



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

---

Facultad de Ciencias Químicas  
Departamento de Química Analítica

“Evaluación de un proceso de biorremediación de lodos  
urbanos y agroindustriales”

TESIS

Para obtener el título de licenciatura en

**Químico Farmacobiólogo**

Presenta

**Manuel Antonio Ramos Del Carmen**

Director de tesis

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez

Asesora

Dra. Laura Morales Lara



Marzo 2019

## Dedicatoria

A **mi mamá** muchas gracias por todo tu amor, tu cuidado, tu esfuerzo, dedicación durante toda mi vida, gracias por todo tu apoyo durante mi educación básica y universitaria, por dar más de lo que podías dar para mí, las palabras expresadas en este escrito no bastarían para hacerte saber que tan agradecido estoy con la vida y con dios por tener una madre tan maravillosa como tú. ¡Este triunfo es nuestro!

A **mi abuelita** sé que por tus padecimientos actuales no podrás leer esta dedicatoria y si te la leyeran probablemente no podrás entender el porqué de este escrito, solo quiero decirte que gracias por todo tu amor, tu apoyo, tu paciencia, por ser la mejor abuela del mundo, tan tierna y alegre conmigo, por la fuerza que tomaste al enterarte que me iría a Puebla a estudiar, a pesar de que ya no estés muy consciente de las cosas quiero darte las gracias por estar siempre para mí. Te extraño, te quiero mucho, gracias por todo mi abuelita linda.

A **mi novia** muchas gracias por todo tu amor, apoyo y comprensión durante nuestra etapa universitaria, durante la realización de esta tesis, por darme la paz y la tranquilidad cuando llegaban a mí momentos de frustración y desesperación, por estar ahí conmigo y nunca dejar que me diera por vencido, por ser mi compañera de batallas, gracias por todo esto mi amor, por ser esa luz brillante en la oscuridad. ¡Te amo!

A **mis amigos** gracias a todos y cada uno de ustedes por todas las risas, los bellos momentos que pasamos, por su apoyo cuando más lo necesitaba, quiero que sepan que siempre van a contar conmigo, estén donde estén, nunca los voy a olvidar, siempre estarán en mi corazón.

## Agradecimiento

A las empresas **Química Industrial Olympus S. A. de C. V. y Némesis Asesores Ambientales S. C.** por permitirme formar parte de este magnífico proyecto.

Al **Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología** por permitirme realizar los análisis de metales pesados, micronutrientes y boro dentro de sus instalaciones.

Al **Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas ICUAP** por permitirme analizar las muestras dentro de sus instalaciones.

Al **Centro de investigaciones en Dispositivos Semiconductores ICUAP** por permitirme realizar el análisis de azufre por WDXRF.

Al **Departamento de microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas BUAP** por permitirme realizar los análisis microbiológicos en el laboratorio de inocuidad microbiana.

## Resumen

En Puebla existe la problemática de los residuos sólidos de origen urbano y agroindustrial que no presentan algún tratamiento de estabilización y gracias a eso se convierten en problemas ambientales que dañan, el suelo, agua e inclusive la atmosfera, por lo cual las empresas poblanas Química industrial Olympus S. A. de C. V. y Némesis asesores Ambientales S. C. desarrollaron un proceso de biorremediación de lodos urbanos y agroindustriales, con el objetivo de obtener un producto nacional, efectivo, inocuo y económico para la renovación de suelos agrícolas desgastados. Por lo que en este trabajo se planteó realizar una evaluación fisicoquímica y microbiológica tanto a los residuos como al producto terminado desarrollado por la empresa. El análisis microbiológico se realizó semanalmente, con el objetivo de monitorear distintas etapas del proceso. La información generada fue de gran utilidad para evidenciar la seguridad sanitaria del material obtenido, así como los alcances y/o limitaciones con respecto a la concentración de nutrientes y de metales pesados, respecto a su posible uso.

El análisis fisicoquímico mostró una concentración por debajo de los límites permisibles de la normativa mexicana ambiental en el apartado de metales pesados como Pb, Ni, Cd, As y Cr, el lodo biorremediado presentó un pH ligeramente ácido, concentraciones considerablemente buenas de micronutrientes como Fe, Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K, que si bien no hay norma que evalúe este parámetro, estas concentraciones no afectarán el uso al que se destinará el producto obtenido de la biorremediación, los valores de P, B y S se encuentran dentro de la clasificación de la normativa, sin embargo el valor de Nitrógeno resulto ser bajo para lo que se esperaba. Con respecto a la materia orgánica, punto de marchitez permanente y la clase textural, se sugiere que el producto obtenido puede ser eficiente para su manipulación en el campo, y favorecer el cultivo de plantas.

El estudio microbiológico mostró que la carga microbiana con respecto a coliformes fecales fue muy alta al principio del proceso de biorremediación, y conforme el proceso fue avanzando, la carga microbiana disminuyó hasta llegar a valores seguros para la manipulación de estos residuos. El seguimiento microbiológico de patógenos (*Salmonella* spp. y huevos de Helminto) mostró la ausencia de *Salmonella* spp. en todas las muestras evaluadas, mientras que los huevos de Helminto se encontraron dentro de los parámetros establecidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002, por lo que su concentración resulta segura para uso agrícola.

En conclusión, los lodos agroindustriales y urbanos seleccionados por la empresa para el proceso de biorremediación son microbiológica y fisicoquímicamente seguros de acuerdo a la normativa mexicana ambiental vigente, al igual que el producto final del proceso, de la misma forma se evidenció que el proceso de biorremediación mejora las propiedades físicas y

texturales de los lodos sometidos al proceso, por otro lado, es importante considerar la baja concentración de Nitrógeno si el producto fuera aplicado a un suelo deficiente en este elemento.

# Índice

Índice de acrónimos	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vii
1 Introducción	1
1.1 Biorremediación	1
1.2 Ventajas de las técnicas de biorremediación	5
1.3 Utilización de residuos agroindustriales	6
1.4 Normativa y tecnologías de biorremediación en México	7
1.5 Técnica de composteo como estrategia para procesos de biorremediación	10
1.5.1 Biopilas	12
2 Hipótesis	15
3 Objetivos	15
3.1 General	15
3.2 Específicos	15
4 Diagrama de trabajo	16
5 Metodología	17
5.1 Área de estudio	17
5.2 Muestras	17
5.3 Transporte de la muestra	17
5.4 Determinación de bacterias coliformes fecales por la técnica del número más probable (N.M.P.)	18
5.4.1 Procedimiento	18
5.5 Investigación de <i>Salmonella</i> spp	19
5.5.1 Procedimiento	19
5.6 Huevos de helminto	19
5.6.1 Procedimiento	19
5.7 Análisis de pH	20
5.7.1 Procedimiento	20
5.8 Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos	20
5.8.1 Procedimiento	20

5.9	Punto de marchitez permanente	21
5.9.1	Procedimiento	21
5.10	Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición.	21
5.10.1	Procedimiento	21
5.11	Análisis de metales pesados, micronutrientes y boro por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)	22
5.11.1	Procedimiento	22
5.12	Análisis de porcentaje de nitrógeno.	23
5.12.1	Procedimiento	23
	Cálculos	24
5.13	Determinación de fósforo	24
5.13.1	Procedimiento	24
5.14	Determinación de azufre por WDXRF	25
5.14.1	Procedimiento	25
5.15	Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.	26
5.15.1	Procedimiento	26
6	Discusión de resultados	27
6.1	Evaluación microbiológica de los lodos agroindustriales (Coliformes fecales, <i>Salmonella</i> spp. y huevos de helminto)	27
6.2	Evaluación fisicoquímica de los lodos agroindustriales	30
6.2.1	Análisis de pH	30
6.2.2	Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos	31
6.2.3	Análisis de punto de marchitez permanente	32
6.2.4	Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición.	34
6.2.5	Análisis de metales pesados por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)	35
6.2.6	Análisis de micronutrientes por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)	38
6.2.7	Determinación total de boro por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica).	40
6.2.8	Análisis de porcentaje de nitrógeno.	41
6.2.9	Determinación de fósforo	42
6.2.10	Determinación de azufre por XRF	43
6.2.11	Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.	43

7	Conclusión	46
8	Sugerencias	46
9	Bibliografía	47
10	Anexo 1: Tablas de resultados de análisis fisicoquímico y microbiológico	51
11	Anexo 2: Fundamento de las técnicas fisicoquímicas y microbiológicas usadas	56
11.1	Número más probable.	56
11.2	Investigación de <i>Salmonella spp.</i>	56
11.3	Huevos de Helminto	56
11.4	Análisis de pH	56
11.5	Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos	56
11.6	Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición	57
11.7	ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)	57
11.8	Determinación de nitrógeno por el procedimiento de micro Kjeldahl.	57
11.9	Determinación de fósforo por el procedimiento de Bray y Kurtz 1	57
11.10	Determinación de azufre por WDXRF	58
11.11	Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.	58

## Índice de acrónimos

DOF	Diario Oficial de la Federación
EC-MUG	<i>Escherichia coli</i> 4-Metilumbeliferil- $\beta$ -D-Glucurónido
ICP-OES	Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica
N.M.P.	Número más probable
NOM	Norma Oficial Mexicana
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
WDXRF	Fluorescencia de Rayos X de Longitud de Onda Dispersiva
XLD	Xilosa, lisina, desoxicolato

## Índice de tablas

Tabla	Descripción
1	Número más probable (NMP) por gramo de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0,1; 0,01 y 0,001g
2	Resultados y clasificación de las muestras a partir del análisis de pH
3	Límites de pH que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.
4	Resultados y clasificación del análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.
5	Resultados y clasificación del porcentaje de materia orgánica de las muestras determinadas por el método de pérdida por ignición
6	Valores de referencia de porcentaje de materia orgánica que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.
7	Tabla recreada del Servicio Geológico Mexicano. Parámetros estadísticos de los elementos indicadores de la mineralización de la carta San Francisco Totimehuacán E14-B52, los elementos en p.p.m. con excepción de Fe que está en porcentaje.
8	Clasificación de las muestras de acuerdo con su concentración de metales pesados basado en los “límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos” de la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.
9	Tabla recreada de la curva de calibración de Zn del equipo ICP-OES del Centro Universitario de Vinculación y transferencia de Tecnología (CUVyTT – BUAP)
10	Resultados y clasificación de las muestras analizadas por ICP-OES para la cuantificación total de boro
11	Valores de referencia de boro disponible que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.
12	Resultados y clasificación de las muestras a partir del análisis de porcentaje de nitrógeno, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.
13	Valores de referencia de porcentaje de nitrógeno que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.
14	Resultados y clasificación de las muestras con base en la determinación de fósforo, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.
15	Valores de referencia de concentración de fósforo que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.
16	Resultados de la determinación de porcentaje de azufre de las muestras analizadas por XRF
17	Referencias bibliográficas de porcentajes de azufre obtenidas en varios suelos de América latina
18	Resultados y clasificación de las muestras obtenidos del análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida, que corresponden al método AS-29 de la NOM-021-SEMARNAT-2000.
19	Valores de referencia de porcentaje de CaCO <sub>3</sub> que corresponden al método AS-29 de la NOM-021-SEMARNAT-2000.
20	Tabla de resultados de análisis del lodo biorremediado con la clasificación de cada parámetro evaluado de acuerdo con la normatividad ambiental mexicana vigente.
21	Descripción de colonias típicas de <i>Salmonella spp.</i> en el agar verde brillante, sulfito de bismuto y XLD
22	Descripción positiva al crecimiento y vire de <i>Salmonella spp.</i> en los tubos con TSI, LIA y MIO

