo crudo	Lixiviado celda A	Lixiviado celda B	Lixiviado celda C	Lodo crudo	Lixiviado celda B	Lixiviado celda C	Lodo crudo	Lixiviado celda B	Lixiviado celda C
Temperatura (°C)	24	24	24	24	27.70	27.70	27.70	26.10	26.10	26.10
pH	7.91	8.01	7.77	7.52	6.85	6.85	6.99	7.18	7.02	6.96
Conductividad (µS/cm)	3.33E+03	2.88 E+03	1.58E+03	0.78 E+03	1,246	1,246	1,560	1,590	1,557	2,367
Potencial de óxido reducción (mV)	-125	-45	46	72	213.33	213.33	202.00	-34.00	203.00	182.00
Nitrógeno total Kjeldahl(mg/L)	287.696	242.946	73.006	5.237	608.7	26.9	102.7	140.4	53.3	7.6
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	276	238	113.5	6.5	330.0	15.3	94.8	75.6	25.6	4.1
Nitratos (mg/L)	0	0	0	0	0.0	4.6	26.4	37.0	10.5	37.7
Nitritos (mg/L)	0	0	0	0	0.0	3.5	15.4	0.0	5.8	24.7
Fósforo total (mg/L)	23.518	19.289	7.8262	3.06	119.4	4.3	8.7	80.5	6.4	3.3
DQO (mg/L)	1,020	580	121	39.29	16,150.0	89.4	434.0	9,931.0	115.3	97.9
ST (mg/L)	2,056	1,354	916	558	18,540.0	779.3	880.7	15,562.0	904.0	1,712.7
STV (mg/L)	1,074	528	252	108	8,596.0	139.3	291.3	7,310.0	242.7	564.0
SST (mg/L)	880	130	30	30	17,520.0	17.8	202.2	13,140.0	13.3	22.0
SSV (mg/L)	660	110	8	2	8,540.0	12.9	148.9	6,160.0	12.0	17.3
Coliformes fecales NMP/100 mL	2.4 E+07	1.1+E06	2.4 E+05	1.10E+04	2,800.0	1,020.3	11,800.0	2,000.0	700.0	54.3
Huevos de Helminto #/5L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Salmonella Spp	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia						

Parámetro	Lodo acumulado celda B				Lodo acumulado celda C			
	B1	B2	B3	B	C1	C2	C3	C
Humedad %	9.91	11.18	10.3	10.46	3.4	3.78	3.51	3.56
ST (g/kg ST)	900.8	888.2	896.9	895.3	965.9	962.2	964.9	964.33
STV (g/kg ST)	376.5	386.8	407.9	390.40	379.3	376	367.8	374.37
NTK (mg/kg ST)	17,806.40	18,684.90	20,349.70	18,947	20,036.30	19,610.50	18,600.86	19,415.89
PT (mg/ kg ST)	5,565	4,911	5,816	5,431	6,073	6,210	5,996	6,093
Coliformes fecales (NMP/g de ST)	1.50E+07	1.10E+07	2.10E+07	1.57E+07	1.5 E+04	1.5 E+04	2.10E+04	2.10E+04

DQO= Demanda química de oxígeno, SST= Sólidos suspendidos totales, SSV= Sólidos suspendidos volátiles

ANEXO XIII: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Muestras pareadas

En este apartado se muestran los resultados de las pruebas relativas a la población de la cual procede la muestra de los parámetros a comparar:

- Coliformes fecales
- Demanda química de oxígeno (DQO)
- Sólidos totales
- Fósforo total
- Nitrógeno total Kjeldahl

La prueba-t evalúa la hipótesis de que la media de las muestras comparadas es igual a 0.0 versus la hipótesis alterna de que la media de las muestras comparadas no es igual a 0.0.

La prueba de los signos evalúa la hipótesis de que la mediana de las muestras comparadas es igual a 0.0 versus la hipótesis alterna de que la mediana de las muestras comparadas es no igual a 0.0. Se basa en contar el número de valores arriba y abajo de la mediana hipotética.

La prueba de rangos con signo evalúa la hipótesis nula de que la mediana de las muestras comparadas es igual a 0.0 versus la hipótesis alterna de que la mediana de las muestras comparadas es no igual a 0.0. Se basa en comparar las categorías promedio de los valores arriba y abajo de la mediana hipotética.

La prueba del signo y la del signo con rango son menos sensibles a la presencia de valores aberrantes pero son un tanto menos potentes que la prueba-t si todos los datos provienen de la misma distribución normal.

La prueba de chi-cuadrada evalúa la hipótesis nula de que la desviación estándar de las muestras comparadas es igual a 1.0 versus la hipótesis alterna de que la desviación estándar de las muestras comparadas es no igual a 1.0.

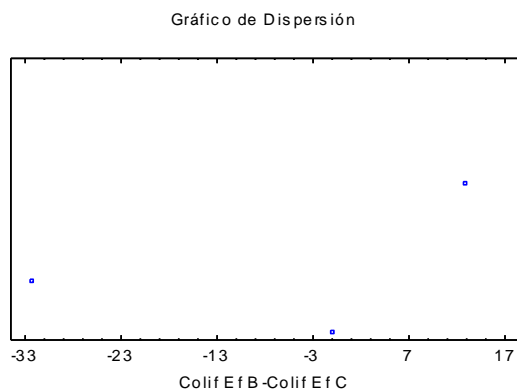
El gráfico de cajas y bigotes está construido de la siguiente manera:

- Se dibuja una caja extendiéndose del cuartíl inferior de la muestral al cuartíl superior. Esto es un intervalo cubierto por la mitad de los datos (50%), los valores fueron ordenados de menor a mayor.
- Una línea vertical se dibuja en la mediana (mitad de los datos).
- Si este definido, un signo (+) se pone en la localización de la media muestral.
- Los bigotes se dibujan de los extremos de la caja a los valores más grandes y

pequeños de los datos, a menos que existan valores inusuales muy lejanos a la caja (Tukey los llamaba puntos atípicos). Los puntos atípicos, son aquellos puntos más allá de 1.5 veces el rango intercuartil (ancho de caja) por arriba o debajo de la caja, se indican por un punto símbolo. Cualquier punto más allá de 3 veces el rango intercuartil por arriba o debajo de la caja son llamados puntos extremos, y se indican por un punto símbolo con un signo mas (+) sobrepuesto encima de él. Si puntos extremos están presentes, los bigotes se dibujan de los valores más grandes y pequeños de los datos sin tomar en cuenta los puntos extremos.

