

**VIABILIDAD DEL APROVECHAMIENTO DE BIOSÓLIDO PROVENIENTE DE LA PTAR
EL SALITRE COMO ENMIENDA PARA PRODUCCIÓN DE UN FERTILIZANTE
ORGÁNICO – MINERAL**

DANIELA DEL PILAR CASTAÑEDA PEDRAZA

Proyecto de grado para optar por el título de Ingeniera Ambiental

**JUAN CARLOS TORRES FERNÁNDEZ
(Director)**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C
2018**

Tabla de contenido

	Pág.
RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCIÓN.....	6
3. OBJETIVOS.....	8
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	8
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
4. MARCO REFERENCIAL.....	9
4.1 MARCO CONTEXTUAL	9
4.1.1 Generalidades de la PTAR El Salitre	9
4.1.2 Fases del proceso de tratamiento de agua residual doméstica en la PTAR El Salitre	11
4.2 MARCO TEÓRICO.....	13
4.2.1 Biosólidos	13
4.2.2 Composición de biosólidos	13
4.2.3 Nutrientes y materia orgánica	13
4.2.4 Contenido de metales pesados.....	14
4.2.5 Microorganismos patógenos	14
4.2.6 Antecedentes del aprovechamiento de biosólidos en el mundo	15
4.2.7 Aprovechamiento de biosólidos en Colombia.....	16
4.2.8 Alternativas para la reducción de microorganismos patógenos.....	17
4.3 MARCO CONCEPTUAL.....	18
4.4. MARCO LEGAL	20
4.4.1 Norma 40 – USEPA	20
4.4.2 Decreto 1287 de 2014	21
4.4.3 Norma Técnica Colombiana NTC 5167.....	22
5. DESARROLLO DE LA PASANTÍA.....	23
5.1 PARÁMETROS A CARACTERIZAR EN EL BIOSÓLIDO.....	23
5.2 CUANTIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE BIOSÓLIDO GENERADO EN LA PTAR EL SALITRE	24
5.3 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN	24
5.4 DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE CUMPLIMIENTO NORMATIVO	24
5.5 NUTRIENTES REPORTADOS POR EL BIOSÓLIDO Y DE FERTILIZANTES CON REGISTRO ICA	25

6. RESULTADOS OBTENIDOS.....	27
6.1 CARACTERIZACIÓN GENERAL Y MÉTODOS UTILIZADOS	27
6.2 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS	28
6.3 CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS	33
6.4. CARACTERÍSTICAS AGROLÓGICAS.....	35
6.5 FUENTES DE ENRIQUECIMIENTO	39
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXO 1: Técnicas analíticas	57

LISTA DE TABLAS

Pág.

<i>Tabla 1. Tratamientos aprobados por la EPA para reducción de patógenos en biosólidos.....</i>	<i>17</i>
<i>Tabla 2. Concentraciones máximas de metales pesados en biosólidos según USEPA... </i>	<i>20</i>
<i>Tabla 3. Concentraciones máximas microbiológicas en biosólidos según USEPA..... </i>	<i>21</i>
<i>Tabla 4. Valores máximos permisibles de categorización de biosólidos para su uso en agricultura.....</i>	<i>21</i>
 <i>Tabla 5: Requisitos fisicoquímicos para abonos o fertilizantes orgánico-minerales sólidos</i>	 <i>22</i>
<i>Tabla 6. Parámetros a caracterizar en el biosólido.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 7. Fertilizantes con registro ICA</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 8. Composición de fertilizante TEC COMPOST.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 9. Composición de fertilizante KELMIX FERTIMENORES.....</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 10. Composición de fertilizante ABIMGRA.....</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 11. Concentración de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en el biosólido PTAR El Salitre.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabla 12. Concentración de elementos potencialmente tóxicos en el biosólido.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 13. Nivel de cumplimiento normativo del biosólido generado en la PTAR El Salitre.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 14. Variables de importancia agrológica reportadas en el biosólido de la PTAR El Salitre.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 15. Fuentes de aporte de nutrientes aptas para el biosólido.....</i>	<i>42</i>

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Ubicación cuenca El Salitre.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2. Localización unidades de tratamiento e instalaciones complementarias PTAR El Salitre.....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 3: Esquema del tratamiento de agua residual en la PTAR El Salitre.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 4. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de cobre, cromo y zinc en el biosólido.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 5. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de níquel y plomo en el biosólido.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 6. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de arsénico, cadmio, mercurio, molibdeno y selenio en el biosólido.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 7. Comparación entre el biosólido y fertilizantes orgánico minerales en cuanto a concentración de elementos de importancia agronómica</i>	<i>38</i>

1. RESUMEN

La planta de tratamiento de agua residual El Salitre se encuentra ubicada en el Distrito Capital, en el barrio El Dorado, UPZ Bolivia de la Localidad de Engativá. Se ubica en la margen izquierda del Río Juan Amarillo o Salitre, antes de su confluencia con el Río Bogotá y está contemplado en el Plan de Ordenamiento Territorial del Distrito – POT, como un área de uso especial. Ésta trata las aguas de un cuerpo de agua que recibe aportes de la cuenca del Río Salitre, Torca y La Conejera. La eficiencia de remoción de la planta es de 60% para Sólidos Suspendedos Totales – SST y 40% para Demanda Biológica de Oxígeno - DBO₅ en condiciones normales de trabajo. Su operación consta de un tratamiento primario químicamente asistido que cuenta en sus instalaciones con dos etapas de cribado, un desarenado-desengrasado y clarificación para las aguas residuales. Sobre los lodos generados con el tratamiento se efectúan las operaciones de espesamiento, digestión y deshidratación.

Los biosólidos corresponden al subproducto obtenido a partir de un proceso de estabilización de lodos orgánicos, que en el caso de la PTAR El Salitre se lleva a cabo por digestión anaerobia mesofílica de mezcla completa. Allí se reduce el nivel de patogenicidad, el poder de fermentación y su capacidad de atracción de vectores. En primer lugar se da el proceso de acidificación, donde se forman Ácidos Grasos Volátiles (AGV) que posteriormente son descompuestos por bacterias metano génicas (metanogénesis) obteniendo como resultado CH₄, CO₂, H₂ y H₂O. En éste proyecto se recolectó información de muestras compuestas referentes a concentraciones fisicoquímicas y microbiológicas reportadas en el biosólido proveniente de la PTAR El Salitre durante el periodo comprendido entre Enero de 2015 y Enero de 2017, con el fin de determinar el potencial agrícola del mismo a partir de los requerimientos de calidad establecidos en el Decreto 1287 de 2014 (Colombia) y en la Norma 40 CFR parte 503 (Estados Unidos) además de posibles fuentes de enriquecimiento para su uso como fertilizante. Inicialmente se hizo una comparación de la composición del biosólido respecto a los límites máximos establecidos en cada una de las normativas en cuanto a metales pesados (arsénico, cadmio, cobre, plomo, mercurio, molibdeno, níquel, selenio, zinc) y microorganismos patógenos (Coliformes fecales, Huevos de helminto viables, *Salmonella spp*). Se obtuvo que el contenido de metales pesados exhibidos por el biosólido se encuentran por debajo de lo expuesto en las dos normas de referencia, mientras que no sucedió lo mismo para el contenido patogénico ya que para ninguno de los tres microorganismos evaluados se alcanzan los valores requeridos. Posteriormente, se evaluó el potencial agronómico del biosólido a partir de la comparación de sus concentraciones de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro con los valores presentados por fertilizantes orgánico minerales comerciales y lo sugerido en la NTC 5167; se encontró que éste presenta concentraciones de nitrógeno y fósforo similares a las expuestas por dichos productos, no obstante el contenido de los demás nutrientes resultó ser bajo, de modo que en cuanto al aspecto nutricional puede ser considerado como enmienda para la elaboración de fertilizantes o acondicionadores de suelo. De acuerdo a la consideración anterior, se propusieron algunas fuentes de enriquecimiento naturales y artificiales que pueden aportar aquellos nutrientes de los que se encuentra desprovisto el biosólido.

2. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las actividades antrópicas implican la generación de algún tipo de residuo que aporta a la contaminación del medio ambiente. En el caso de las fuentes hídricas, éstas se ven afectadas principalmente por las descargas de agua residual tanto doméstica como industrial que poseen altos contenidos de metales tóxicos (cadmio, cromo, mercurio, níquel, zinc, entre otros), microorganismos patógenos y demás componentes susceptibles a producir enfermedades en la población y disminuir su calidad de vida [1].

A partir de políticas públicas, se han construido Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales con el fin de atender esta problemática y poder brindar agua de mejor calidad a los habitantes de distintas regiones. Dicho tratamiento implica la generación de biosólidos, sólidos orgánicos estabilizados que se derivan del proceso biológico del tratamiento de aguas residuales, ricos en formas de nitrógeno, fósforo y algunos micronutrientes que pueden ser utilizados de manera sostenible para el acondicionamiento de suelo [2]. Esto quiere decir que de acuerdo a las condiciones del suelo en que se aplique, podría satisfacer los requerimientos totales de las plantas o reducir la dosis necesaria de fertilizantes químicos [3].

En el pasado, éstos eran considerados producto de desecho, de modo que no se hacía ningún tipo de aprovechamiento; hoy en día debido a la alta generación de los mismos se han realizado investigaciones encaminadas al posible uso que pueden tener en campos como la industria o la agricultura. En éste último, se ha observado que su aplicación puede ser una alternativa sostenible ya que representa una fuente rica principalmente en nitrógeno, fosforo y materia orgánica, cuya composición puede incrementar características tales como humedad y disponibilidad de otro tipo de nutrientes como calcio y magnesio entre otros [2].

En ese sentido, el presente trabajo de investigación tiene como finalidad determinar las condiciones físico-químicas óptimas para hacer del biosólido Clase B, un biosólido Clase A sin restricción para uso en agricultura, de acuerdo a lo expuesto en la Norma EPA 40 parte 503 y al Decreto 1287/2014, partiendo de sus concentraciones de metales pesados y microorganismos patógenos. Así, en la primera sección se evalúan los resultados de la caracterización del biosólido de acuerdo a la legislación anteriormente mencionada.

En la segunda sección, se proporciona información acerca de la composición nutricional de tres fertilizantes orgánico minerales que permiten establecer una comparación con el contenido de elementos de importancia agronómica en el biosólido, tales como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre. Además, se incluyen los requerimientos que de acuerdo a la NTC 5167 deben ser garantizados en materiales orgánicos, orgánico minerales sólidos susceptibles a ser utilizados como enmiendas y acondicionadores de suelo.

La tercera sección, se basa en la exposición de posibles fuentes de enriquecimiento del biosólido, las cuales fueron extraídas de la Norma Técnica Colombiana 1927.

Adicionalmente, se muestran dos sistemas de estabilización de biosólidos que han sido aprobados por la Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) para la disminución de población microbiana.

Con ésta alternativa se propone dar un valor agregado al subproducto del tratamiento de agua residual que se lleva a cabo en la PTAR El Salitre, ya que de ésta forma se utiliza un subproducto como insumo para la producción de una enmienda capaz de mejorar las propiedades nutricionales del suelo, de tal forma que sea posible cerrar el ciclo del tratamiento de agua residual que se lleva a cabo en la planta.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el potencial agrícola del biosólido de la PTAR El Salitre a partir de los requerimientos de calidad establecidos en el Decreto 1287 de 2014 (Colombia) y en la Norma 40 CFR parte 503 (Estados Unidos) además de posibles fuentes de enriquecimiento para su uso como acondicionador de suelo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar el biosólido de la PTAR El Salitre de acuerdo a los parámetros requeridos por la Norma Técnica Colombiana 5167 [4] para fertilizantes o acondicionadores de suelos.
- Evaluar el nivel de cumplimiento normativo del biosólido a partir de resultados de la caracterización físico - química y microbiológica del biosólido proveniente de la PTAR El Salitre, la cual incluye humedad, pH, nitrógeno total, fósforo total, potasio, calcio, magnesio, azufre, contenido de metales pesados (arsénico, cadmio, cromo, mercurio, níquel, plomo, molibdeno, selenio y zinc), concentración de Coliformes fecales, Huevos de Helminto y *Salmonella spp*, teniendo en cuenta los límites máximos permisibles reportados en el Decreto 1287 de 2014 y en la norma estadounidense 40 CFR parte 503 para biosólidos Clase A.
- Comparar la concentración de nutrientes (nitrógeno total, fósforo total, potasio, calcio, magnesio, azufre) contenidos en fertilizantes registrados ante el ICA como fertilizantes orgánico minerales con la concentración reportada en el biosólido de la PTAR El Salitre.

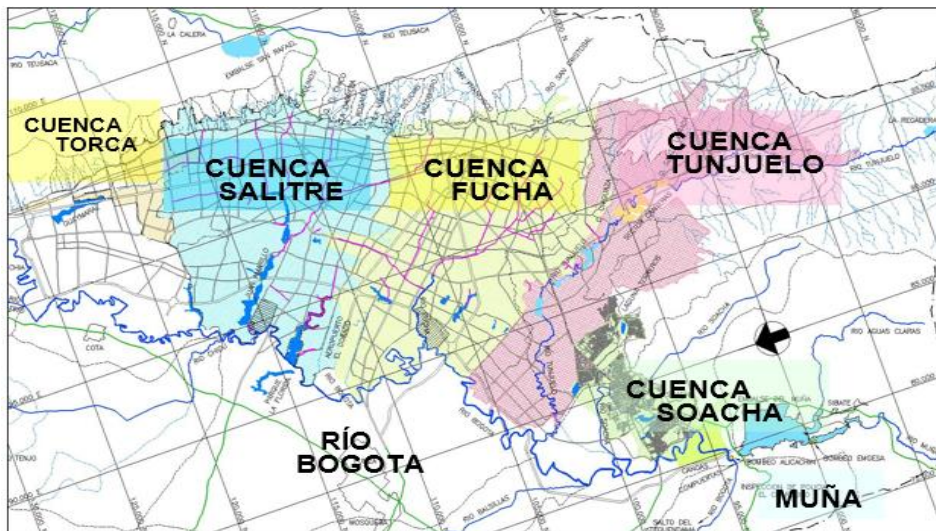
4. MARCO REFERENCIAL

4.1 MARCO CONTEXTUAL

4.1.1 Generalidades de la PTAR El Salitre

La PTAR El Salitre, se encarga de tratar el agua de la cuenca El Salitre, la cual se extiende aproximadamente desde la Avenida el Dorado hasta la calle 170 y desde los cerros orientales hasta el río Bogotá. Ésta recibe drenajes de otros cauces que se concentran finalmente en el río Salitre, de modo que La PTAR El Salitre atiende un área de drenaje total de 13815 Ha aproximadamente, denominada Cuenca El Salitre y se aprecia en color azul en la siguiente figura.

Figura 1. Ubicación cuenca El Salitre.



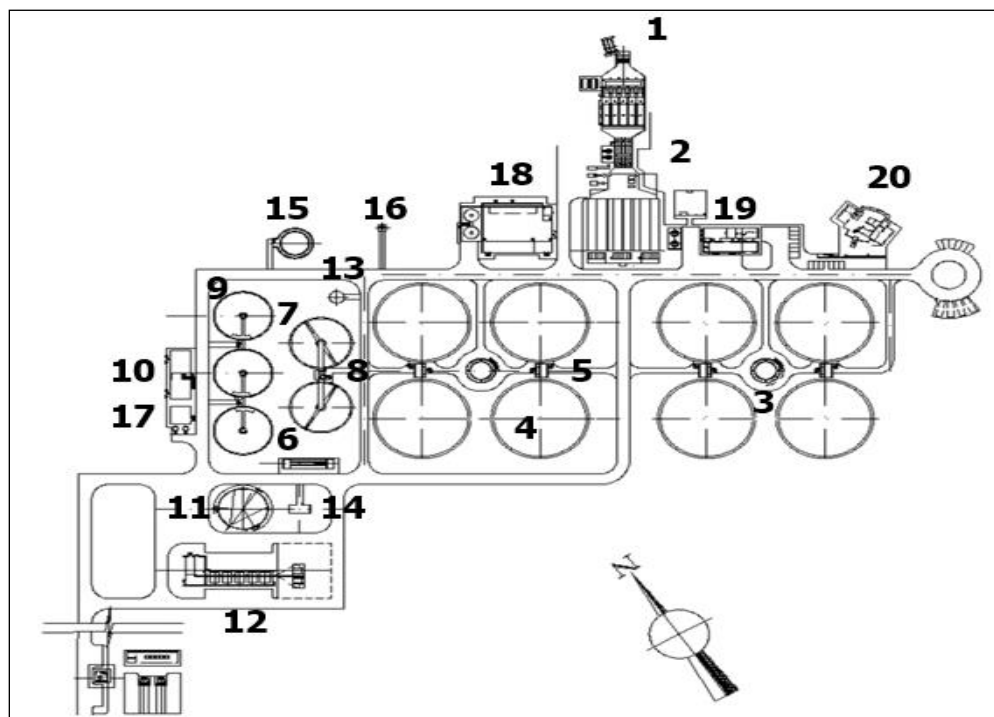
La PTAR El Salitre trata un caudal medio de $4.0 \text{ m}^3/\text{s}$ mediante un sistema primario químicamente asistido el cual cuenta en sus instalaciones con dos etapas de cribado, un desarenado - desengrasado y clarificación para las aguas residuales con el fin de alcanzar las metas de remoción exigidas en la Licencia Ambiental y que corresponden a 40% en DBO_5 (carga orgánica) y 60% en SST (sólidos suspendidos). Sobre los lodos generados con el tratamiento, se efectúan operaciones de espesamiento, digestión y deshidratación

La PTAR El Salitre consta de unidades de tratamiento y otras instalaciones complementarias, las cuales se indican a continuación con su respectiva numeración entre paréntesis correspondiente en la figura de localización (Figura 2):

- Toma de Agua y Puesto de Bombeo (1) :
- Pre tratamiento (2)
- 02 Cámaras de Reparto de Aguas Residuales (3)
- 08 Clarificadores (4)
- 04 Estaciones de bombeo de lodos decantados (5)
- Canal de medición de agua tratada (6)

- 02 Espesadores de Lodos Primarios (7)
- Estación de Bombeo de Lodos Espesados (8)
- 03 Digestores de Lodos (9)
- Edificio de Calentamiento de Lodos (10)
- Tanque de almacenamiento de Lodos Digeridos (11)
- Estación de Deshidratación de Lodos (12)
- Puesto de Elevación de todas las Aguas (13)
- Puesto de Elevación de Agua Industrial (14)
- Gasómetro (15)
- Tea (16)
- Subestación Eléctrica (17)
- Edificio de Grupos Electrógenos (18)
- Edificio de Talleres (19)
- Edificio Administrativo (20)
- Garita y Acceso Principal (21)
- Estructura de Elevación de Aguas Pluviales
- Estructura de Elevación de Aguas Tratadas

Figura 2. Localización unidades de tratamiento e instalaciones complementarias PTAR El Salitre.



4.1.2 Fases del proceso de tratamiento de agua residual doméstica en la PTAR El Salitre

Las principales líneas de procesos que tienen lugar dentro de la PTAR El Salitre para el tratamiento del agua residual doméstica son:

- **Captación:** La captación de agua que entra a la planta de tratamiento, se realiza mediante una compuerta que atraviesa el canal transversalmente, la cual posteriormente ingresa a una cámara tranquilizadora provista de un foso de remoción de sólidos gruesos. Luego, el agua es elevada a través de un sistema de cinco (5) tornillos de Arquímedes, cada uno de ellos con la capacidad de bombear $2.5 \text{ m}^3/\text{s}$ de agua, esto con el fin de que todo el flujo de agua dentro de la planta sea por gravedad.
- **Pretratamiento :** Corresponde a la primera fase y es allí donde se eliminan del agua los sólidos de tamaño medio, tales como latas de gaseosa, empaques de golosinas, toallas higiénicas, preservativos, arenas, grasas entre otros residuos.

En ella se dan otros subprocesos que son (1) desbaste fino, (2) desarenado y desengrase y (3) dosificación de productos químicos. El primero de ellos se realiza por sistemas de rejillas auto-limpiantes, el segundo se lleva a cabo mediante canales aireados dobles cada uno de 8 metros de ancho y 30 metros de largo. La dosificación de productos químicos consiste en la adición de Cloruro Férrico (FeCl_3) con el fin de desestabilizar las partículas de modo que facilite la remoción de los mismos por precipitación, proceso que se conoce como coagulación. Posteriormente, las partículas se agrupan para formar flocs de Sólidos Suspendidos Totales. La adición de polímero se realiza a la salida del agua de pretratamiento en un punto de alta mezcla, éste se encuentra en estado sólido granulado y se prepara mediante disolución en agua potable.

- **Decantación:** En ésta etapa se remueven sólidos suspendidos totales presentes en el agua cruda, logrando de manera simultánea alguna remoción de materia orgánica, gracias a la previa floculación de los sólidos.
Se cuenta con dos baterías de decantadores primarios, cada una constituida por una cámara de reparto y cuatro decantadores. La cámara de reparto se encarga de distribuir uniformemente los caudales de alimentación a cada uno de los decantadores (cada cámara reparte a 4 sedimentadores); por su parte los decantadores (de 43m de diámetro x 3.5m de alto) se encargan de dar el tiempo necesario para la sedimentación de las partículas floculadas en el pretratamiento, donde los sólidos sedimentables quedan retenidos en el fondo del tanque para formar el lodo primario mientras que el agua tratada sale por la parte superior por un canal perimetral del decantador que la conduce hacia los canales de medición de agua tratada.
- **Espesamiento:** El lodo primario proveniente de los decantadores, es bombeado hacia 2 espesadores circulares, cuya función es sacar la mayor cantidad de agua del lodo para aumentar su concentración y garantizar las condiciones óptimas que requiere el proceso de digestión. Esto se logra gracias a la compresión de partículas, es decir que cada partícula continúa sedimentando pero su movimiento es obstaculizado por partículas circundantes, razón por la cual las velocidades de decantación son muy

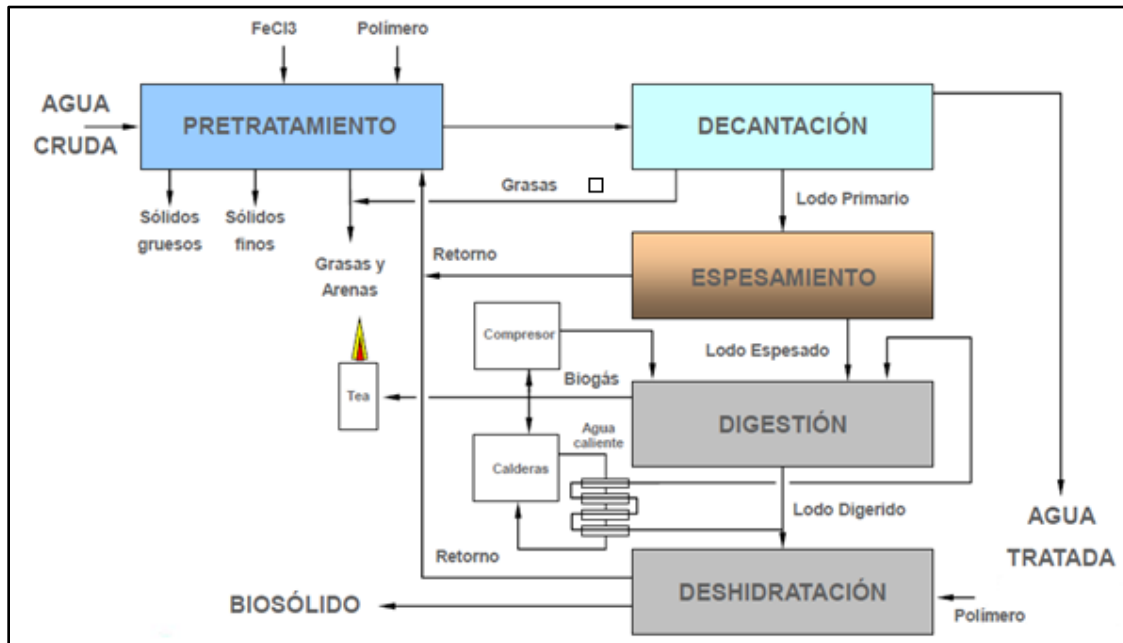
bajas lo que obliga a un tiempo de permanencia relativamente grande, que para este caso es de 16 a 24 horas.