- 23 Resultados de la determinación de bacterias coliformes fecales por la técnica del número más probable
- 24 Resultados de la investigación de *Salmonella spp.*
- 25 Resultados del Número de Huevos de Helmintos
- 26 Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 (N.O.M., 2003).
- 27 Aprovechamiento de biosólidos de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 (N.O.M., 2003).
- 28 Resultados de la cuantificación total de metales pesados por la técnica de ICP-OES y “límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos” de la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.
- 29 Resultados de la cuantificación total de micronutrientes por la técnica de ICP-OES
- 30 Límites máximos permisibles de hierro y manganeso que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

## Índice de figuras

Figura	Descripción
1	Tratamiento de aguas residuales
2	Biodegradación aeróbica
3	Estrategias de biorremediación <i>ex situ</i> para la limpieza del terreno
4	Tecnologías de remediación para suelos utilizadas en México por empresas autorizadas
5	Representación esquemática de un sistema de biopilas alargadas.
6	Representación esquemática de un sistema de biopilas estáticas.
7	Ejemplo de remoción de materia orgánica y perfiles de temperatura durante el proceso de composteo
8	Evaluación del N.M.P. de coliformes fecales desarrollado en el proceso de biorremediación.
9	Grafico del análisis de <i>Salmonella spp.</i> durante todo el proceso de biorremediación.
10	Grafico del análisis de huevos de helminto durante el proceso de biorremediación.
11	Triángulo de clases texturales.
12	Resultados del cálculo del punto de marchitez permanente.
13	Resultados de la cuantificación total de metales pesados por la técnica de ICP-OES
14	Recreación del grafico de la curva de calibración de Zn del equipo ICP-OES del Centro Universitario de Vinculación y transferencia de Tecnología (CUVyTT – BUAP)
15	Resultados de la cuantificación total de micronutrientes por la técnica de ICP-OES

# 1 Introducción

## 1.1 Biorremediación

En la actualidad vivimos en un mundo industrializado en el que gracias esto podemos obtener productos que hacen de nuestra vida algo mucho más cómodo, ya que nos facilitan varias tareas de nuestra vida, sin duda alguna el avance tecnológico-industrial nos ha brindado mucha comodidad, sin embargo este mismo avance ha provocado un aumento en la contaminación del planeta, ya que los residuos que las industrias obtuvieron al generar su producto ocasiona daños al ambiente contaminando, ríos, lagos, suelo o el aire, estos daños al ambiente repercuten en la salud de todos los seres vivos y es por ello que en los últimos años se han hecho campañas de concientización sobre la contaminación ambiental a la población y varias empresas han tomado la iniciativa de utilizar productos reciclados para la disminución de la contaminación, así también surgió la biorremediación como principal alternativa para la combatir la contaminación. La biorremediación es el proceso en el cual se utilizan organismos vivos, ya sea microorganismos, hongos o plantas, para limpiar las zonas contaminadas por la industria.

A continuación, se dará la descripción de conceptos y los procesos de biorremediación, las ventajas de la remediación biológica sobre los métodos físicos y químicos, la normativa mexicana sobre estos métodos y como se está realizando estos procesos de biorremediación en México.

La biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (fundamentalmente bacterias, pero también hongos y levaduras) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, y, por tanto, se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas (Glaser & Nikaido, 2007).

La biorremediación no es una aplicación nueva. Los humanos han confiado en los procesos biológicos para reducir los desechos durante miles de años. El ejemplo más simple de biorremediación es el del retrete situado fuera de la casa que depende de los microbios naturales que están en la tierra para degradar los desechos humanos. Del mismo modo, las

plantas de tratamiento de aguas residuales han utilizado microbios para degradar desechos humanos durante décadas (Figura 1) (Thieman & Palladino, 2010).

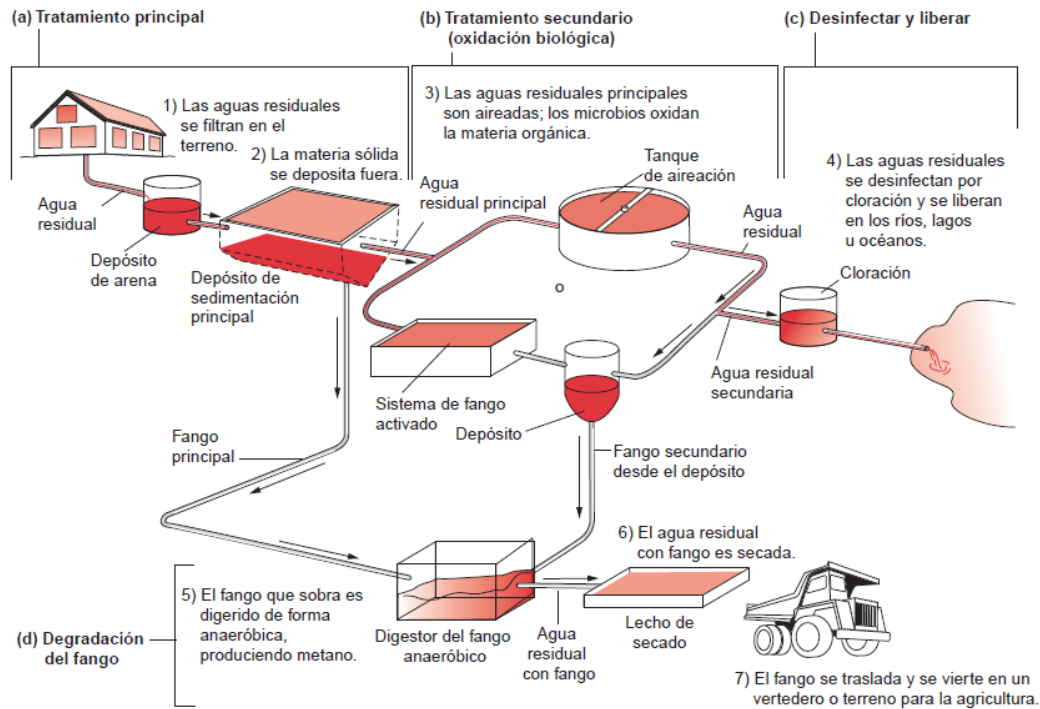


Figura 1. Tratamiento de aguas residuales (Thieman & Palladino, 2010)

El aprovechamiento de lo que hacen muchos microorganismos es sólo un aspecto de la biorremediación. Un objetivo clave de la biorremediación es mejorar los mecanismos naturales y aumentar la velocidad de la biodegradación para acelerar los procedimientos de limpieza (Thieman & Palladino, 2010).

Los procesos biológicos que involucran enzimas como catalizadores, pueden modificar moléculas orgánicas produciendo cambios en su estructura, así como en sus propiedades toxicológicas, incluso dar como resultado la completa conversión de dichos compuestos en productos inorgánicos como agua, CO<sub>2</sub> o formas inorgánicas de N, P y S, además de componentes celulares y productos de las rutas metabólicas (mineralización) (Eweis, Schroeder, Chang, & Ergas, 1998; Velasco & Volke Sepulveda, 1997)

Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia (Sánchez & Rodríguez, 2010):

Sólido: con aplicaciones sobre medios contaminados como suelos o sedimentos, o bien directamente en lodos, residuos, etc.

Líquido: aguas superficiales y subterráneas, aguas residuales.

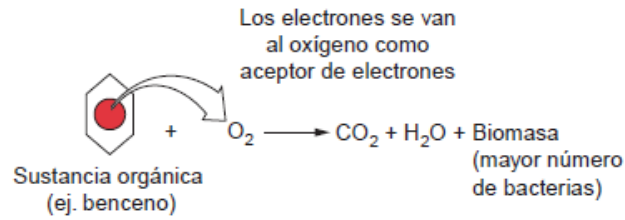
Gases: emisiones industriales, así como productos derivados del tratamiento de aguas o suelos.

También se puede realizar una clasificación en función de los contaminantes con los que se puede trabajar (Eweis et al., 1998; Velasco & Volke Sepulveda, 1997):

- ✓ Hidrocarburos de todo tipo: alifáticos, aromáticos, BTEX, PAHs, etc.
- ✓ Hidrocarburos clorados: PCBs, TCE, PCE, pesticidas, herbicidas, etc.
- ✓ Compuestos nitroaromáticos: TNT, entre otros.
- ✓ Metales pesados: Estos no se metabolizan por los microorganismos de manera apreciable, pero pueden ser inmovilizados o precipitados.
- ✓ Otros contaminantes: Compuestos organofosforados, cianuros, fenoles, etc.

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio (autóctonos) o ajenos a éste (exógenos), y llevarse a cabo en condiciones aerobias o anaerobias (Figura 2.). Al igual que otras tecnologías de remediación, la biorremediación puede realizarse en el mismo sitio sin necesidad de excavar el material contaminado (*in situ*), o bien excavándolo para tratarlo en el sitio (*on site*) o fuera de él (*ex situ*)(Figura3) (Eweis et al., 1998).

**Biodegradación aeróbica**



**Biodegradación aeróbica**

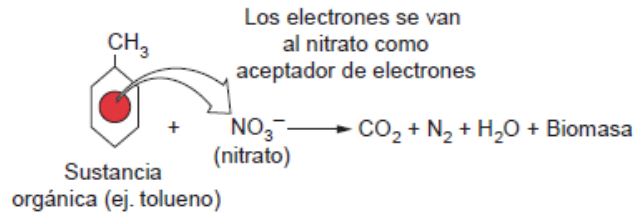


Figura 2. Biodegradación aeróbica (Thieman & Palladino, 2010)

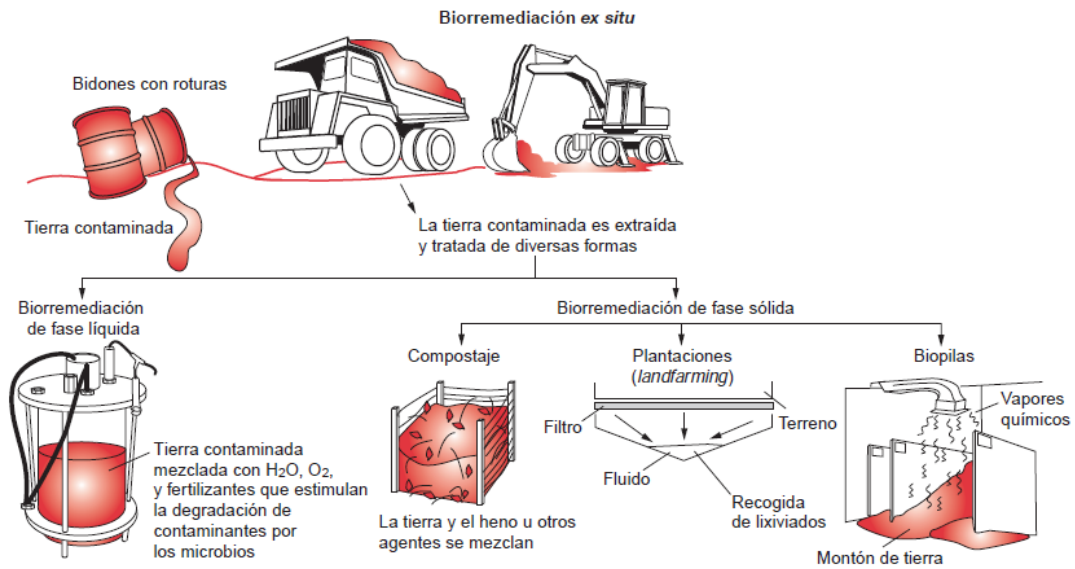


Figura 3. Estrategias de biorremediación ex situ para la limpieza del terreno (Thieman & Palladino, 2010)