Coliformes efluente celda B & coliformes efluente celda C

Datos/Variable: Colif Ef B-Colif Ef C
3 valores con rango desde -32.28 a 12.79



Resumen estadístico

Recuento	3
Promedio	-6.81333
Desviación estándar	23.1
Coefficiente de variación	-339.041%
Mínimo	-32.28
Máximo	12.79
Rango	45.07
Sesgo estandarizado	-0.755628
Curtosis estandarizada	

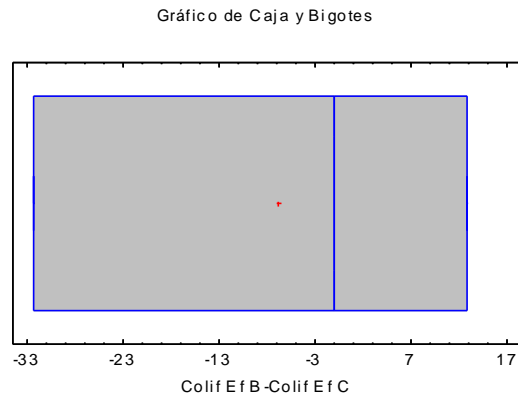
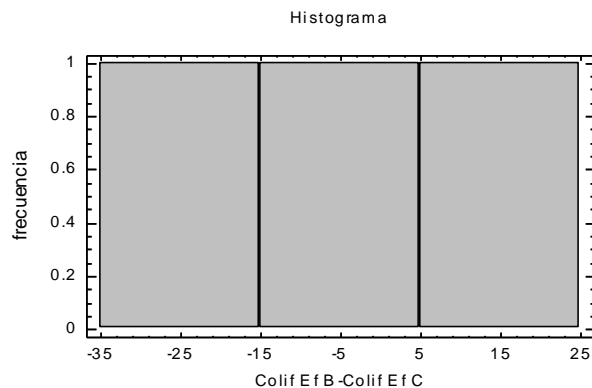


Tabla de frecuencias

Clase	Límite inferior	Límite superior	Punto medio	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa acumulada
	menor o igual	-35.0		0	0.0000	0	0.0000
1	-35.0	-15.0	-25.0	1	0.3333	1	0.3333
2	-15.0	5.0	-5.0	1	0.3333	2	0.6667
3	5.0	25.0	15.0	1	0.3333	3	1.0000
	mayor de	25.0		0	0.0000	3	1.0000

Media = -6.81333 Desviación Estándar = 23.1



Intervalos de confianza

Intervalos de confianza del 95.0% para la media: -6.81333 +/- 57.3836 [-64.1969, 50.5703]

Intervalos de confianza del 95.0% para la desviación estándar: [12.0272, 145.177]

Prueba de hipótesis

Media muestral = -6.81333

Mediana muestral = -0.95

Desviación estándar de la muestra = 23.1

Prueba t

Hipótesis nula: media = 0.0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.510867

Valor-P = 0.66025

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de los signos

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Número de valores menores a la mediana hipotética: 2

Número de valores mayores a la mediana hipotética: 1

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 1.0

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de rangos con signo

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Rango medio de valores menores a la mediana hipotética: 2.0

Rango medio de valores mayores a la mediana hipotética: 2.0

Estadístico para grandes muestras = 0.267261 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 0.789264

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba chi-cuadrada

Hipótesis nula: sigma = 1.0

Alternativa: no igual

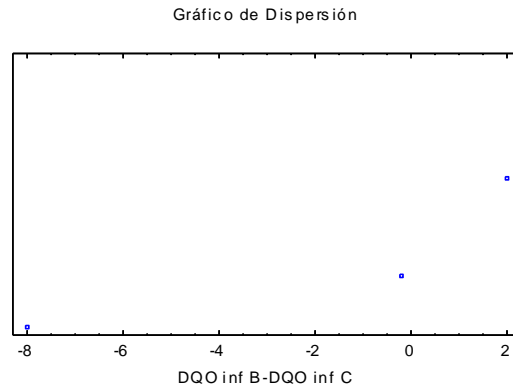
Chi-cuadrado calculado = 1067.22

Valor-P = 0.0

Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05

DQO efluente celda B & DQO efluente celda C

Datos/Variable: DQO inf B-DQO inf C
3 valores con rango desde -8.0 a 2.0



Resumen estadístico

Recuento	3
Promedio	-2.06667
Desviación estándar	5.25484
Coefficiente de variación	-254.266%
Mínimo	-8.0
Máximo	2.0
Rango	10.0
Sesgo estandarizado	-0.987696
Curtosis estandarizada	

Gráfico de Caja y Bigotes

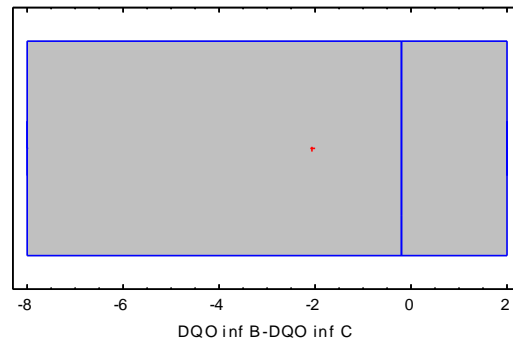
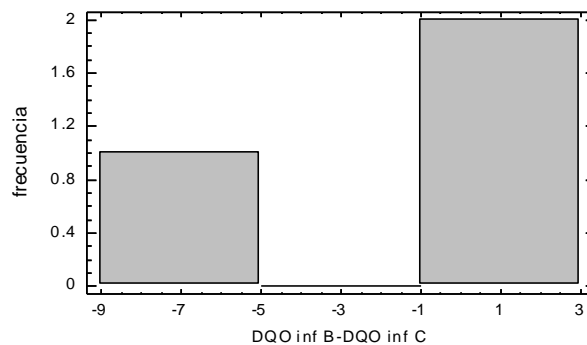


Tabla de frecuencias

Clase	Límite inferior	Límite superior	Punto medio	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa acumulada
	menor o igual	-9.0		0	0.0000	0	0.0000
1	-9.0	-5.0	-7.0	1	0.3333	1	0.3333
2	-5.0	-1.0	-3.0	0	0.0000	1	0.3333
3	-1.0	3.0	1.0	2	0.6667	3	1.0000
	mayor de	3.0		0	0.0000	3	1.0000

Media = -2.06667 Desviación Estándar = 5.25484

Histograma



Intervalos de confianza

Intervalos de confianza del 95.0% para la media: -2.06667 +/- 13.0537 [-15.1204, 10.9871]

Intervalos de confianza del 95.0% para la desviación estándar: [2.73598, 33.0253]

Prueba de hipótesis

Media muestral = -2.06667

Mediana muestral = -0.2

Desviación estándar de la muestra = 5.25484

Prueba t

Hipótesis nula: media = 0.0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.681195

Valor-P = 0.566041

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de los signos

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Número de valores menores a la mediana hipotética: 2