Los lodos provenientes de éste proceso (lodos espesados), se dirigen a un pozo de recolección de lodos donde son bombeados a los digestores.

- **Digestión:** Los lodos espesados son conducidos hacia los digestores para reducir la materia orgánica de modo que sean menos nocivos al medio ambiente y disminuyan su volumen.

El proceso cuenta con tres digestores de 8500 m³ de capacidad, donde la estabilización es realizada mediante digestión anaerobia, que consiste en que bacterias mesofílicas se alimentan de la materia orgánica presente en los lodos espesados. En ésta fase se produce biogás y metano (CH₄); una parte del biogás es utilizada para calentar los lodos ($T^{\circ} = 35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), mientras que la parte restante es sometida a recirculación, siendo éste inyectado en cada digestor, de modo que se garantice una mezcla homogénea entre el lodo digerido y el lodo crudo [5].

Figura 3: Esquema del tratamiento de agua residual en la PTAR El Salitre



Fuente: [5]

Finalmente, el lodo digerido es deshidratado en filtros de banda para conseguir un contenido de sólidos de aproximadamente $30\% \pm 2\%$ para que éste se transforme en biosólido, utilizado como cobertura final para el restablecimiento vegetal del predio El Corzo, localizado al Suroccidente de la ciudad de Bogotá. La PTAR El Salitre, produce alrededor de 140 t/día de biosólido, el cual luego de ser transportado hasta el predio, es extendido en capas de 0.4m en el patio de secado por un periodo aproximado de 11 días y sometido a volteo con el propósito de reducir el porcentaje de humedad y la contaminación microbiológica. El aprovechamiento final se realiza mezclando el biosólido en proporción 1:1 con el suelo del sitio hasta alcanzar una elevación de +0.5m sobre la cota inicial del terreno [5].

4.2 MARCO TEÓRICO

4.2.1 Biosólidos

Según la EPA, los biosólidos son “residuos sólidos, semisólidos o líquidos generados durante el tratamiento de aguas servidas domiciliarias y que incluyen las escorias o sólidos removidos durante el tratamiento primario, secundario o avanzado del proceso de tratamiento de aguas servidas y cualquier material derivado de los lodos, excepto las gravillas o cenizas generadas durante el proceso de incineración [6].

Las directrices de Nueva Zelanda para la aplicación de biosólidos en la tierra, definen los biosólidos como “lodos de depuradora o lodos de depuradora mezclados con otros materiales que han sido mezclados con otros materiales, los cuales han sido tratados y/o estabilizados en la medida en que son aptos para la aplicación segura y beneficiosa en la tierra” [7].

En Irlanda, los biosólidos también conocidos como lodos de depuradora tratados o estabilizados, son definidos como el subproducto orgánico del tratamiento de aguas residuales urbanas que pueden ser utilizados como fertilizantes y acondicionadores de suelos en agricultura, siempre y cuando cumplan normativas específicas [8].

4.2.2 Composición de biosólidos

Los biosólidos contienen aproximadamente un 50 a 70% de materia orgánica y 30 a 50% de componentes minerales, donde se destacan cantidades significativas de nitrógeno (3.4 a 4%) y fósforo (0.5 a 2.5%), además de otros nutrientes y micronutrientes. Sin embargo, a pesar de su riqueza mineral éstos presentan concentraciones de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos, pesticidas, hormonas, tenso activos, productos farmacéuticos y nano partículas [9].

4.2.3 Nutrientes y materia orgánica

La materia orgánica de los biosólidos está compuesta principalmente de organismos vivos, detritos orgánicos deteriorados y una capa de minerales [10], tales como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), además de otros elementos esenciales que contribuyen al crecimiento y desarrollo de las plantas (calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), boro (B), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y zinc (Zn)). Estos pueden contribuir al mejoramiento de las propiedades físicas y nutritivas del suelo dependiendo la cantidad y porción de la mezcla, lo que a su vez puede conducir a una gestión eficaz de los residuos generados en el tratamiento de aguas residuales [11].

El nitrógeno puede encontrarse en forma orgánica (proteínas, aminoácidos, etc.) o inorgánica (amonio y nitratos); su contenido junto con el de fósforo (P) depende del tipo de agua residual y su respectivo tratamiento [12].

4.2.4 Contenido de metales pesados

Los metales pesados pueden presentarse en el suelo de dos formas: móvil en Biosólidos que pueden emigrar al suelo o inmóviles, que no producen ningún efecto toxicológico [13]. Aquellos que se generalmente se encuentran en el biosólido son: zinc (Zn), cadmio (Cd), plomo (Pb), níquel (Ni), cromo (Cr) y cobre (Cu) [14].

El aprovechamiento de biosólido como enmienda para uso agrícola, resulta ser una alternativa atractiva teniendo en cuenta que sugiere una mejora en algunas características del suelo y por ende a su productividad. Sin embargo, la concentración de metales pesados en el mismo, restringe su uso teniendo en cuenta que a diferencia de otras sustancias tóxicas, estos metales no son biodegradables y pueden acumularse en el biosólido en altas concentraciones que a su vez al ser aplicados al suelo pueden afectar fuentes de agua superficial o subterránea por escurrimiento [13].

El riesgo asociado al contenido de metales pesados en biosólidos, radica en la posibilidad de que oligoelementos metálicos sean transferidos de suelos enmendados a cultivos y a la cadena trófica [15]. Además, su biotoxicidad no está relacionada solamente con su concentración, sino que también se asocia a la distribución de especies de metales pesados y sus medios de circulación en la naturaleza [16].

4.2.5 Microorganismos patógenos

Los microorganismos patógenos presentes en biosólidos provienen por lo general de desechos humanos contaminados. Éstos se pueden dividir en tres grandes grupos: virus, bacterias y parásitos.

Virus: Son microorganismos con un alto nivel de patogenicidad, donde las especies que más implican riesgo para la salud humana son los *enterovirus*, *rotavirus*, *adenovirus*, y *hepatitis A* y *E*. Éstas clases de virus son agentes causantes de enfermedades respiratorias, gastroenteritis, diarrea, meningitis, infecciones oculares y cutáneas, entre otras [17].

La identificación de virus resulta compleja debido al requerimiento de técnicas y equipos especializados, por lo que resulta útil sugerir el estudio de fagos somáticos como indicadores de la presencia de Enterovirus, teniendo en cuenta que representa una especie que abunda en aguas residuales [18].

Bacterias: Éste tipo de microorganismos se encuentra diversificado en aguas residuales domésticas, donde el género predominante es la *Salmonella*, cuya especie más grave corresponde a *Salmonella typhi*, la cual produce una toxina que produce fiebre, diarrea, náuseas y puede traer consecuencias fatales si no se trata adecuadamente. Un género menos común se conoce como *Shigella*, generalmente se encuentra en aguas residuales que contengan residuos de productos lácteos y produce enfermedades intestinales. Otro tipo de bacterias corresponden al género *Vibrio*, causante de cólera humano [17].

Las bacterias coliformes, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* son indicadores de contaminación. Los Coliformes termo tolerantes conocidos como Coliformes fecales, comprenden un grupo reducido de microorganismos que soportan temperaturas de 45°C,

los cuales indican presencia de contaminación fecal, ya que las heces de seres humanos y animales contienen éste tipo de bacterias en la microbiota del tracto intestinal [19]. Estas bacterias también se encuentran en suelo y material vegetal, siendo *Escherichia Coli* su especie más representativa. A pesar de que la mayoría de bacterias coliformes no causan enfermedad, se ha comprobado que altos niveles de *E.Coli* indican pueden causar enfermedades como fiebre tifoidea o hepatitis que son transmitidas por el agua [20].

Otro tipo de bacterias que hace parte de ésta familia y que se evalúa en Biosólidos es *Salmonella spp*, la cual se caracteriza por ser una de las bacterias patógenas que predomina en las aguas residuales y produce una endotoxina que provoca fiebre, diarrea y náuseas. Sin embargo, sobrevive en concentraciones relativamente bajas en comparación con otros indicadores bacterianos como Coliformes fecales, *Streptococcus fecalis* y *Enterococos* [21].

Parásitos: En éste grupo se incluyen protozoos, nemátodos y helmintos. Las especies de protozoos más comunes son *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, y *Cyclospora*; las cuales generalmente atacan el sistema inmunológico. Por su parte, los nematodos más reconocidos son *Trichinella* y *Anisakis*, especies que son capaces de afectar distintos tipos de tejidos intestinales [17].

Uno de los parásitos que se encuentran comúnmente en biosólidos son los helmintos, cuyo tamaño varía desde 1mm hasta varios metros y su ciclo de vida comprende la producción de huevos o larvas infecciosas que pueden desarrollarse en varios tipos de huéspedes. En su estructura biológica, aunque ha sido compleja de estudiar, se ha logrado reconocer que una capa interna de lípidos es la responsable de su resistencia a la desecación y extrema impermeabilidad. Sus consecuencias en la salud incluyen su crecimiento en partes específicas del cuerpo, como oídos, ojos e incluso puede llegar a desarrollarse en el corazón u otras partes del sistema nervioso central [22]. Otra de las principales razones por las que se les considera indicadores, es su alta tasa de supervivencia en comparación con otros tipos de microorganismos.

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la mayoría de procesos de tratamiento de agua residual no están diseñados para esterilizar el material, por lo que es posible pensar que cualquier organismo que esté presente en el agua residual municipal tiene una alta posibilidad de encontrarse en los Biosólidos [23]. Es por ésta razón que se hace necesario implementar procesos de desinfección o higienización para que sus características sanitarias permitan su utilización en actividades agrícolas [24].

4.2.6 Antecedentes del aprovechamiento de biosólidos en el mundo

En el mundo se han realizado varios estudios relacionados con el aprovechamiento de biosólidos. A continuación se hace una revisión de distintos estudios que se han realizado alrededor del mundo.

En Suiza se llevó a cabo una investigación con el fin de determinar si la aplicación de lodos deshidratados podía recomendarse como acondicionador del suelo en agricultura teniendo en cuenta la base de materia orgánica, nutrientes y elementos contenidos en el suelo. Allí se tomaron muestras de biosólido de siete plantas de tratamiento de agua residual industrial, donde se observaron altos contenidos de materia orgánica y nutrientes (fósforo y nitrógeno) por lo que se sugiere un aumento en la capacidad de intercambio

catiónico particularmente en suelos arcillosos y limosos. Se concluye además que existe un bajo riesgo de toxicidad por metales pesados en términos de determinadas normas (Estados Unidos, China, Sudáfrica y la Unión Europea) por lo que se considera que los lodos analizados poseen gran potencial de utilización en agricultura [25].

En Sudáfrica, se analizó la concentración de metales pesados en lodos residuales de cinco ciudades y en un pozo de letrina. Se encontró que éstos sólo pueden ser beneficiosos si se aplican en base seca una sola vez sobre áreas determinadas, ya que superan en gran medida las directrices DWAF¹ en cuanto a límites de metales en lodos de agua residual; por lo que su aplicación intensiva sugiere un impacto ambiental significativo y un peligro para la salud humana a largo plazo. La concentración de Plata en lodos estuvo en un rango de 6,13 a 21,9 mg/kg de masa seca, mientras que fue 0,22 mg/kg en letrina de pozo, cuatro de los cinco municipios estudiados cumplieron la normativa en cuanto a cadmio, dos municipios reportaron altos niveles de plomo y en todos los casos las concentraciones de zinc y de cobre fueron excesivas [26].

El tratamiento de aguas residuales en China ha implicado el aumento exponencial de la producción de biosólidos, los cuales actualmente son dispuestos en vertederos. Allí se realizó una investigación que consistió en compostar dos tipos de residuos a saber: lodos de depuradora y residuos de césped, donde se encontró que éstos últimos exhibieron una velocidad de descomposición lenta gracias al contenido de compuestos como celulosa y lignina, mientras que los lodos de depuradora reportaron un contenido de nitrógeno relativamente alto para procesos como el compostaje, razón por la cual se concluyó que éstos lodos deshidratados pueden ser utilizados como enmiendas de suelo agrícola y forestal, por su significativo aporte de nutrientes orgánicos que pueden mejorar las propiedades físicas del suelo [27].

El uso agrícola de biosólidos es una práctica que ha sido aceptada por muchos países del mundo, uno de ellos es Estados Unidos el cual tiene como ejemplo a los estados de California y Arizona, donde el biosólido producido por el tratamiento de aguas residuales se utiliza en tierras agrícolas en un 54% y 86%, respectivamente.

4.2.7 Aprovechamiento de biosólidos en Colombia

El 97% del total de biosólidos producidos en el país, corresponden a las principales plantas de tratamiento de agua del país: El Salitre (Bogotá), Cañaveranejo (Cali) y San Fernando (Itagüí) las cuales generan en total una cantidad aproximada de 274 toneladas/día [28].

En un estudio realizado por estudiantes de la Universidad Militar Nueva Granada, donde se realizó un análisis químico y biológico del biosólido proveniente de la PTAR El Salitre, el cual fue sometido a un sistema de lombricultura para conocer su potencial para producir abono orgánico, se realizaron varias pruebas tanto químicas como biológicas que permitieron concluir que éste proceso podría ser una iniciativa ecológica para el manejo de los biosólidos de la PTAR gracias a sus características de abonos orgánicos que pueden ser usados para cultivos no agrícolas de tipo ornamental y recuperación foresta [29].

¹ DWAF: Department of Water Affairs and Forestry (South Africa)

Por otra parte, en una investigación realizada por la Universidad de Antioquia donde se utilizaron los biosólidos generados en la PTAR San Fernando (Itagüí- Antioquia), se realizó una caracterización fisicoquímica, microbiológica y parasitológica de los mismos a partir de muestras mensuales durante un año (2010) tomando como referencias la Norma Técnica Colombiana 5167 [30] y la NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-200 [31]. Se logró concluir que dichos biosólidos tienen un gran potencial para ser usados como abono orgánico siempre y cuando sean sometidos a procesos de sanidad de modo que cumplan los parámetros indicados en la Norma NTC 5167 [28].

La Escuela de Ingeniería de Antioquia (Medellín) en su estudio: “Factibilidad de disposición de los biosólidos generados en una planta de tratamiento de aguas residuales combinada”, sugiere que éste material presenta características no peligrosas (refiriéndose a corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad e inflamabilidad) a partir de las pautas establecidas en la prueba de “TCLP” (Toxic Characteristic Leaching Procedure) estándar 1311 de la Norma 40 CFR 261, cuyo análisis implica la determinación de metales pesados como arsénico, bario, cadmio, mercurio, cromo, níquel, plomo, plata, selenio, corrosividad, pH, ignición, reactividad e Inflamabilidad. Se determinó que el material es susceptible de compostaje al observar su excelente calidad orgánica que aporta nutrientes. Sin embargo, su alta concentración de organismos patógenos y de cromo implica un tratamiento especial en caso de querer ser utilizada para tal fin [32].

4.2.8 Alternativas para la reducción de microorganismos patógenos

Los biosólidos generados en plantas de tratamiento residual que sean objeto de utilización en suelo, están sujetos a una serie de requisitos en cuanto a su concentración de microorganismos patógenos, como se ve detalladamente en el apartado 4.4 correspondiente al marco legal aplicado al presente estudio. Esto sugiere que, en caso de que dichos biosólidos no cumplan con las características expuestas en las regulaciones tanto nacionales como internacionales (Decreto 1287 de 2014 y Norma 40 CRF parte 503), los biosólidos deben ser tratados por medio de un proceso de estabilización con el fin de : (I) reducir de patógenos, (II) reducir el potencial atracción de vectores y (III) proporcionar características uniformes al producto.

Los tratamientos aceptados por la Agencia de Protección Ambiental para el tratamiento de biosólidos con el fin de reducir las densidades de los patógenos a límites por debajo de los detectables son:

Tabla 1. Tratamientos aprobados por la EPA para reducción de patógenos en biosólidos

TRATAMIENTO	ESPECIFICACIONES
Estabilización alcalina	El proceso de estabilización mediante el uso de productos químicos alcalinos se basa en un principio simple que consiste en elevar el pH a 12 o más, asegurando que las condiciones de mezcla y tiempo de contacto garanticen la destrucción de los microorganismos. Los aditivos alcalinos más utilizados son cal viva (CaO) y cal hidratada (Ca(OH) ₂).

Compostaje	Se conoce como compostaje a la descomposición aeróbica controlada de materia orgánica, la cual produce un material similar al humus. Generalmente, el biosólido es mezclado con materiales que aumenten la porosidad como virutas de madera, de modo que el aire pase fácilmente a través del material de compostaje, el cual es sometido a una temperatura entre 50°C y 60°C durante un periodo aproximado de 3 días consecutivos.
Secado térmico	El biosólido es secado a partir de contacto directo o indirecto con gases calientes para reducir el contenido de humedad a menos del 10 % o a temperaturas mayores a 80°C. Las secadoras térmicas más utilizadas son secadoras instantáneas, secadoras por pulverización, secadoras rotativas y secadoras a vapor.
Tratamiento térmico	Este tipo de proceso implica calentar el biosólido a presión durante un periodo de tiempo corto, de modo que es esterilizado y se forman capas de baba bacteriana solubles que facilitan la deshidratación del mismo. La temperatura de calentamiento es 180°C por un periodo de 30 minutos.
Irradiación con rayos beta	El biosólido es irradiado con rayos beta de provenientes de un acelerador de electrones a dosis de al menos 1,0 megaradio a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C)
Irradiación con rayos gamma	El biosólido es irradiado con rayos gamma de ciertos isótopos, como el Cobalto 60 y el Cesio 137, en dosis de al menos 1 megaradio a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C)

Fuente: [33]

Independientemente del proceso seleccionado, todos deben estar adecuados para funcionar bajo diferentes cargas y condiciones operativas, teniendo en cuenta la cantidad de biosólido producida.

4.3 MARCO CONCEPTUAL

Aguas residuales municipales: Son las aguas vertidas, recolectadas y transportadas por el sistema de alcantarillado público, compuestas por las aguas residuales domésticas y no domésticas [34].

Digestión anaerobia: Es la descomposición biológica en condiciones controladas de la materia orgánica presente en los lodos, que es transformada en gas metano y bióxido de carbono y agua por los microorganismos en ausencia de oxígeno [34].

Sólidos totales (ST): Materiales residuales que permanecen en los lodos y biosólidos, que han sido deshidratados entre 103°C a 105°C hasta alcanzar un peso constante y son equivalentes en base a peso seco.

Lodos: Sólidos con contenido variable de humedad, provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de tratamiento de aguas residuales, que no han sido sometidos a procesos de estabilización [35].

Enmienda orgánica: Sustancia o producto capaz de modificar o mejorar las propiedades y las características físicas, químicas, biológicas o mecánicas del suelo [35].

Biosólidos Clase A: Denominados biosólidos con calidad excepcional, son aquellos que presentan una densidad de coliformes fecales inferior a 1000 NMP (Número más probable) por gramo de sólidos totales o también la densidad de *Salmonella spp* es inferior a 3 NMP² por 4 gramos de sólidos totales. La densidad de virus entéricos debe ser menor o igual a 1 UFC³ (Unidad formadora de colonia) por 4 gramos de sólidos totales y los huevos viables de helmintos inferiores a 1 por 4 gramos de sólidos totales. Un biosólido con estos niveles no tendrá restricciones en su aplicación agraria y sólo se hará necesario solicitar permisos para garantizar que estas normas hayan sido cumplidas [6].

Biosólidos Clase B: Debe tener una densidad de coliformes fecales inferior a 2×10^6 NMP por gramo de sólidos totales o 2×10^6 UFC por gramo de sólidos totales. Este tipo de biosólidos deberá recibir tratamiento y será el que mayores restricciones presente para uso agrícola [6].

Fertilizante orgánico – mineral: Corresponde a un producto, cuya función corresponde a aportar nutrientes a las plantas, cuya composición consta de un sustrato orgánico enriquecido con NPK, micro elementos (hierro, zinc, boro, manganeso) y ácidos húmicos producidos por la degradación de materia orgánica [36].

Mejoramiento de suelos: Aplicación de los biosólidos en terrenos para mejorar sus características físicas, químicas o microbiológicas [35].

Acondicionador del suelo: Toda sustancia cuya acción fundamental consiste en el mejoramiento, de por lo menos una característica física, química o biológica del suelo [37].

Estabilización de lodos: Proceso que comprende los tratamientos destinados a controlar la degradación biológica, la atracción de vectores y la patogenicidad de los lodos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales acondicionándolos para su uso y disposición final [34].

Nutriente: Elemento químico formulado para el crecimiento y desarrollo de los vegetales.

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

Número más probable (NMP): Valor calculado a partir del crecimiento, turbidez y formación de gas en medios de cultivo duplicados, inoculados con proporciones de 1 ml de diluciones decimales de la muestra. El método consiste en determinar la presencia o ausencia de atributos específicos de microorganismos en copias que se obtienen por diluciones consecutivas y su principio se basa en que una única célula viva puede desarrollarse y producir un cultivo turbio. Allí, se realizan una serie de diluciones de la muestra de cultivo, en un medio líquido adecuado para el crecimiento de un organismo determinado [38].

² NMP: Número más probable

³ UFC: Unidad formadora de colonia

Unidad formadora de colonia (UFC): Célula viva y aislada que se encuentra en un sustrato y en condiciones ambientales adecuadas, capaz de producir una colonia en un breve periodo de tiempo [39].

Helmineto: Término designado a un amplio grupo de gusanos parásitos (de humanos, animales y vegetales) de vida libre, con formas y tamaños variados. Poseen órganos diferenciados y sus ciclos vitales comprenden la producción de huevos o larvas, infecciosas o no [35].

Huevos de helmineto viables: Huevos de helmineto susceptibles de desarrollarse e infectar [35].

4.4. MARCO LEGAL

Estados Unidos ha sido pionero en la investigación referida a la regulación de biosólidos, sin embargo en países como México, Argentina, Chile y Colombia se han logrado importantes avances en el marco normativo, el cual incluye disminución de atracción de vectores y límites máximos de indicadores microbiológicos y de metales pesados de acuerdo al aprovechamiento que se le dé al biosólido.

4.4.1 Norma 40 – USEPA

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, expidió en 1993 la Norma 40 CFR parte 503 para el manejo y disposición de lodos generados en el tratamiento de aguas residuales que establece los límites máximos de contaminantes y microorganismos patógenos contenidos en biosólidos y los criterios a cumplir para disminución de vectores. Ésta norma también incluye las concentraciones máximas de metales pesados, estableciendo nueve de estos como los más importantes, donde define dos tipos de concentraciones, una concentración máxima y una concentración denominada “de alta calidad”. La primera de ellas corresponde a la concentración tope permitida para aplicar un biosólido en terreno y la segunda, que posee concentraciones aún más restrictivas.

Tabla 2. Concentraciones máximas de metales pesados en biosólidos según EPA

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN ALTA CALIDAD (mg/Kg Base seca)	CONCENTRACIÓN MÁXIMA (mg/Kg Base seca)
Arsénico (As)	41	75
Cadmio (Cd)	39	85
Cobre (Cu)	1.500	4.300
Plomo (Pb)	300	840
Mercurio (Hg)	17	57
Molibdeno (M)	-	75
Níquel (Ni)	420	420
Selenio (se)	100	100
Zinc (Zn)	2.800	7.500

Fuente: [40]

La Norma 40 parte 503, clasifica a los biosólidos en biosólidos Clase A de acuerdo al contenido de microorganismos, donde aquellos que se encuentren en Clase A no presentan ninguna restricción para aplicación en terrenos agrícolas, mientras que para la Clase B los biosólidos deben utilizarse bajo condiciones específicas. Las concentraciones expuestas para cada una de las clases se presentan a continuación.

Tabla 3. Concentraciones máximas microbiológicas en biosólidos según EPA.

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN CLASE A	CONCENTRACIÓN CLASE B
Coliformes Fecales (NMP/g o UFC/g Base seca)	$< 1 \times 10^3$	$< 2 \times 10^6$
Huevos de Helminto (Huevos viables/4g Base seca)	< 1	-
<i>Salmonella spp</i>	< 3	-

Fuente: [40]

4.4.2 Decreto 1287 de 2014

El 10 de Julio de 2014 el Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio expidió el Decreto 1287 de 2014, donde se establecen los criterios para el uso de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales. Éste decreto representa la legislación nacional vigente en cuanto a uso y disposición de biosólidos en Colombia y allí se regulan concentraciones de metales pesados y microorganismos patógenos, también clasificados en dos Clases: A y B como se muestra a continuación.