## 1.2 Ventajas de las técnicas de biorremediación

El uso de tecnologías de biorremediación para el tratamiento de sitios contaminados es relativamente reciente y presenta varias ventajas respecto de los métodos fisicoquímicos tradicionales (Eweis et al., 1998):

- Mientras que los tratamientos físicos y buena parte de los químicos están basados en transferir la contaminación entre medios gaseoso, líquido y sólido, en la biorremediación se transfiere poca contaminación de un medio a otro (Sánchez & Rodríguez, 2010).
- Es una tecnología poco intrusiva en el medio y generalmente no requiere componentes estructurales o mecánicos dignos de destacar (Sánchez & Rodríguez, 2010).
- Comparativamente, es económica y, al tratarse de un proceso natural, suele tener aceptación por parte de la opinión pública (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).
- Es un tratamiento seguro con un mínimo de riesgos a la salud (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).
- Es tecnológicamente efectivo (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

La aceptación de la biorremediación como una estrategia de limpieza viable depende, en muchos casos, de sus costos. Es decir, cuando el método biológico propuesto es menos costoso que los tratamientos físicos y químicos viables para el tratamiento de un sitio y de un contaminante en particular. Asimismo, muchas de las estrategias de biorremediación son competitivas en términos de costos y eficiencia sobre una matriz contaminada (Semple, Reid, & Fermor, 2001). Entre las tecnologías de biorremediación más comunes, se encuentran las siguientes:

- (i) Bioestimulación. Implica la adición de oxígeno y/o nutrientes al suelo contaminado con el fin de estimular la actividad de los microorganismos autóctonos y con ello la biodegradación de los contaminantes (Van Deuren; J.; Z. Wang y J. Ledbetter, 1997).
- (ii) Bioaumentación. Consiste en la adición de microorganismos vivos que tienen la capacidad de degradar el contaminante en cuestión y así promover su biodegradación o biotransformación (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

- (iii) Biolabranza. El suelo contaminado se mezcla con agentes de volumen y nutrientes, y se remueve (labra) periódicamente para favorecer su aireación. Durante la biolabranza, el suelo contaminado se mezcla con suelo limpio (Van Deuren; J.; Z. Wang y J. Ledbetter, 1997).
- (iv) Bioventeo. Consiste en estimular la biodegradación aerobia de un contaminante por medio del suministro de aire en el sitio contaminado (Van Deuren; J.; Z. Wang y J. Ledbetter, 1997).
- (v) Fitorremediación. Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos o sedimentos (Van Deuren; J.; Z. Wang y J. Ledbetter, 1997).
- (vi) Biorreactores. Es la tecnología más adecuada para casos en que los peligros potenciales de descargas y emisiones sean serios. Permite la combinación controlada y eficiente de procesos químicos, físicos y biológicos, que mejoran y aceleran la biodegradación (Velasco & Volke Sepulveda, 1997)
- (vii) Biodegradación en fase sólida. Este tipo de tecnología generalmente se lleva a cabo ex situ, e incluye el composteo, las pilas estáticas y las pilas alargadas (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

### 1.3 Utilización de residuos agroindustriales

En la década de los años 70, una parte importante de los biotecnólogos de todo el mundo enfocaron sus investigaciones hacia la utilización y aprovechamiento de los residuos agroindustriales para la producción de compuestos útiles como insumos de otros procesos industriales; en los primeros años la prioridad se enfocó en la generación de productos con valor agregado, años más tarde se sumó la prioridad de utilizar los residuos para reducir el impacto ambiental que ocasiona su disposición, y a partir del presente siglo la prioridad está enfocada a la producción de bioenergéticos y en la elaboración de nuevas formulaciones de alimentos para animales (Saval, 2012).

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico de interés comercial y/o social. El problema al que se enfrentan los residuos agroindustriales es que no existe una

clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos, que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final (Saval, 2012).

Generalmente los lodos(residuos) son incinerados o se disponen como relleno sanitario sin una especificación en cuanto al contenido de microorganismos patógenos y compuestos o elementos químicos tóxicos, por lo que la contaminación cambia del agua, al aire y al suelo, finalmente (Moreno, Colín, & Gomeztagle, 2000).

Las características de los residuos agroindustriales son muy variadas, dependen de la materia prima y del proceso que los generó, no obstante, comparten una característica principal que es el contenido de materia orgánica, por ser la materia orgánica su principal componente, en la práctica se les denomina “residuos orgánicos”, dentro de este rubro se incluyen otros residuos, como los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, la hojarasca de parques y jardines, así como los residuos domésticos y residuos sólidos municipales (Saval, 2012).

Por su base orgánica, el lodo residual a diferencia de los fertilizantes químicos ofrece la posibilidad de mejorar los suelos a largo plazo así como también resulta interesante su aplicación en siembras de arbustos, flores y en céspedes nuevos o ya sembrados (Tadesse, Shuford, Taylor, Adriano, & Sajwan, 1991) (Couillard & Zhu, 1992).

#### 1.4 Normativa y tecnologías de biorremediación en México

En el mundo, la utilización de los lodos residuales va en ascenso pues existen varias alternativas como son la recuperación de los aditivos mediante un proceso de coagulación o para mejorar las propiedades del suelo, ya que se puede reemplazar parcialmente el uso de fertilizantes comerciales, además de favorecer la asimilación de nutrientes incrementando la retención de agua. Estos procesos son una alternativa tanto económica como ecológica que pueden generar grandes beneficios y contribuir en gran medida al saneamiento del entorno, ayudando así a disminuir los efectos nocivos que estos lodos producen al ser dispuestos a la intemperie (Mujica F, Pérez, Ledezma, & Ortega, 2009).

En el mercado ambiental de nuestro país existe actualmente una cantidad considerable de empresas nacionales e internacionales que ofrecen diferentes tipos de tecnologías para la remediación de sitios contaminados. Asimismo, con el propósito de establecer un control acerca del uso de tecnologías de biorremediación y conocer con mayor precisión sus posibilidades reales de éxito, en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México el 18 de agosto de 1997 inició la aplicación obligatoria de la Licencia Ambiental Única (LAU) para todas aquellas empresas que realizan trabajos de remediación de suelos (Velasco & Volke Sepulveda, 1997). De conformidad con el acuerdo sectorial publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF) del 11 de abril de 1997.

Posteriormente, el acuerdo delegatorio respectivo en el DOF del 3 de diciembre de 1998 (D.O.F., 1998) y a partir del 4 de enero de 1999 la LAU es emitida por las delegaciones federales de la SEMARNAT en los estados de Aguascalientes, Baja California, Coahuila, Chihuahua, México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz. Y para el resto de los estados, el trámite de la licencia está centralizado (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

De acuerdo con datos proporcionados por 40 empresas autorizadas para remediar suelos contaminados por diferentes tipos de contaminantes, dentro de las tecnologías más comúnmente empleadas se encuentran las biológicas (biorremediación, con 48%), siendo las más utilizadas el composteo y la biolabranza (Figura 4.). El lavado de suelos, la oxidación química y la separación física constituyen otra parte importante de las tecnologías más empleadas en México (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

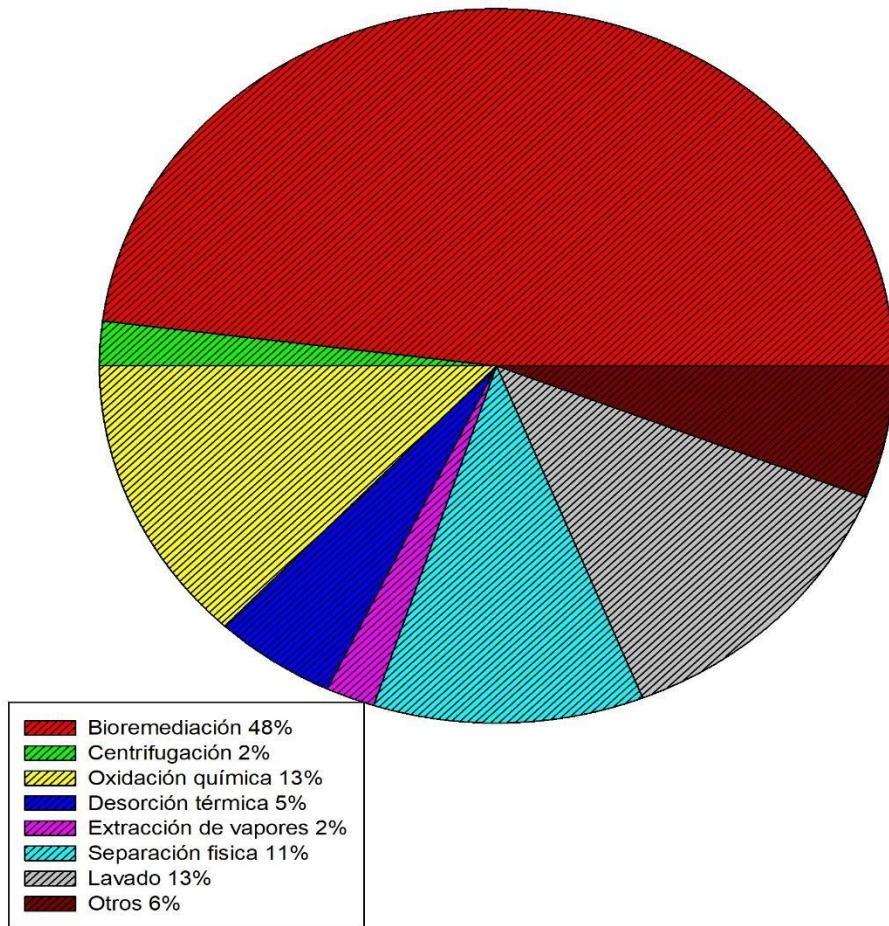


Figura 4. Grafica recreada del trabajo de Velasco & Volke Sepulveda donde se reportan las tecnologías de remediación para suelos utilizadas en México por empresas autorizadas (Velasco & Volke Sepulveda, 1997)

A pesar de que existe información acerca de las tecnologías de biorremediación que se emplean en México, se aprecian ciertas deficiencias en el manejo y conocimiento de estos procesos por algunas de las empresas dedicadas a esta actividad. Este hecho se debe, en parte, a que muchas de ellas no cuentan con profesionales en microbiología y/o biotecnología, debido a que su principal actividad para realizar los trabajos de biorremediación consiste en importar formulaciones (concentrados bacterianos o enzimáticos, agentes tensoactivos y mezclas de nutrientes, entre otros) para venderlas en México. Muchos de estos productos, además, carecen de información acerca del contenido y su eficiencia no se ha demostrado para las condiciones climáticas de nuestro país (Saval, 1998).

Algunas empresas venden el servicio de biorremediación completo, en el que se incluye la excavación del suelo contaminado, el suministro de productos y su aplicación. En estos casos,

los contratistas siguen las instrucciones del fabricante para la aplicación de los productos, sin entender las bondades y limitaciones de estos procesos a los que llaman “tecnología”. Afortunadamente, no todo el panorama es negativo, ya que también existen empresas responsables que cuentan con personal calificado y capacitado para realizar trabajos de biorremediación (Saval, 1998).

