

DETERMINACION DE COLIFAGOS EN LODOS RESIDUALES TRATADOS ALCALINAMENTE

María Andrea Olivares Luna¹, Fernando López Valdez¹ y Minerva Rosas Morales¹

Centro de Investigaciones en Biotecnología Aplicada, IPN, Carr. Est. Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, s/n. Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala. 90700, México
andyluna1819@hotmail.com, flopez2072@yahoo.com.

RESUMEN

Los lodos residuales son residuos que se caracterizan por su alto contenido en materia orgánica, así como minerales que pueden ser benéficos para el crecimiento y desarrollo de las plantas, además estos lodos pueden tener aplicación como mejoradores del suelo. Su uso está condicionado por la presencia de organismos patógenos en estos residuos. Su aplicación al suelo agrícola debe ser después de su proceso de estabilización, debido a su alto contenido de microorganismos patógenos que pueden representar un peligro para la salud. La concentración de los colifagos en los lodos residuales puede alcanzar hasta 7.3×10^8 UFP g^{-1} ST, superando los límites establecidos por la United States Environmental Protection Agency (USEPA) para su aplicación en suelos agrícolas sin restricción. El objetivo de este trabajo fue evaluar el tratamiento alcalino en la inactivación de los colifagos presentes en lodos residuales. Se monitoreo la concentración de virus colifagos durante 15 y 45 días en dos temporadas (cálida y fría). Los resultados obtenidos mostraron que el óxido de calcio al 10% elevó el pH a 12 al momento de contacto. El tratamiento alcalino fue significativamente diferente comparado con el tratamiento sin alcalinizar.

Palabras Clave: Lodos residuales, Inactivación de colifagos, Tratamiento alcalino

1. INTRODUCCIÓN

Los lodos residuales son desechos que se caracterizan por su alto contenido en materia orgánica, particularmente nitrógeno mineral y orgánico, así como minerales que pueden ser benéficos para el crecimiento y desarrollo de las plantas, además estos lodos pueden tener aplicación como mejoradores del suelo. La aplicación de lodos residuales en la agricultura es una práctica recomendable para reutilizar los nutrimentos y la materia orgánica presentes en este subproducto de las plantas de tratamiento de aguas residuales [United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1989; Outwater, 1994; Figueroa *et al.*, 2002]. En México, el volumen de aguas residuales es de 187 m³/s, y sólo el 22% recibe algún tipo de tratamiento, lo cual produce 640,000 ton base seca de lodos al año (CONAGUA, 2000); por otra parte, 63% del territorio nacional (1.2 millones de km²) es suelo que representa erosión desde moderada a severa. Algunas ciudades como, Monterrey, Ciudad Juárez y Toluca ya han empezado a reutilizar sus lodos sobre todo como mejoradores de suelo (Barrios y Jiménez, 2001); sin embargo su aplicación al suelo agrícola debe ser después de su proceso de estabilización, debido a su alto contenido de microorganismos patógenos que pueden representar un peligro para la salud, esto limita su aplicación directa al

suelo implicando un alto riesgo sanitario para los cultivos destinados a consumo humano. Los virus entéricos son de particular importancia con respecto a la aplicación de lodos residuales en el suelo, debido a la lixiviación que involucra el movimiento viral a través del suelo hacia acuíferos subterráneos (Bean, 2007).

Los bacteriófagos están normalmente presentes en las aguas residuales y como resultado, se acumulan en la materia orgánica (lodos residuales) por efecto de la precipitación-floculación. Los colifagos son virus que infectan a las bacterias coliformes, son representativos de los virus derivados por vía fecal. Se han considerado como organismos indicadores útiles para evaluar la eficacia de tecnologías de tratamiento para eliminar los virus enteropatógenos humanos potenciales (por ejemplo, rotavirus y calicivirus). Debido a su importancia como organismo indicador la inactivación de los virus ha sido estudiada en un número limitado de casos. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar el tratamiento alcalino en la inactivación de los colifagos presentes en lodos residuales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las muestras de lodos residuales se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas residuales RECICLAGUA, S.A de C.V. (Lerma, Estado de México). Se muestrearon seis kilogramos de lodos residuales asépticamente en bolsas de plástico después de pasar por el filtro de banda, y fueron almacenados en refrigeración a 4 °C, para su caracterización. Se determinaron las concentraciones iniciales de colifagos en unidades formadoras de placas (UFP).