Tabla 4. Valores máximos permisibles de categorización de biosólidos para su uso en agricultura.

CRITERIO	VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA	CATEGORÍA BIOSÓLIDO (Valores máximos permisibles)	
			A	B
QUÍMICOS - METALES Concentraciones máximas	Arsénico (As)	mg/kg de biosólido (base seca)	20,0	40,0
	Cadmio (Cd)		8,0	40,0
	Cobre (Cu)		1000,0	1750,0
	Cromo (Cr)		1000,0	1500,0
	Mercurio (Hg)		10,0	20,0
	Molibdeno (Mo)		18,0	75,0
	Níquel (Ni)		80,0	420,0
	Plomo (Pb)		300,0	400,0
	Selenio (Se)		36,0	100,0
	Zinc (Zn)		2000,0	2800,0
MICRO BIOLÓGICOS	Coliformes fecales	Unidades formadoras de colonias UFC/g de biosólido (base seca)	$< 1,0 \text{ E } (+3)$	$< 2,00 \text{ E } (+6)$
	Huevos de Helminto viables	Huevos de Helminto viables/4g de biosólido (base seca)	$< 1,0$	$< 10,0$
	<i>Salmonella spp</i>	Unidades formadoras de colonias - UFC/25g de biosólido (base seca)	Ausencia	$< 1,00 \text{ E } (+3)$
	Virus entéricos	Unidades formadoras de placas - UFP/4g de biosólido (base seca)	$< 1,0$	-

Fuente: [34]

4.4.3 Norma Técnica Colombiana NTC 5167

Tabla 5: Requisitos fisicoquímicos para abonos o fertilizantes orgánico-minerales sólidos

Parámetros a caracterizar (Criterios de clasificación del producto)	Parámetros a garantizar (en base húmeda)
- Pérdidas por volatilización %* - Contenido de cenizas - Contenido de humedad: máximo 15%* - Contenido de carbono orgánico oxidable total, mayor de 5% - N, P₂O₅, K₂O, el contenido total de cada elemento mínimo es de 2%, - CaO, MgO, S reportar si la riqueza total de cada elemento mínimo es 1%, - Elementos menores de acuerdo con lo establecido con lo establecido en la legislación vigente para fertilizantes. - La suma de los elementos a reportar debe ser mínimo 10% si la riqueza total de cada elemento mínimo es de 1% - Contenido de silicio total expresado como SiO₂, máximo 50% del contenido de cenizas - Densidad (g/cm³), reportar - pH, reportar - Contenido de sodio (%Na), reportar - Conductividad eléctrica (dS/m), reportar - Límites máximos en mg/kg (ppm) de los metales pesados expresados a continuación: - Arsénico (As) 41 - Cadmio (Cd) 39 - Cromo (Cr) 1200 - Mercurio (Hg) 17 - Níquel (Ni) 420 - Plomo (Pb) 300 - Se debe indicar la materia prima de la cual procede el producto	- Contenido de carbono orgánico oxidable total (%C) - Contenido de humedad - Contenido de nitrógeno total (%Nt) - Contenido de fósforo total (%P₂O₅) - Contenido de potasio total (%K₂O) - Contenido de calcio total (%CaO) - Contenido de magnesio total (%MgO) - Contenido de azufre total (%S) - Si el producto final contiene fuentes solubles en agua, el contenido de sus elementos se debe garantizar. - Contenido de metales pesados (mg/kg) (ppm) - Contenido de silicio total (%SiO₂)

Como se muestra en la Tabla 4, en cuanto al ámbito nacional la Norma Técnica Colombiana NTC 5167 es un importante referente a la hora de hablar de fertilizantes y acondicionadores del suelo, pues allí se establece de manera detallada cada uno de los requisitos que debe cumplir y los ensayos a los cuales deben ser sometidos los productos orgánicos susceptibles a ser usados en agricultura (ya sea como abonos, enmiendas o acondicionadores de suelo). La clasificación de los productos orgánicos se realiza partiendo en primer lugar de la materia prima, los componentes principales y a su vez de la actividad de la cual ésta se deriva [4], en cuyo caso el biosólido corresponde a un *producto proveniente de lodos de tratamiento de aguas residuales domésticas o agroindustriales estabilizados con o sin mezcla de abonos minerales*, según la definición que allí se presenta, por lo que pertenece al grupo de “Abonos o fertilizantes orgánico-minerales sólidos” cuyos requisitos fisicoquímicos se observan en la Tabla 4.

En cuanto al componente microbiológico, la NTC 5167 tiene como requisito general que todo producto cuyo origen sea materia orgánica fresca debe ser sometido a procesos de transformación que aseguren su estabilización agronómica [4].

5. DESARROLLO DE LA PASANTÍA

Inicialmente se hizo una cuantificación de las concentraciones de nitrógeno total, fósforo total, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro, metales pesados (arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, molibdeno, selenio, zinc) y parámetros microbiológicos a saber: Coliformes fecales, Huevos de Helminto y *Salmonella spp.* Esto a partir del promedio de los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica y microbiológica en un periodo específico. En base a esa información, se determinó su nivel de cumplimiento respecto a la normativa estadounidense (Norma EPA 40 parte 503) y a la normativa vigente para biosólidos en Colombia (Decreto 1287 de 2014) aplicable a biosólidos susceptibles a usar en agricultura. Posteriormente, con el fin de tener una composición base se seleccionaron tres fertilizantes orgánico minerales con su respectivo registro ICA, de modo que fueran objeto de comparación con las concentraciones encontradas en el biosólido. De acuerdo a los resultados obtenidos, también se hizo una propuesta de posibles fuentes de enriquecimiento del biosólido en cuanto a nutrientes, las cuales están definidas de acuerdo a lo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 1927, donde se establecen aquellas fuentes aprobadas por el ICONTEC para enriquecer fertilizantes y acondicionadores de suelo.

Finalmente, se hizo una revisión de alternativas tecnológicas que permitan controlar la población microbiana y de ésta manera mejorar la calidad del producto final.

5.1 PARÁMETROS A CARACTERIZAR EN EL BIOSÓLIDO

Los parámetros fueron determinados a partir de la disponibilidad de información del biosólido de la PTAR El Salitre y teniendo en cuenta aquellos que la NTC Norma Técnica Colombiana requiere que sean caracterizados y garantizados para materiales orgánicos sólidos y orgánicos – minerales sólidos, además de los regulados por la normativa nacional e internacional vigente (Decreto 1287 de 2014 y Norma 40 parte 503).

En ese sentido, los elementos estudiados en el presente trabajo se relacionan a continuación:

Tabla 6. Parámetros a caracterizar en el biosólido

Criterio	Parámetro
Fisicoquímico	Humedad
	pH
	Nitrógeno total (N), Fósforo total (P_2O_5), Potasio total (K_2O), Calcio total (CaO), Magnesio total (MgO), Azufre total (S), Hierro total (Fe), Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Mercurio (Hg), Níquel (Ni), Plomo (Pb), Molibdeno (Mo), Selenio (Se), Zinc (Zn)
Microbiológico	Coliformes fecales
	Huevos de Helminto
	<i>Salmonella spp</i>

5.2 CUANTIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE BIOSÓLIDO GENERADO EN LA PTAR EL SALITRE

La concentración de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se determinó a partir de la media aritmética de los valores reportados por el Laboratorio de Aguas de la Empresa de Acueducto, Alcantarillado y Aseo de Bogotá en el periodo comprendido entre enero de 2015 y enero de 2017.

La media aritmética es definida como la división entre la suma de los valores de una variable y el número de valores, así:

$$\bar{x} = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}$$

Dónde $x_1, x_2, \dots, x_n$ son los valores de cada uno de los parámetros y n el número de datos comprendidos en dicho periodo.

5.3 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

Actualmente la caracterización del biosólido de la PTAR El Salitre, se lleva a cabo siguiendo las metodologías expuestas en el “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”, documento que ha sido el principal insumo de los analistas de laboratorio. Estas técnicas se desarrollaron en conjunto con la Asociación Americana de Salud Pública (APHA), la Asociación Americana de Obras Hidráulicas (AWWA) y La Federación Ambiental del Agua (WEF) [41].

Cientos de laboratorios alrededor del mundo toman las metodologías allí contenidas para llevar a cabo sus análisis, ya que es una fuente totalmente confiable que posee más de 400 métodos para la determinación de [42]:

- Sólidos disueltos
- Metales
- Cloro libre y total
- Análisis de olor, color, sabor
- Subproductos de desinfección
- Radio nucleídos
- Carbono orgánico total
- Coliformes totales y fecales

5.4 DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE CUMPLIMIENTO NORMATIVO

El nivel de cumplimiento normativo se llevó a cabo a través de la revisión detallada del Decreto 1287 de 2014, por el cual se establecen los criterios para el uso de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales en Colombia, así como también aquellos parámetros reglamentados por la Norma 40 CFR parte 503 de Estados Unidos, para que a partir de allí sea posible determinar qué tan cerca se encuentra el biosólido de cumplir con las concentraciones requeridas para biosólidos clase A, cuyo uso agrícola no tiene ninguna restricción.

5.5 NUTRIENTES REPORTADOS POR EL BIOSÓLIDO Y DE FERTILIZANTES CON REGISTRO ICA

La determinación de requerimientos en cuanto a nutrientes en el biosólido se llevó a cabo a partir de composiciones base de tres fertilizantes orgánico minerales, cuya selección fue realizada de acuerdo a la lista de productos fertilizantes aprobados y registrados ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) hasta el mes de Junio de 2017, teniendo en cuenta que las condiciones para su selección fueron: uso específico del fertilizante (orgánico mineral), tipo de aplicación (granulado o polvo) y lugar aplicación (suelo), además de la disponibilidad de información acerca de la composición de cada uno de ellos. En ese sentido, los fertilizantes seleccionados fueron:

Tabla 7. Fertilizantes con registro ICA

Nombre	Tipo de producto	Empresa productora	N° registro ICA
TEC COMPOST	Fertilizante orgánico mineral	KIMEL DE COLOMBIA S.A	6789
KELMIX FERTIMENORES	Fertilizante orgánico mineral	KIMEL DE COLOMBIA S.A	6774
COMPUESTO "ABIMGRA"	Fertilizante orgánico mineral	ABIMGRA L.T.D.A	2173

Fuente: [43]

Las composiciones de los respectivos fertilizantes se relacionan a continuación:

- **TEC COMPOST:** Es un fertilizante orgánico mineral de suelos (polvo seco) producido a partir de compostaje de materiales de origen animal y vegetal, caracterizado por su concentración de carbono orgánico oxidable que facilita la creación de biomasa microbiana en el suelo.

Tabla 8. Composición de fertilizante TEC COMPOST

Parámetro	Composición garantizada (%)
Nitrógeno total – N (%)	0.59
Fósforo total - P ₂ O ₅ (%)	7.73
Potasio total - K ₂ O (%)	1.51
Calcio total - CaO (%)	8.27
Magnesio total - MgO (%)	1.15
Azufre total - S (%)	0.39
Hierro total - Fe (%)	2.34
pH (UNT)	7.3

- **KELMIX FERTIMENORES:** Fertilizante orgánico mineral de suelos (grano soluble) rico en macro y micro elementos que mejoran la eficiencia agronómica del suelo.

Tabla 9. Composición de fertilizante KELMIX FERTIMENORES

Parámetro	Composición garantizada
Nitrógeno total - N (%)	4.0
Fósforo total - P ₂ O ₅ (%)	5.0
Potasio total - K ₂ O (%)	5.0
Magnesio total – MgO (%)	2.0
Calcio total - CaO (%)	8.0
Azufre – S (%)	4.0
Hierro total – Fe (%)	1.0
pH (UNT)	4

- **ABIMGRA:**

Tabla 10. Composición de fertilizante ABIMGRA

Parámetro	Composición garantizada
Nitrógeno total - N (%)	1.1
Fósforo total - P ₂ O ₅ (%)	2.3
Potasio total - K ₂ O (%)	1.8
Magnesio total – MgO (%)	0.73
Calcio total - CaO (%)	21.4
Azufre – S (%)	2.08
Hierro total – Fe (%)	Trazas
pH (UNT)	6.98

La caracterización del biosólido permite hacer una comparación de concentración de nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, hierro) en el biosólido y la que reportan los fertilizantes orgánico – minerales mencionados anteriormente, esto con el fin de determinar aquellas que puedan presentarse en exceso o por el contrario que puedan faltar al biosólido. En el último caso, se propusieron fuentes potenciales que permitan hacer el aporte de nutrientes requerido por el biosólido, a partir de lo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 1927, donde se establecen aquellas fuentes que pueden utilizarse para enriquecer productos susceptibles a uso agrícola.

6. RESULTADOS OBTENIDOS

6.1 CARACTERIZACIÓN GENERAL Y MÉTODOS UTILIZADOS

A continuación se muestra la concentración obtenida a partir de la media aritmética de los valores reportados por el Laboratorio de Aguas de la Empresa de Acueducto y Alcantarillado para muestras compuestas de biosólido durante el periodo comprendido entre enero de 2015 y enero de 2017, teniendo en cuenta que la caracterización de biosólido se realiza mensualmente, según lo requerido en la licencia ambiental de la PTAR El Salitre.

Tabla 11. Concentración de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en el biosólido PTAR El Salitre

Criterio	Parámetro	Unidad de medida	Concentración en biosólido (Enero 2015 - Enero 2017)	Método de caracterización
Físico-químico	Humedad	%	71,8	Gravimétrico SM -2540 B
	Ph	Unidad de pH	8,12	Electrométrico SM-4500 H ⁺ B
	Nitrógeno total (N)	%	3,45	Semi Micro Kjeldahl SM 4500 Norg – método C
	Fósforo total (P ₂ O ₅)	%	1,00	Ácido Vanado Molibdofosfórico, SM 4500- P,C
	Potasio (K ₂ O)	%	0,13	Método de llama fotométrica SM 3500 K - B
	Calcio (CaO)	%	1,09	Método de titulación EDTA SM - 3500 Ca - B
	Magnesio (MgO)	%	0,03	Método de titulación EDTA SM - 3500 Ca - B
	Azufre (S)	%	0,58	Turbidimétrico SM – 4500 SO ₄ ²⁻ E
	Hierro (Fe)	%	4,29	Método Fenantrolina SM 3500 Fe - B
	Arsénico (As)	mg As /kg	10,52	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 As B
	Cadmio (Cd)	mg Cd /kg	3,38	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Cd B
	Cobre (Cu)	mg Cu /kg	280,09	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Cu B
	Cromo (Cr)	mg Cr /kg	87,97	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Cr B
	Mercurio (Hg)	mg Hg /kg	2,27	Absorción atómica con vapor frío 3112 B - Hg
	Níquel (Ni)	mg Ni /kg	78,37	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Ni B
	Plomo (Pb)	mg Pb /kg	152,46	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Pb B
	Molibdeno (Mo)	mg Mo /kg	6,81	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Mo B
	Selenio (Se)	mg Se /kg	3,72	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Se B
	Zinc (Zn)	mg Zn /kg	1200,03	Espectrometría de misión plasma ICP SM-3120 Zn B
Microbiológico	Coliformes fecales	UFC/4g ST	1 x 10 ⁶	Sustrato enzimático SM-9223 B – M4FC0304175 Bs
	Huevos de Helminto viables	Huevos de Helminto/4g ST	3 x 10 ¹	NOM 004 SEMARNAT 2002 NORMA OFICIAL MEXICANA
	Salmonella spp	NMP/4g ST	2 x 10 ³	NOM 004 SEMARNAT 2002 NORMA OFICIAL MEXICANA

La información presentada en la Tabla 11 se dividió en dos criterios de acuerdo al tipo de caracterización realizada: (I) físico-químico que comprende parámetros desde humedad hasta el contenido de zinc (Zn) y microbiológicos donde se incluye la cuantificación de los microorganismos patógenos. En el primer caso, la concentración de N, P, K, Ca, Mg, S y Fe se presenta en % teniendo en cuenta que corresponde a las unidades en que estos elementos se reportan generalmente en el suelo y de allí deriva su potencial agrícola, los conocidos como metales pesados (desde As hasta Zn) se representan en mg/kg, mientras que la concentración de parámetros microbiológicos se da en las unidades en que se expresan en la normativa.

Además, se enuncia el método de caracterización que fue utilizado para determinar la concentración de cada uno de los parámetros. La información detallada sobre cada uno de ellos se encuentra en el Anexo 1: Técnicas analíticas.

6.2 CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS

En la Tabla 11 se presenta la concentración de metales pesados en el biosólido y se compara con los valores máximos presentados en la legislación propuesta en esta investigación (NTC 5167, Decreto 1287/2014 y Norma EPA 40 CFR). Allí es posible observar que la Norma Técnica Colombiana NTC 5167 no regula los metales pesados a saber: cobre (Cu), molibdeno (Mo), selenio (Se) y zinc (Zn) ni los parámetros microbiológicos contemplados para el desarrollo de éste estudio, por lo que en este caso sólo se remitió a ella para evaluar el cumplimiento normativo en cuanto a concentración de los siguientes metales pesados : arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), níquel (Ni) y plomo (Pb).

Tabla 12. Concentración de elementos potencialmente tóxicos en el biosólido

Criterio	Parámetro (mg/kg)	Concentración en Biosólido (Enero 2015 - 2017)	Concentración requerida según NTC 5167/2011	Concentración límite biosólido Clase A (Decreto 1287/2014)	Concentración límite biosólido Clase A (Norma EPA 40 CFR 503)
Físico-químico	Arsénico (As)	10,52	41	20	75
	Cadmio (Cd)	3,38	39	8	85
	Cobre (Cu)	280,09	-	1000	4300
	Cromo (Cr)	87,97	1200	1000	3000
	Mercurio (Hg)	2,27	17	10	57
	Níquel (Ni)	78,37	420	80	420
	Plomo (Pb)	152,46	300	300	840
	Molibdeno (Mo)	6,81	-	18	75
	Selenio (Se)	3,72	-	36	100
	Zinc (Zn)	1200,03	-	2000	7500

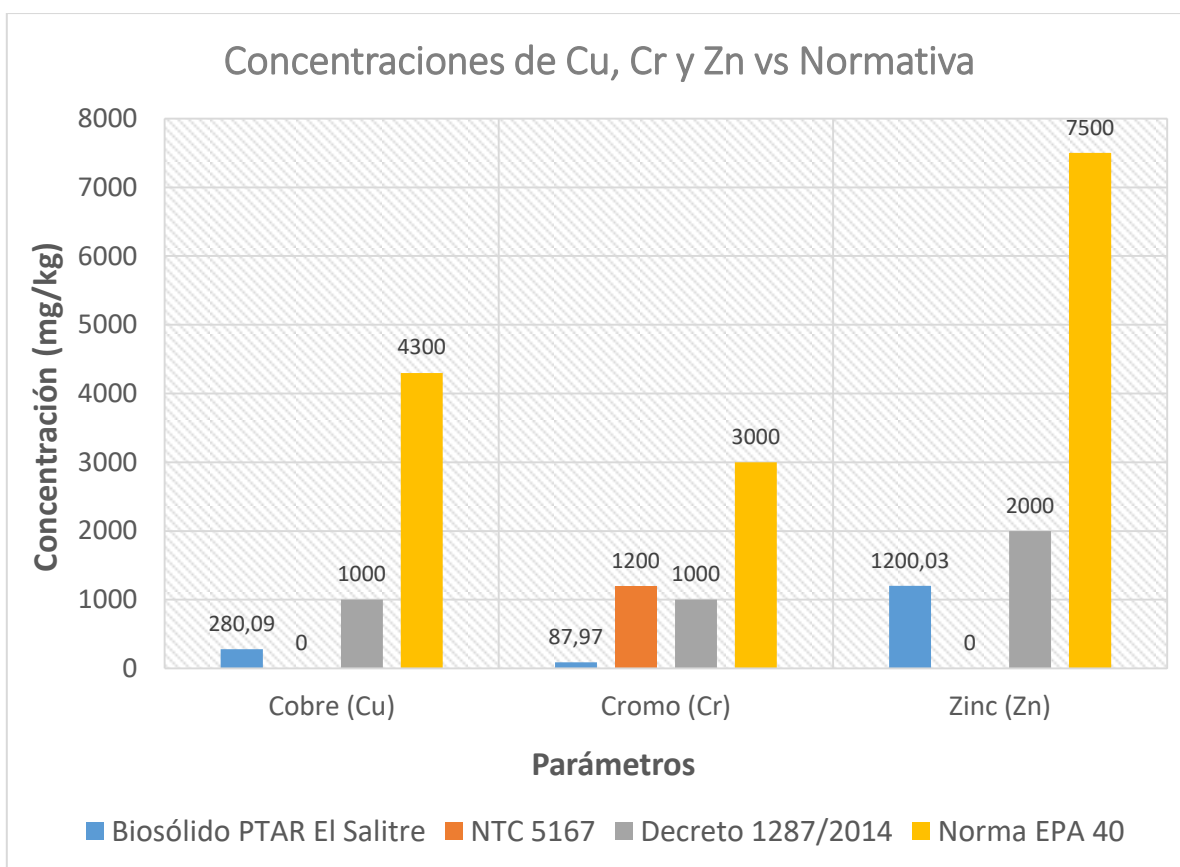
Es importante aclarar que se han tomado los valores máximos permisibles correspondientes a biosólidos Clase A (que pueden usarse sin restricción en agricultura),

teniendo en cuenta que el objetivo principal de ésta investigación está enfocado a evaluar qué tan cerca se encuentran las concentraciones reportadas en el biosólido proveniente de la PTAR El Salitre para cumplir con los requerimientos allí expuestos.

Según los resultados presentados en la Tabla 11, es posible afirmar que el Decreto 1287 de 2014 resulta ser el más restrictivo presentando los valores más bajos permitidos en cuanto a metales pesados en biosólidos, mientras que la normativa estadounidense es más permisible en la concentración de los mismos.

A continuación se muestran de manera gráfica los resultados obtenidos para metales pesados, los cuales se agruparon de acuerdo a los rangos manejados por cada uno de ellos con el fin de visualizar mejor los respectivos valores.

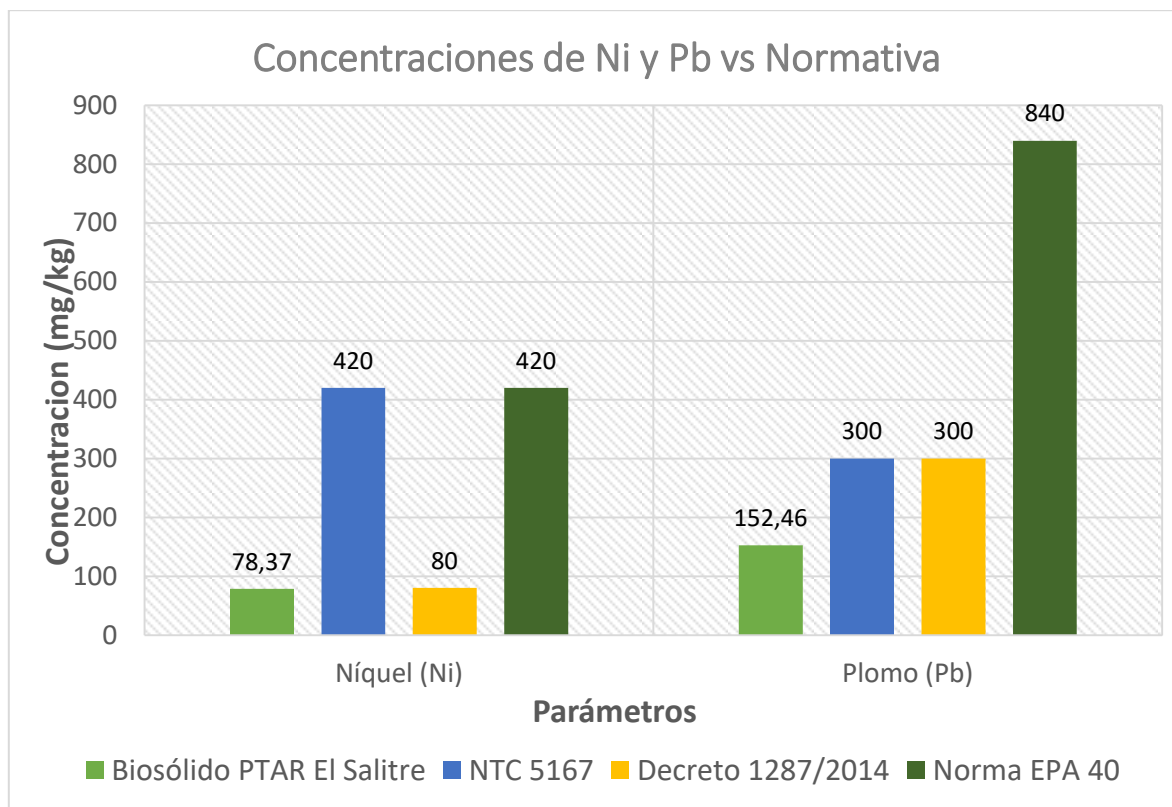
Figura 4. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de cobre, cromo y zinc en el biosólido



En la Figura 4 es posible observar que la concentración de cobre (Cr) se encuentra dentro de los límites máximos permitidos tanto por el Decreto 1287/2014 (1000 mg/kg) como por la Norma EPA 40 (4300 mg/kg) siendo su valor de 280.09 mg/kg. El dato correspondiente a la concentración de cromo (Cr) de igual forma se encuentra dentro de los límites establecido por las tres normas, teniendo en cuenta que éste elemento si es regulado por la NTC 5167, es importante mencionar que el nivel de cromo presentado en el biosólido es significativamente bajo en comparación con los valores establecidos como tope en cada una de las normas estudiadas. De igual forma, la concentración de zinc (Zn) se

ubica por debajo de los límites permitidos por el Decreto 1287/2014 (2000 mg/kg) y por la norma americana (7500 mg/kg), presentando un valor de 1200.03 mg/kg.