Las industrias Química Industrial Olympus S. A. de C. V. y Némesis Asesores Ambientales S.C. desarrollaron un proceso de biorremediación basado en la tecnología de biodegradación en fase sólida, con el objetivo de obtener un producto efectivo, económico, e inocuo para la renovación de suelos agrícolas desgastados y dar con ello una alternativa a lodos residuales de origen agroindustrial. Para evaluar la idoneidad del proceso es de vital importancia realizar una caracterización física, química y biológica a las materias primas a utilizar, al producto terminado, así como realizarle un seguimiento poblacional microbiológico al material durante todo el proceso, para brindar a la empresa información para el óptimo aprovechamiento de su material.

### 1.5 Técnica de composteo como estrategia para procesos de biorremediación

El composteo es un proceso biológico mediante el cual es posible convertir residuos orgánicos en materia orgánica estable (composta madura), gracias a la acción de diversos microorganismos. Las aplicaciones más comunes del composteo incluyen el tratamiento de residuos agrícolas, de desechos de jardinería y cocina, de residuos sólidos municipales y de lodos. (Velasco & Volke Sepulveda, 1997)

La elaboración de composta, composteo o compostaje es una técnica ancestral muy utilizada para la estabilización de residuos, el producto obtenido es rico en los nutrientes necesarios para abonar las tierras de cultivo. Según su artículo los ejemplos más comunes en la elaboración de compostas a partir de residuos agroindustriales son los siguientes (Saval, 2012):

- Residuos de la producción de cerveza, los cuales han sido sometidos a composteo a nivel piloto, el producto resultante fue aplicado en dos tipos de suelo diferentes dedicados a la siembra de maíz (Mbagwu & Ekwealor, 1990).

- Transformaron en composta los residuos provenientes del proceso de cardado del algodón, a nivel piloto emplearon pilas aireadas mediante volteo y ventilación (Baca, Fornasier, & de Nobili, 1992).
- Se llevó a cabo un estudio a nivel piloto, para el composteo de residuos de levadura y malta de la industria cervecera, así como podas de árboles y hojas de olivo. El producto resultante fue utilizado para producción de plantas ornamentales de caléndula y como composta comercial (García-Gómez, Bernal, & Roig, 2002).
- A partir de residuos municipales orgánicos, residuos de cultivos y lodos de tratamiento de aguas residuales en la Isla de Creta (Grecia), se obtuvo a nivel piloto una composta útil para el enriquecimiento de suelos (Manios, 2004).
- Con un enfoque similar al ejemplo anterior, en 2001 se utilizaron residuos de vinazas de la industria azucarera y desechos municipales orgánicos (Madejón, López, Murillo, & Cabrera, 2001).
- Utilizando residuos de la extracción de aceite de oliva, estiércol de oveja, paja de corrales de ganado y tallos de uvas en diferentes proporciones, en el 2008 se obtuvieron a nivel piloto en España, una composta que fue mezclada con un suelo para evaluar la permanencia del carbono en el suelo (M. A. Sánchez-Monedero, Cayuela, Mondini, Serramiá, & Roig, 2008).
- En Portugal, residuos forestales y estiércol de cerdo en pilas aireadas, se han empleado en el composteo a nivel piloto para obtener un sustrato útil para la producción de plántulas de tomate y lechuga (Ribeiro et al., 2007).
- También se han empleado para la elaboración de compostas, residuos de la poda de hierbas y hojas (Benito, Masaguer, De Antonio, & Moliner, 2005), así como de orujo de uva con estiércol de ganado vacuno y de aves de corral (Bustamante, Paredes, Marhuenda-Egea, et al., 2008; Bustamante, Paredes, Moral, et al., 2008).
- Se utilizó como fertilizante el producto resultante del compostaje de residuos provenientes de la extracción de aceite de rosas y residuos sólidos municipales en reactores discontinuos de 65 litros (Tosun, Gönüllü, Arslankaya, & Günay, 2008).
- En España, mediante composteo de residuos sólidos municipales y los microorganismos autóctonos, (Herrera, Castillo, Chica, & López Bellido, 2008) se obtuvieron a nivel piloto un fertilizante orgánico que fue utilizado para el cultivo de jitomates.
- En otro estudio similar se sometió a composteo residuos de poda, residuos orgánicos municipales y lodos de una planta de tratamiento para obtener una composta de vivero, donde se pudo apreciar el crecimiento del arbusto *Pistacia lentiscus* (Ostos, López-Garrido, Murillo, & López, 2008).
- También se reportó el composteo a nivel piloto, de residuos provenientes de la extracción del aceite de oliva, restos de poda de olivos, estiércol de oveja y de caballo, con adición de urea; la degradación de la materia orgánica fue llevada a cabo por la

flora microbiana presente en los residuos. Utilizando diferentes proporciones de cada uno de los residuos se dio seguimiento al contenido de gases generados en el proceso: bióxido de carbono, metano y óxido nitroso, con la finalidad de identificar la proporción de éstos que genera las más bajas emisiones de gases de efecto invernadero (Miguel A. Sánchez-Monedero, Serramiá, Civantos, Fernández-Hernández, & Roig, 2010).

### 1.5.1 Biopilas

En la práctica, y en general, una de las tecnologías de composteo más utilizada para el tratamiento de extensas áreas de suelos contaminados, se lleva a cabo en condiciones aerobias y se conoce como biopilas, bioceldas o pilas de composteo (Iturbe-Argüelles, Flores-Torres, Chávez-López, & Roldán-Martín, 2002).

Las biopilas son un composteo en el cual se forman pilas con el suelo contaminado y agentes de volumen. El sistema, que puede ser abierto o cerrado, se adiciona con nutrientes y agua y se coloca en áreas de tratamiento, que incluyen sistemas para coleccionar lixiviados y alguna forma de aireación (Eweis et al., 1998).

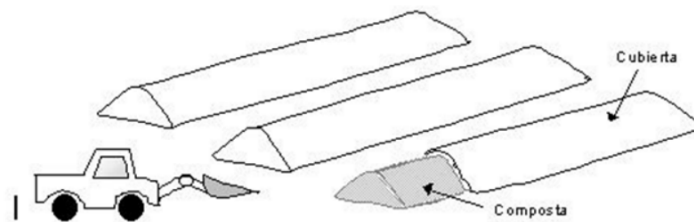
La elección del tipo de sistema de biopilas depende, principalmente, de las condiciones climáticas y de la estructura de los compuestos orgánicos volátiles presentes en el suelo contaminado. Generalmente las biopilas se diseñan como sistemas cerrados, lo que permite mantener la temperatura y evitar la saturación de agua debido a lluvias, además de disminuir la evaporación de agua y de compuestos orgánicos volátiles (Eweis et al., 1998).

Dos de los sistemas de biopilas más empleados son las biopilas alargadas (Figura 5.) y las biopilas estáticas (Figura 6.). La diferencia entre ambas tecnologías radica en el método de aireación que se emplea para proveer de oxígeno al proceso de composteo (Eweis et al., 1998).

#### 1.5.1.1 Biopilas alargadas

El sistema de biopilas alargadas es el proceso de composteo más económico y sencillo. En esta metodología, el material a compostear se apila sobre una plataforma en montones alargados, la aireación se realiza mediante el mezclado manual o mecánico de la composta, proceso que a su vez permite homogeneizar la temperatura. El mezclado de la composta proporciona una mayor distribución y facilita la biodegradación de los contaminantes, ya que facilita la homogeneización de los nutrientes, agua, aire, contaminantes y microorganismos.

La frecuencia del mezclado de la pila depende de la actividad microbiana, que generalmente puede determinarse por el perfil de la temperatura en la composta (Figura 7.), que puede realizarse una vez al día o bien una vez al mes (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).



*Figura 5. Representación esquemática de un sistema de biopilas alargadas(Velasco & Volke Sepulveda, 1997)*

#### 1.5.1.2 Biopilas estáticas

A diferencia del caso anterior, las biopilas estáticas no necesitan mezclarse mecánicamente, ya que la aireación y homogeneización del calor en la composta se lleva a cabo por medio de un sistema de inyección (compresor) o extracción de aire, mediante tubos colocados en la base alineados paralelamente a lo largo de la pila (Figura 6.). En las biopilas estáticas, normalmente se emplea un sistema de extracción de aire, lo que permite la captura de los vapores de cierta fracción de compuestos orgánicos volátiles que llegan a ser removidos del suelo contaminado durante el proceso de aireación. Estos vapores son enviados a un sistema de biofiltración u oxidación catalítica para su tratamiento (Eweis et al., 1998).

El uso de un sistema de inyección o extracción de aire en este tipo de biopila, permite el control manual o automático de la velocidad del flujo de aire que provee de oxígeno al proceso de composteo, permitiendo así establecer una relación entre el flujo de aire y la actividad microbiana a través del tiempo (Eweis et al., 1998).

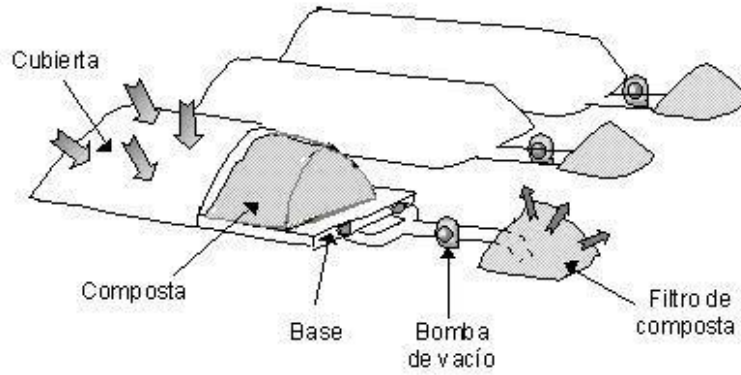


Figura 6. Representación esquemática de un sistema de biopilas estáticas (Velasco & Volke Sepulveda, 1997)

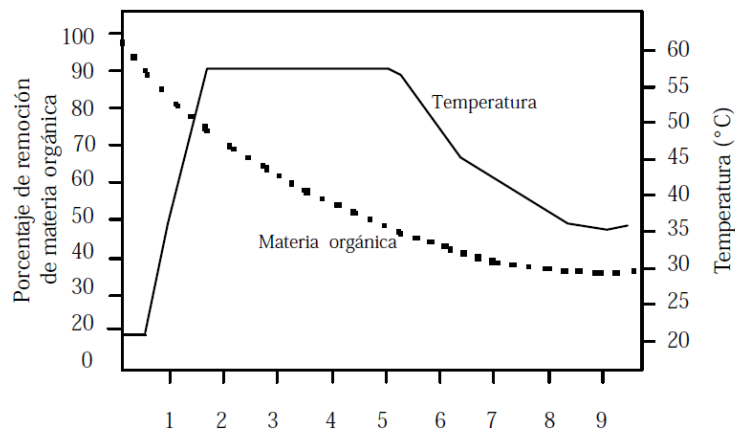


Figura 7. Ejemplo de remoción de materia orgánica y perfiles de temperatura durante el proceso de composteo (Velasco & Volke Sepulveda, 1997).

## 2 Hipótesis

La evaluación fisicoquímica y microbiológica de biosólidos obtenidos mediante un proceso de biorremediación permitirá evaluar su calidad respecto a su futura aplicación como acondicionador de suelos lo cual permitirá validar el cumplimiento de la normatividad ambiental correspondiente.