Número de valores mayores a la mediana hipotética: 1

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 1.0

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de rangos con signo

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Rango medio de valores menores a la mediana hipotética: 2.0

Rango medio de valores mayores a la mediana hipotética: 2.0

Estadístico para grandes muestras = 0.267261 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 0.789264

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba chi-cuadrada

Hipótesis nula: sigma = 1.0

Alternativa: no igual

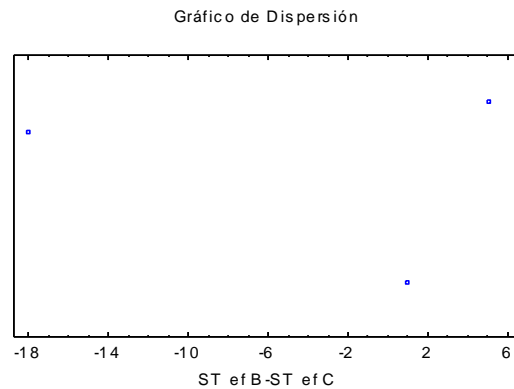
Chi-cuadrado calculado = 55.2267

Valor-P = 2.0357E-12

Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

ST efluente celda B & ST efluente celda C

Datos/Variable: ST ef B-ST ef C
3 valores con rango desde -18.0 a 5.0



Resumen estadístico

Recuento	3
Promedio	-4.0
Desviación estándar	12.2882
Coefficiente de variación	-307.205%
Mínimo	-18.0
Máximo	5.0
Rango	23.0
Sesgo estandarizado	-1.08037
Curtosis estandarizada	

Gráfico de Caja y Bigotes

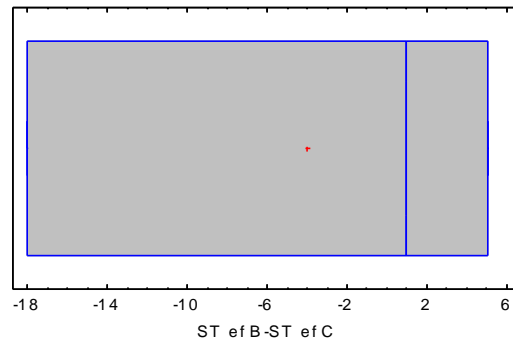
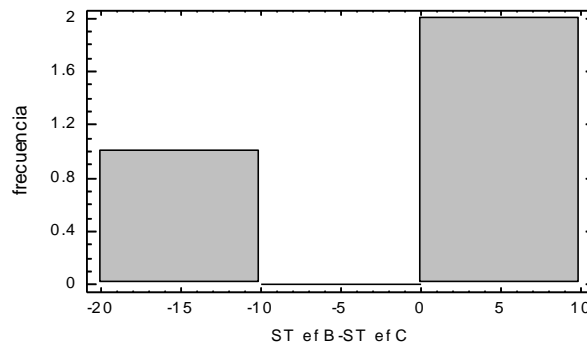


Tabla de frecuencias

Clase	Límite inferior	Límite superior	Punto medio	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa acumulada
	menor o igual	-20.0		0	0.0000	0	0.0000
1	-20.0	-10.0	-15.0	1	0.3333	1	0.3333
2	-10.0	0.0	-5.0	0	0.0000	1	0.3333
3	0.0	10.0	5.0	2	0.6667	3	1.0000
	mayor de	10.0		0	0.0000	3	1.0000

Media = -4.0 Desviación Estándar = 12.2882

Histograma



Intervalos de confianza

Intervalos de confianza del 95.0% para la media: -4.0 +/- 30.5256 [-34.5256, 26.5256]

Intervalos de confianza del 95.0% para la desviación estándar: [6.39796, 77.2281]



Prueba de hipótesis

Media muestral = -4.0
Mediana muestral = 1.0
Desviación estándar de la muestra = 12.2882

Prueba t

Hipótesis nula: media = 0.0
Alternativa: no igual

Estadístico t = -0.563809
Valor-P = 0.629672
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de los signos

Hipótesis nula: mediana = 0.0
Alternativa: no igual

Número de valores menores a la mediana hipotética: 1
Número de valores mayores a la mediana hipotética: 2

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)
Valor-P = 1.0
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de rangos con signo

Hipótesis nula: mediana = 0.0
Alternativa: no igual

Rango medio de valores menores a la mediana hipotética: 3.0
Rango medio de valores mayores a la mediana hipotética: 1.5

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)
Valor-P = 1.0
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

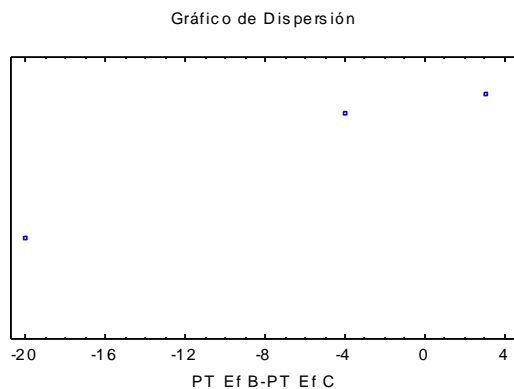
Prueba chi-cuadrada

Hipótesis nula: sigma = 1.0
Alternativa: no igual

Chi-cuadrado calculado = 302.0
Valor-P = 0.0
Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

PT efluente celda B & PT efluente celda C

Datos/Variable: PT Ef B-PT Ef C
3 valores con rango desde -20.0 a 3.0



Resumen estadístico

Recuento	3
Promedio	-7.0
Desviación estándar	11.7898
Coefficiente de variación	-168.426%
Mínimo	-20.0
Máximo	3.0
Rango	23.0
Sesgo estandarizado	-0.757251
Curtosis estandarizada	

Gráfico de Caja y Bigotes

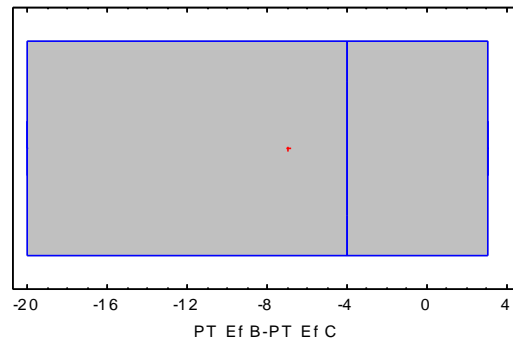
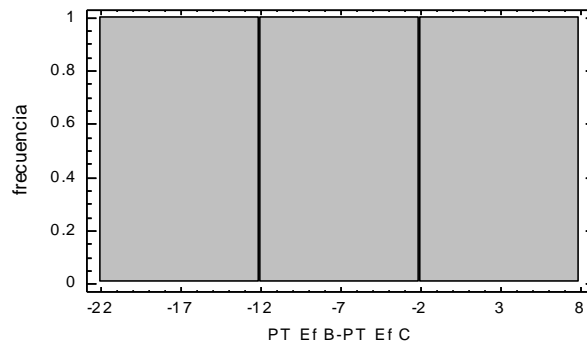