Figura 5. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de níquel y plomo en el biosólido

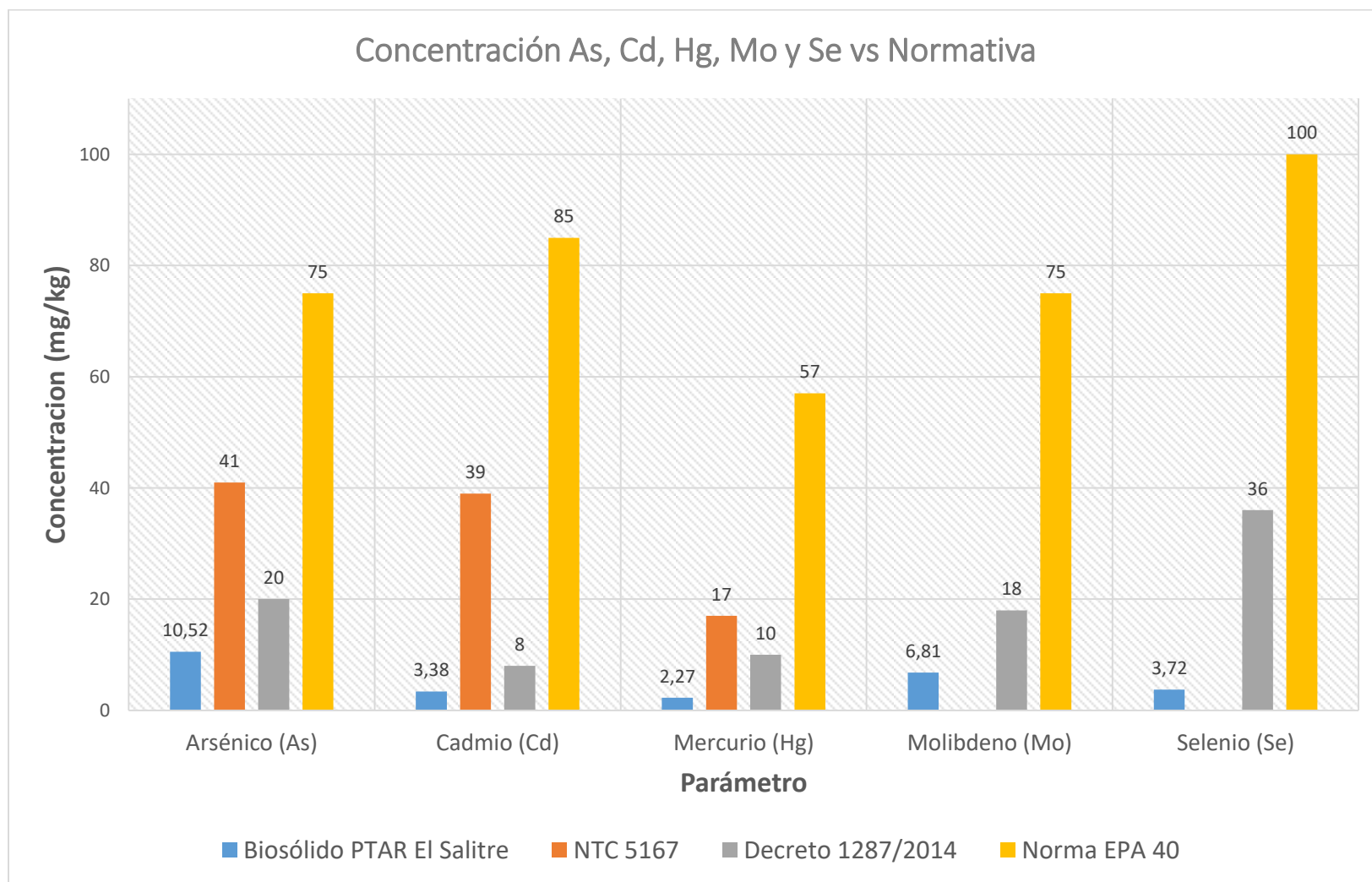


En la Figura 5 se tienen los valores de níquel (Ni) y plomo (Pb) reportados por el biosólido y su comparación con el Decreto 1287/2014 y la Norma EPA 40. Allí se tiene en primer lugar que la concentración de níquel se encuentra por debajo de los límites máximos permisibles con un valor de 78.37 (mg/kg), siendo 420 mg/kg el valor máximo tanto para la NTC 5167 como para la normativa americana, mientras que para el Decreto 1287/2014 el valor reportado estuvo significativamente cerca del límite (80 mg/kg). Por su parte, la concentración de plomo (152.46 mg/kg) se mantuvo por debajo del límite máximo permitido por las tres normas, estando aproximadamente un 50% por debajo del límite máximo permitido por el Decreto 1287 de 2014 y la NTC 5167.

Una alta concentración de níquel (Ni) podría causar reducción en el crecimiento de las plantas, así como también bioacumulación en cultivos y posteriormente al ser ingeridos, ser transmitidos a seres humanos.

En la Figura 6 se presentan los resultados obtenidos para arsénico (As), cadmio (Cd), molibdeno (Mo) y selenio (Se), teniendo en cuenta que la NTC 5167 sólo es susceptible de comparación para el caso de los tres primeros elementos.

Figura 6. Nivel de cumplimiento normativo en concentraciones de arsénico, cadmio, mercurio, molibdeno y selenio en el biosólido



A partir de la comparación con la legislación respectiva, se puede afirmar que para todos los casos la concentración del biosólido cumplió con los requerimientos exigidos por cada norma, presentando valores por debajo de los máximos permisibles en cuyo caso fue el mercurio el metal pesado con menor valor (2.27 mg/kg), mientras que la concentración más alta tuvo lugar a la hora de analizar el mercurio (10.52 mg/kg) que sin embargo permaneció por debajo del límite para cada una de las reglamentaciones expuestas (41 mg/kg para la NTC 5167, 20 mg/kg para el Decreto 1287/2014 y 75 mg/kg para la Norma EPA 40).

Los metales pesados tienen un impacto negativo cuando entran en contacto con el hombre, ya que pueden afectar desde moléculas, células y tejidos hasta órganos vitales, además de impedir la absorción de nutrimentos esenciales. Al ser elementos que el organismo no puede metabolizar, su presencia en el organismo genera efectos tóxicos que pueden manifestarse de diferentes formas desde molestias en el cuero cabelludo hasta efectos mutagénicos, cancerígenos e incluso la muerte [47]. Sin embargo, en especies vegetales, es necesaria la presencia de algunos de estos elementos en pequeñas cantidades, tales como el cobre, zinc, molibdeno, boro y manganeso, ya que se considera que aportan al desarrollo fisiológico de las plantas y a su vez forman parte de las enzimas que intervienen en la fotosíntesis.

La biodisponibilidad de metales pesados en el sistema suelo-planta (teniendo en cuenta la aplicación de biosólido en suelo), se ha estimado a partir de la capacidad de transferencia de los mismos, de modo que la biodisponibilidad de elementos como el cadmio, cobre, níquel y zinc es mayor que la presentada por el plomo, mercurio y cromo. Altas concentraciones de cadmio y mercurio resultan ser zoo tóxicas y Fito tóxicas, es decir que pueden acumularse en los tejidos de las plantas a tal punto que resultan ser tóxicas para animales, sin efecto adverso para la planta [48].

No obstante, dicha fracción disponible o asimilable de metales pesados está determinada principalmente por la especie química y algunas características del suelo tales como el pH, potencial de óxido reducción y contenido de materia orgánica entre otros [48], por lo que la concentración presentada en el biosólido no sería la única variable a tener en cuenta a la hora de analizar el contenido de este tipo de elementos en el suelo.

Es importante mencionar que la toxicidad de estos metales depende en gran medida de las condiciones del suelo al que esté expuesto. Por ejemplo el pH representa un parámetro importante para definir la movilidad del catión, teniendo en cuenta que en condiciones ácidas puede haber formación de hidróxidos que favorecen la fase asimilable de estos elementos en el suelo [49].

Por otra parte, la materia orgánica contenida en el biosólido juega un papel importante en la disponibilidad de estos elementos en el suelo, pues ésta reacciona con los metales y tiende a formar complejos órgano-metálicos de alta estabilidad que facilitan la solubilidad, disponibilidad y dispersión de los mismos en el suelo [50].

Además de éstos, existen otros factores que pueden incidir en el impacto que pueda ocasionar la disposición de biosólido en suelo, tal como la textura y dinámica del suelo en general, las características específicas de las especies vegetales que se encuentren en ese suelo, etc.

Por lo anterior, es posible afirmar que la razón por la que los metales pesados no deberían encontrarse en productos que tendrán contacto directo con los seres humanos y animales radica en su facilidad para acumularse en la parte superficial del suelo, donde quedarían disponibles para diferentes especies vegetales y por ende entrarían en la cadena trófica, es decir que su nivel de peligrosidad depende de la concentración de dichos metales en su fase bioasimilable.

Finalmente se concluyó que en el biosólido proveniente de la PTAR El Salitre, las concentraciones de elementos potencialmente nocivos para la salud humana y el medio ambiente en general se encuentran en niveles que no presentan riesgo de consideración, teniendo en cuenta que permanecen por debajo de los niveles permitidos tanto por la normatividad colombiana como por la americana.

6.3 CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

La concentración de microorganismos patógenos presentes en el biosólido se muestra en la Tabla 12 y se realiza la respectiva comparación con los valores establecidos por el Decreto 1287/2014 y la Norma EPA 40.

Tabla 13. Nivel de cumplimiento normativo del biosólido generado en la PTAR El Salitre

Criterio	Parámetro	Unidad de medida	Concentración en Biosólido (Enero 2015 - 2017)	Concentración límite biosólido Clase A (Decreto 1287/2014)	Concentración límite biosólido Clase A (Norma EPA 40 CFR 503)
Microbiológico	Coliformes fecales	UFC/g ST	1×10^6	$< 1 \times 10^3$	$< 1 \times 10^3$
	Huevos de Helminto viables	Huevos de Helminto/4g ST	3×10^1	< 1	< 1
	<i>Salmonella spp</i>	NMP/4g ST	2×10^3	Ausencia	< 3

**Resultados presentados en base seca.*

De acuerdo a la caracterización microbiológica, se evidencia que para el caso de coliformes fecales el biosólido no cumple con los requerimientos establecidos por la legislación colombiana (Decreto 1287/2014) y americana (Norma EPA 40), ya que el valor registrado por el mismo excede el límite máximo permitido para biosólido clase A ($< 1 \times 10^3$ UFC/g en ambos casos).

Si el biosólido generado en la PTAR El Salitre se utilizara como enmienda en las condiciones en que se encuentra actualmente, estaría restringido a cultivos no alimentarios [51], teniendo en cuenta que de acuerdo a la definición establecida por la Norma EPA 40 (Parte 503) el biosólido en cuestión se cataloga como clase B al presentar una concentración de 1×10^6 UFC/g, valor que no excede el valor máximo permitido para este tipo de biosólidos (2×10^6 UFC/g).

Los coliformes fecales son indicadores de contaminación fecal, por lo que es normal que se encuentre en altas concentraciones en el agua residual doméstica, pues son microorganismos que se encuentran en las heces fecales, además al tratarse de microorganismos indicadores tienden a presentarse en mayor densidad en comparación con otras especies [52].

Por su parte, al comparar la concentración de huevos de helminto registrada en el biosólido y la exigida tanto por el Decreto 1287/2014 como por la Norma EPA 40 es posible determinar que no cumple con dicho criterio, pues en los dos casos se reglamenta que el biosólido de clase A no debe contener más de 1 huevo de helminto por cada 4 gramos de sólidos totales, mientras que los huevos encontrados en el biosólido son 3×10^1 HH/4 g ST.

El grupo de huevos de helminto presenta varias especies, siendo *Taenia solium* y *Ascaris lumbricoides* el parásito de mayor incidencia en América Latina. La primera de ellas afecta tanto al hospedero como a su transmisor; si los huevos de *Taenia solium* son ingeridos, pueden desarrollarse e instalarse en el cerebro o en los músculos de los ojos. Sin embargo, la segunda especie resulta ser de mayor incidencia en la población al parasitar en el intestino delgado del hombre, ésta puede ser transmitida de forma directa por ingestión o indirecta al consumir alimentos contaminados.

La comunidad científica ha expresado su preocupación en cuanto a la concentración de huevos de helminto presente en biosólidos, pues se cuenta con poca información disponible sobre la eficacia de tratamientos para su eliminación, así como también de los métodos analíticos para su detección e identificación, se ha visto que tradicionalmente los coliformes fecales han sido uno de los únicos medios para monitorear el rendimiento de inactivación de patógenos.

Si bien en la PTAR El Salitre se lleva a cabo un proceso de digestión anaerobia, cuyo objetivo es reducir la cantidad de microorganismos patógenos presentes en el lodo digerido que finalmente será conocido como biosólido, en cuanto a la concentración de *Salmonella spp* es posible observar que el valor reportado excede significativamente el valor máximo permitido por la norma americana (2×10^3 NMP/4g vs <3 NMP/4g). Lo anterior puede deberse a que ésta especie bacteriana perteneciente a la familia de Enterobacterias, en primer lugar posee una gran capacidad para sobrevivir a tratamientos biológicos, además de una fácil adaptación en ambientes acuáticos y suelo, lo que le permite colonizar una gran variedad de microorganismos. Además, posee genes que facilitan la invasión e incrementan su capacidad de supervivencia en sus huéspedes, que generalmente son especies animales [53].

De acuerdo al contenido de *Salmonella spp*, el biosólido no podría usarse en agricultura, pues este tipo de especies bacterianas sugieren un riesgo para la salud cuando están presentes en un estado latente en el medio ambiente, ya que es causante de enfermedades como gastroenteritis, fiebre tifoidea y otro tipo de infecciones que pueden contraerse ya sea por la ingestión de productos alimenticios contaminados como carne de res, cerdo y huevos entre otros, o frutas frescas y vegetales que han sido contaminados con fertilizantes infectados [54]. En lo anterior radica tanto la exigencia establecida en las dos normativas estudiadas a la hora de regular la concentración de población microbiana como la importancia de continuar investigando las consecuencias sanitarias asociadas a la utilización de biosólidos haciendo especial énfasis en los altos niveles de supervivencia que presentan éste tipo de bacterias y a sus desarrolladas formas de transmisión.

En ese sentido, es importante hacer referencia al Decreto 1287/2014, que en su Artículo 8 (Alternativas de uso de los biosólidos) apartado d; sugiere que un biosólido de clase B puede usarse como insumo en procesos de elaboración de abonos o fertilizantes orgánicos o productos acondicionadores para suelos a través de tratamientos físicos,

químicos y biológicos que modifiquen su calidad original [34], es decir que en éste escenario el biosólido que es producido en la PTAR El Salitre requiere ser estabilizado de tal manera que sea posible demostrar que sus concentraciones no presentan riesgo al entrar en contacto directo con especies animales y vegetales.

Es por ello que el uso de biosólidos en agricultura además de estar condicionado al cumplimiento de la legislación vigente, puede incluir herramientas como estudios epidemiológicos y toxicológicos con el fin de establecer una relación directa entre la exposición al biosólido y sus efectos adversos para la salud humana.

Si bien los microorganismos analizados en ésta investigación corresponden a especies generalmente encontradas en los lodos residuales, es importante aclarar que se han identificado nuevos organismos de interés pertenecientes al grupo de las especies como *Listeria*, *Helicobacter*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholera*, entre otras bacterias potencialmente preocupantes que sugieren el inicio de nuevas investigaciones para reconfirmar el nivel de desinfección logrado a través de procesos existentes de control de patógenos [55].

6.4. CARACTERÍSTICAS AGROLÓGICAS

La capacidad agrológica del biosólido producido en la PTAR El Salitre es determinada a partir del contenido de diferentes elementos que permiten establecer su valor como sustrato benéfico para el suelo. A continuación se muestra la concentración de aquellos elementos conocidos por su importante aporte de nutrientes al suelo en relación a los presentados por tres fertilizantes comerciales distribuidos en Colombia, además de los valores que exige la NTC 5167 para acondicionadores de suelo de origen orgánico mineral, información que también puede visualizarse en la Figura 7.

Tabla 14. Variables de importancia agrológica reportadas en el biosólido de la PTAR El Salitre

Parámetro	Concentraciones (%)				
	Biosólido	TecCompost	Kelmix fertiminores	Abimgra	Requerido por NTC 5167
Humedad	71,8	-	-	12,6	< 15
pH*	8,12	7,30	4	6,98	N.A
Nitrógeno total (N)	3,45	0,59	4	1,1	> 2
Fósforo total (P ₂ O ₅)	1	7,73	5	2,3	> 2
Potasio (K ₂ O)	0,13	1,51	5	1,8	> 2
Calcio (CaO)	1,09	8,27	8	21,4	> 1
Magnesio (MgO)	0,03	1,15	2	0,73	> 1
Azufre (S)	0,58	0,39	4	2,08	> 1
Hierro (Fe)	4,29	2,34	1	Trazas	Reportar

*pH expresado en unidades de pH.

Se observa en la Tabla 13, en primer lugar que el contenido de humedad en el biosólido resulta ser muy alto en comparación con lo requerido por la NTC 5167, cuyo valor exige menos del 15%. El proceso de tratamiento que reciben los lodos provenientes de los

digestores, consiste en la reducción de humedad por medio de filtro bandas; allí el lodo es sometido a compresión progresiva entre dos telas sobre un tambor de escurrido, sin embargo una gran cantidad de agua todavía es retenida en el biosólido al final del proceso, lo que impide que se encuentre en las condiciones de humedad requeridas.

En cuanto al valor de pH, se observa que el registrado en el biosólido (8.12 unidades de pH) es similar al de los fertilizantes TecCompost (7.3 unidades de pH) y Abimgra (6.98 unidades de pH) los que resultan ser valores típicamente alcalinos al encontrarse por encima de 7 unidades de pH, mientras que el fertilizante Kelmix fertimenores posee un valor de 4 unidades de pH, es decir que presenta un pH básico. Ésta característica del biosólido se debe principalmente a la amonificación producto de la descomposición de materia orgánica en el biosólido.

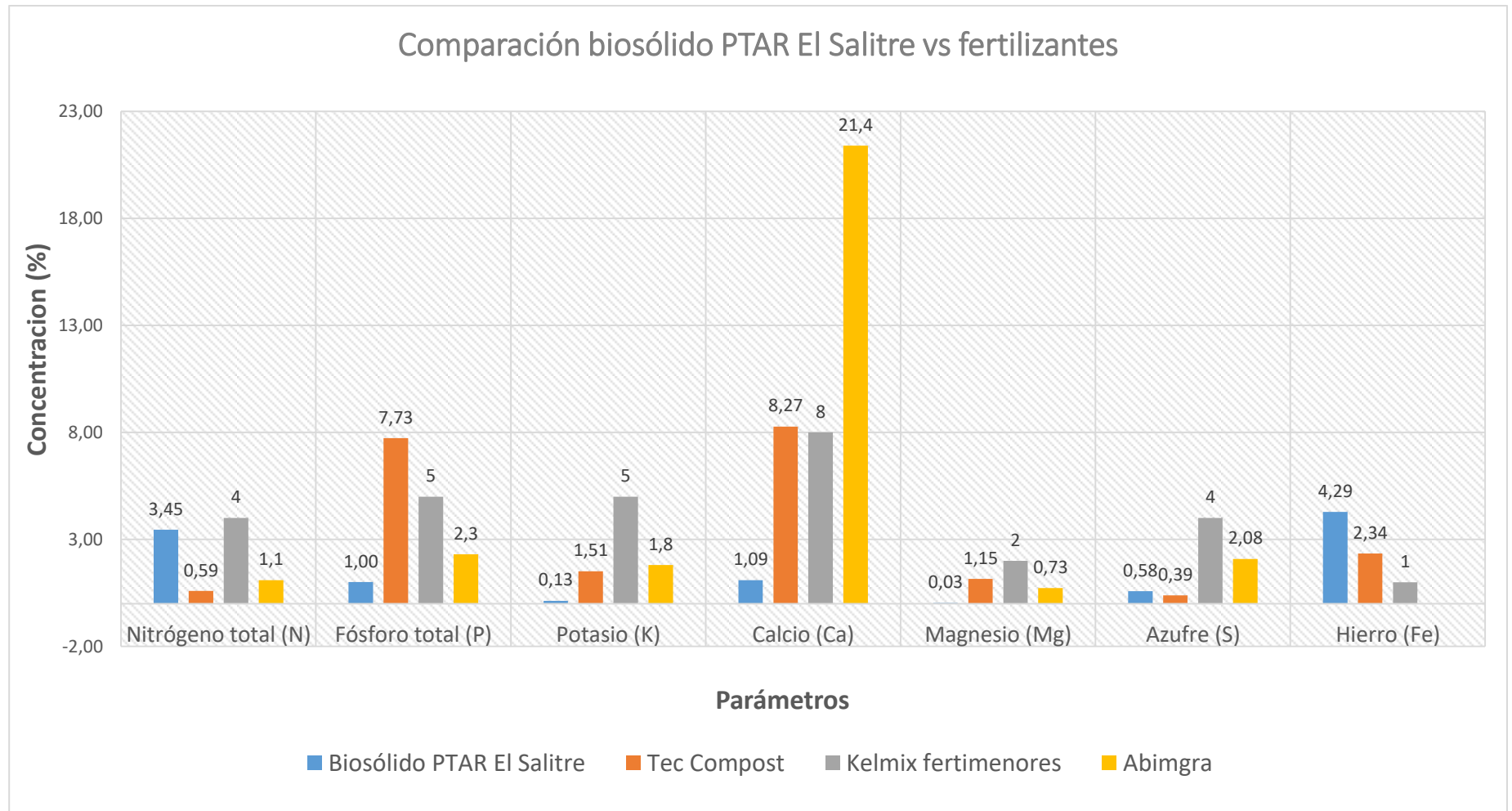
Las plantas toman del ambiente que las rodea los elementos indispensables para la construcción de sus tejidos y para llevar a cabo sus funciones vitales, por lo que requieren la presencia de elementos que son considerados macronutrientes: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre, además de otros elementos que por el contrario necesitan en menor proporción, conocidos como micronutrientes: cloro, cobre, manganeso, zinc y molibdeno [49].