## 3 Objetivos

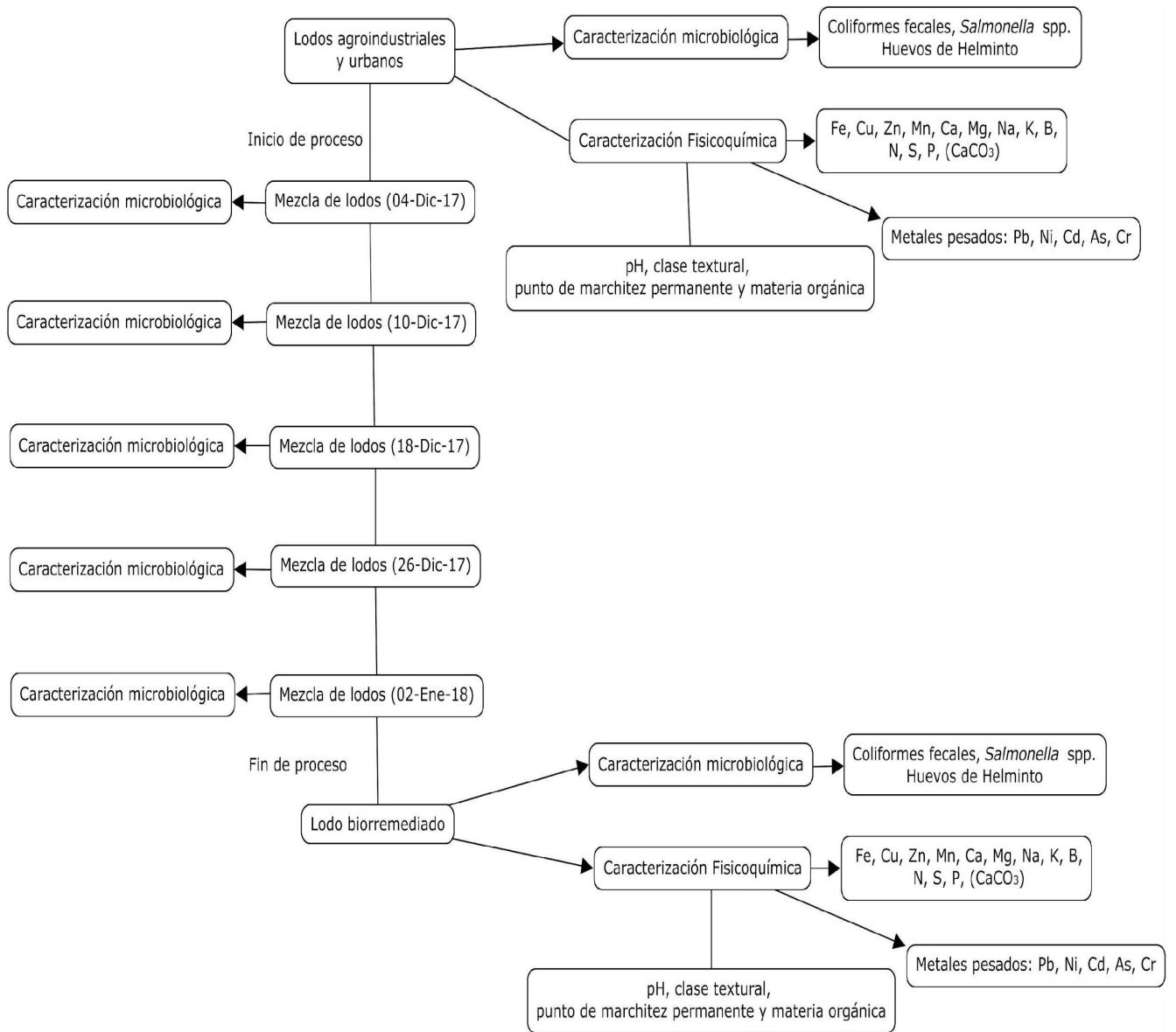
### 3.1 General

Evaluar fisicoquímica y microbiológicamente los lodos urbanos y agroindustriales entregados por las empresas Química Industrial Olympus y Némesis Asesores Ambientales S.C.

### 3.2 Específicos

- Determinar las características microbiológicas de las muestras como coliformes fecales, *Salmonella* spp y huevos de helminto.
- Determinar las características físicas y químicas de las muestras tales como pH, clase textural, punto de marchitez permanente y materia orgánica
- Determinar las concentraciones de metales pesados en las muestras tales como Pb, Ni, Cd, As, Cr
- Determinar las concentraciones de macro y micronutrientes en las muestras tales como Fe, Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K, B, N, S y P
- Determinar la cantidad de carbonatos totales ( $\text{CaCO}_3$ )

## 4 Diagrama de trabajo



## 5 Metodología

### 5.1 Área de estudio

Por cuestiones de confidencialidad de la universidad con las empresas Química Industrial Olympus S.A. de C.V. y Némesis Asesores Ambientales S.C. no se puede decir el origen de las muestras.

### 5.2 Muestras

Las muestras analizadas fueron proporcionadas por un grupo externo de profesionales interesados en solicitar un servicio universitario para identificar el mejor uso de los lodos obtenidos y tratados conforme sus protocolos particulares, cuya información se mantuvo reservada, para su protección.

El proceso de muestreo que se realizó a cada muestra se explica brevemente a continuación, se realizó en forma de zigzag realizando 10 recolecciones con una profundidad de 10 cm. Las muestras fueron tomadas en frascos de polietileno de alta densidad de 500 mL previamente esterilizados.

### 5.3 Transporte de la muestra

El transporte de las muestras se realizó en una nevera portátil con abundante cantidad de hielo, con el objetivo de tratar que las muestras no sufran ningún cambio microbiológico, hasta llegar a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas.

Previo a los análisis, la muestra fue conservada, el menor tiempo posible, en nevera a una temperatura de refrigeración de 4°C como lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental. - Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. (Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, 2003)

## 5.4 Determinación de bacterias coliformes fecales por la técnica del número más probable (N.M.P.)

### 5.4.1 Procedimiento

El procedimiento para la determinación de bacterias coliformes fecales por la técnica del número más probable se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable (Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, 1994). Usando para la prueba presuntiva 3 tubos de caldo lactosado para cada dilución, y tubos con caldo EC-MUG en la prueba confirmativa para los tubos positivos de la prueba presuntiva.

Un resultado positivo para ambas pruebas es la observación de turbidez y gas en los tubos después del tiempo de incubación. Tomar la serie de tubos positivos de la prueba confirmativa y buscar el número más probable en la tabla 1.

*Tabla 1. Número más probable (NMP) por gramo de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0,1; 0,01 y 0,001g*

Tubos positivos				Tubos positivos				Tubos positivos				Tubos positivos			
0, 1	0,0 1	0,001	NM P	0, 1	0,0 1	0,001	NM P	0, 1	0,0 1	0,001	NM P	0, 1	0,0 1	0,001	NMP
0	0	0	<3	1	0	0	3,6	2	0	0	9,1	3	0	0	23
0	0	1	3	1	0	1	7,2	2	0	1	14	3	0	1	39
0	0	2	6	1	0	2	11	2	0	2	20	3	0	2	64
0	0	3	9	1	0	3	15	2	0	3	26	3	0	3	95
0	1	0	3	1	1	0	7,3	2	1	0	15	3	1	0	43
0	1	1	6,1	1	1	1	11	2	1	1	20	3	1	1	75
0	1	2	9,2	1	1	2	15	2	1	2	27	3	1	2	120
0	1	3	12	1	1	3	19	2	1	3	34	3	1	3	160
0	2	0	6,2	1	2	0	11	2	2	0	21	3	2	0	93
0	2	1	9,3	1	2	1	15	2	2	1	28	3	2	1	150
0	2	2	12	1	2	2	20	2	2	2	35	3	2	2	210
0	2	3	16	1	2	3	24	2	2	3	42	3	2	3	290
0	3	0	9,4	1	3	0	16	2	3	0	29	3	3	0	240
0	3	1	13	1	3	1	20	2	3	1	36	3	3	1	460
0	3	2	16	1	3	2	24	2	3	2	44	3	3	2	1100
0	3	3	19	1	3	3	29	2	3	3	56	3	3	3	>1100

## 5.5 Investigación de *Salmonella* spp

### 5.5.1 Procedimiento

Preparación de la muestra.

El siguiente método se realizó conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos (Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, 1994).

Pesar asépticamente 25 g de la muestra en bolsa estéril homogeneizar (Stomacher). Adicionar 225 mL de caldo lactosado y homogenizar en Stomacher, transferir la mezcla a un recipiente estéril, incubar  $24 \pm 2$  h. a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Transferir 1 mL de la mezcla a un tubo que contenga 10 mL de caldo tetrionato adicionado de 0.2 mL de yodo y a otro con 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis. Incubar de 18-24 h. a  $43$  y  $35^{\circ}\text{C}$  respectivamente.

Sembrar en agar verde brillante, XLD y sulfito de bismuto. Incubar las placas por 24-48 h a  $35^{\circ}\text{C}$ , respectivamente.

Examinar las placas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella* spp. (Anexo, Tabla 18.)

Seleccionar las colonias sospechosas de cada medio de cultivo e inocular tubos con: agar triple azúcar hierro (TSI) y agar hierro lisina (LIA) y medio MIO. Incubar por a  $35^{\circ}\text{C}/24$  h. Observar el crecimiento y vire en los tubos e investigar la presencia de *Salmonella* spp. (Anexo, Tabla 19.)

## 5.6 Huevos de helminto

### 5.6.1 Procedimiento

El procedimiento para la búsqueda de huevos de helminto se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, con el fundamento de diferencia de densidad mediante lavados continuos, con diversas etapas de filtración y flotación se logra la

separación de los huevos de helmintos del resto de las partículas de mayor y menor tamaño, logrando la flotación de los huevos de helminto con sulfato de zinc. Una vez realizado este proceso el paso siguiente es la búsqueda de los huevos mediante microscopía óptica, leyendo todos los campos de las laminillas hechas del sobrenadante.

## 5.7 Análisis de pH

### 5.7.1 Procedimiento

El procedimiento para el análisis de pH se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

Pesar 10 g de suelo en un frasco de vidrio de boca ancha, se adiciona 20 mL de agua destilada, se agita manualmente con una varilla de vidrio durante 30 minutos y se deja reposar la muestra durante 15 minutos, calibrar el medidor de pH con las soluciones reguladoras pH 4.00, 7.00 y 10.00.

Agitar nuevamente la suspensión e introducir el electrodo en la suspensión, se registra el pH al momento en que la lectura se haya estabilizado.

## 5.8 Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos

### 5.8.1 Procedimiento

El procedimiento para el análisis de textura por el procedimiento Bouyoucos se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

Pesar 70 g de suelo en un vaso de precipitado agregar 40 ml de agua oxigenada y poner a evaporar hasta sequedad, repetir hasta que no haya efervescencia al agua oxigenada. Pesar 50 g de suelo tratado y colocarlos en un vaso de precipitado, adicionar agua hasta cubrir la

superficie, agregar 5 ml de oxalato de sodio y 5 ml de metasilicato de sodio y dejar reposar durante 15 minutos.

Pasar la muestra del vaso de precipitado a las copas del agitador mecánico, dispersar cinco minutos, al finalizar el tiempo de agitación, pasar el contenido a una probeta de 1000 mL. Agregar agua destilada hasta completar un litro con el hidrómetro dentro de la suspensión, sacar el hidrómetro y suspender el suelo con un agitador de mano operando durante un minuto, tomar las lecturas del hidrómetro a los 40 segundos y después de 2 horas de terminada la dispersión con el agitador de mano.

## 5.9 Punto de marchitez permanente

### 5.9.1 Procedimiento

El cálculo del punto de marchitez permanente de las muestras se realizó con el apoyo del personal docente del Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas (DICA-BUAP). Los cálculos del punto de marchitez permanente se llevaron a cabo usando los parámetros obtenidos del porcentaje de arena y de arcilla del análisis de clase textural, los cuales fueron introducidos a la calculadora de textura de suelo (Calderon, n.d.; United States Department of Agriculture, n.d.).