Tabla de frecuencias

Clase	Límite inferior	Límite superior	Punto medio	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa acumulada
	menor o igual	-22.0		0	0.0000	0	0.0000
1	-22.0	-12.0	-17.0	1	0.3333	1	0.3333
2	-12.0	-2.0	-7.0	1	0.3333	2	0.6667
3	-2.0	8.0	3.0	1	0.3333	3	1.0000
	mayor de	8.0		0	0.0000	3	1.0000

Media = -7.0 Desviación Estándar = 11.7898

Histograma



Intervalos de confianza

Intervalos de confianza del 95.0% para la media: -7.0 +/- 29.2876 [-36.2876, 22.2876]

Intervalos de confianza del 95.0% para la desviación estándar: [6.13847, 74.0959]

Prueba de hipótesis

Media muestral = -7.0
Mediana muestral = -4.0
Desviación estándar de la muestra = 11.7898

Prueba t

Hipótesis nula: media = 0.0
Alternativa: no igual

Estadístico t = -1.02837
Valor-P = 0.411882
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de los signos

Hipótesis nula: mediana = 0.0
Alternativa: no igual

Número de valores menores a la mediana hipotética: 2
Número de valores mayores a la mediana hipotética: 1

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)
Valor-P = 1.0
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de rangos con signo

Hipótesis nula: mediana = 0.0
Alternativa: no igual

Rango medio de valores menores a la mediana hipotética: 2.5
Rango medio de valores mayores a la mediana hipotética: 1.0

Estadístico para grandes muestras = 0.801784 (aplicada la corrección por continuidad)
Valor-P = 0.422676
No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

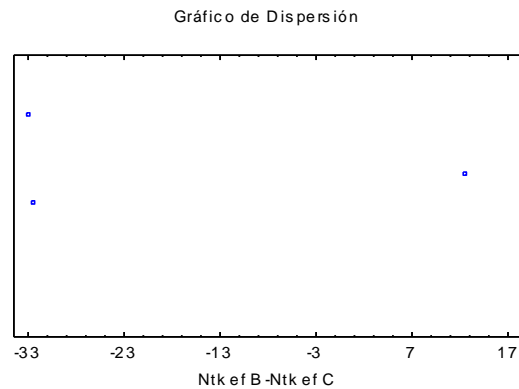
Prueba chi-cuadrada

Hipótesis nula: sigma = 1.0
Alternativa: no igual

Chi-cuadrado calculado = 278.0
Valor-P = 0.0
Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

NTK efluente B & NTK efluente C

Datos/Variable: Ntk ef B-Ntk ef C
3 valores con rango desde -33.0 a 12.45



Resumen estadístico

Recuento	3
Promedio	-17.6833
Desviación estándar	26.0974
Coefficiente de variación	-147.582%
Mínimo	-33.0
Máximo	12.45
Rango	45.45
Sesgo estandarizado	1.22424
Curtosis estandarizada	

Gráfico de Caja y Bigotes

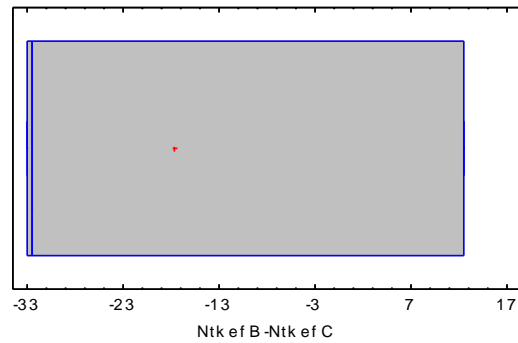
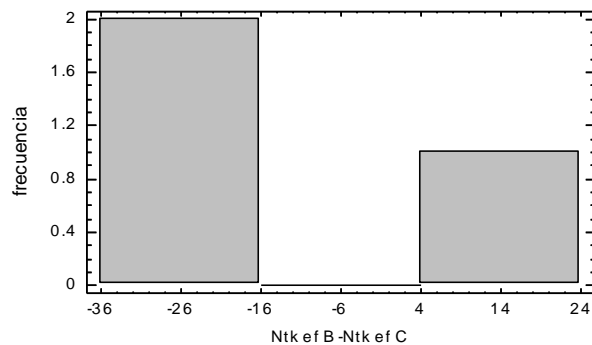


Tabla de frecuencias

Clase	Límite inferior	Límite superior	Punto medio	Frecuencia	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa acumulada
	menor o igual	-36.0		0	0.0000	0	0.0000
1	-36.0	-16.0	-26.0	2	0.6667	2	0.6667
2	-16.0	4.0	-6.0	0	0.0000	2	0.6667
3	4.0	24.0	14.0	1	0.3333	3	1.0000
	mayor de	24.0		0	0.0000	3	1.0000

Media = -17.6833 Desviación Estándar = 26.0974

Histograma



Intervalos de confianza

Intervalos de confianza del 95.0% para la media: -17.6833 +/- 64.8296 [-82.5129, 47.1463]

Intervalos de confianza del 95.0% para la desviación estándar: [13.5878, 164.015]

Prueba de hipótesis

Media muestral = -17.6833

Mediana muestral = -32.5

Desviación estándar de la muestra = 26.0974

Prueba t

Hipótesis nula: media = 0.0

Alternativa: no igual

Estadístico t = -1.17362

Valor-P = 0.361388

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de los signos

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Número de valores menores a la mediana hipotética: 2

Número de valores mayores a la mediana hipotética: 1

Estadístico para grandes muestras = 0.0 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 1.0

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba de rangos con signo

Hipótesis nula: mediana = 0.0

Alternativa: no igual

Rango medio de valores menores a la mediana hipotética: 2.5

Rango medio de valores mayores a la mediana hipotética: 1.0

Estadístico para grandes muestras = 0.801784 (aplicada la corrección por continuidad)

Valor-P = 0.422676

No se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Prueba chi-cuadrada

Hipótesis nula: sigma = 1.0

Alternativa: no igual

Chi-cuadrado calculado = 1362.15

Valor-P = 0.0

Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

ANEXO XIV: HIDRÁULICA DE LOS HUMEDALES DE FLUJO VERTICAL

La dinámica del flujo en un medio poroso saturado se describe mediante la ley de Darcy. Esta ley fue obtenida por Henri Darcy en 1856 usando un aparato similar al mostrado en la Fig. A-XIV-1. Allí, se tiene un flujo constante de agua a través de un medio poroso de longitud ℓ , manteniendo constante el nivel de agua sobre el mismo. Darcy encontró que el volumen V de agua que atraviesa el sistema en un tiempo t , viene dado por:

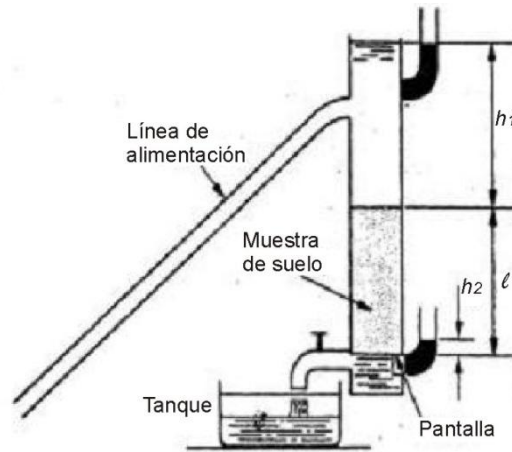


Figura A-XIV-1: Modelo experimental usado por Darcy (Jury & Horton, 2004)

$$V = KA \frac{(h_1 + \ell - h_2)t}{\ell} \quad \mathbf{A(2-1)}$$

donde A es el área de la sección transversal del medio poroso, K es una constante de proporcionalidad, denominada conductividad hidráulica o permeabilidad, h_1 carga hidráulica sobre el medio poroso, h_2 carga hidráulica de succión, ℓ es la longitud del medio poroso y t es el tiempo que el agua tarda en atravesar el medio.

La velocidad promedio del flujo a través de la sección es entonces:

$$q = \frac{V}{At} = K \frac{h_1 + l - h_2}{l} \quad \mathbf{A(2-2)}$$

Más generalmente, la ley de Darcy dice que la velocidad del flujo a través del medio poroso es directamente proporcional al gradiente de presión piezométrica o carga hidráulica h :

$$q = -K \frac{dh}{dl} \quad \mathbf{A(2-3)}$$

donde l indica ahora la dirección del flujo y h se define como:

$$h = z + \frac{p}{\rho g} \quad \mathbf{A(2-4)}$$

Aquí, z es la altura del punto en cuestión (entrada, salida o cualquier punto intermedio en el medio poroso) respecto de un cierto nivel de referencia, p la presión hidrostática en dicho punto, ρ la densidad del agua y g la aceleración de la gravedad. De esta manera, la carga hidráulica h tiene en cuenta no sólo la presión hidrostática sino también la altura del punto (asociada con su energía potencial). Nótese que $p/\rho g$ tiene unidades de longitud (de hecho, la presión hidrostática se mide usualmente como la altura en una columna líquida de un manómetro, como por ej. en la Figura A-XIV-1). Usualmente, h se mide en cm o m de agua. La cantidad q se denomina también gasto unitario. Al igual que el gasto unitario q , la conductividad hidráulica K también tiene unidades de velocidad. La ley de Darcy implica que el flujo tiene la dirección en la que disminuye la carga hidráulica h , y es perpendicular a las líneas de igual carga (líneas equipotenciales) (Jury & Horton, 2004).

Debe tenerse en cuenta que q es la velocidad promedio sobre la sección transversal, y no se refiere a la velocidad real de un elemento de fluido dado dentro del medio poroso. Definiendo $v=q/n$, donde n es la porosidad, se obtiene la velocidad promedio del fluido en los poros de la sección transversal. La porosidad

es la razón entre el volumen disponible para el flujo del agua y el volumen del suelo. Esta velocidad de filtración v es mayor que q .

La ley de Darcy puede derivarse a partir de principios básicos del flujo en medios porosos, y es aplicable en la mayoría de las situaciones encontradas en la práctica. Esencialmente, estas son situaciones donde predominan las fuerzas viscosas sobre las fuerzas inerciales, es decir de bajos números de Reynolds, definido por:

$$R_e = \frac{\rho q d}{\mu} \quad \text{A(2-5)}$$

donde d es el diámetro medio del poro y μ es la viscosidad del líquido. En general, se requiere $Re \ll 1$, pero se ha observado que la ley de Darcy sigue siendo válida aún para $Re \approx 10$.

La conductividad hidráulica K es función tanto de las propiedades del medio poroso como del fluido mismo. Es sabido que el flujo laminar a través de un conducto capilar recto se describe mediante la ecuación de Hagen-Poiseuille:

$$q = -\frac{\rho g d^2}{32 \mu} \frac{dh}{dl} \quad \text{A(2-6)}$$

donde d es el diámetro del capilar y dh/dl es el gradiente piezométrico. Así, se puede definir:

$$K = k \frac{\rho g}{\mu} \quad \text{A (2-7)}$$

como la correspondiente conductividad hidráulica. Las propiedades del fluido están representadas por el factor $\rho g/\mu$, mientras que el factor $k=d^2/32$ depende de la geometría del conducto (sección circular en este caso). Entonces, se define la conductividad específica del medio poroso como:

$$k = \frac{\mu}{\rho g} K = c d^2 \quad \text{A(2-8)}$$

donde c es una constante adimensional cuyo valor depende del medio poroso y d es ahora un diámetro de poro típico. La conductividad específica k se mide en unidades de longitud al cuadrado y se ha definido la unidad Darcy como: 1 Darcy = $0.987 \times 10^{-8} \text{ cm}^2$ (Jury & Horton, 2004).

La ecuación de Darcy puede extenderse a tres dimensiones. Orientando cuidadosamente los ejes, de manera tal que éstos sean paralelos a las direcciones preferidas del flujo (normalmente dado por la estratificación del empaque, conocido como substrato geológico), el flujo en tres direcciones ortogonales viene dado por:

$$q_x = -K_x \frac{\partial h}{\partial x}; \quad q_y = -K_y \frac{\partial h}{\partial y}; \quad q_z = -K_z \frac{\partial h}{\partial z} \quad \text{A(2-9)}$$

La base para el análisis de sistemas de flujo vertical en condiciones no saturadas es también la ley para flujo saturado de Darcy.

Flujo en medios porosos no saturados

A medida que una matriz de tierra y roca se seca, la interconectividad entre los poros se vuelve irregular y discontinua, ya que el aire sustituye al agua en muchas posiciones. Más aún, en contraste con los flujos saturados donde las fuerzas gravitacionales juegan un rol dominante, las fuerzas moleculares se vuelven aquí extremadamente importantes (Jury & Horton, 2004).