Los fertilizantes comerciales se clasifican principalmente de acuerdo a su contenido de tres de estos elementos: nitrógeno (N), fósforo expresado como ácido fosfórico (P_2O_5) y potasio expresado como potasa (K_2O) y su concentración se expresa como porcentaje del peso seco de sólidos. Así, un fertilizante es definido de acuerdo a la relación del contenido nutricional y es expresado en el siguiente orden: N - P_2O_5 - K_2O .

En ese sentido, la Resolución ICA N° 150 de 2003 [56] ("Por la cual se adopta el reglamento técnico de fertilizantes y acondicionadores de suelos para Colombia"), establece que para fórmulas N-P-K un producto es favorable para ser empleado en la elaboración de abonos o fertilizantes orgánicos siempre y cuando su contenido de nitrógeno total y fósforo total sea igual o mayor a 3 % en ambos casos, mientras que la NTC 5167 requiere al menos 2 % para cada uno de ellos. La concentración de estos dos elementos en el biosólido corresponde a 3.45 % y 1 % respectivamente, es decir que el contenido de nitrógeno es óptimo, lo que no sucede en el caso del fósforo, pues no presenta el contenido suficiente para cumplir los requerimientos de las dos normas. Sin embargo, dichos valores resultan ser similares a los exhibidos por otros insumos orgánicos como la gallinaza, el cual garantiza un contenido de entre 3.6 – 5.5 % y 1.3 - 2.0 % para nitrógeno y fósforo [5].

La concentración de nitrógeno reportada por los fertilizantes comerciales TecCompost (0.59 %) y Abimgra (1 %) es significativamente baja en comparación con la del biosólido (3.45 %), la cual tiene un valor cercano al presentado por Kelmix fertimenores (4 %), siendo éste elemento el más representativo en la caracterización realizada.

Figura 7. Comparación entre el biosólido y fertilizantes orgánico minerales en cuanto a concentración de elementos de importancia agronómica



El nitrógeno promueve el crecimiento de hojas y tallo, éste es absorbido del suelo bajo la forma de nitrato (NO_3) o de amonio (NH_4) y se combina con otros compuestos para formar los aminoácidos y proteínas que las plantas necesitan para su desarrollo [57]. Teniendo en cuenta que se trata de un elemento que se encuentra en forma orgánica en el biosólido, resulta necesario conocer el porcentaje de descomposición de éstas estructuras, es decir la tasa de mineralización del nitrógeno orgánico (transformación de nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico) ya que representa un factor clave para algunas condiciones edáficas y agrológicas del suelo [49], a su vez permite conocer la concentración real de nitrógeno que estará disponible para las plantas [58].

Un alto contenido de fósforo en el suelo estimula el crecimiento de las raíces de las plantas, aceleran la maduración de sus frutos y aumentan su resistencia a enfermedades. Se observa que la concentración de fósforo en el biosólido (1 %) es similar a la que posee el fertilizante Abimgra, mientras que los valores de los otros dos fertilizantes son significativamente altos, alcanzando valores de hasta 7 %, lo que quiere decir que éstos últimos favorecen más el metabolismo energético de las plantas que los mencionados inicialmente.

En cuanto a elementos como potasio, magnesio y azufre, es posible afirmar que aunque se encuentran en el biosólido en pequeñas cantidades, su presencia en los tres fertilizantes comerciales también es relativamente baja, resaltando a Kelmix fertimenes como el fertilizante con valores más altos para estos tres elementos.

Tomando como referencia la caracterización típica de lodos provenientes de tratamiento de agua residual, el contenido de la mayoría de los elementos reportados en el biosólido se encuentran dentro de los índices normales, aun así es claro que la concentración de hierro es alta (4.29 %) y en este caso está relacionada con el efecto del cloruro férrico (FeCl_3) utilizado como coagulante en el proceso llevado a cabo en la PTAR El Salitre.

A la hora de evaluar la alternativa de uso agronómico de biosólidos municipales, en muchas ocasiones se efectúan comparaciones de tipo abono - biosólido como la realizada en ésta investigación y se señala que este tipo de relaciones pueden comprender rangos anchos de concentración de nitrógeno (1 – 10.8 %), fósforo (0.7 % – 7.5 %), materia orgánica y micronutrientes [58]. Además se indica que existe una variación importante en cuanto a las tasas de mineralización de los diferentes elementos presentes en el biosólido, debido a características propias del suelo y cambios climáticos.

Como se deduce del análisis expuesto, el biosólido de la PTAR El Salitre presenta buenas concentraciones de nitrógeno y fósforo, mientras que su contenido de potasio, magnesio y azufre resulta ser bajo de acuerdo a los valores reportados por los fertilizantes orgánico minerales tomados como referencia; por lo que su valor agronómico se debe no tanto a su concentración de macronutrientes como tal, que sin ser despreciable exhibe rangos cercanos a fertilizantes comunes, sino más bien a su potencial como enmienda para la elaboración de fertilizantes o acondicionadores de suelo, en tanto que corresponde a un producto capaz de favorecer algunas propiedades fisicoquímicas como la estructura, porosidad, permeabilidad y retención de agua, así como también de proveer una mayor capacidad de intercambio catiónico (CIC) al suelo [57].

6.5 FUENTES DE ENRIQUECIMIENTO

De acuerdo a lo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 5167, el biosólido no aporta las concentraciones requeridas para acondicionadores de suelo de origen orgánico mineral (véase Tabla 15) por lo que en ésta sección se proponen fuentes de enriquecimiento en cuanto a fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre.

En la Tabla 15 se exhiben algunas fuentes de aporte de nutrientes que pueden ser mezcladas con el biosólido para aumentar su potencial agronómico, las cuales fueron seleccionadas de acuerdo a la concentración reportada de cada uno de los nutrientes, éstas además son aprobadas por la Norma Técnica Colombiana NTC 1927 (Fertilizantes y acondicionadores de suelos. Definiciones, clasificación y fuentes de materias primas).

En caso de las fuentes ricas en fósforo, se observa que aquella que aporta mayor concentración de este nutriente es el fosfato monoamónico, cuyo rango de P_2O_5 varía de 48 a 61 %; junto con el fosfato diamónico son fertilizantes que también son consideradas por su aporte de nitrógeno. La adición de roca fosfórica puede ser considerada al tratarse de una fuente natural que requiere poco procesamiento para ser adicionada al suelo, pero puede verse condicionada por aspectos como las condiciones climáticas, condiciones del suelo, solubilidad, viabilidad de fuentes de obtención, entre otros. La utilización del subproducto de la molienda de caña de azúcar (cachaza) puede ser evaluada como un insumo, que además de fósforo aporta concentraciones de calcio, nitrógeno, magnesio y potasio, nutrientes que también requiere el biosólido. En éste último caso, es necesario determinar si las condiciones de humedad de la cachaza son óptimas.

Por otra parte, la fuente mayormente utilizada en el mercado por su excelente concentración de potasio es el cloruro de potasio, que además contiene una importante concentración de cloro por lo que resultaría conveniente evaluar su efecto en el suelo previamente a ser utilizado para enriquecimiento de biosólido. El sulfato de potasio, también resulta ser una opción conveniente al incluir concentraciones de azufre. El abono orgánico conocido como porcínaza se destaca por ser una fuente con alto contenido de materia orgánica y potasio principalmente, asimismo posee nitrógeno, calcio y pequeñas trazas de fósforo, magnesio y azufre que pueden mejorar la calidad agronómica del biosólido; sin embargo es necesario valorar sus condiciones de inocuidad y calidad microbiológica previa a cualquier uso en suelo. Estudios recientes han señalado que en Colombia, la elaboración de compuestos N-P-K ocupa los primeros lugares en producción por su alta demanda, razón por la cual la evaluación de una enmienda mejorada a partir de biosólidos estabilizados puede considerarse una opción tanto de gestión sostenible de subproductos del tratamiento de agua residual, como de respuesta a las necesidades latentes en el campo de la agricultura [59].

En cuanto a la concentración de calcio de las fuentes evaluadas, se observó que las fuentes naturales como cal y dolomita contienen las mayores concentraciones, cuya efectividad depende de su contenido de carbonato de calcio ($CaCO_3$) y el tamaño de sus cristales. No obstante, el yeso resulta ser una fuente capaz de aportar azufre, además de un 23 % de CaO . Si bien, las fuentes anteriormente mencionadas pueden tener cantidades significativas de calcio en su composición natural, pueden verse restringidas por su capacidad para diluirse y ser absorbidas por el suelo. Una fuente natural de calcio es la gallinaza, que a su vez es considerado un abono orgánico susceptible de mezclar

con otros insumos para formular fertilizantes N-P-K por su buen aporte de macro y micronutrientes.

A pesar de que el aporte de nutrientes como magnesio y azufre ha sido poco estudiado, se ha determinado que fuentes minerales como la kieserita y langbeinita presentan concentraciones de magnesio, potasio y azufre, se caracterizan por ser altamente solubles y no tener ningún efecto en el pH del suelo donde se utiliza. No obstante, son fuentes costosas, por lo que su posibilidad para enriquecer el biosólido es limitada. Por su parte, la fuente de azufre considerada (sulfato de amonio) es muy comercial y se encuentra disponible en el mercado, su composición es rica en nitrógeno y azufre.

Finalmente, cabe mencionar que las fuentes anteriormente mencionadas serán lo suficientemente efectivas siempre y cuando se evalúen en primer lugar las condiciones del suelo donde sea posible la aplicación de un biosólido mejorado, por lo que se sugiere un análisis físico-químico de suelo previo que permita conocer las condiciones iniciales del mismo en cuanto a composición, edafología y fertilidad. Este representa un instrumento que permite diagnosticar las necesidades nutricionales del suelo y su disponibilidad de nutrientes en el mismo, además de posibilitar el cálculo de la dosis de fertilizante requerido de acuerdo a dichos resultados. Sin embargo, éste análisis está relacionado con el tipo de cultivo y depende de los rendimientos esperados en la producción, con el fin de evitar pérdidas por lixiviación de los diferentes elementos.

En ese sentido, los principales productos agrícolas que se dan en la sabana de Bogotá en orden de producción son [60]:

- | | |
|-----------------|--------------|
| ➤ Café | ➤ Cebada |
| ➤ Caña panelera | ➤ Trigo |
| ➤ Papa | ➤ Algodón |
| ➤ Maíz | ➤ Hortalizas |
| ➤ Arroz | ➤ Frutales |
| ➤ Flores | |

Cada uno de los cultivos anteriormente señalados, posee diferentes requerimientos de macro y micronutrientes, razón por la cual la evaluación de un biosólido mejorado de acuerdo a las necesidades de un determinado cultivo, puede resultar satisfactoria en tanto que puede representar una fuente importante de aporte de nutrientes para suelos agrícolas. Sin embargo, como se ha mencionado en el desarrollo de la investigación, el primer paso para que esta hipótesis pueda probarse, radica en controlar su población microbiana, lo que sigue siendo un reto medio ambiental no sólo para el biosólido producido por la PTAR El Salitre, sino para todas las plantas de tratamiento de agua residual.

Países como México y Estados Unidos consideran que cuando el biosólido es incinerado o dispuesto en rellenos, se desperdicia su valor nutricional y se convierte en una fuente de contaminación ambiental, por lo que se deberían clasificar como desechos especiales y posteriormente recomendar tecnologías limpias para su reúso [61]. Es por eso que además resulta conveniente reunir esfuerzos con el fin de realizar más investigaciones relacionadas con el tema de biosólidos y su uso en agricultura, analizando además del suelo y la composición del biosólido, factores como la salud humana, el rendimiento de cosechas, su efecto en ecosistemas naturales, entre otros.

Tabla 15. Fuentes de aporte de nutrientes aptas para el biosólido

Nutriente	Fuente de enriquecimiento	Composición	Características
Fósforo	Roca fosfórica	Contenido de P_2O_5 : 27-36%	Es un mineral obtenido directamente de yacimientos naturales, se utiliza como materia prima para la fabricación de fertilizantes fosfatados y ha sido aprobada mundialmente para ser utilizada en agricultura biológica. Generalmente favorece el nivel fosfórico del suelo, sin embargo cuando se solubiliza libera otros nutrientes presentes en la roca. Teniendo en cuenta que existe gran variedad de esta roca, su efectividad depende de diversos factores, entre ellos su origen, composición, tamaño de partícula, condiciones del suelo, condiciones climáticas, entre otros. El contenido de fósforo total en las rocas fosfóricas varía de 27% a 36%, además posee importantes concentraciones de CaO por lo que también se considera importante en el equilibrio iónico del suelo [62].
	Fosfato mono amónico ($NH_4H_2PO_4$)	Contenido de P_2O_5 : 48-61 % Contenido de N: 10-12 %	Fuente de fósforo (P) y nitrógeno (N), soluble en agua. Tras su disolución se separan sus dos componentes básicos liberando amonio NH_4 y ortofosfato (H_2PO_4), cuya disponibilidad en suelo ayuda a mantener un crecimiento vegetal saludable. Se ha considerado que se obtiene mayor eficiencia aplicando P y N juntos, debido a que al absorber en nitrógeno en forma de amonio se acidifica en entorno radicular, de modo que la disolución y liberación del fosfato se facilitan [63].
	Fosfato diamónico ($(NH_4)_2HPO_4$)	Contenido de N: 12 % Contenido de P_2O_5 : 46 %	Se considera el fertilizante fosfatado más utilizado en el mundo, formulado a base de la reacción controlada de ácido fosfórico con amoníaco. Presenta excelentes propiedades de manejo y almacenamiento. Su grado es 18-46-0. Su alta solubilidad ayuda a la rápida liberación de fosfato y amonio y su posterior disponibilidad para las plantas. Desarrolla un pH alcalino alrededor de sus gránulos en disolución [63].

Nutriente	Fuente de enriquecimiento	Composición	Características
Fósforo	Cachaza	Contenido de N: 1.76 % Contenido de P_2O_5 : 3 % Contenido de K_2O : 0.42 % Contenido de CaO: 3.15 % Contenido de MgO: 1.07 %	Éste producto orgánico, es conocido como el principal residuo del proceso de molienda de la caña de azúcar. Está compuesto por fibra de caña, sacarosa, coloides, coagulados, fosfato de calcio y partículas del suelo y es obtenida al someter los jugos obtenidos de la caña de azúcar a altas temperaturas [64].
Potasio	Cloruro de potasio (KCl)	Contenido de K_2O : 60 % Contenido de Cl: 45 %	El cloruro de potasio (KCl) también conocido como muriato de K, es la fuente más utilizada de aporte de potasio. La mayoría de los minerales K son extraídos de depósitos marinos profundos debajo de la superficie terrestre, los cuales son posteriormente procesados. Su preferencia como fuente de potasio se debe principalmente a que incluye más porcentaje de K que otras fuentes. Se disuelve rápidamente en suelo [63].
	Sulfato de potasio K_2SO_4	Contenido de K_2O : 45 % Contenido de S: 17 %	La mayoría de los fertilizantes potásicos provienen de depósitos naturales de sal, la palabra "potasa" hace alusión a cloruro de potasio. Está formado por sales de magnesio, cloro y sodio. Debido a que las concentraciones de K en el suelo son relativamente bajas, éste fertilizante resulta una buena opción que favorece las reacciones enzimáticas, síntesis de proteínas, regula el flujo de agua en las células y hojas. Aporta adicionalmente azufre (S), que también suele ser deficiente en algunos suelos [63].
	Porcinaza	Contenido de N: 3.5 % Contenido de P_2O_5 : 0.9 % Contenido de K_2O : 4.6 % Contenido de CaO: 2.2 % Contenido de MgO: 0.1 % Contenido de S: 0.1 %	La porcinaza es un abono orgánico que se conforma de las heces fecales y orina de los cerdos, como se observa aporta nutrientes vitales para las plantas, donde sobresalen sus concentraciones de nitrógeno y potasio. Tiene la capacidad de volver asimilables los minerales insolubles, aumenta la capacidad de retención de agua, aumentan la actividad microbiológica en el suelo y la fertilidad del mismo [65].

Nutriente	Fuente de enriquecimiento	Composición	Características
Calcio	Yeso (sulfato de calcio dihidratado) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Contenido de CaO: 23 % Contenido de S: 18 %	Mineral común obtenido de depósitos superficiales y subterráneos, se encuentra en forma de roca y de cristal. El yeso agrícola consiste en $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, que en condiciones geológicas de alta temperatura y presión, se convierte en CaSO_4 sin agua. Su solubilidad depende del tamaño de las partículas, la humedad del suelo y las propiedades edáficas, entre otros factores. Suele utilizarse para recuperación de suelos con altos contenidos de sodio (Na) y como aporte de calcio (Ca) [63].
	Gallinaza	Contenido de N: 4 % Contenido de P_2O_5 : 2.6 % Contenido de K_2O : 2.3 % Contenido de CaO: 9.5 % Contenido de MgO: 0.8 %	Abono orgánico que consiste en excretas de gallina mezclado con desperdicios de alimento y plumas. Como lo denota su composición, aporta diversos nutrientes, destacándose el aporte de calcio (Ca) y una buena proporción de N-P-K. Las formas orgánicas del N y P actúan como fertilizantes de liberación lenta, se considera uno de los abonos orgánicos con mayor tasa de mineralización.
	Dolomita $[\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2]$	Contenido de CaO: 30 % Contenido de MgO: 21 %	Es un carbonato doble de calcio y magnesio, cuya presentación general son cristales compactos de diferentes formas estructurales y aspecto vítreo. En agricultura representa una fuente de magnesio y calcio, que logra regular la acidez del suelo e incrementa el rendimiento de los cultivos [66].
	Cal CaCO_3	Contenido de CaO: 30 %	Es el componente principal de la piedra caliza, la cual se encuentra en depósitos geológicos que posteriormente requiere ser sometida a procesos de trituración. Además de ser fuente de suministro de calcio para las plantas, sirve para neutralizar suelos ácidos y reducir la concentración de aluminio. Su efectividad depende de equivalente porcentual de CaCO_3 que posea y del tamaño de sus partículas [63].

Nutriente	Fuente de enriquecimiento	Composición	Características
Magnesio	Langbeinita (sulfato de potasio y magnesio) $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$	Contenido de K_2O : 21 % Contenido de MgO : 10 % Contenido de S: 21 %	Se trata de una fuente de nutrición vegetal que combina tres elementos esenciales para las plantas, ofertando una rápida disponibilidad de potasio (K), magnesio (Mg) y azufre (S), por lo que proporciona una distribución uniforme de nutrientes. Soluble en agua y no varía el pH del suelo. Por ser un material geológico, se encuentra sólo en determinadas partes del mundo [63].
	Kieserita $MgSO_4 \cdot H_2O$	Contenido de MgO : 16 % Contenido de S: 15 % Contenido de K_2O : 3 %	Mineral natural conocido como sulfato de magnesio monohidratado, su fuente de obtención principal son depósitos marinos geológicos. Se puede suministrar a todo tipo de suelo, ya que no tiene ningún efecto sobre el pH. Generalmente se utiliza en la etapa de crecimiento de las plantas en suelos arenosos y de pH bajo. Altamente soluble, por lo que asegura máxima disponibilidad de Mg y S.
Azufre	Sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$	Contenido de N: 21% Contenido de S: 24 %	Conformado a partir de la reacción de ácido sulfúrico y amoníaco. Se presenta en forma de cristales. Resulta como subproducto en algunas industrias, donde usualmente es transformado y utilizado en agricultura. Representa una fuente importante de nitrógeno (N) y azufre (S) [63].

CONCLUSIONES

- Los valores establecidos por el Decreto 1287 de 2014 son más restrictivos que los establecidos tanto en la Norma EPA 40 como en la NTC 5167 para abonos o fertilizantes orgánico minerales sólidos adoptada por el ICA, que es el principal organismo componente en política pública del uso agrícola.
- De acuerdo al contenido de metales pesados, se observó que el biosólido cumple con los requerimientos establecidos por el Decreto 1287/2017 y por la Norma EPA 40 para biosólidos clase A, por lo que para éste caso no representaría riesgo sanitario al ser considerado insumo para la elaboración de un fertilizante orgánico-mineral.
- Se observó que el principal factor que afecta la calidad del biosólido y por lo tanto su posibilidad de uso en agricultura como biosólidos Clase A es el contenido de microorganismos patógenos (Coliformes fecales, Huevos de Helmintos y *Salmonella spp*), de modo que es necesario considerar tratamientos que reduzcan dicha población microbiana no sólo para el caso de la PTAR El Salitre, sino para aquellas plantas cuya producción de biosólido es significativamente alta, teniendo en cuenta que el biosólido producido es directamente proporcional al caudal de agua tratada y que con el paso del tiempo la demanda de tratamiento incrementa. Esto con el fin de evaluar alternativas sostenibles de gestión de biosólidos como su aplicación para mejoramiento de suelos.
- A pesar de que el biosólido es caracterizado en cuanto a los principales agentes infecciosos que pueden causar riesgo a la salud humana, es conveniente evaluar la concentración de Virus entéricos contenidos en el mismo con el fin de contar con mayor información que permita clasificar el biosólido de manera más acertada, teniendo en cuenta que éste parámetro es regulado actualmente tanto por la normativa nacional (Decreto 1287/2014) como por la normativa americana (Norma EPA 40).
- La concentración de fósforo y nitrógeno en el biosólido resultan ser similares a las de insumos orgánicos típicamente usados en agricultura como la gallinaza, por lo que se considera que al reducir su contenido de microorganismos patógenos mediante un sistema de estabilización es posible favorecer sus condiciones para ser utilizada como enmienda.
- La composición del biosólido se encuentra condicionada por las características del efluente y el proceso de tratamiento utilizado para su estabilización, además de aquellos compuestos adicionales que sean utilizados para favorecer algún subproceso como es el caso del FeCl_3 en la floculación, lo que se ve reflejado en un alto contenido de hierro en el mismo.
- La comparación del contenido de nutrientes del biosólido con la reportada por fertilizantes orgánico minerales presenta resultados disímiles para la mayoría de los elementos estudiados, ya que la elaboración de dichos fertilizantes se basó en necesidades propias de determinados cultivos como es recomendado

generalmente en la agricultura; razón por la cual no fue posible establecer una relación directa en cada uno de los casos.

- La humedad del biosólido se considera un factor importante de acuerdo a lo expuesto en la NTC 5167. Se observó que la concentración de humedad en el biosólido de la PTAR El Salitre excede el rango permitido para fertilizantes, enmiendas y acondicionadores de suelo.
- El uso del biosólido propuesto en el presente estudio está ligado a un riesgo latente a la salud humana, pues como se observó en los resultados obtenidos, éste posee altas concentraciones de microorganismos patógenos que impide su utilización directa en agricultura a menos que sea tratado mediante alguno de los procesos de estabilización aceptados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.
- La inactivación de microorganismos patógenos por medio de estabilización alcalina, reduce sustancialmente la concentración tanto de coliformes fecales como de huevos de helminto y *Salmonella spp*, siempre y cuando se mantenga una relación óptima pH- tiempo, de modo que se garanticen las condiciones para la destrucción de dichos organismos.