## 5.10 Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición.

### 5.10.1 Procedimiento

El análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición se realizó en base a la metodología dictada por los autores (Eyherabide, Saínz Rozas, Barbieri, & Eduardo Echeverría, 2014).

Pesar los crisoles con peso definido y conocido en una balanza analítica, anotar los pesos. A cada crisol colocar 2 g de la muestra, colocar los crisoles en la mufla, calentar los crisoles en la mufla a 500°C en una rampa de calentamiento durante 3 h.

Dejar enfriar los crisoles y la mufla, colocar los crisoles en un desecador, pesar los crisoles anotar los valores obtenidos, Obtener el porcentaje de materia orgánica con la siguiente fórmula:

Fórmula

$$\% \text{ de Materia orgánica } \frac{A-B}{A-C} \times 100$$

A = Peso del crisol y del suelo seco antes de la calcinación

B = Peso del crisol y del suelo seco después de la calcinación

C = Peso del crisol.

## 5.11 Análisis de metales pesados, micronutrientes y boro por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)

### 5.11.1 Procedimiento

Para el análisis multielemental de las muestras por ICP se requiere prepararlas en una digestión ácida de HCl y HNO<sub>3</sub> y filtrarlas como lo indica las normas EPA 6010 y 3015 respectivamente (US EPA, 2000, 2007), ya que en ICP-OES, una solución de muestra se nebuliza continuamente en una descarga de plasma de argón de acoplamiento inductivo, donde los analitos de interés se convierten en átomos o iones de fase gaseosa en estado excitado (Harris, 2007; Skoog, Douglas A., West Donald M., Holler, F. James, Crouch, 2015; US EPA, 2000)

El procedimiento de digestión para análisis en el equipo de ICP se realizó mediante la metodología del Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (CUVyTT BUAP) en base a una digestión ácida por horno de microondas (Milistone, n.d.)

Preparación de la muestra. Pesar 0.5 g de muestra en un vaso de teflón especial para digestión de la muestra, colocar el vaso de teflón en la campana de flujo laminar, encender el flujo de aire. Adicionar lentamente los ácidos, 8 mL de HNO<sub>3</sub> al 65% y 2 mL de HCl al 37% y homogenizar la muestra con los ácidos. Colocar los instrumentos de seguridad al vaso de teflón con la muestra y colocarlo en el rotor del horno de microondas para la digestión, programar la rampa de calentamiento del horno de microondas e iniciar programa.

Terminado el proceso, dejar que se enfríe el rotor y las muestras, ya estando frías las muestras, quitar todos los instrumentos de seguridad y abrir el vaso en la campana de flujo laminar, filtrar la muestra en un tubo falcón y llevar a un volumen de 45 mL con agua destilada.

#### Análisis

Preparar curvas de calibración de metales pesados, micronutrientes y boro a analizar por ICP, analizar la muestra por ICP y obtener la concentración de metales pesados, micronutrientes y boro en ppm mediante la siguiente fórmula

$$ppm = \frac{(C \times 45)}{0.5}$$

Donde:

C= Concentración dada por el equipo

### 5.12 Análisis de porcentaje de nitrógeno.

#### 5.12.1 Procedimiento

El procedimiento para el análisis de porcentaje de nitrógeno se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002)

Pesar 5 g de suelo y colocar en un bote de polietileno de 100, agregar 50 ml de solución de KCl 2 N y agitar por 60 minutos, colocar 10 ml de solución  $H_3BO_3$  con indicador en un matraz Erlenmeyer de 125 ml y conectarlo en un tubo de salida del refrigerante, pipetear una alícuota de 10 a 20 ml del extracto de suelo y colocar en un matraz de destilación y agregar 0.2 g de MgO calcinado y 0.2 g de aleación de Devarda.

Conectar el aparato de destilación y destilar hasta completar aproximadamente 30 ml en 3-4 minutos, titular la muestra y los blancos con ácido sulfúrico 0.005 N. En el punto final el color cambia de verde a rosa tenue

#### Cálculos

Calcular la cantidad de nitrógeno inorgánico con la siguiente ecuación:

$$N \text{ (ppm)} = (M - B) \times N \times 14 \times (V_i / a) \times 1/p \times 1000$$

Donde:

M y B= Son los mililitros de ácido sulfúrico usados en la titulación de muestra y el blanco, respectivamente.

N= La normalidad del ácido.

V<sub>i</sub>= Es el volumen del extractante.

a= La alícuota destilada.

p= El peso de la muestra en gramos.

### 5.13 Determinación de fósforo

#### 5.13.1 Procedimiento

La determinación de fósforo se realizará por el método de Bray y Kurtz como lo marca la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002), con el apoyo del personal docente del Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas (DICA-BUAP).

Pesar 2.5 g de suelo previamente tamizado, colocarlo en un tubo de polietileno de 50 mL, adicionar 25 ml de la solución extractora, taparlo, agitar la suspensión por 5 min.

El extracto se filtra, se toma una alícuota de 2 ml del extracto y se coloca en un matraz aforado de 50 mL, se adiciona agua hasta completar aproximadamente 40 mL. Agregar 5 ml de la solución reductora, agitar y completar volumen, esperar 30 minutos y leer la intensidad de la absorción de luz a 882 nm (nanómetros).

Preparar una curva de calibración que contenga puntos correspondientes a 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5 mg L<sup>-1</sup> de P. y preparar blancos siguiendo el mismo procedimiento que en las muestras.

Cálculos:

Fórmula

$$P\left(\frac{mg}{kg} \text{ De suelo}\right) = CC \left(\frac{Vf}{A}\right)\left(\frac{Vi}{p}\right)$$

Donde:

CC= mg L-1 de P en la solución. Se obtiene graficando la curva de calibración (absorbancia contra mg L-1) e interpolando en la misma los valores de absorbancia de las muestras analizadas a las cuales previamente se les ha restado el valor promedio de los blancos o por medio de una regresión simple.

Vf= volumen final de la solución colorimétrica, ml.

A= alícuota del extracto usado colorimetría, ml.

Vi= volumen de la solución empleada para hacer el extracto, ml.

p= peso de la muestra seca al aire.

## 5.14 Determinación de azufre por WDXRF

### 5.14.1 Procedimiento

La determinación de azufre por WDXRF se llevó a cabo de acuerdo con la metodología establecida por el departamento de semiconductores del ICUAP.

Tamizar la muestra en un tamiz malla 165, pesar una charola de aluminio, llenar la charola de aluminio con la muestra al ras, pesar la charola con la muestra, mezclar la muestra con cera en relación 8:2, prensar las charolas con la muestra, hasta que la charola obtenga una forma de pastilla.

Analizar las pastillas en el equipo de WDXRF (Fluorescencia de Rayos X de Longitud de Onda Dispersiva)

## 5.15 Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.

### 5.15.1 Procedimiento

El análisis de carbonatos de calcio equivalentes se realizó por el método de neutralización ácida como lo marca la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002), con el apoyo del personal docente del Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas (DICA-BUAP).

Pesar 5 g de suelo fino dentro de botellas de agitación. Incluir dos blancos y una muestra de referencia, agregar 100 ml de HCl 0.2 M con pipeta y agitar, cerrar holgadamente la tapa de rosca, y agitar ocasionalmente durante una hora. Permitir reposar durante la noche, al siguiente día agitar durante 2 horas en el agitador recíproco, filtrar, pipetear 10 mL de la solución, dentro de un matraz Erlenmeyer y agregar unos 25 ml de agua, agregar unas pocas gotas de indicador fenolftaleína y titular con NaOH 0.1 M.

Cálculos:

Fórmula:

$$\% \text{CaCO}_3 \text{ equivalente} = M \left( \frac{a-b}{s} \right) (50) (mfc)$$

Donde:

a = ml de NaOH usados para el blanco.

b = ml de NaOH usados para la muestra.

s = peso de la muestra seca al aire en gramos.

M = molaridad de la solución de NaOH.

50 =  $0.00050 \times 10 \times 100\%$  (50 = peso equivalente del  $\text{CaCO}_3$ ).

mfc = factor de corrección por humedad.

## 6 Discusión de resultados

La determinación de las características microbiológicas y fisicoquímicas de los lodos urbanos y agroindustriales permitirá conocer las cualidades de estos materiales para que así la empresa responsable del proceso de biorremediación en fase sólida tenga información sobre el potencial y las limitantes de su producto, con el fin de que puedan hacer el uso adecuado para el tipo de material obtenido en su proceso.

Los parámetros microbiológicos evaluados a estos materiales fueron coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helminto, mientras que los fisicoquímicos fueron pH, clase textural, punto de marchitez permanente, densidad aparente, materia orgánica, metales pesados, micronutrientes, boro, nitrógeno, fósforo, azufre, y carbonatos de calcio.

Todos estos parámetros fueron considerados a evaluar con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, protección ambiental lodos y biosólidos, especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final y la NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

#### 6.1 Evaluación microbiológica de los lodos agroindustriales (Coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helminto)

Los parámetros microbiológicos que fueron evaluados en las muestras iniciales, proceso de biorremediación y producto terminado fueron los siguientes: coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helminto.

En las muestras iniciales los resultados obtenidos de coliformes fecales mostraron que el número más probable estuvo debajo de los límites permisibles marcados por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, protección ambiental lodos y biosólidos, especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final, mientras que, en el proceso de biorremediación en fase sólida el número más probable de coliformes fecales aumentó debido al proceso de biorremediación que diseñó el personal de la industria, sin embargo, esto no quiere decir que los microorganismos detectados en esta prueba sean todos coliformes fecales ya que la limitante de la prueba es que se pueden confundir los coliformes fecales con cualquier otra bacteria fermentadora de lactosa (Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, 2003), en las etapas finales del proceso y en su producto terminado el número más probable de coliformes fecales llegó a niveles por debajo de los límites permisibles de la NOM-004-SEMARNAT-2002 como se puede observar en la Figura 8.

Con respecto a la investigación de la presencia de *Salmonella* spp. desde las muestras iniciales y hasta el producto terminado no se encontró evidencia de este microorganismo patógeno como se observa en la figura 9 y en el caso de huevos de helminto (Figura 10) la cantidad de huevos encontrados durante todas las etapas del proceso donde se hicieron los muestreos y análisis fueron bajos, lo cual califica al producto como un producto apto para usos urbanos pero sin contacto directo al público durante su aplicación o bien tener el equipo de protección necesaria para evitar una infección, especialmente por parásitos. Esta clasificación biológica del material es de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, protección ambiental lodos y biosólidos, especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.

Por lo cual con estos resultados se puede decir que el producto terminado del proceso de biorremediación en fase sólida es microbiológicamente seguro para uso agrícola, con el objetivo de mejoramiento de suelos, ya que no presenta un riesgo potencial para la salud de las personas que puedan operar con él.