En las interfaces aire-agua se desarrollan fuertes presiones capilares negativas. Estas presiones cambian con el tamaño efectivo de los poros y, por lo tanto, dependen de la estructura particular del material y de su grado de saturación. Cuanto más seco está el material, tanto más pequeños y discontinuos son los poros que contienen agua, y mayores son las fuerzas capilares. Los cambios en el contenido de humedad no sólo afectan las fuerzas, sino también dificultan el camino del agua a través de los poros. Así, la conductividad hidráulica resulta una función del contenido de humedad del suelo. El problema se complica aún más

por el hecho que, bajo ciertas condiciones, el flujo de agua se realiza no sólo en la fase líquida, sino también como vapor. Este flujo no sólo depende de los potenciales gravitatorios y capilares, sino también de la densidad del vapor y de los gradientes de temperatura en el suelo (Jury & Horton, 2004).

Si se suponen condiciones isotérmicas e incompresibilidad para la fase de vapor, se puede establecer que el flujo de humedad obedece la siguiente analogía de la ley de Darcy:

$$q_x = -K_x(\theta) \frac{\partial h}{\partial x}; \quad q_y = -K_y(\theta) \frac{\partial h}{\partial y}; \quad q_z = -K_z(\theta) \frac{\partial h}{\partial z} \quad \mathbf{A(2-10)}$$

donde las conductividades hidráulicas son ahora funciones explícitas del contenido volumétrico de humedad (θ): volumen de agua, V_w , sobre volumen total de suelo, V , es decir $\theta = V_w / V$. La carga piezométrica h , en términos del potencial capilar, es ahora:

$$h = z + \frac{p_c}{\rho g} = z + \psi(\theta) \quad \mathbf{A(2-11)}$$

donde (como antes) z se define positiva hacia arriba y a partir de un nivel arbitrario de referencia. El potencial capilar $\psi(\theta)$ es una función de la humedad θ , y tiene unidades de longitud. Como la presión capilar es menor que la presión atmosférica, la presión manométrica p_c es negativa, y se denomina presión de succión. En consecuencia, $\psi(\theta)$ es una longitud negativa. Sustituyendo se tiene:

$$q_x = -K_x(\theta) \frac{\partial \psi(\theta)}{\partial x}; \quad q_y = -K_y(\theta) \frac{\partial \psi(\theta)}{\partial y}; \quad q_z = -K_z(\theta) \frac{\partial \psi(\theta)}{\partial z} - K_z(\theta) \quad \mathbf{A(2-12)}$$

donde el último término de q_z da cuenta del efecto gravitacional sobre el flujo. Valores negativos de q_z implican que el flujo se dirige hacia abajo.

La versión dinámica unidimensional de esta ecuación es:

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[K \frac{\partial h}{\partial x} \right] \quad \mathbf{A(2-13)}$$



donde:

h = carga piezométrica, m

K = conductividad hidráulica del material para flujo *no saturado* m/d

t = tiempo, d

x = distancia vertical, m

θ = Contenido volumétrico de humedad, m^3/m^3

La parte complicada es que, ambas, el contenido de agua y la conductividad hidráulica, son ahora función de la presión hidrostática:

$$\theta = \theta(h) \text{ y } K = K(h) \quad \mathbf{A(2-14)}$$

Estas formas funcionales han sido bien estudiadas. En medios porosos limpios, son curvas típicas en forma de S. Es posible realizar cálculos de la dinámica de los flujos y de los contenidos de agua bajo condiciones de flujo intermitente en humedales artificiales de flujo vertical, pero requieren de procedimientos numéricos no triviales. Una curva de un medio típico poroso se presenta en la Figura A-XIV-2.

Los filtros de flujo vertical, a menudo, están formados por diversos estratos de medios porosos, con la capa inferior formada por medios más gruesos en la cual se instala una red de tubos perforados para el drenaje. Esta capa inferior drena libremente, tal vez con un nivel de agua permanente ligeramente por encima del fondo del filtro.

Dadas las bajas tasas promedio de carga hidráulica, habitualmente empleadas en el tratamiento de las aguas residuales, un medio de arena o grava no se saturará, y el agua percolará a través de los vacíos parcialmente llenos de aire. Sin embargo, si el agua es alimentada en un corto período de tiempo, la tasa de carga instantánea puede exceder la tasa de drenaje y entonces el medio se llenará de agua (Kadlec & Wallace, 2009).

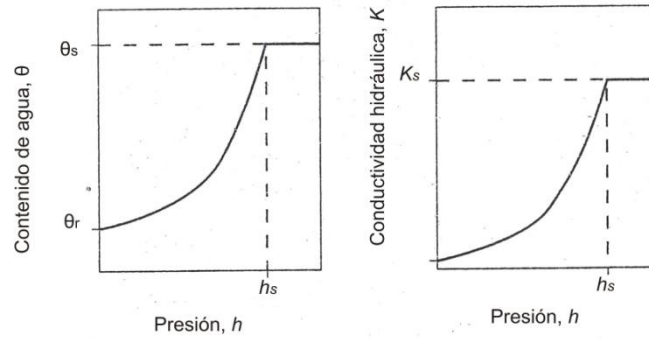


Figura A-XIV-2: Substrato porosos típicos, contenido de agua y conductividad hidráulica en función de la presión, h_s = Presión a saturación, K_s = Conductividad hidráulica en régimen saturado, θ_s = Contenido de agua en régimen saturado y θ_r = Contenido de agua residual (Kadlec & Wallace, 2009)

La secuencia de eventos durante un ciclo de inundación rápido y drenaje es conceptualmente simple. Una dosificación de agua a ser tratada es introducida a manera de inundación en la superficie del filtro, con hasta 6 dosis al día. Un ciclo inicia con la mayoría del filtro drenado, con un contenido de agua en o justo por encima del contenido de agua residual del medio. El comportamiento de este fenómeno se presenta en la Figura A-XIV-3.

La duración de la introducción del agua es variable, va desde menos de 10 min hasta una hora o dos, para ilustrar el fenómeno suponiendo que la inundación es muy breve, el efecto es tal que crea condiciones de saturación en la capa superior del filtro y, tal vez, inundación superficial. El aire, contenido en los vacíos del filtro, es entonces atrapado y puede llegar a ser comprimido por el agua situada encima de él, si no existe un mecanismo de alivio instalado en el medio, tal como una chimenea de ventilación (Kadlec & Wallace, 2009).

El período de “atrapamiento” del aire es usualmente breve, pero puede llegar a ser de hasta 45 min para lechos con grandes áreas. En este período se pueden formar burbujas de aire, ventilando una porción del aire atrapado con anterioridad.