RECOMENDACIONES

- La posibilidad de aplicación del biosólido de la PTAR El Salitre en agricultura, debe ser considerada a partir de análisis de suelo previos con el fin de determinar la disponibilidad de nutrientes en el mismo y por tanto la necesidad de mejoramiento del suelo en cuestión.
- La caracterización de cualquier biosólido que pueda ser objeto de uso en agricultura, debe incluir dentro de su evaluación el contenido de otro tipo de contaminantes como aquellos de origen orgánico tales como tenso activos, disolventes, colorantes, teniendo en cuenta que están compuestos por moléculas complejas que pueden representar un riesgo potencial para la salud pública [47].
- Se ha demostrado que los biosólidos ya han sido evaluados como enmienda para elaboración de fertilizantes, sin embargo es conveniente que sus fuentes de enriquecimiento sean caracterizadas por separado con el fin de analizar su potencial real de aporte de nutrientes, teniendo en cuenta además aspectos técnicos, económicos y la disponibilidad del insumo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Alcaldía Mayor e Bogotá D.C, «Proyecto de Descontaminación y Recuperación de la Cuenca del Río Bogotá,» Bogotá, 2004.
- [2] U. Khalid , K. Sarfaraz, G. Said, U. K. Muhammad, K. Niamatullah, A. K. Muhammad y Shad Khan Khalil, «Sewage Sludge: An Important Biological Resource for Sustainable Agriculture and Its Environmental Implications,» *American Journal of Plant Sciences*, vol. 3, pp. 1708-1721, 2012.
- [3] Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, «INFORME SOBRE LA GESTIÓN DEL BIOSÓLIDO PRODUCIDO EN LA PTAR EL SALITRE Y DE SEGUIMIENTO A SU APROVECHAMIENTO EN EL PREDIO "EL CORZO I" EN BOGOTÁ D.C,» Bogotá, 2014.
- [4] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC), «Norma técnica colombiana NTC 5167 : Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo,» Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), Bogotá, 2011.
- [5] Empresa de Acueducto, Alcantarillado y Aseo de Bogotá, «INFORME DE CUMPLIMIENTO AMBIENTAL N° 17,» Empresa de Acueducto, Alcantarillado y Aseo de Bogotá, Bogotá, 2016.
- [6] United States Environmental Protection Agency, «National Service Center for Environmental Publications (NSCEP),» Septiembre 2000. [En línea]. Available: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/P1008DQ3.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=2000%20Thru%202005&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQFiel>. [Último acceso: 06 Mayo 2017].
- [7] J. Goven y L. Langer , «The potential of public engagement in sustainable waste management:,» *Journal of Environmental Management*, nº 90, pp. 921-930, 2009.
- [8] M. Amajirionwu, N. Connaughton , B. McCann, R. Moles, J. Bartlett y B. O'Regan, «Indicators for managing biosolids in Ireland,» *Journal of Environmental Management*, nº 88, pp. 1361-1372, 2008.
- [9] M. Kacprzak, E. Neczaj, K. Fijalkowski y A. Grobelak, «Sewage sludge disposal strategies for sustainable developmenT,» *Environmental Research*, pp. 39-46, 2017.
- [10] K. Ignatowicz, «The impact of sewage sludge treatment on the content of selected heavy,» *Environmental Research*, nº 156, pp. 19-22, 2017.
- [11] S. Bhavisha, S. Abhijit, S. Pooja y P. S. Rajeev, «Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil,» *Waste Management*, vol. 64, pp. 117-132,

2017.

- [12] L. Boyles y U. Krogmann, «Land Application of Sewage Sludge (Biosolids) : Pathogens,» The State University of New Jersey Rutgers Cook College, New Jersey, 2003.
- [13] D. PEYTON, R. CLARKE , M. HEALY , O. FENTON y E. CUMMIS , «A quantitative risk assessment for metals in surface water following the application of biosolids to grassland,» *Science of the Total Environment*, nº 566, pp. 102-112, 2016.
- [14] E. GONZÁLES FLORES, M. A. TORNERO CAMPANTE, E. SANDOVAL CASTRO , A. PÉREZ MAGAÑA y J. GORDILLO MARTÍNEZ, «Fractionation and bioavailability of heavy metals in agricultural soils amended with municipal biosolids,» *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* , nº 27, pp. 291-301, 2011.
- [15] B. Liping, L. Huiwen, D. Chaoqun, L. Haibo , C. Caiyun y F. Yaping , «Effects of composted sewage sludge on Photosynthesis and growth characteristics of *Sophora japonica* Linn. and *Pinus tabulaeformis* Carr. seedlings,» *IEEE Xplore*, vol. 1, nº 5, pp. 1-8, 2012.
- [16] «Characteristics of Heavy Metal Species Transformation of Pb, Cu, Zn from Municipal Sewage Sludge by Thermal Drying,» *Procedia Environmental Sciences*, nº 31, pp. 961-969, 2016.
- [17] M. HEDÍ , D. LECOMTE, B. LADEVIE y C. SABLAYROLLES, «Monitoring of pathogenic microorganisms contamination during heat drying process of sewage sludge,» *Process Safety and Environmental Protection*, nº 87, pp. 377-386, 2009.
- [18] N. JAAFARZADEH , A. LOVEIMI y M. FARZADKIA, «Optimization of bacteriological quality of biosolids by lime addition,» *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, vol. 1, nº 6, pp. 29-34, 2009.
- [19] J. A. LARREA MURELL, M. ROJAS BADÍA, B. ROMEU, M. ROJAS HERNÁNDEZ y M. HEYDRICH PÉREZ, «Revista CENIC Ciencias Biológicas,» 2013. [En línea]. Available: <http://revista.cnice.edu.ar/revistaCB/articulos/bacterias-indicadoras-de-contaminacion-fecal-en-la-evaluacion-de-la-calidad-de-las-aguas>. [Último acceso: 12 07 2017].
- [20] R. CLARKE , D. PEYTON, M. HEALY, O. FENTON y E. CUMMIS, «A quantitative microbial risk assessment model for total coliforms and E.Coli in surface runoff following application of biosolids to grassland,» *Environmental Pollution*, nº 224, pp. 739-750, 2017.
- [21] J. VENGLOVSKY, J. MARTÍNEZ y I. PLACHA, «Hygienic and ecological risks connected with utilization of animal manures and biosolids in agriculture,» *Livestock Science*, vol. 102, nº 3, pp. 197-203, 2006.
- [22] L. A. LÓPEZ ESCOBAR, «Tratamiento ácido y alcalino para la inactivación de huevos de helmintos presentes en lodos físico-químicos de origen agroindustrial,»

Universidad Veracruzana - Instituto de Ingeniería, Xalapa Enríquez, México , 2009.

- [23] D. Lewis y D. Gattie, «Pathogen Risks Applying Sewage Sludge to Land,» *Environmental Science & Technology*, pp. 287-293, 2002.
- [24] P. TORRES LOZADA, C. A. MADERA PARRA y G. V. MARTÍNEZ PUENTES , «Estabilización alcalina de biosólidos compostados de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas para aprovechamiento agrícola,» *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, vol. 61, nº 1, pp. 4432-4444, 2008.
- [25] J. Mtshali, A. Tiruneh y A. Fadiran, «Characterization of Sewage Sludge Generated from Wastewater Treatment Plant in Swaziland in Relation to Agricultural Uses,» *Resources and Environment*, vol. 4, nº 4, pp. 190-199, 2014.
- [26] S. Kudawashe y G. Jubulani, «Assessment of Heavy Metals in Municipal Sewage Sludge: A Case Study of Limpopo province, South Africa,» *International Journal of Environment Research an Public Health*, vol. 11, pp. 2569-2579, 2014.
- [27] H. Zhang, D. Lv y L. Wei, «Characteristics of dewatered sewage sludge and green waste co-composting,» de *Second International Conference on Digital Manufacturing & Automation*, Shandong, China, 2011.
- [28] Bedoya Urrego, Katherine; Acevedo Ruíz, José ; Peláez Jaramillo, Carlos; Agudelo López, Sonia; , «Caracterización de biosólidos generados en la planta de tratamiento de agua residual San Fernando, Itagui (Antioquia, Colombia),» *REVISTA DE SALUD PÚBLICA*, vol. 15, nº 5, pp. 778-790, 2013.
- [29] Á. Chávez Porras y A. Rodríguez González, «Análisis químico y biológico de biosólidos sometidos a sistema de lombricultura como potencial abono orgánico,» *Publicación científica en ciencias biomédicas* , vol. 9, nº 15, pp. 53 - 59, 2011.
- [30] Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), «NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 5167 : PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA AGRÍCOLA. PRODUCTOS ORGÁNICOS USADOS COMO ABONOS O FERTILIZANTES Y ENMIENDAS O ACONDICIONADORES DE SUELO,» Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), Bogotá, 2011.
- [31] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, «NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final,» Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, Distrito federal , 2002.
- [32] A. M. Quinchía y D. M. Carmona, «Factibilidad de disposición de los biosólidos generados en una planta de tratamiento de aguas residuales combinada,» *EIA*, nº 2, pp. 89 - 108, 2004.
- [33] ENVIRONMENTAL REGULATIONS AND TECHNOLOGY, «Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge,» United States Environmental Protection

Agency, Cincinnati, Estados Unidos, 2003.

- [34] MINISTERIO DE VIVIENDA, CIUDAD Y TERRITORIO , «Decreto 1287 de 2014,» Bogotá, Colombia , 2014.
- [35] SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES , «NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final,» Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México, Distrito federal, 2002.
- [36] J. S. Ríos , «RESPUESTA DEL CILANTRO (*Coriandrum sativum* L.) AL USO DE FERTILIZANTES INORGANICOS Y ORGANOMINERALES,» Universida Autónoma Agraria Antonio Narro - División de Agronomía, Coahuila, México, 2011.
- [37] Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), «NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 1927 - FERTILIZANTES Y ACONDICIONADORES DE SUELOS. DEFINICIONES, CLASIFICACIÓN Y FUENTES DE MATERIAS PRIMAS.,» Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), Bogotá, 2001.
- [38] A. LÓPEZ AGUIRRE y G. D. URIBE PALACIO, «Validación del método de Número Más Probable (NMP) para *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en muestras de leche cruda como indicador de calidad,» Universidad Libre Seccional Pereira, Pereira, Colombia, 2015.
- [39] H. LOSADA, C. MANTEROLA y V. PINEDA , «Recuento bacteriano en bilis de pacientes con colangitis aguda,» *Revista Chilena de Cirugía*, vol. 58, nº 1, pp. 35-39, 2006.
- [40] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, «Title 40 Protection of Environmental: Part 503 Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge.,» Environmental Protection Agency, United States, 1993.
- [41] STANDARD METHODS ORGANIZATION, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Washington, Estados Unidos: Cenvo Publisher Services, 2012.
- [42] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, «APHA American Public Association For science, For action, For health,» 2017. [En línea]. Available: <https://secure.apha.org/imis/ItemDetail?iProductCode=978-087553-0130&Category=BK&WebsiteKey=0b8c9ed4-d1c5-4381-9c20-fa84b9f2e4a0>. [Último acceso: 22 07 2017].
- [43] Instituto Colombiano Agropecuario, «Listado de productos fertilizantes registrados,» Junio 2017. [En línea]. Available: <http://www.ica.gov.co/getdoc/a2f80265-2a07-4f5b-964c-f7d39e60e023/PRODUCTOS-REGISTRADS-FERTILIZANTES-PAG-WEB-ENERO-3.aspx>. [Último acceso: 07 Junio 2017].

- [44] M. KACPRZAK , E. NECZAJ y K. FIJALKOWSKI, «Sewage sludge disposal strategies for sustainable development,» *Elsevier*, vol. 156, pp. 39-46, 2017.
- [45] K. FIJALKOWSKI, A. RORAT y A. GROBELAK, «The presence of contaminations in sewage sludge e The current,» *Elsevier*, vol. 203, pp. 1126-1136, 2017.
- [46] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, «Title 40 Protection of Environmental: Part 503 Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge.,» Environmental Protection Agency, United States, 1993.
- [47] J. M. MEDINA TIZNADO, «Lodos residuales como alternativa para la recuperación de suelos,» Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, México, 2003.
- [48] J. L. WOO REZA, «Estudio de viabilidad en la aplicación de lodos activados en suelo para los cultivos de Maíz (*Zea mays* L) y Nopal,» Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México, 2003.
- [49] E. SALAZAR SOSA, H. TREJO , I. ORONA CASTILLO y C. VÁZQUEZ , Uso y aprovechamiento de abonos orgánicos e Inocuidad, Durando, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo , 2007.
- [50] J. P. FLORES MÁRGEZ, «Resinas de intercambio iónico para evaluar la mineralización de nitrógeno en suelos tratados con abonos orgánicos,» Universidad Autónoma de Ciudad Juárez , México , 2007.
- [51] G. DICKERSON, «A sustainable approach to recycling urban and agricultural organic wastes,» College of agriculture and home economics, New México, EE.UU, 2000.
- [52] J. A. BARRIOS, B. JIMÉNEZ y O. GONZÁLES , «Destrucción de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos por vía ácida,» Instituto de Ingeniería UNAM, México, D.F, 2000.
- [53] S. ZHIWEN , Y. MIAO, Y. GUNG y S. Qun, «Removal of microbiological contaminants in a sewage treatment system with constructed wetlands as tertiary treatment,» Qingdao Technological University, China, 2009.
- [54] M. WINFIELD y E. GROISMAN, «Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of Salmonella and Escherichia coli,» *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, nº 7, pp. 3687-3694, 2003.
- [55] NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES , «Biosolids applied to Land: Advancing standards and practices,» National Academy Press, Whashington, EE.UU, 2002.
- [56] INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, «Resolución 150,» Bogotá, Colombia, 2003.
- [57] A. PÁRRAGA CEDEÑO, «Biosólidos provenientes de aguas residuales de una

procesadora de pescado aplicados al cultivo de Maíz en la provincia de Manabí,» Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador , 2016.

- [58] CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, «Guidance document for the beneficial use of municipal biosolids, municipal sludge and treated septage,» CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, Canadá, 2012.
- [59] J. P. PÉREZ VÉLEZ, «Uso de los fertilizantes y su impacto en la producción agrícola,» Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia, 2014.
- [60] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, «Desarrollo de la Fruticultura en Cundinamarca,» Talleres gráficos de Impresora Feriva S.A, Cali, Colombia, 2006.
- [61] M. PÉREZ , A. MARTÍNEZ y J. PINTO, «Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes,» Instituto Tecnológico de Durango , Durango, México, 2011.
- [62] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN, «Utilización de las rocas fosfóricas para una agricultura sostenible,» Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación , Roma, Italia, 2007.
- [63] INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE, «IPNI,» 2007. [En línea]. Available: <https://www.ipni.net/specifics-es>. [Último acceso: 12 03 2018].
- [64] P. Gómez Prado y L. A. Jaramillo Coll, «Estudio de factibilidad para el uso de cachaza generada a partir del proceso de la caña de azúcar como abono,» Universidad de La Sabana, Bogotá, Colombia, 2006.
- [65] L. A. Gonzáles Santamaria, «Uso estratégico de la pocinaza en la biofertilización en pastos,» Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, 2012.
- [66] COORDINACIÓN GENERAL DE MINERÍA, «Perfil de mercado de la Dolomita,» Dirección general de desarrollo minero, México, D.F, 2013.
- [67] L. Y. VARGAS FIALLO y J. H. CAMARGO HERNÁNDEZ , «Prácticas de laboratorio de análisis químico I,» Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, 2012.
- [68] D. SKOOG , J. HOLLER y T. NIEMAN , Principios de análisis instrumental, Madrid, España: Mc Graw-hill, Interamericana de España, 2001.
- [69] I. RUÍZ CHÁVEZ, «Metodologías analíticas utilizadas actualmente para la determinación de Mercurio en músculo de pescado,» *Pensamiento actual*, vol. 16, nº 26, pp. 2215-3586, 2016.
- [70] SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES , «NORMA

Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental - Lodos y biosólidos - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final,» México, 2002.

- [71] Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, «PLAN NACIONAL DE MANEJO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES EN COLOMBIA,» Departamento Nacional de Planeación , Bogotá , 2004.
- [72] J. Prieto Méndez, C. Gonzáles Ramírez , A. Román Gutiérrez y F. Prieto García, «CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA,» *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, vol. 10, nº 1, pp. 29-44, 2009.
- [73] A. Zafar , «Characteristics of Sewage and Treatment Required,» Poojya Doddappa Appa - College of Engineering, Gulbarga, 2016.
- [74] H. M.G, C. R. , P. D., E.Cummis, M. E.L , M. A, B. P. y F. O., RESOURCE RECOVERY FROM SEWAGE SLUDGE.
- [75] Pontificia Universidad Javeriana, «ALTERNATIVAS PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS BIOSÓLIDOS EN PRODUCCIÓN DE ABONO ORGÁNICO MEDIANTE SISTEMA DE COMPOSTAJE,» Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2006.
- [76] A. Díaz Franco y N. Mayek Pérez, «LA BIOFERTILIZACIÓN COMO TECNOLOGÍA SOSTENIBLE,» Plaza y Valdés S.A , Distrito Federal, México, 2008.
- [77] J. A. Salamanca Tamayo, «Diseño, construcción y puesta en marcha de un biodigestor a escala piloto para la generación de biogás y fertilizante orgánico,» Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, 2009.
- [78] S. Burnett, N. Mattson y K. Williams, «Substrates and fertilizers for organic container production of herbs, vegetables and herbaceous ornamental plants grown in Greenhouses in United States,» *Scientia Horticulturae*, nº 208, pp. 111-119, 2016.
- [79] R. Rotondo, I. Firpo , S. Toresani , S. Fernández y E. Gómez, «EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y FERTILIZANTE NITROGENADO SOBRE PROPIEDADES EDÁFICAS Y PRODUCTIVIDAD EN CULTIVOS HORTÍCOLAS,» *Horticultura Argentina*, nº 28, pp. 18-25, 2009.
- [80] C. Praveen , P. Jesudhasan, R. Reimers y S. Pillai, «Electron beam inactivation of selected microbial pathogens and indicator organisms in aerobically and anerobically digested sewage sludge,» *Bioresource Technology*, nº 144, pp. 652 - 657, 2013.
- [81] Alcaldía de Cali, «EMCALI - Centro de noticias,» 17 02 2014. [En línea]. Available: http://www.emcali.com.co/informate/-/asset_publisher/6ovX/content/id/597568. [Último acceso: 05 07 2017].

- [82] L. C. Medina Córdoba, «Evaluación de la calidad microbiológica y las características físicas y químicas que determinan el potencial agronómico del biosólido dispuesto dispuesto en el monorrelleno El Corzo,» Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2012.
- [83] Empresa de Acueducto, Alcantarillado y Aseo de Bogotá , «Laboratorio de Aguas - Reporte de resultados,» Bogotá, 2016.
- [84] M. P. Aragonéz Gonzáles, «Análisis Termogravimétrico de la Pirólisis de Biosólidos de la Planta de Tratamiento de Agua Residual El Salitre,» Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2015.
- [85] N. A. Cano Londoño, «Análisis mediante el método emergético de la disposición de lodos producidos en una planta de tratamiento de aguas residuales. (Aplicación a una PTAR en el área metropolitana del Valle de Aburrá),» Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 2012.
- [86] CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA, «Adecuación Hidráulica y Recuperación Ambiental Rpio Bogotá,» Bogotá, 2009.
- [87] V. Avelar Groth, T. Carvalho-Pereira, E. Mendes da Silva y J. C. Niemeyer, «Ecotoxicological assessment of biosolids by microcosms,» *ELSEVIER Ltda*, vol. 45, nº 6535, pp. 342-348, 2016.
- [88] A. y. A. d. B. -. E. Laboratorio de Aguas de la Empresa de Acueducto, «Reporte de resultados - Dirección red troncal alcantarillado,» Dirección Servicios Técnicos - Empresa de Acueducto, Alcantarillado y Aseo de Bogotá ESP, Bogotá, 2016.
- [89] SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES, «NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental - Lodos y biosólidos - Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final,» México, 2002.
- [90] THE STANDAR METHODS ORGANIZATION, Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater, Washington, Estados Unidos : Cenvéo Publisher Services, 2012.
- [91] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, «APHA American Public Association For science, For action, For health,» 2017. [En línea]. Available: <https://secure.apha.org/imis/ItemDetail?iProductCode=978-087553-0130&Category=BK&WebsiteKey=0b8c9ed4-d1c5-4381-9c20-fa84b9f2e4a0>. [Último acceso: 20 06 2017].
- [92] D. SKOOG, J. HOLLER y T. NIEMAN, Principios de Análisis Instrumental, Madrid : McGraw-hill, Interamericana de España, 2001.
- [93] I. RUIZ CHÁVES, «Metodologías analíticas utilizadas actualmente para la determinación de mercurio en músculo de pescado,» *Revista Pensamiento Actual* ,

vol. 16, nº 26, pp. 2215-3586, 2016.

- [94] S. K. VINUEZA BAYAS, «Comparación entre las pruebas enzima-sustrato definido "Colilert" y tubos múltiples "Fluorocult" para el diagnóstico de Escherichia Coli y Coliformes totales en aguas tratadas,» Universidad Politécnica Salesiana, Quito, 2015.
- [95] J. G. LARES MENA, «Cuantificación de Salmonella spp. durante el proceso de secado solar de lodos generados en plantas tratadoras de aguas residuales,» Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, México , 2007.
- [96] L. Y. VARGAS FIALLO y J. H. CAMARGO HERNÁNDEZ, «Prácticas de laboratorio de análisis químico I,» Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, 2012.
- [97] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, «Title 40 Protection of Environmental: Part 503 Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge.,» Environmental Protection Agency, United States, 1993.
- [98] A. CASTREJON, B. BARRIOS , A. MAYA y A. RODRIGUEZ, «Evaluación de la calidad de lodos residuales de México,» Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- [99] G. MOELLER , C. FERAT y R. LÓPEZ, «Aplicación del procesamiento térmico y alcalino para la desinfección de lodos residuales primarios. Un estudio comparativo,» de *XXVII Congreso Interamericano de Engenharia Sanitaria e Ambiental*, Morelos, México, 2000.
- [100] M. ROJAS, N. CABIROL y L. S. ORTEGA, «Remoción de indicadores patógenos y parásitos (Coliformes fecales y Huevos de Helminto) en lodos municipales de tipo fisicoquímico por digestión anaerobia,» *XXVII Congreso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, México, D.F, 2000.
- [101] F. OSORIO ROBLES, J. C. TORRES ROJO y M. SÁNCHEZ BAS, Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes, Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos, 2010.
- [102] J. S. CARVAJAL MUÑOZ y A. C. MERA BENAVIDES, «Fertilización biológica: técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible,» *Producción + Limpia*, vol. 5, nº 2, pp. 78-96, 2010.
- [103] P. TORRES LOZADA y C. A. MADERA, «Eliminación de patógenos en biosólidos por estabilización alcalina,» *Acta Agronómica*, vol. 3, nº 58, pp. 197-206, 2009.
- [104] A. L. MENDOZA MIRANDA y E. G. REYES MELARA , «Evaluación de diferentes tipos de cal y digestor enzimático de rastros en la disminución de Coliformes fecales en lodos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Luis Talpa, La Paz, El Salvador,» Universidad de El Salvador , San Salvador,

El Salvador , 2017.

- [105] M. D. P. ARAQUE MANRIQUE, «Evaluación de los tratamientos térmico y alcalino en la desinfección del lodo generado en la PTAR El Salitre,» Universidad de los Andes, Bogotá D.C, 2006.
- [106] B. JIMÉNEZ y J. A. BARRIOS , «Estabilización alcalina de lodos generados en un tratamiento primario avanzado,» Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F, 2014.
- [107] O. GIRALDO y A. LOZANO, «Efecto del secado de los biosólidos de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salitre (Bogotá) sobre su contenido de nutrientes, metales pesados y patógenos,» *Agronomía Colombiana*, vol. 2, nº 24, pp. 348-354, 2006.
- [108] UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, «Biosolids Technology Fact Sheet Alkaline Stabilization of Biosolids,» National Service Center for Environmental Publications (NSCEP), Washington, D.C, 2000.
- [109] J. I. RÁMILA GARRIDO y S. I. ROJAS BROCKWAY, «Alternativas de uso y disposición de biosólidos y su impacto en las tarifas de agua,» Universidad de Chile, Santiago, Chile , 2008.
- [110] M. LANG y R. DOMINICK, «National manual of good practice for biosolids,» National Biosolids Partnership , 2011.

ANEXO 1: Técnicas analíticas
Determinación de humedad en sólidos

Método: Gravimétrico SM - 2540 B

Principio: Consiste en evaporar una muestra bien mezclada en una cápsula pesada y secarla hasta peso constante en una estufa de 103 a 105°C. El aumento de peso sobre el de la cápsula vacía representa el total de sólidos, por lo que la pérdida de humedad se obtiene a partir de la diferencia de peso seco y peso húmedo [41].

Materiales y equipo:

- Horno mufla para operación a 550°C
- Baño de vapor
- Desecador, provisto de un desecante que contiene un color indicador de cantidad de humedad o indicador instrumental
- Horno de secado para funcionamiento de 103 a 105°C
- Balanza analítica
- Agitador magnético con barra de agitación

Procedimiento:

- Calentar la cápsula a una temperatura de 103° a 105°C durante 1 hora (enfriar y guardar posteriormente hasta que se necesite)
- Elegir un volumen de muestra que arroje un residuo de entre 2.5 y 200 mg.
- Pipetear un volumen de muestra bien mezclada en un plato previamente pesado
- Elegir un punto a la mitad del contenedor entre la pared y el vórtice
- Evaporar a sequedad en un horno de secado, bajando la temperatura a aproximadamente 2°C por debajo de la ebullición
- Revolver la muestra con un agitador magnético
- Secar la muestra evaporada en un horno a 103°- 105°C durante al menos una hora
- Enfriar muestra en un desecador y pesar
- Repetir el ciclo de secado, enfriamiento y pesaje hasta obtener un peso constante [41].