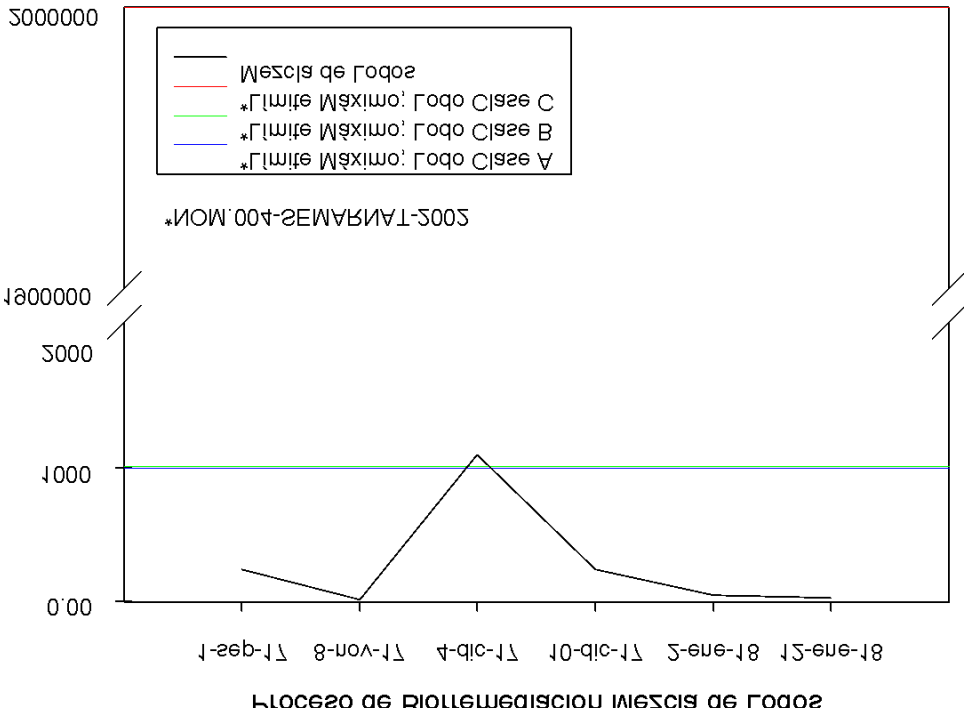


Figura 8. Evaluación del N.M.P. de coliformes fecales desarrollado en el proceso de biorremediación.

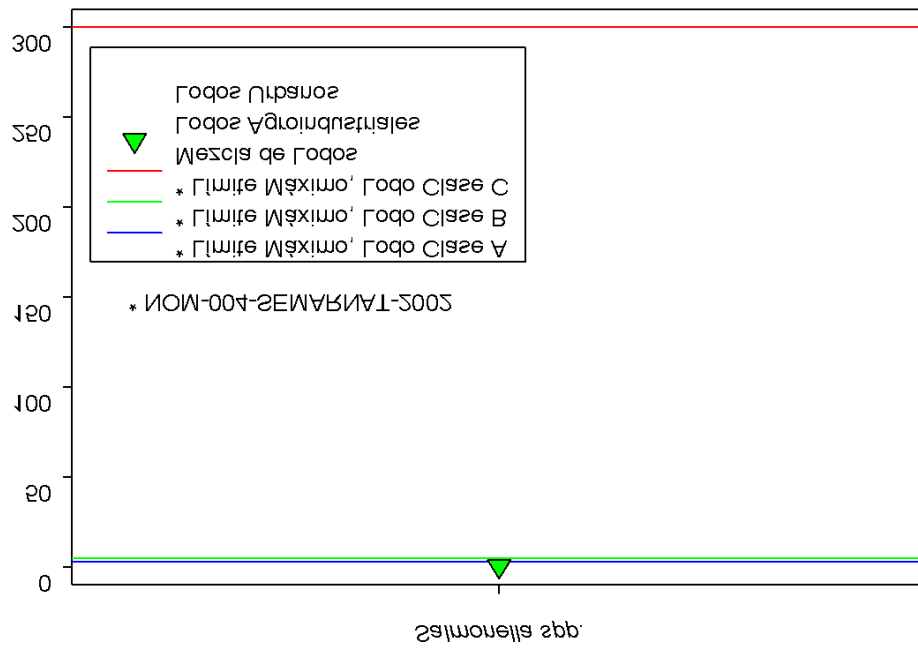


Figura 9. Grafico del análisis de Salmonella spp. durante todo el proceso de biorremediación.

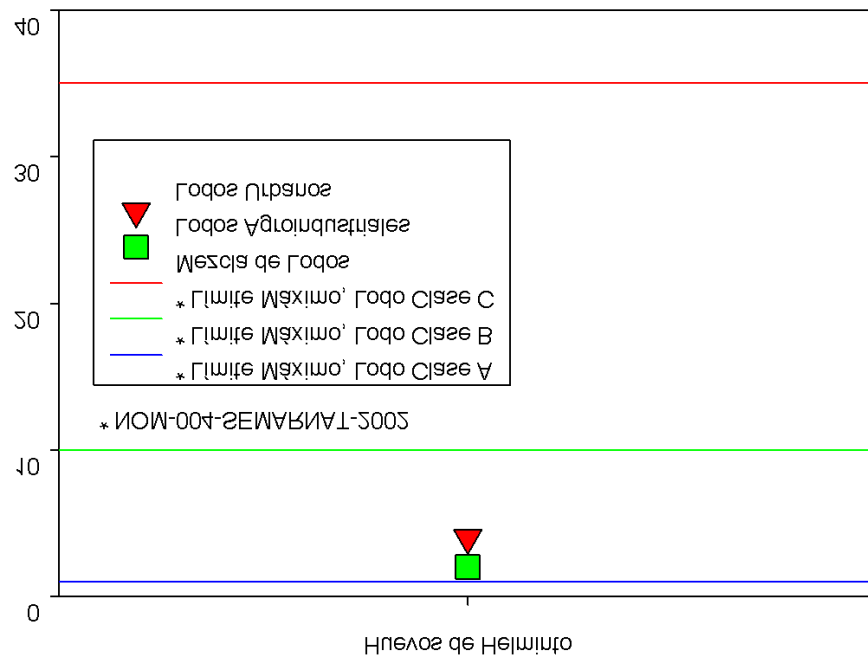


Figura 10. Grafico del análisis de huevos de helminto durante el proceso de biorremediación.

## 6.2 Evaluación fisicoquímica de los lodos agroindustriales

La evaluación fisicoquímica de los lodos agroindustriales consistió en una caracterización de las muestras iniciales de pH, clase textural, punto de marchitez permanente, materia orgánica, micronutrientes, metales pesados, nitrógeno, azufre, fósforo y carbonatos de calcio, así como la caracterización de los mismos parámetros en el producto terminado del proceso de biorremediación (lodo biorremediado), con el fin de comparar la calidad de las muestras iniciales con el cambio sufrido de estas en el producto terminado del proceso para que así se tenga la evidencia de que el proceso de biorremediación elaborado por la empresa es eficiente para tener un producto fisicoquímicamente inocuo para uso agrícola, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, protección ambiental lodos y biosólidos, especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final y la NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

### 6.2.1 Análisis de pH

Los resultados del análisis de pH mostraron un cambio significativo de la acidez de las muestras, ya que las muestras iniciales de tener un pH de 7.7, 7.9 y 8.0 (Tabla 2) que es considerado por la NOM-021-SEMARNAT-2000, como un suelo medianamente alcalino (Tabla 3), en el producto terminado del proceso de biorremediación (lodo biorremediado) el pH obtenido fue de 5.4 (Tabla 2.) lo cual lo clasifica de acuerdo con la norma antes mencionada como un suelo moderadamente ácido (Tabla 3.).

El cambio en la acidez de la muestra puede deberse a la presencia de microorganismos fermentadores, ya que como vimos en la evaluación microbiológica, el N.M.P. de coliformes fecales fue muy alto en el inicio del proceso de biorremediación lo cual indica que el cambio de pH sufrido en el producto terminado del proceso (lodo biorremediado) fue a causa del metabolismo fermentativo de las bacterias presentes.

*Tabla 2. Resultados y clasificación de las muestras a partir del análisis de pH*

Muestra	pH	Clasificación
Lodo agroindustrial	7.9	Medianamente alcalino
Lodo urbano	7.7	Medianamente alcalino
Mezcla de lodos	8.0	Medianamente alcalino
Lodo biorremediado	5.4	Moderadamente ácido

Tabla 3. Límites de pH que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Clasificación	pH
<b>Fuertemente ácido</b>	< 5.0
<b>Moderadamente ácido</b>	5.1 – 6.5
<b>Neutro</b>	6.6 – 7.3
<b>Medianamente alcalino</b>	7.4 – 8.5
<b>Fuertemente alcalino</b>	> 8.5

## 6.2.2 Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos

En el análisis textural de Bouyoucos se observó que las muestras iniciales varían en su clasificación con respecto al tamaño de partícula que tienen, en las muestras de la mezcla de lodos, lodo agroindustrial y el lodo biorremediado su clasificación es la misma siendo “franco arenosa” (Tabla 4), sin embargo, de acuerdo con su posición en el triángulo de texturas (Figura 11.) el lodo biorremediado está más cercano a ser clasificado como un suelo franco, esta aproximación del cambio textural puede deberse a la continua degradación de materia orgánica por parte de los microorganismos fermentadores.

Tabla 4. Resultados y clasificación del análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Muestra	% Arena	% Arcilla	%Limo	Clasificación
<b>Lodo agroindustrial</b>	82.6	7.4	10	Franco arenosa
<b>Lodo urbano</b>	42.6	39.4	18	Franco arcillosa
<b>Mezcla de lodos</b>	62.6	13.4	24	Franco arenosa
<b>Lodo biorremediado</b>	48.6	5.4	46	Franco arenosa