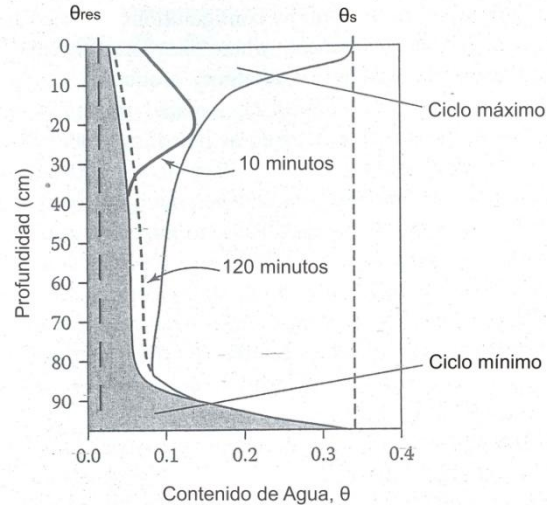


Figura A-XIV-3: Perfiles de contenido de agua para un sistema de flujo vertical operado por pulsos. Ciclo de operación, 4 horas (Kadlec & Wallace, 2009)

Después de que las burbujas de aire se rompen, el drenaje del filtro continúa como flujo en medio no saturado. El aire entra a los poros en la superficie del lecho para remplazar el volumen de agua drenada de los vacíos del filtro. El movimiento del aire en las porciones bajas del filtro es mínimo. El drenaje en muchos de los humedales de flujo vertical está completo mucho antes del inicio del siguiente ciclo (Kadlec & Wallace, 2009).

Durante gran parte del periodo de drenado del medio, el movimiento del aire al interior de los vacíos es determinado por el consumo y la difusión del oxígeno. Así se ve que el aire en la parte profunda del filtro ha llegado ahí por convección, mientras que el aire en los estratos superiores del filtro ha sido proporcionado por difusión (Kadlec & Wallace, 2009).

El resultado de esta operación cíclica es un efluente variable del sistema. Hay un incremento en el caudal del efluente por un corto periodo de tiempo seguido de una declinación en el gasto del mismo, como se puede observar en la Figura A-XIV-4.

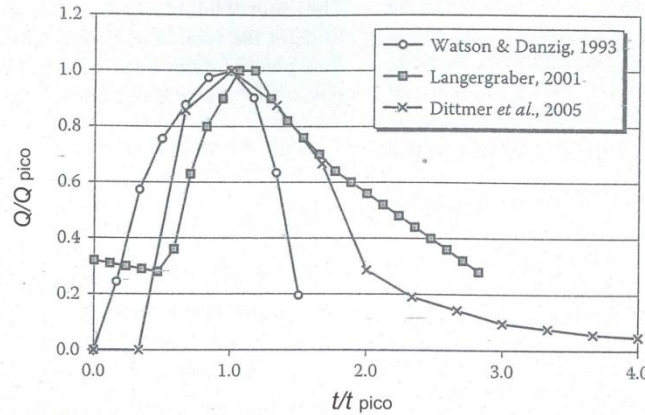


Figura Figura A-XIV-4: Curvas de drenado para un humedal de flujo vertical operado por pulsos (Kadlec & Wallace, 2009)

Es típico incluir un periodo sin alimentación, después de que el agua drena completamente del filtro, para permitir la oxidación de la materia orgánica acumulada al interior y en la superficie del filtro y de esta manera evitar el taponamiento. Hay muchas variantes de este esquema tan simple. Por ejemplo, Green y otros (1997^a; 1998) propusieron que el agua debería ser acumulada en la parte inferior del filtro y descargada rápidamente, para inducir la entrada de aire durante el súbito vaciado del medio. Durante el período de rellenado, el aire “usado” es evacuado a través de un tubo perforado localizado en el interior del medio.

Brix & Schierup (1990) citados por Kadlec & Wallace (2009, p.55) ofrecieron una explicación de una dosificación a largo plazo y la operación hidráulica de drenaje. En su ejemplo, el lecho se alimenta a una tasa constante durante dos días, seguido de ocho días de drenado. Las condiciones para el encharcamiento del agua pueden ser expresadas en términos de la carga hidráulica:

$$q \geq k$$

A(2-15)

donde:

k= Conductividad hidráulica del medio saturado, m/d

q= Tasa hidráulica de alimentación instantánea, m/d

A bajas tasas de alimentación $q \leq k$, el filtro puede transportar toda el agua bajo la influencia del gradiente vertical de presión hasta el estado de lecho completamente saturado. Durante el, relativamente largo, periodo de adición de agua, la profundidad de inundación se incrementa exponencialmente, al igual que la tasa de drenaje. Tras el cese de la adición de agua, el agua estancada drena primero, después de lo cual el agua intersticial procederá a drenarse. Dependiendo de la conductividad hidráulica del lecho, el drenado tomará de 0.5-10 días.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, AWWA, WEF. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition*. Washington DC, EEUU: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation
- Arias, C. & Brix, H. (2005). Phosphorus removal in constructed wetlands: Can suitable alternative media be identified? *Water Science & Technology*, 51(9):267-273.
- bioMérieux. (2011). *Apiweb TM*. Recuperado el 13 de noviembre del 2010, de <https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>
- Brix, H. & Schierup, H. (1990). Soil oxygenation in constructed reed beds: The role of macrophyte and soil-atmosphere interface oxygen transport. In P. F. Cooper, *Constructed Wetlands in Water Pollution Control* (pp. 53-66). Oxford, Reino Unido: Pergamon Press.
- CONABIO. (2010). *Sistema de información sobre especies invasoras en México*. Recuperado el 10 de julio del 2010 de <http://www.conabio.gob.mx/invasoras/index.php/Portada>
- Conagua. (2010). *Estadísticas del agua en México*. México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- de-la-Paz-Arquier, M. M. (2007). Tratamiento de lodos fecales mediante "wetlands" artificiales. *AIDIS*, 1(2):12-20.
- Dittmer U., Meyer D., Langergraber G. (2005) Simulation of a subsurface vertical flow constructed wetland for CSO treatment. *Water Science and Technology*, 51(9):225-232.
- DOF. (2001a). *NMX-AA-026-SCFI-2001: Análisis de agua - determinación de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- DOF. (2001b). *NMX-AA-029-SCFI-2001: Análisis de aguas - determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- DOF. (2001c). *NMX-AA-030-SCFI-2001: Análisis de aguas - determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- DOF. (2001d). *NMX-AA-034-SCFI-2001: Análisis de agua - determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.