Cálculos:

$$\frac{\text{mg}}{\text{l}} \text{ de sólidos totales} = \frac{(A - B)\text{mg} * 1000}{\text{ml de muestra}}$$

Dónde: A = peso de la muestra seca (mg) + peso de cápsula (mg); B = peso de cápsula (mg); 1000 = factor de conversión.

Desviación estándar: ± 6 mg/l.

Determinación de pH

Método: Electrométrico SM 4500 H⁺B

Principio: El método electrométrico se basa en la actividad de los iones hidrógeno mediante medición potenciométrica a partir de un electrodo de hidrógeno estándar (es un electrodo de vidrio a través del cual se burbujea gas hidrógeno a una presión de 101,325 Kpa) y un electrodo de referencia (generalmente se usa cloruro de mercurio o de plata). Éstos producen una fuerza electromotriz (FEM) que tiene una relación directamente proporcional con el pH. Dicha relación se describe trazando el FEM contra el pH de soluciones conocidas, de modo que el pH de la muestra se determina por extrapolación [41].

Materiales y equipo:

- Medidor de pH: Consta de un potenciómetro, un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un dispositivo de compensación de temperatura. La mayoría de los medidores de pH tienen dos controles: uno estandariza la fuerza electromotriz (intercepción) y el otro determinar temperatura y desplazamiento de la misma (pendiente); de modo que el control de intercepción cambia la curva de respuesta al pasar por el punto isotencial sin cambio en la pendiente, de modo que es posible asociar la escala (0 mV) del instrumento con un pH de 7 que no tiene cambios en el potencial con la temperatura. Es así como el control de pendiente FEM/pH se ajusta sobre el punto isotencial 0 mV/pH 7. Muestrear la solución conocida con un tampón de pH 7 y ajustar el control de pendiente a pH de éste tampón. El instrumento indica el cambio correcto de mili voltios por unidad de pH a la temperatura de prueba.
- Electrodo de referencia: Consiste en media celda que proporciona un potencial constante. Generalmente se usan electrodos de cloruro de plata con varios tipos de uniones liquidas.
- Electrodo de vidrio: Es un sensor de vidrio especial que contiene una concentración de HCl o una solución de cloruro. Éste es sumergido en una solución, cuya superficie pasa a ser hidratada de modo que se produce un intercambio de iones de sodio por iones de hidrógeno, formando así una capa de éstos últimos. Estos, junto con aniones de silicato cargados negativamente producen en la interface vidrio-solución un potencial en función de la actividad de los iones de hidrógenos en solución.
- (3) Vasos de precipitado, preferiblemente de polietileno
- Agitador: Usar una barra de agitación magnética o agitador mecánico recubierto de plástico.
- Cámara de flujo: Se usa para mediciones de flujo continuo.

Reactivos y soluciones:

- Solución saturada de Cloruro de potasio (KCl)
- Fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄)
- Tetroxalato de potasio
- Solución saturada de tartrato de hidrogeno y potasio

- Tartrato de hidrógeno y potasio ($\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
- Solución saturada de CaCO_3
- Soluciones auxiliares: Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, Ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N, Ácido clorhídrico (HCl) 5 N
- Solución ácida de fluoruro de potasio

Procedimiento:

- Mantener los electrodos mojados volviéndolos a la solución de almacenamiento cuando el medidor de pH no esté en uso.
- Antes del uso, retirar los electrodos de la solución de almacenamiento, enjuagar, secar con un paño suave, colocar en solución tampón inicial y establecer el punto isopotencial.
- Seleccionar un segundo buffer y colocar el tampón a la misma temperatura. Registre la temperatura de medición y ajuste la marca de temperatura en el medidor, de modo que ese medidor indique el pH del buffer a la temperatura de prueba.
- Usar el valor de pH que corresponde a cada buffer utilizado a la temperatura de prueba.
- Retirar electrodos del segundo buffer, enjuagar con agua destilada.
- Sumergir un tercer tampón por debajo de pH 10.
- Establecer el equilibrio entre los electrodos y la muestra mediante la agitación de la muestra para asegurar homogeneidad, revolver suavemente [41].

Desviación estándar: ± 0.02 unidades de pH.

Determinación de Nitrógeno total

Método: Semi Micro Kjeldahl SM 4500 N_{org} – método C

Principio: Consiste en convertir la mayor parte de compuestos orgánicos nitrogenados y amoníaco presentes en la materia orgánica en amonio por medio de la digestión de la muestra en presencia de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y sulfato de potasio (K_2SO_4), teniendo como catalizador sulfato de cobre (CuSO_4). Posteriormente se utiliza una solución alcalina para destilar el amonio obtenido y cuantificar la concentración total [41].

Materiales y equipo:

- Aparato de digestión: Utilizar matraces kjeldahl de 100 ml de capacidad en un aparato de digestión semi-micro-kjeldahl equipado con elementos de calentamiento (garantizar de 375 a 385°C) para acomodar frascos kjeldahl y una salida de succión para ventilar los humos.
- Aparato de destilación: Utilizar una unidad de vidrio con un recipiente generador de vapor que contenga un calentador de inmersión
- Medidor de pH
- Electrodo selectivo de amonio
- Agitador magnético

- Tubos para digestión

Reactivos necesarios:

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Sulfato de potasio (K_2SO_4)
- Sulfato de cobre (CuSO_4)
- Sal tetra sódica de ácido etilendiaminotetraacético di hidrato ($\text{Na}_4\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Cloruro de amonio (NH_4Cl)
- Reactivo de digestión RD (K_2SO_4 , CuSO_4 y H_2SO_4 disueltos en agua)
- Solución estándar de amonio (NH_4Cl anhidro secado a 100°C)
- Solución absorbente (H_2SO_4 0.02 M)
- Soluciones patrón de amonio (100, 10.0 y 1.0 a partir de la solución estándar)

Procedimiento:

- Agregar 10 ml de reactivo RD a una muestra de aproximadamente 50 ml de muestra mezclada con agua pura, haciendo el respectivo ajuste de calentamiento (punto 3) del aparato de digestión, colocando los frascos kjeldahl y accionando el dispositivo para la remoción de vapores.
- Aumentar el calentamiento de manera gradual hasta el número 5.
- Dejar la solución en ebullición hasta que se torne de color verde esmeralda y haya presencia de vapores en todos los tubos. Aumentar a 6 el dispositivo de calentamiento de modo que ocurra digestión por un tiempo aproximado de 15 minutos. (La digestión ha sido completa si se observa H_2SO_4 en la boca del tubo)
- Apagar el aparato de digestión y dejar enfriar.
- En un balón agregar 30 ml de H_2SO_4 0.02 M e introducir el tubo de salida del destilador de tal forma que quede completamente sumergido en la solución absorbente.
- Enjuagar cuidadosamente el tubo de digestión con agua.
- Colocar el tubo de digestión en el soporte del equipo y seguir las indicaciones descritas en su manual, garantizando que se tengan 10 ml de agua, 15 ml de hidróxido de sodio al 32% y un tiempo de destilación de 3 minutos.
- Pasar la muestra destilada a un Erlenmeyer de 125 ml añadiendo 1 ml de solución de NaOH 10 N para aumentar el pH por encima de 11, agitar e introducir el electrodo selectivo de amonio.
- La concentración de Nitrógeno total se lee directamente por el instrumento de medida [41].

Desviación estándar: No hay datos disponibles sobre la precisión y el sesgo del método semi-micro-kjeldahl.

Determinación de Fósforo total

Método: Ácido Vanado Molibdo Fosfórico, SM 4500- P, C

Principio: El método Vanado Molibdo Fosfórico y colorimétrico consiste en primer lugar en convertir todas las formas de fósforo encontradas en la muestra a ortofosfato (en

solución) y posteriormente determinar su concentración por colorimetría. Para ello, se hace reaccionar molibdato de amonio en condiciones ácidas para que se forme ácido molibdofosfórico, el cual reacciona con vanadio para formar ácido vanado molibdo fosfórico de color amarillo. Finalmente, por colorimetría se determina la concentración de fósforo total teniendo en cuenta que ésta es directamente proporcional a la intensidad de color desarrollada [41].

Materiales y equipo:

- Equipo colorimétrico: Puede usarse un espectrofotómetro (400 a 490 nm) o un fotómetro de filtro provisto con un filtro azul o violeta exhibiendo una transmitancia máxima entre 400 y 470 nm.
- Recubrimiento de vidrio lavado con ácido: Usado para determinar bajas concentraciones de fósforo. (Limpiar todo el material de vidrio con HCl diluido caliente y enjuagar con agua destilada)
- Aparato de destilación
- Papel filtro

Reactivos necesarios:

- Solución acuosa indicadora de fenolftaleína
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Carbón activado: Elimina las partículas
- Reactivo de molibdato: Solución A, diluir 25 g de molibdato de amonio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ en agua destilada, Solución B, disolver 1.25 g de meta vanadato de amonio (NH_4VO_3) disuelto en agua destilada, calentando hasta ebullición en 330 ml de HCl concentrado. Posteriormente, enfriar la solución B a temperatura ambiente y verter la solución A en la solución B, mezclar y diluir en 1 L de agua destilada.
- Solución de fosfato estándar: Disolver en agua destilada 219.5 mg de KH_2PO_4 anhidro y diluir a 1000 ml; 1.00 ml = $50 \mu\text{g PO}_4^{3-}$.

Procedimiento:

- Ajustar pH de la muestra: Si el pH de la muestra es mayor a 10, agregar 1 gota de indicador de fenolftaleína a 50.0 ml de muestra y descargar el color rojo con 1:1 HCl antes de diluir a 100 ml el segundo.
- Eliminar color de la muestra: Es necesario eliminar el exceso de color en la muestra agitando aproximadamente 50 ml con 200 mg de carbón activado en un Erlenmeyer durante 5 minutos usando el filtro para eliminar el carbono.
- El desarrollo de color en la muestra se tiene, en primer lugar colocando 35 ml o menos de muestra que contenga 0.05 a 1.0 mg de fósforo total en un matraz volumétrico de 50 ml.
- Agregar 10 ml de reactivo de vanadato-molibdato y diluir con 50 ml agua destilada.
- Preparar un blanco de 35 ml de agua destilada para sustituir la muestra.
- Posterior a 10 minutos o más, medir la absorbancia de la muestra frente al blanco previamente preparado en el rango de longitud de onda de 400 a 490 nm. (El color es estable por días y su intensidad no es afectada por la temperatura ambiente)
- Preparación de la curva de calibración: Utilizar volúmenes adecuados de solución estándar de fosfato. Es preciso graficar una serie de curvas con soluciones estándares de fosforo para diferentes longitudes de onda, la cual es la encargada

de medir la intensidad de color. Seleccionar la longitud de onda de acuerdo a la concentración esperada de fósforo, de acuerdo a los siguientes valores [41].

Tabla 2: Concentración de fósforo de acuerdo a la longitud de onda

P rango (mg/l)	Longitud de onda (nm)
1.0 – 5.0	400
2.0 – 10.0	420
4.0 – 18.0	470

Fuente: [41]

La concentración de fósforo total (P) se obtiene a partir de la curva de calibración, los cuales corresponden a la medida de la absorbancia de la muestra.

Cálculos:

$$P \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A}{B} \times 1000$$

Dónde: A = mg de P de la curva de calibración; B = volumen original de muestra (ml).

Desviación estándar: ± 0.5 mg/l.

Determinación de Potasio

Método: Llama fotométrica SM 3500 K – B

Principio: El método de llama fotométrica se basa en la determinación de trazas de potasio por medio de un fotómetro de llama directa a una longitud de onda de 766.5 nm. Éste equipo, determina las concentraciones de potasio en forma de energía térmica (llama) [41].

Materiales y equipo:

- Fotómetro de llama: Puede ser de lectura directa o de lectura estándar directa, también puede usarse un espectrómetro de absorción atómica.
- Cristalería

Reactivos y soluciones:

- Agua de reactivo: Es agua sin concentración detectable del compuesto o elemento a analizar, ésta debe estar libre de sustancias que interfieran los métodos analíticos. Ésta se obtiene a partir de procesos específicos como Osmosis inversa, destilación, desionización o tratamiento ultravioleta.
- Solución madre de potasio: Disolver 1.907 g de KCl secados a 110°C y diluir en 1000 ml (1 ml = 1 mg K).
- Solución de potasio intermedia: Diluir 10 ml de solución madre de potasio en 100 ml de agua; usar esta solución para preparar la curva de calibración en un rango de potasio de 1 a 10 mg/l (1 ml = 0.100 mg K).
- Solución de potasio estándar: Diluir 10 ml de solución intermedia de potasio en 100 ml de agua; usar esta solución para preparar la curva de calibración en rango de potasio de 0.1 a 1 mg/l (1 ml = 0.010 mg K)

Procedimiento:

- Almacenar todas las soluciones en botellas plásticas
- Pre tratamiento de muestra: Acidificar muestra a pH <2 con ácido nítrico concentrado (1.5 ml de HNO₃/l).
- Funcionamiento del instrumento: Seguir recomendaciones de uso para determinar las condiciones óptimas de operación (longitud de onda, sensibilidad, combustible apropiado, presión de gas, entre otras)
-
- de intensidad directa: Preparar estándares de calibración del blanco y de potasio en cantidades escalonadas en el rango seleccionado: 0 a 1, 0 a 10, 0 a 100 mg/l. Determinar la intensidad de emisión a 766,5 nm. Hacer varias lecturas para asegurar una lectura promedio para cada rango.
- Construir una curva de calibración de potasio
- Seleccionar, preparar estándares de potasio (uno ligeramente mayor y uno ligeramente menor que la intensidad de emisión de la muestra) y repetir simultáneamente.
- Calcular la concentración de potasio por la siguiente ecuación [41]:

a. Para referencia directa a la curva de calibración:

$$\text{mg} \frac{\text{K}}{\text{L}} = \left(\text{mg} \frac{\text{K}}{\text{L}} \right) \times D$$

b. Para calcular el estándar de potasio:

$$\text{mg} \frac{\text{K}}{\text{L}} = \left[\frac{(B - A)(s - a)}{(b - a)} + A \right] D$$

Dónde: B = mg K/L de estándar superior

A = mg K/L de estándar inferior

b = intensidad de emisión del estándar superior

a = intensidad de emisión del estándar inferior

s = intensidad de emisión de la muestra

D = radio de dilución $\left(\frac{\text{ml muestra} + \text{ml agua}}{\text{ml muestra}} \right)$

Desviación estándar: ± 0.15 mg/l.

Determinación de Calcio y Magnesio

Método: Método de titulación EDTA SM - 3500 Ca - B

Principio: El método de titulación con EDTA (etilendiaminotetra-acetato-disódico) en solución permite determinar la concentración de calcio y magnesio. En primer lugar, el EDTA se combina con el calcio, el cual se puede determinar directamente cuando el pH es lo suficientemente alto (12 a 13) para que el magnesio precipite como hidróxido. Seguido de esto, para determinar la concentración de calcio se realiza la titulación con indicador llamado *Murexide* o purpurato de amonio, que presenta un color rosado en presencia de calcio. Para determinar la concentración de magnesio se usa el indicador

Negro de eriocromo t, donde la concentración se percibe por el cambio de color que pasa de púrpura a purpura azulado y resulta un azul puro sin rastro de tinte rojizo [67].

Reactivos y soluciones:

- Hidróxido de sodio 1 N (NaOH 1 N)
- *Murexide o purpurato de amonio* (Indicador de Calcio)
- *Eriocromo azul – negro* (Indicador de Magnesio)
- Solución estándar 0.01 M de ácido etilendiaminotetra, sal disódica (EDTA)
- Reactivo blanco (2 ml de solución de NaOH, 0.2 g de mezcla de indicador sólido y suficiente titulante EDTA estándar de 0.05 a 0.10 ml para producir un color inalterable)

Procedimiento:

- Digerir la muestra en ácido nítrico HNO₃ hasta ebullición.
- Debido al alto pH utilizado en este procedimiento, es necesario valorar de inmediato después de agregar el indicador.
- Usar hasta 50 ml de muestra diluida en 50 ml de indicador para que el contenido de calcio sea de aproximadamente 5 a 10 mg.
- Agregar 2 ml de solución de NaOH o el volumen necesario para producir un pH de 12 a 13 y agitar.
- Añadir 0.1 a 0.2 g de indicador y agregar EDTA lentamente con agitación continua. Cuando se use murexide agregar de 1 a 2 gotas de indicador en exceso para asegurar el cambio de color [41].

Cálculos:

$$\text{mg} \frac{\text{Ca}}{\text{l}} = \frac{A \times B \times 400.8}{\text{ml de muestra}}$$

$$\text{Dureza de calcio expresada como} \frac{\text{CaCO}_3}{\text{L}} = \frac{A \times B \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$

Dónde: A = ml de titulante por muestra

B = mg CaCO₃ equivalente a 1 ml de titulante EDTA

Desviación estándar: ± 0.09 mg/l.

Determinación de Azufre

Método: Turbidimétrico SM – 4500 SO₄²⁻ E

Principio: Se fundamenta en la precipitación del ion sulfato (SO₄²⁻) en una solución de ácido acético con una sal, que en éste caso es cloruro de bario (BaCl₂) hasta formar cristales de sulfato de bario (BaSO₄) de tamaño uniforme. Allí se mide la absorbancia de luz de dichos cristales por medio de un fotómetro para luego compararla con la lectura de una curva de calibración de (SO₄²⁻) para determinar la concentración de SO₄. Los cristales forman flóculos que causan una determinada turbidez que es proporcional a la concentración de sulfatos en la muestra. La concentración de azufre total se lleva a cabo por relación estequiométrica a partir del peso atómico del elemento [41].

Materiales y equipo:

- Agitador magnético
- Fotómetro: Puede usarse un Nefelómetro, un Espectrofotómetro o un Fotómetro de filtro.
- Cronómetro o temporizador eléctrico
- Cuchara de medición de capacidad de 0.2 a 0.3 ml.

Reactivos y soluciones:

- Solución buffer A: Disolver 30 g de cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 5 g de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 1 g de nitrato de potasio (KNO_3) y 20 ml de ácido acético CH_3COOH en 500 ml de agua destilada y completar hasta 1000 ml.
- Solución B: Disolver 30 g de cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 5 g de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 1 g de nitrato de potasio (KNO_3), 1 g de sulfato de sodio Na_2SO_4 y 20 ml de ácido acético en 500 ml de agua destilada y completar hasta 1000 ml.
- Cloruro de Bario (BaCl_2): Cristales de malla 20 a 30
- Solución estándar de sulfato: Disolver 0.1479 g de Na_2SO_4 anhidro en agua destilada y diluir a 1000 ml.

Procedimiento:

- Formación de turbidez del sulfato: Medir 100 ml de muestra en un Erlenmeyer de 250 ml, agregar 20 ml de solución buffer y mezclar con el aparato de agitación. Mientras se produce la agitación agregar una cucharada de cristales de cloruro de bario (BaCl_2) y agitar durante 60 ± 2 s a velocidad constante.
- Medición de la turbidez del sulfato de bario: Luego de la agitación, verter la solución en la celda de absorción del fotómetro y medir la turbidez 5 ± 0.5 min.
- Preparación de la curva de calibración: Determinar la concentración de SO_4 en la muestra a partir de la comparación de la lectura de turbidez con una curva de calibración, utilizando estándares de SO_4 e incrementando de a 5 mg/l en el rango de 0 a 40 mg/l SO_4 .
- Corregir el color de la muestra y la turbidez dejando espacios en blanco a los cuales no se agrega cloruro de bario (BaCl_2) [41].

Cálculos:

$$\text{mg} \frac{\text{SO}_4^{-2}}{\text{l}} = \frac{\text{mg SO}_4^{-2} \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$

Desviación estándar: ± 0.13 mg/l.

Determinación de Metales pesados

Método: Espectrometría de emisión atómica por plasma inductivamente acoplado (ICP) SM-3120 B

Principio: El método conocido como ICP-AES, es utilizado para analizar simultáneamente muchos elementos a niveles de traza y ultra traza. Para ello se utiliza

plasma de argón, mezcla gaseosa que gracias a la concentración de cationes y electrones conduce la electricidad. Una vez se han formado iones de argón en un plasma son capaces de absorber la suficiente energía de una fuente externa como para mantener la temperatura que puede llegar a 10000 K de modo que dichos iones son excitados y emiten radiaciones de la longitud de onda característica de cada elemento [68]. Dichas longitudes de onda se dispersan gracias a un monocromador que consta de un mecanismo de escaneo para examinar secuencialmente dichas longitudes.

Para determinar la concentración final de los mismos, se remite a una tabla predeterminada que presenta las longitudes de onda de cada elemento, así como los límites detectables y las concentraciones de calibración utilizadas para su lectura [41]. Éste método se utiliza para cuantificar arsénico, cadmio, cromo, cobre, níquel, plomo, molibdeno, selenio y zinc.

Materiales y equipo:

- Fuente ICP: Consiste en un generador de radiofrecuencia con una serie de bobinas, nebulizadores y bombas para controlar el flujo de gases en el instrumento.
- Espectrómetro: Puede ser de tipo simultáneo (policromador) o secuencial (monocromador) y requiere un paso de banda espectral de 0.05 nm o menos.

Reactivos y soluciones:

- Agua desionizada
- Ácido clorhídrico (HCl), ácido nítrico (HNO₃) y soluciones estándar de los metales a determinar.
- Patrones de calibración mixtos de cada elemento teniendo en cuenta que sean compatibles y estables entre sí.
- Blanco de calibración: 2 ml HNO₃ y 10 ml HCl en 100 ml de agua.
- Estándar de verificación de instrumentos y muestras para control de calidad de instrumentos
- Argón

Procedimiento:

- Tomar un volumen de muestra bien mezclada y transferirlo a un vaso de precipitado en una campana. Utilizar 2 ml de HNO₃ y 10 ml de HCl para digerir la muestra completamente, cubriendo con un vidrio de reloj. Enfriar y filtrar para eliminar el material insoluble.
- Verificar correcta configuración de los instrumentos así como sus condiciones de operación
- Mantener registros diarios o semanales de intensidades de cobre (Cu) y magnesio (Mn) como procedimiento de calibración
- Comenzar cada análisis de muestra con una prueba del blanco de calibración y analizarlas de forma alternada con uno de ellos.
- Analizar el estándar de verificación 1 cada 10 muestras para control de calidad instrumental.

- Si la muestra se diluyó o se concentró en preparación, multiplicar resultados por un factor de dilución $DF = \text{peso o volumen final} / \text{peso o volumen inicial}$.
- Hacer corrección de interferencia espectral con el software suministrado por el fabricante del instrumento a partir de los factores de corrección, analizando soluciones madre de un solo elemento con concentraciones que coincidan con los usados para analizar las muestras [41].

Desviación estándar: $\pm 5 \text{ mg/l}$.

Determinación de Mercurio

Método: Absorción atómica con vapor frío 3112 B – Hg

Principio: Para determinar mercurio se usó la metodología denominada espectroscopia de absorción atómica (ASS) a vapor frío. La técnica requiere que las muestras sean sometidas a digestión previamente, con el fin de convertir el mercurio (Hg) orgánico e inorgánico en Hg^{+2} [41]. La concentración de mercurio se obtiene a partir de la reacción de mercurio con cloruro etanoso en medio ácido; de allí resulta vapor atómico de mercurio el cual es conducido por un gas inerte hacia una celda de cuarzo donde se realiza la lectura directa por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica [69].