Cuantificación de colifagos

Se utilizó el Método de dos capas de agar de acuerdo a la APHA, AWWA, WPCF (1995). Los colifagos se determinaron utilizando el método de capa doble de agar, este cuantifica el número de placas líticas por factor de dilución, que corresponde al total de colifagos en la muestra; se utilizó *Escherichia coli* como hospedero en un medio de agar bacteriológico suave. El agar suave solidifica sobre una primera capa de agar nutritivo y se incubó a 37 °C por un período de 12 a 16 h.

Tratamiento

Se realizaron dos experimentos por duplicado, el primero se estableció durante el mes de diciembre (temporada fría) y el segundo, durante el mes de marzo (temporada cálida). Se realizaron dos tratamientos, uno alcalino (CaO, al 10% m/m) y el tratamiento control (sin CaO), bajo condiciones de invernadero. Se colocó 1 kg de lodos residuales en recipientes de plástico (de 0.30 x 0.25 x 0.12 m) y se agregaron 100 g de CaO. En el primer experimento, el periodo de exposición al tratamiento fue de 15 días, en el segundo experimento fue de 45 días, considerando el día de aplicación como el día 0. La cuantificación de los colifagos se realizó a los 0, 5 y 15 días para la temporada fría; y a los 0, 5, 10, 15, 30, y 45 días para la temporada cálida. Además, se determinó el pH y la temperatura durante el tratamiento.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA usando la prueba LSD, con un nivel de significancia de 0.05. El análisis se realizó utilizando el paquete SAS versión 9.0.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características fisicoquímicas de los lodos residuales se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Caracterización de los lodos residuales

Características Fisicoquímicas	
pH	8.1
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	11.04
Contenido de agua (g kg ⁻¹)	853
Nitrógeno total (g kg ⁻¹)	69.02

La concentración promedio inicial para colifagos fue de 7.26×10^8 UFP g^{-1} ST. De acuerdo a los resultados, los lodos residuales presentaron características microbiológicas (clase B) según los límites establecidos por la USEPA (2003), por lo que el lodo presenta restricciones para su aplicación a suelos agrícolas, lo cual indica la importancia de implementar una tecnología que permita la reducción de estos organismos patógenos y de esta manera poder aprovechar los lodos residuales sin riesgos para el ambiente.

Se realizaron dos tratamientos uno adicionado con álcali (CaO) y el tratamiento control. La adición del álcali aumentó la temperatura de los lodos residuales, registrándose $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la temporada fría y $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la temporada cálida, durante la primera hora de contacto. Posteriormente, disminuyó la temperatura a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temporada fría) y $31\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temporada cálida), permaneciendo constante a partir de las tres horas posteriores a la adición del CaO, para ambas temporadas. En el tratamiento alcalino, se elevó el pH del lodo a 12 unidades al momento del contacto con el óxido de calcio y permaneció por encima de este valor por 72 horas, independientemente de la temporada fría o cálida. El incremento del pH fue el principal factor relacionado con la reducción de los colifagos. La temperatura alcanzada por la adición del óxido de calcio no tuvo efecto sobre los virus, debido a que se encuentra en niveles tolerables por los colifagos y/o su bacteria huésped.

Los resultados en la reducción de los bacteriófagos durante el tiempo de exposición se observan en las figuras 1 y 2.