- Durán-de-Bazúa, C., Guido-Zárata, A., Huanosta, T., Padrón-López, R. M., & Rodríguez-Monroy, J. (2008). Artificial wetlands performance: nitrogen removal. *Water Science & Technology*, 58(7):1357-1360.
- EPA. (1994). *Guide to septage treatment and disposal*. EEUU, Cincinnati OH: U.S. Environmental Protection Agency.
- EPA. (2002). *Onsite wastewater treatment systems manual*. EEUU, Cincinnati, OH: U.S. Environmental Protection Agency.
- Fenoglio-Limón, F., Genescá Llongueras, J., & Durán-de-Bazúa, C. (2001). Construcción y evaluación indirecta de las condiciones de aerobiosis en sistemas que simulan humedales artificiales. *Tecnología, Ciencia y Educación*, 16(002):61-68
- Gagnon, V., Chazarenc, F., Comeau, Y., & Brisson, J. (2007). Influence of macrophyte species on microbial density and activity in constructed wetlands. *Water Science & Technology*, 56(3):249–254.
- Gaitán-Zamora, N., & Durán-de-Bazúa, C. (2001). Evaluación ecotoxicológica de composta' producida con residuos vegetales de humedales artificiales y lodos primarios a escala de laboratorio. México D.F.: PIQYQA, Facultad de Química,
- Geller, G., & Höner, G. (2003). *Anwenderhandbuch Pflanzenkläranlagen (Manual del usuario para la construcción de humedales)*. Alemania, Heidelberg: Springer.
- Ghermandi, A., Bixio, D., Traverso, P., Cersosimo, I. & Thoeye, C. (2007). The removal of pathogens in surface-flow constructed wetlands and its implications for water reuse. *Water Science & Technology*, 56(3):207–216.
- Green, M., Friedler, E., & Safrai, I. (1998). Enhancing nitrification in vertical flow constructed wetland utilizing a passive air pump. *Water Resources*, 32(12):3513-3520.
- Green, M., Griffin, P., Seabridge, J. & Dhoibie, D. (1997). Removal of bacteria in subsurface flow wetlands. *Water Science and Technology*, 35(5):109 -116.
- Juárez Badillo, E. & Rico Rodríguez, A. (2001). *Mecánica de Suelos (Tomo 1)*. México, D.F.: Limusa.
- Jury, W. & Horton, R. (2004). *Soil Physics. Sixth edition*. EEUU: Wiley.
- Kadlec, R. H., & Wallace, S. D. (2009). *Treatment Wetlands. Second Edition*. EEUU, Boca Raton, FL : CRC Press.
- Kim, B. J. & Smith, E. D. (1997). Evaluation of sludge dewatering reed beds: A niche for small systems. *Water Science and Technology*, 35(6):21-28.
- Koottatep, T., Surinkul, N., Polprasert, C., Kamal, A. S., Kone, D., Montangero, A., U. Heinss, U. & Strauss, M. (2005). Treatment of septage in constructed wetlands in

- tropical climate: lessons learnt from seven years of operation. *Water Science & Technology*, 51(9):119-126.
- Langergraber G. (2001) Development of a simulation tool for subsurface flow constructed wetlands. Ph. D. Dissertation, IWGA SIG University of Vienna.
- Luna-Pabello, V. M., & Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. d. (1998). *Patent No. 210924*. México, D.F.: Instituto Mexicano para la Protección Industrial, IMPI.
- Luna-Pabello, V. M., Durán-de-Bazúa, C., Ramírez-Carrillo, H. F., Fenoglio-Limón, F. E. & Sánchez-García, H. (1997). *Los humedales artificiales, una alternativa viable para el tratamiento de aguas residuales en zonas rurales*. Facultad de Química, UNAM, Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, México, D.F.
- Metcalf & Eddy Inc. (2003). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse. Fourth Edition*. EEUU, New York: Mc Graw-Hill.
- Montgomery, D. C. (2006). *Diseño y análisis de experimentos*. México, D.F.: Limusa Wiley.
- Nielsen, S. (2003). Sludge drying reed beds. *Water Science & Technology*, 48(5):101-109.
- Nielsen, S. (2005). Sludge reed bed facilities: operation and problems. *Water Science & Technology*, 51(9):99-107.
- Nielsen, S. (2007). Helsing sludge reedbed system: reduction of pathogenic microorganisms. *Water Science & Technology*, 56(3):175-182.
- Nielsen, S. (2010). Sludge treatment reed bed facilities – Organic load and operation problems. En memorias del *12th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, pp. 754-761. San Servolo Island, Venecia, Italia.
- Panuvatvanich, A., Koottatep, T. & Kone, D. (2009). Influence of sand layer depth and percolate impounding regime on nitrogen transformation in vertical-flow constructed wetlands treating faecal sludge. *Water Research*, 43: 2623-2630.
- PC Progress s.r.o. (1998). Hydrus 1D. República Checa, Praga.
- Peruzzi, E., Macci, C., Doni, S., Masciandaro, G., Peruzzi, P. & Aiello, M. (2009). *Phragmites australis* for sewage sludge stabilization. *Desalination*, 247:111–120.
- Rheinhofer, M. (2004). *Klärschlammvererdung – Abschlussbericht zur Klärschlammvererdung mit Schilf in der Steiermark (Tratamiento de lodos- Informe final del tratamiento de lodos con Phragmites spp en el municipio de Steiermark)*. Austria: Amt d. Steiermärkischen Landesregierung (HRSG).
- Rivas, A. (2004). *Manejo sustentable y diseño hidráulico y biológico de humedales para control de contaminación. Parte 2: Humedal tipo para poblaciones pequeñas*. México, Jiutepec: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).

- SEMARNAT. (1996a). *NOM-001-SEMARNAT-1996; que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- SEMARNAT. (1996b). *NOM-002-1996; que establece los límites máximos permisibles de contaminates en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- SEMARNAT. (2000). *NOM-021-SEMARNAT-2000; que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- SEMARNAT. (2002). *NOM 004-SEMARNAT-2002; Protección ambiental - Lodos y biosólidos - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminates para su aprovechamiento y disposición final*. México, D.F.: Diario Oficial de la Federación.
- Statpoint Technologies. (2007). Statgraphics Centurion v15. EEUU.
- Troesch, S., Liénard, A., Molle, P., Merlin, G. & Esser, D. (2009). Treatment of septage in sludge drying reed beds: a case study on pilot-scale beds. *Water Science & Technology*, 60(3):643-653.
- University of Florida. (2009). *Center for Aquatic and Invasive Plants*. Recuperado el 08 de octubre del 2009, from <http://plants.ifas.ufl.edu/>
- Watson J.T., Danzig A.J. (1993). Pilot-scale nitrification studies using vertical flow and shallow horizontal-flow constructed wetland cells. In: *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*, Moshiri G.A. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 301-313.
- Wikipedia. (2009). *Wikipedia*. Retrieved noviembre 24, 2009, from <http://es.wikipedia.org/wiki/Humedal>
- Wissing, F. & Hofmann, K. (2002). *Wasserreinigung mit Pflanzen (Tratamiento de aguas residuales usando plantas)*. Alemania, Stuttgart: Ulmer.