Materiales y equipo:

- Espectrómetro de absorción atómica: Cuyo equipo consta de una fuente de luz que emite el espectro lineal de un elemento, un dispositivo para vaporizar la muestra (generalmente una llama), un medio para aislar una línea de absorción (monocromador o filtro) y un detector fotoeléctrico con su amplificador electrónico asociado y equipo de medición respectivo.
- Celda de absorción: Consiste en un tubo de vidrio o plástico de aproximadamente 2.5 cm de diámetro y 15 cm de longitud. Rectificar la correcta ubicación del mismo y de las celdas de cuarzo. (Conectar los puertos de entrada y salida de gas a 1.3 cm e cada extremo)
- Soporte de la celda: Conectar la celda al cabezal plano del quemador de óxido nitroso de tal forma que quede alineado en el haz de luz para obtener la máxima transmitancia.
- Bombas de aire: Usar cualquier tipo de bomba peristáltica capaz de entregar 2 L aire/min.
- Flujómetro: Capacidad de medir un flujo de aire de 2 L/min
- Tubo de aireación: Debe contener una porosidad gruesa para usar en un matraz de reacción Erlenmeyer de 250 ml provisto de un tampón de goma para sujetar el tubo de aireación.
- Tubo de secado: 150 mm x 15 mm de diámetro, debe contener 20 g de perclorato de magnesio $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$. Se debe usar una bombilla de 60 W con un tono adecuado para evitar la condensación de la humedad dentro de la celda de absorción y de ésta forma mantener la temperatura de la celda a 10°C por encima de la temperatura ambiente.
- Conexión de tubos: Tubos de vidrio que permitan pasar el vapor de mercurio del Erlenmeyer a la celda de absorción y para interconectar los demás componentes.

Reactivos y soluciones:

- Agua desionizada
- Solución madre de mercurio: Disolver 0.1354 g de cloruro mercúrico (HgCl_2) en 70 ml de agua, agregar 1 ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado y diluir a 100 ml con agua; 1 ml = 1 mg Hg.
- Soluciones estándar de mercurio: Preparar una serie de soluciones estándar que contengan de 0 a 5 $\mu\text{g/l}$ con agua que contenga 10 ml de HNO_3 concentrado.
- Ácido nítrico (HNO_3)
- Solución de permanganato de potasio: 50 g de KMnO_4 en agua y diluir a 1 L.
- Solución de persulfato de potasio: 50 g de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) en agua y diluir a 1 L.
- Solución de cloruro de sodio hidroxilamina sulfato: Disolver 120 g de cloruro de sodio (NaCl) y 120 g de hidroxilamina sulfato ($(\text{NH}_2\text{OH})_2\text{H}_2\text{SO}_4$) en agua y diluir a 1 L.
- Solución de ion estañoso: Usar cloruro estañoso o sulfato estañoso para preparar una solución de 7 g de Sn^{2+} /100 ml
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)

Procedimiento:

- Establecer una longitud de onda a 253.7 nm en el instrumento. Instalar la celda de absorción y alinear en la trayectoria de la luz.
- Conectar el equipo asociado al instrumento a la celda de absorción con tubos de plástico o vidrio.
- Encender el aire y ajustar el caudal a 2 l/min y dejar que fluya de forma continua.
- Transferir 100 ml de cada una de las soluciones estándar de mercurio de 1, 2 y 5 $\mu\text{g/l}$ de Hg y un blanco de 100 ml de agua a matraces Erlenmeyer de 250 ml.
- Añadir 5 ml de concentrado H_2SO_4 y 2.5 ml de HNO_3 concentrado a cada uno de ellos y esperar 15 min.
- Añadir 8 ml de solución de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ a cada matraz y calentar durante 2 horas en un baño de agua a 95°C. Enfriar a temperatura ambiente.
- Agregar a cada matraz suficiente solución de NaCl - hidroxilamina, luego agregar 5 ml de solución de SnCl_2 e inmediatamente conectar el matraz al aparato de aireación.
- A medida que el mercurio se volatiliza y se lleva a la celda de absorción, la absorbancia aumentará en pocos segundos.
- Quitar el tapón que sujeta el matraz y reemplazar con otro que contenga agua. Enjuagar el sistema y ejecutar el siguiente estándar de la misma forma.
- Construir una curva estándar trazando la altura del pico versus mg de Hg.
- Transfiera 100 ml de muestra diluida que no contenga más de 50 μg Hg/l a un Erlenmeyer.
- Eliminar el cloro libre antes de que el Hg se reduzca y sea arrastrado a la celda, usando 25 ml de reactivo de hidroxilamina, luego burbujear la muestra suavemente con aire o nitrógeno.
- La determinación de mercurio se hace a partir de lectura directa que es registrada por el instrumento y contrastada con la curva estándar preparada previamente [41].

Desviación estándar: ± 6 mg/l.

Determinación de Coliformes fecales

Método: Sustrato Enzimático SM-9223B - M4FC0304175-03 Bs

Principio: El método de Colilert-Colisure o sustrato enzimático permite determinar concentraciones de Coliformes totales y E.Coli de manera simultánea en un período de 24 horas. Allí se utiliza en primer lugar el sustrato ONPG (*O-nitrofenil-B-D-galactopiranosido*) donde la muestra presenta un color amarillo en presencia de Coliformes totales y en segundo lugar se utiliza el sustrato MUG (*metilumbelliferil-B-D-glucuronido*), donde la muestra se torna fluorescente para indicar presencia de E.Coli. Ésta técnica se basa en la capacidad de las bacterias para metabolizar el nutriente indicador (sustrato), que además contiene otro tipo de nutrientes y sales minerales [41].

Procedimiento:

- Seleccionar la cantidad de tubos por muestra con los medios de cultivo (sustratos ONPG y MUG) necesarios y su respectiva etiqueta.
- Agregar el sustrato propesado en una muestra de 100 ml en un vaso de borosilicato no fluorescente, transparente o estéril.
- Tapar, agitar hasta disolver y verter la solución en una bandeja.
- Utilizar un sellador para dispensar la muestra en tubos y sellarlos respectivamente
- Incubar a 35 ± 0.5 °C durante el tiempo indicado por el fabricante del sustrato.
- El valor de Número más probable (NMP), el cual se obtiene de la tabla provista por el fabricante del mismo).

Interpretación:

- a. Coliformes fecales: Después del tiempo de incubación, examinar los tubos y observar el cambio de color, teniendo en cuenta que el sustrato ONPG es hidrolizado por la enzima bacteriana para producir un color amarillo, mientras que el sustrato CPRG es hidrolizado por la enzima bacteriana presentando un color rojo magenta. La muestra resulta ser negativa para coliformes, si no se evidencia cambio de color.
- b. Escherichia Coli: Luego de examinar los tubos para coliformes fecales, se debe determinar fluorescencia utilizando una lámpara de luz ultravioleta con radiación de longitud de onda larga, de modo que si presenta fluorescencia resulta una prueba positiva para E.Coli.

Finalmente, calcular el NMP (número más probable) para coliformes y E.Coli a partir de una codificación asignada para los tubos de acuerdo a determinadas diluciones, donde cada tubo arroja resultado positivo o negativo para concentración de coliformes y E.Coli. Éste cálculo puede observarse en el método de determinación de *Salmonella spp* [41].

Desviación estándar: ± 0.5 mg/l.

Determinación de Huevos de Helminto

Método: NOM 004 SEMARNAT 2002 NORMA OFICIAL MEXICANA

Principio: La concentración de Huevos de Helminto y Huevos de Helminto viables como indicadores de contaminación fecal, se llevó a cabo conforme a lo expuesto en la NORMA OFICIAL MEXICANA – NOM 004 SEMARNAT 2002. La técnica allí expuesta se basa en una serie de lavados con distintas etapas de filtrado, donde por flotación y diferencia de densidades se separan los Huevos de Helmintos del resto de sustancias contenidas en la muestra [35].

Materiales y equipo:

- Barras magnéticas
- Bulbo de goma
- Embudo plástico de 20 cm de diámetro
- Gradillas para tubos de centrifuga 50 ml
- Manguera para conexión de matraz
- Matraces aforados Erlenmeyer de 1 L de capacidad
- Recipientes de cierre hermético de 1 a 3 L de capacidad
- Recipientes de plástico inertes
- Tamices, pipetas y probetas de diferente capacidad
- Tubos de centrifuga cónica
- Agitador de tubos con control de velocidad
- Autoclave capaz de operar a presión 1.05 kg/cm^2 y a una temperatura de 121°C
- Balanza granataria con intervalo de medición de 2 a $800 \pm 0.2 \text{ g}$
- Bomba de vacío con control de velocidad de succión
- Cámara de Sedwich-Rafter o disco Doncaster
- Campara de extracción
- Centrifuga capaz de mantener los intervalos de operación de $660 \pm 300 \text{ g}$
- Densímetro con intervalo de medición de 1 a 1.4 g/cm^3
- Incubadora con capacidad para operar a una temperatura de $26^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$
- Licuadora con contenedor plástico inerte, paredes lisas y con capacidad de 2 L
- Microscopio óptico con iluminación, con objetivos de 10 a 100 X y platina móvil
- Parrilla con agitación magnética
- Potenciómetro con intervalo de medición de 0 a 14 ± 0.2 unidades de precisión
- Refrigerador con capacidad de operar a una temperatura de $4^\circ\text{C} \pm 0.2^\circ\text{C}$

Reactivos y soluciones:

- Ácido sulfúrico 0.1 N (H_2SO_4)
- Alcohol etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
- Agua destilada
- Éter etílico
- Hipoclorito de sodio 10% (NaClO)
- Solución Tween 80 al 0.1% (Añadir 1 ml de reactivo en 999 ml de agua destilada y homogenizar hasta disolución completa)
- Solución ácido-alcohol (Homogenizar 650 ml de ácido sulfúrico 0.1 N con 350 ml de alcohol etílico)

- Solución de sulfato de Zinc (ZnSO_4): Disolver 800 g de sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en 1000 ml de agua destilada, mezclar en parrilla magnética hasta homogenizar totalmente.

Procedimiento:

Para determinar la concentración y separación de los huevos de helminto se deben seguir los siguientes pasos:

- Con la ayuda de la licuadora homogenizar por 1 minuto el peso que corresponda a 2 g de ST, utilizando 200 ml de solución Tween, integrando enjuagues del recipiente que originalmente contenía la muestra.
- Recuperar homogenizado y enjuagues del vaso de la licuadora en un recipiente plástico de 2 L, utilizando 800 ml de solución Tween y dejar sedimentar la muestra al menos por 3 horas.
- 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 recuperando el filtrado y los enjuagues en un recipiente plástico de 2 L y dejar sedimentar por al menos 3 horas.
- Aspirar el sobrenadante por vacío y recuperar sedimento y enjuagues con agua destilada en un tubo de centrífuga de 200 ml.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Aspirar el sobrenadante por vacío y desecharlo. Re suspender la pastilla 150 ml de la solución de sulfato de zinc. Homogenizar la pastilla con ayuda de un agitador de tubos.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Verter el sobrenadante en un recipiente de 2 L con 1 L de agua destilada.
- Sedimentar al menos durante 3 horas.
- Aspirar el sobrenadante por vacío y recuperar el sedimento resultante en un tubo de centrífuga de 200 ml, incluyendo los enjuagues del recipiente.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Aspirar el sobrenadante por vacío y re suspender el sedimento por agitación con ayuda del agitador de tubos. La solución resultante se recupera en un tubo cónico de centrífuga de 50 ml, incluyendo el agua destilada de enjuague.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Aspirar el sobrenadante y utilizando un agitador de tubos re suspender la pastilla en 15 ml de la solución de alcohol-ácido y posteriormente agregar 10 ml de éter. Agitar suavemente y de vez en cuando dejar escapar el gas que se desprenda.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Aspirar el sobrenadante, hasta 2 mm por arriba de la parte cónica del tubo de 50 ml (aproximadamente 5 ml).
- Efectuar un primer enjuague agregando ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1 N.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.
- Aspirar el sobrenadante dejando 5 ml y realizar un segundo enjuague agregando ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1 N.
- Centrifugar a 660 g durante 5 minutos.

- u. Incubar el tubo con la muestra durante 4 semanas a $26^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$. Dejar la tapa del tubo floja para que permanezca aireada y verificar al menos una vez por semana que el agua no disminuya [35].

Determinación de viabilidad y lectura al microscopio:

- v. Transcurrido el tiempo de incubación, homogenizar la pastilla y proceder a la cuantificación de los huevos. Para la lectura, verter el sedimento final en una celda de Sedgwich Rafter o Disco Doncaster, distribuir en alícuotas y homogenizar con agua destilada.
- w. Sólo aquellos huevos donde se observe la larva se consideran viables.
- x. 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.
- y. Centrifugar a 660 g durante 5 minutos y decantar hasta dejar 5 ml de sobrenadante.
- z. Realizar un segundo enjuague con agua destilada y centrifugar bajo las mismas condiciones con el fin de tener una mayor claridad en el contenido interno de los huevos y en consecuencia un conteo más rápido.
- aa. Aspirar sobrenadante hasta 5 ml del volumen final [35].

Cálculos:

La fórmula para calcular g es:

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

Dónde: g = fuerza relativa de centrifugación, (relacionada con la fuerza gravitacional terrestre) y se expresa como número de veces el valor de la gravedad (Xg)

k = constante cuyo valor es 89.458

r = radio de la centrífuga en cm

rpm = revoluciones por minuto

La fórmula para calcular los sólidos totales (ST, %) es:

$$\% \text{ de ST} = 100\% - \% \text{ humedad}$$

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

$$\text{Huevos de helminto} = \frac{H}{2 \text{ g ST}}$$

Dónde: H = número de huevos leídos en la muestra

g ST = gramos de sólidos totales de la muestra analizada

Determinación de *Salmonella spp*

Método: NOM 004 SEMARNAT 2002 NORMA OFICIAL MEXICANA

Principio: El método establecido en la Norma Oficial Mexicana sugiere la determinación de *Salmonella spp* basándose en la técnica del número más probable (NMP). Ésta indica que a partir de un enriquecimiento con medios selectivos, que contienen sustancias inhibitoras se favorece la multiplicación de *Salmonella spp*, reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y de igual forma impidiendo el desarrollo de otro tipo de bacterias. Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en la muestra son separadas por agitación (a través de diluciones sucesivas) y quedan suspendidas [35].

Reactivos y soluciones:

- Agar Hierro Lisina (LIA)
- Agar Sulfito de Bismuto (TSI)
- Agar Triple Azúcar Hierro (XLD)
- Alcohol etílico
- Caldo de Selenito Cistina
- Caldo de Tetratiónato
- Cloruro de Magnesio
- Cristales de Yodo
- Fosfato monopotásico
- Solución de hidróxido de sodio 0.1 N
- Solución de hidróxido de sodio 1 N
- Solución tampón de fosfatos (Dilución en agua)
- Agar *Verde brillante* (medio de enriquecimiento)
- Yoduro de potasio

Materiales y equipo:

- Mechero bunsen
- Autoclave a presión de 1.05kg/cm² y una temperatura de 121°C
- Balanza analítica con intervalo de medición de 0.0001 a 10 g
- Balanza granataria con intervalo de medición de 0.1 a 100 g
- Baño de agua con agitación con capacidad para operar a una temperatura de 44.5°C
- Estufa u horno con capacidad para operar a una temperatura de 180°C ± 10°C
- Incubadoras con capacidad para operar a una temperatura de 37°C y 41°C ± 0.2°C
- Parrilla con agitación y calentamiento
- Potenciómetro con intervalo de medición de 6.5 a 7.5 pH
- Refrigerador con capacidad para operar entre 2 y 4°C ± 0.5°C

Procedimiento:

Preparación de medios de cultivo y soluciones:

- a. Caldo tetratiónato: 5 g de triptona, 1 g de sales biliares, 10 g de carbonato de calcio, 30 g de tiosulfato de sodio. Disolver los ingredientes (que se encuentran en forma deshidratada en el mercado) en agua destilada y calentar hasta ebullición,

posteriormente distribuir en volúmenes de 100 ml en recipientes estériles y conservar entre 5 y 8°C. Antes de usar el medio, agregar 2 ml de solución de yodo yoduro y 1 ml de solución de verde brillante 1:1000 por cada 100 ml de caldo, a cada recipiente.

- b. Caldo selenito cistina: 5 g de triptona, 4 g de lactosa, 10 g de fosfato disódico, 4 g de Selenito ácido de sodio, 0.01 g de L-cistina. Disolver los ingredientes en agua destilada, calentar hasta ebullición durante 10 minutos en un baño de agua y distribuir en tubos de ensayo de 10 ml para esterilizar por arrastre de vapor.
- c. Agar sulfito de bismuto: 5 g de extracto de carne de res, 10 g de peptona, 5 g de glucosa, 4 g de fosfato disódico, 0.03 g de sulfato ferroso, 8 g de sulfito de bismuto, 0.025 g de verde brillante, 20 g de agar. Disolver en 1 L de agua destilada, enfriar a 60°C y distribuir en cajas de Petri estériles.
- d. Agar xilosa lisina desoxilicato (XLD): 3.75 g de xilosa, 5 g de L-lisina, 7.5 g lactosa, 7.5 g de sacarosa, 5 g de cloruro de sodio, 3 g de extracto de levadura, 0.08 g de rojo de fenol, 15 g de agar, 6.8 g de tiosulfato de sodio, 2.5 g de desoxicolato de sodio, 0.08 g de citrato de hierro y amonio. Disolver en 1 L de agua destilada, agitar frecuentemente y dejar hervir por un minuto. Enfriar a 50°C y vaciar en cajas de Petri estériles.
- e. Agar verde brillante (VB): 3 g de extracto de levadura, 10 g de proteosa de peptona, 5 g de cloruro de sodio, 10 g de lactosa, 10 g de sacarosa, 0.008 g de rojo de fenol, 0.0125 g de verde brillante. Disolver ingredientes en 1 L de agua destilada, mezclar bien y calentar hasta ebullición. Esterilizar en autoclave a 121°C por 12 minutos y enfriar a 50°C.
- f. Agar S.S.: 5 g de extracto de carne, 5 g de Pili peptona, 10 g de lactosa, 8.5 g de sales biliares, 8.50 g de citrato de sodio, 8.05 g de tiosulfato de sodio, 1 g de citrato férrico, 0.33 g de verde brillante, 0.25 g de rojo neutro. Disolver ingredientes en 1 L de agua destilada y calentar hasta ebullición. Enfriar y distribuir en cajas de Petri.
- g. Agar nutritivo: 3 g de extracto de carne, 5 g de peptona, 15 g de agar. Suspender los ingredientes en agua, dejar reposar entre 5 y 10 minutos, calentar a ebullición, esterilizar a 121°C y dejar enfriar.
- h. Agar triple azúcar hierro (TSI): 20 g de polipeptona, 5 g de cloruro de sodio, 10 g de lactosa, 10 g de sacarosa, 1 g de glucosa, 0.20 g de sulfato ferroso amónico, 0.20 g de tiosulfato de sodio, 0.025 g de rojo de fenol, 13 g de agar. Disolver en 1 L de agua destilada, calentar hasta ebullición agitando ocasionalmente. Enfriar y distribuir en tubos de rosca de 4 ml y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Inclinar los tubos de forma que el medio de cultivo en el fondo alcance una altura de 3 cm.
- i. Agar hierro lisina (LIA): 5 g de peptona, 3 g de extracto de levadura, 1 g de glucosa, 10 g de L-lisina, 0.50 g de citrato férrico amónico, 0.04 g de Tiosulfato de sodio, 0.02 g de púrpura de bromocresol. Disolver en 1 L de agua destilada, calentar hasta ebullición y posteriormente enfriar a 50°C en posición inclinada. Distribuir en tubos de rosca de 4 ml para esterilizar en presión a 121°C por 12 minutos.
- j. Solución madre de tampón A: Disolver 34 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) en 500 ml de agua destilada, bajando el pH con hidróxido de sodio a 7 y aforar a 1000

ml con agua destilada. Esterilizar en autoclave a presión de 2.05 kg/cm² y a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

- k. Solución madre de tampón B: Disolver 81 g de cloruro de magnesio (MgCl₂6H₂O) en 500 ml de agua destilada y aforar a 1000 ml con agua destilada y esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Almacenar en refrigeración entre 2 y 4°C.
- l. Solución tampón de fosfatos: Adicionar 1.25 g de la solución patrón A y 5 ml de la solución patrón B y aforar a 1 L con agua destilada para distribuir volúmenes de 9.2 ml 36 ml en tubos de rosca y frascos con tapa de cierre hermético. Esterilizar en autoclave a una presión de 1.05 kg/cm² y a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.
- m. Solución de hidróxido de sodio 0.1 N: Pesar 4 g de hidróxido de sodio y disolver en 1000 ml de agua destilada
- n. Solución de hidróxido de sodio 1 N: Pesar 4 g de hidróxido de sodio y disolver en 1000 ml de agua destilada
- o. Solución de yodo yoduro: Disolver 6 g de yoduro de potasio en agua destilada e ir agregando lentamente cristales de yodo hasta su disolución completa [35].

Preparación de la muestra:

- Suspender los gramos de materia fresca que correspondan a 4 gramos de sólidos totales en 36 ml de agua de dilución y así obtener una dilución de 10⁻¹. Mezclar durante 2 o 3 minutos a baja velocidad con ayuda de una parrilla de agitación.
- Incubar durante 22 ± 2 horas a 37°C

Preparación de diluciones:

- Una vez transcurrido el tiempo de incubación, preparar las diluciones decimales seriadas transfiriendo 1 ml de caldo de tetratiónato en 9 ml de agua de dilución (10⁻²) y así sucesivamente hasta obtener la dilución deseada.
- Homogenizar cada dilución perfectamente agitando 25 veces en 7 segundos.
- Adicionar por triplicado 1 ml de cada una de las diluciones preparadas en tubos conteniendo caldo selenito cistina correctamente etiquetados.
- Incubar durante 24 ± 2 horas a 41°C
- Realizar observación del virado de coloración, considerando un color anaranjado intenso como positivo resultado positivo para la prueba de Salmonella spp

Aislamiento e identificación bioquímica de Salmonella sp:

- El aislamiento y la identificación no son indispensables para la cuantificación de Salmonella spp, pero son necesarios como control para el laboratorio de que las bacterias fueron correctamente identificadas.
- A partir de cierto número de tubos positivos (anaranjados) con la ayuda de un asa, sembrar por estría para obtener colonias aisladas sobre la superficie de placas de alguno de los medios diferenciales selectivos. Los medios utilizados pueden ser agar verde brillante, agar sulfito de bismuto, agar XLD, agar SS
- Incubar a 35°C durante 24 horas.
- Observar los cultivos para identificar las colonias sospechosas para Salmonella spp así [70].
 - a. Agar verde brillante: Colonias rojas o rosas rodeadas del medio rojo.

- b. Agar bismuto de sulfito: Colonias negras con o sin brillo metálico, rodeadas de un halo café que posteriormente se transforma en negro.
- c. Agar XLD: Colonias rojas, generalmente presentan el centro negro.
- d. Agar SS: Colonias translúcidas, transparentes u opacas.

Para la identificación bioquímica se seleccionan al menos 2 colonias típicas sospechosas de cada placa, que se encuentran bien aisladas. Tocar con un asa recta cada colonia e inocular por estría en una placa conteniendo agar nutritivo e incubar a 35°C por 24 horas.

A partir de las colonias perfectamente aisladas inocular 2 tubos, uno con agar triple azúcar y hierro (TSI) y otro con agar hierro lisina (LIA) e incubar a 35°C durante 24 horas. Posteriormente observar el crecimiento en los tubos y considerar positivas las colonias que den las siguientes reacciones [35].

- a. Agar TSI: En el fondo del tubo se observa virado color amarillo debido a la fermentación de la glucosa, en la superficie del medio se intensifica el color rojo. En la mayoría de los casos se observa coloración negra debido a la producción de H₂S
- b. Agar LIA: Se observa coloración púrpura en todo el tubo, en ocasiones se observa la producción de H₂S con ennegrecimiento.

Cálculos:

El NMP de Salmonella spp se obtiene a partir del código compuestos por los tubos con resultado positivo en el caldo de selenito cistina. Si se inoculan tres series de tubos y se utilizan volúmenes decimales diferentes a los indicados en tablas, se obtiene el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor de NMP correspondiente, a través de la siguiente fórmula:

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

Cuando el resultado obtenido no aparezca en tablas, se debe utilizar la siguiente fórmula:

$$NMP = \frac{\text{número de tubos positivos} \times 100}{\sqrt{(\text{ml muestra tubos neg.}) \times (\text{ml muestra total})}}$$

La densidad de Salmonella spp. Se expresa como NMP de coliformes por g de materia seca o ST, el cual se obtiene a partir de tablas ya establecidas. Para su utilización se proporcionan códigos formados por tres logaritmos correspondientes al número de tubos con resultados positivos en tres series consecutivas [31].