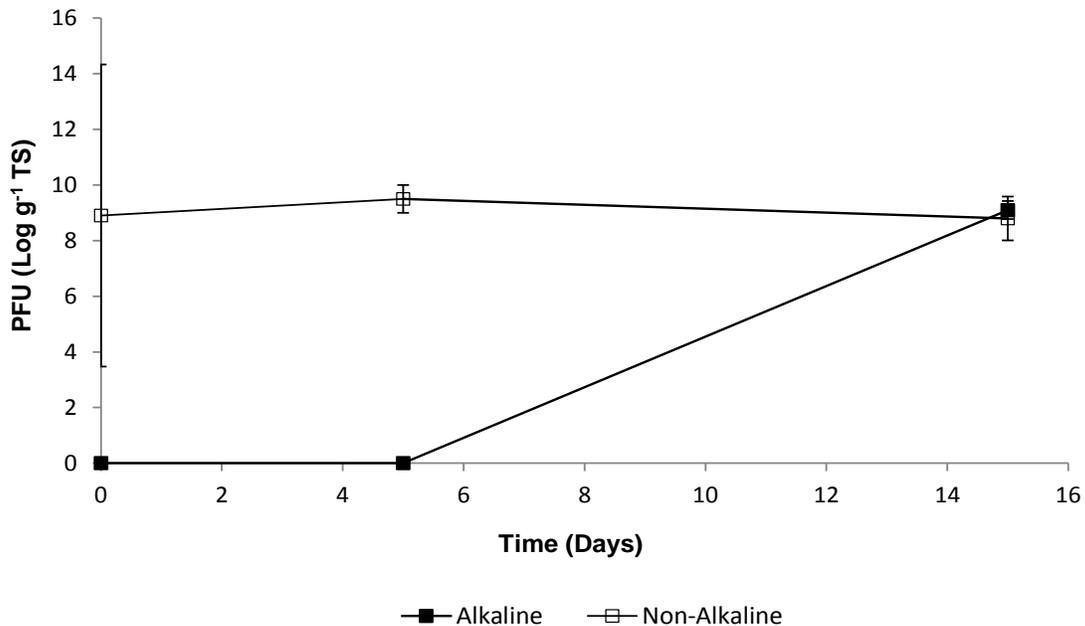


Figura 1. Inactivación de colifagos durante la temporada fría

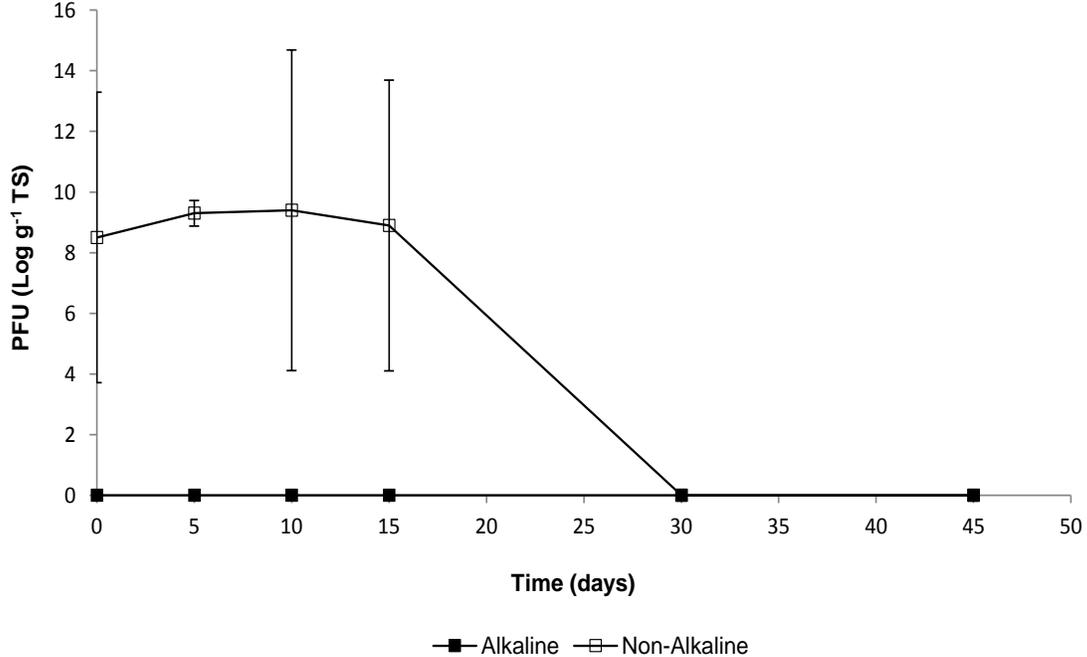


Figura 2. Inactivación de colifagos durante la temporada cálida

La utilización del óxido de calcio afectó considerablemente las poblaciones de colifagos las cuales disminuyeron a niveles no detectables, logrando la obtención de un lodo de “clase A” a partir del día 0 de contacto en ambas temporadas. En el segundo experimento, el lodo se mantuvo estable durante los 45 días de experimentación. Sin embargo, durante la temporada fría, el efecto persistió solamente hasta aproximadamente 8 días. Para el día 15 se observó un aumento en la cuenta e incluso mayor que la cuenta inicial. El aumento de la cuenta de bacteriófagos en el tratamiento alcalino es debido a que se presentaron condiciones de temperatura y contenido de agua, de 33°C y 14.6% favorables para la re-población de colifagos.

Si bien es cierto que la adición del álcali es el principal factor de reducción de la cuenta virus, el aumento puede estar directamente relacionado con la temperatura, el contenido de agua y la posible disminución del pH a lo largo del experimento, dado existen las condiciones favorables para el crecimiento de bacterias coliformes (huésped) que pueden multiplicarse incluso durante el tratamiento con cal a pH 9.6 (Grabow, 1978).

Por otro lado, se observa una relación entre la disminución de bacteriófagos y el aumento de la temperatura ambiental, dado que en la temporada fría se alcanzaron temperaturas máximas de 33 °C, en donde no se observaron diferencias significativas durante el experimento, mientras que en la temporada cálida se alcanzaron los 55 °C, manteniéndose entre los 50 °C y 55 °C. En el tratamiento no alcalino, el día 10 es significativamente diferente con respecto a los otros días (Cuadro 2), en donde se observa un aumento en la cuenta del día 0 al 5, alcanzando un máximo a los 10 días y disminuyendo significativamente para el día 30 ($p < 0.05$).

Cuadro 3. Comportamiento de la cuenta viral en el tratamiento alcalino y el control durante la temporada cálida.

DIA	ALCALINO	NO ALCALINO	LSD
	VIRUS / UFP g ⁻¹ ST		
0	0.1 A ^a a ^b	484,444,445 BC a	5.93x10 ⁸
5	0.1 A b	2,458,888,889 AB a	2.08x10 ⁹
10	0.1 A b	4,803,333,333 A a	3.63x10 ⁹
15	0.1 A a	581,666,667 BC a	7.42x10 ⁸
30	0.1 A b	0.1 C a	0
45	0.1 A b	0.1 C a	0
LSD	0 0	2.36x10 ⁹	

^a Valores con la misma letra mayúscula no tienen diferencia significativa sobre el tiempo,

^b Valores con la misma letra no tienen diferencia significativa entre tratamientos.

4. CONCLUSIONES

El tratamiento alcalino fue significativamente diferente comparado con el tratamiento sin alcalinizar. Aunque los colifagos se incrementaron a los 5 días durante la temporada fría en el tratamiento alcalinizado debido a que las bacterias sobrevivieron adaptándose a las condiciones alcalinas, lo que indica que a concentraciones de 60% de alcalinizante puede o no haber reducción de colifagos, esta reducción no solo dependerá de la alcalinización del medio; sino también de otros factores como el pH, y la temperatura del medio ambiente. Estos tres factores en conjunto son determinantes para la reducción de colifagos.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA. AWWA, WPCF. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, D.C.
2. Barrios, J. A., A. Rodríguez, A. González, B. Jiménez, and C. Maya. 2001. Quality of sludge generated in wastewater treatment plants in Mexico: meeting the proposed regulation. pp. 54-61. *In: Specialized Conference on Sludge Management: Regulation, Treatment, Utilization and Disposal.* International Water Association (IWA)-Universidad Nacional Autónoma de México-Universidad Autónoma Metropolitana. Acapulco, México.
3. Bean, C.L., J. J. Hansen, A. B. Margolin, H. Balkin, G. Batzer and G. Widmer. 2007. Class B Alkaline Stabilization to Achieve Pathogen Inactivation. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 4(1), 53-60
4. Figueroa V., U., M. A. Flores O. y M. Palomo. 2002. Uso de biosólidos en suelos agrícolas. Folleto Técnico 3. Campo Experimental Valle de Juárez-Centro de Investigación Regional
5. Grabow, W.O.K., I.G. Middendorff and N.C. Basson. 1978. Role of lime treatment in the removal of bacteria, enteric viruses, and coliphages in a wastewater reclamation plant. *Applied and Environmental Microbiology.* 35 (4): 663-669.
6. Outwater, A. B. 1994. Reuse of sludge and minor wastewater residuals. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA.
7. United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2003. Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge under 40 CFR part 503. Office of Water/Office Science and Technology Sludge/ Risk Assessment Branch. Washington. 173 p.
8. United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1989. Environmental regulations and technology. Use and disposal of municipal wastewater sludge. EPA625/10-84-003. Washington, DC, USA.