## Triángulo de clases texturales

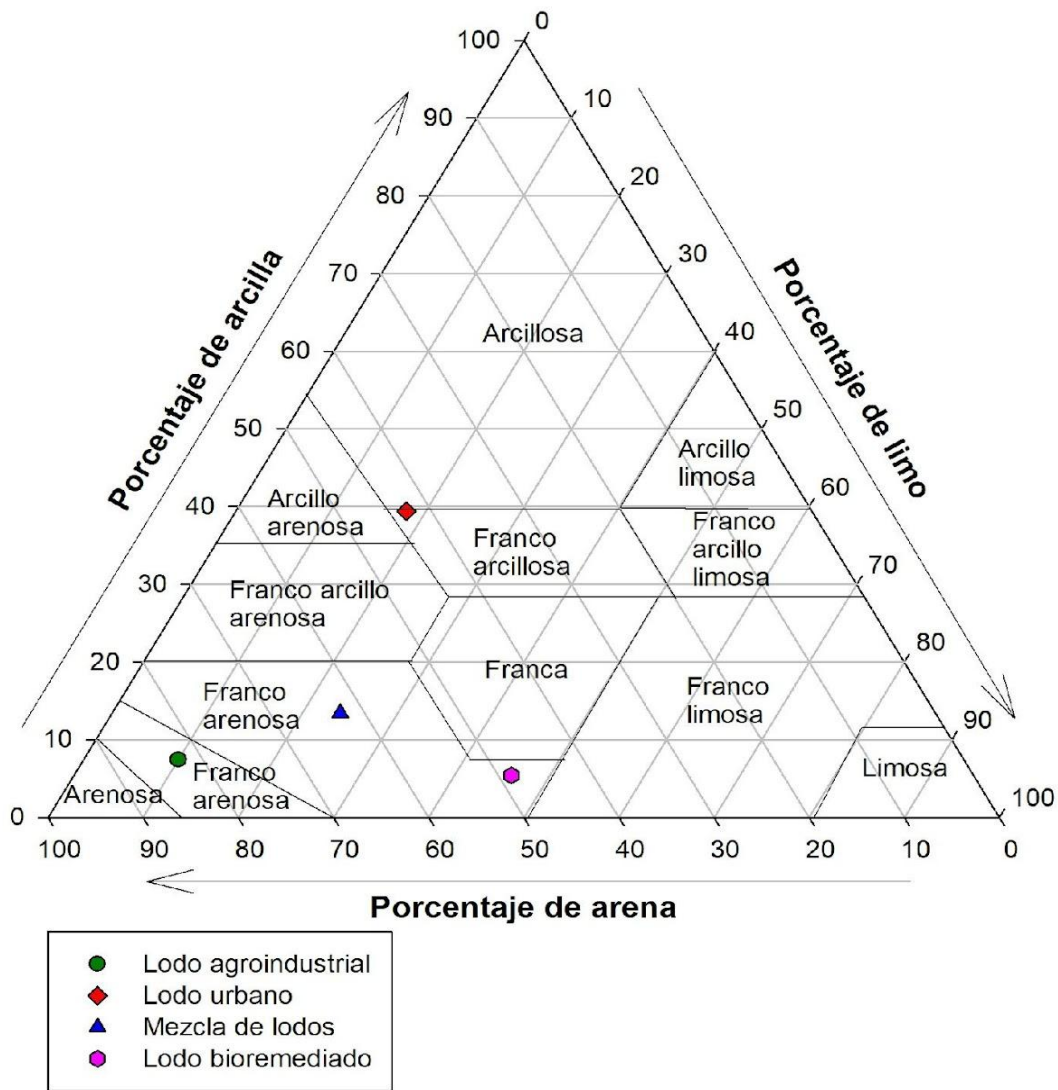


Figura 11. Triángulo de clases texturales

### 6.2.3 Análisis de punto de marchitez permanente

El punto de marchitez permanente se conoce como tal al porcentaje o nivel de humedad del suelo al cual las plantas se marchitan en forma permanente. Si el suelo no recibe nuevos aportes de agua, la evaporación desde el suelo y la extracción por parte de las raíces hacen que el agua almacenada disminuya hasta llegar a un nivel en el que las raíces ya no puedan extraer agua del suelo (López Pérez, 2016).

Los resultados obtenidos del cálculo del punto de marchitez permanente indican que el lodo biorremediado junto con el lodo agroindustrial muestran valores muy bajos del punto de marchitez permanente, lo que indica que el punto en el que la planta pierde la capacidad de succión y por ende tendería a morir es muy bajo, por lo cual no es necesario un riego riguroso para mantener viable a la planta con este material, requeriría menor cantidad de agua para nutrirse.

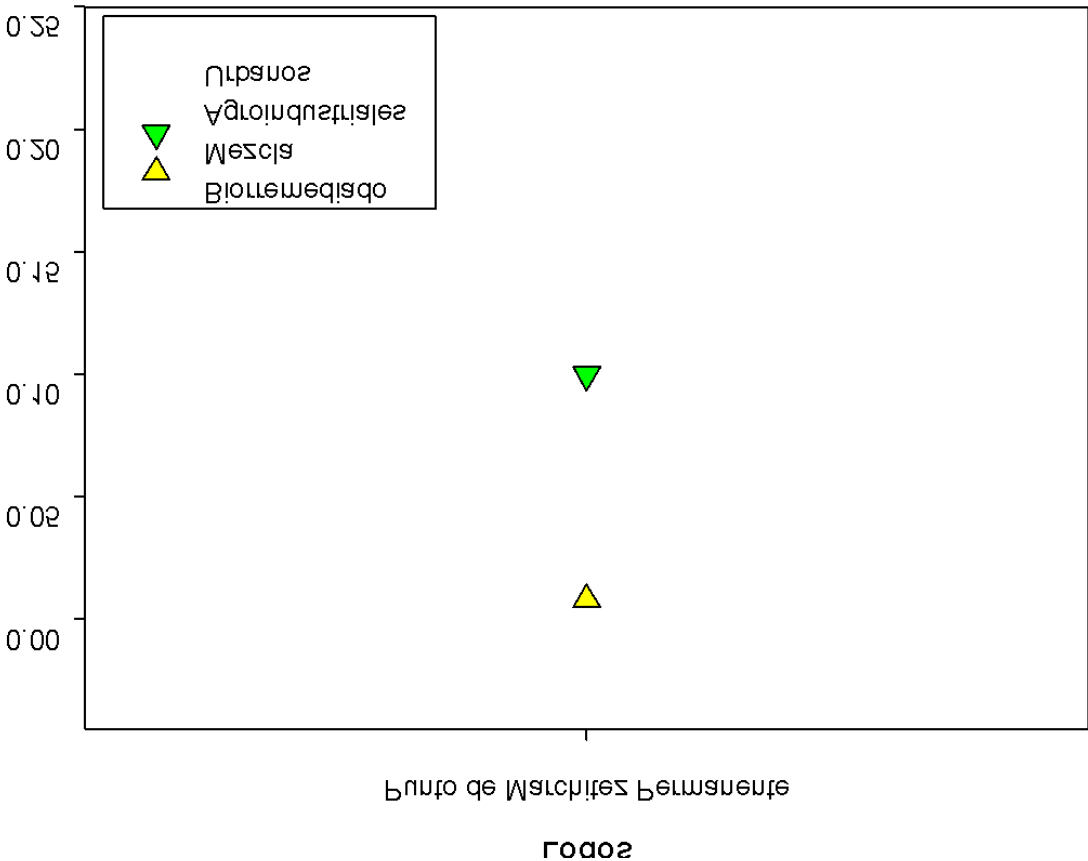


Figura 12. Resultados del cálculo del punto de marchitez permanente.

#### 6.2.4 Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición.

Los resultados obtenidos del análisis de materia orgánica por el método de pérdida por ignición revelan que el proceso de degradación de materia orgánica continúa durante la biorremediación de estos lodos por parte de microorganismos fermentadores, al observar la Tabla 5 podemos percatarnos que el porcentaje de materia orgánica en el lodo agroindustrial y en la mezcla de lodos son muy altas en comparación con el lodo biorremediado.

De acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis, el contenido de materia orgánica es muy alto para ser considerado un suelo, por lo cual se considera las muestras de lodo agroindustrial, la mezcla de lodos y el lodo biorremediado como biosólidos, ya que de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, los biosólidos son lodos que han sido sometidos a procesos de estabilización y que por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización, puedan ser susceptibles de aprovechamiento.

Tabla 5. Resultados y clasificación del porcentaje de materia orgánica de las muestras determinadas por el método de pérdida por ignición

Muestra	% de materia orgánica	Clasificación
Lodo agroindustrial	18.5	Muy alto
Lodo urbano	9	Muy alto
Mezcla de lodos	20	Muy alto
Lodo biorremediado	13.5	Muy alto

Tabla 6. Valores de referencia de porcentaje de materia orgánica que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Clasificación	% de materia orgánica
Muy bajo	< 0.5
Bajo	0.6 – 1.5
Medio	1.6 – 3.5
Alto	3.6 – 6.0
Muy alto	> 6.0

#### 6.2.5 Análisis de metales pesados por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)

Los resultados obtenidos de las muestras en el análisis de metales pesados por ICP-OES resultan muy favorables para su uso como se creía, ya que por el origen del lodo urbano se pensaba que la concentración de metales pesados sería muy alta, sin embargo, la concentración de metales pesados en todas las muestras resultó ser muy seguro para el uso agrícola de acuerdo con los límites permisibles de metales pesados de la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Anexo, tabla 28), lo cual como se puede observar en la tabla 8, califica a estos materiales de acuerdo a la concentración de metales pesados como excelente.

La concentración elevada de Zn y Cu con respecto de los demás elementos se debe a la zona geológica en la cual se encuentra el estado de Puebla, ya que como lo muestra la tabla 7 del Servicio Geológico Mexicano estos elementos forman parte del fondo geológico del estado (Castillo Reynoso & Martínez de la Paz, 2013).

La concentración elevada de Zn en el lodo agroindustrial con respecto a los demás se debe a la dieta a la cual están sometidos los animales donde se obtiene el residuo agroindustrial, puesto que el Zn tiene funciones en el organismo desde formar parte de enzimas como alcohol deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica entre otras, intervenir en el metabolismo de la vitamina A, participar en el metabolismo de los ácidos grasos, mejorar el sistema inmunitario de los animales y hasta mejorar la calidad espermática de algunos mamíferos para la fertilidad (Quiles, 2005).

## Resultados de análisis de metales pesados por ICP-OES

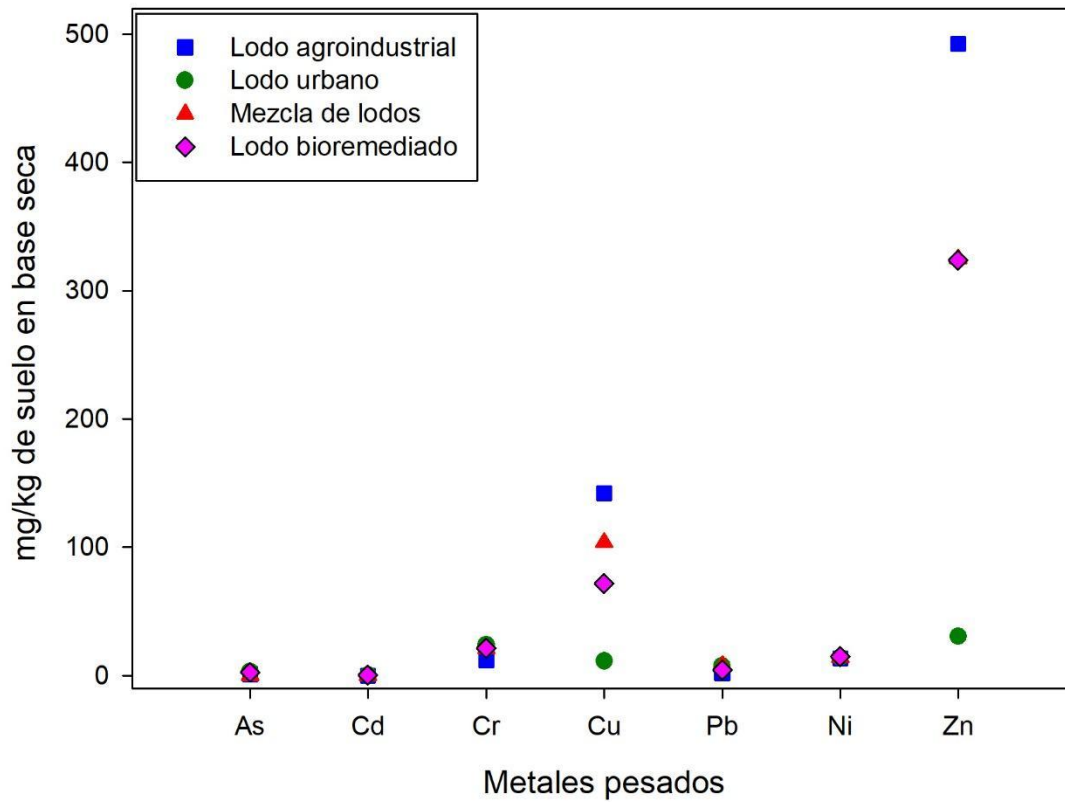


Figura 13. Resultados de la cuantificación total de metales pesados por la técnica de ICP-OES

Tabla 7. Tabla recreada del Servicio Geológico Mexicano. Parámetros estadísticos de los elementos indicadores de la mineralización de la carta San Francisco Totimehuacán E14-B52, los elementos en p.p.m. con excepción de Fe que está en porcentaje. (Castillo Reynoso & Martínez de la Paz, 2013)

Elemento	Valor de Fondo	Valor de umbral	Anomalía
<b>Cu</b>	0-15	15-19.9	>19.9
<b>Pb</b>	0.5.7	5.7-10.3	>10.3
<b>Zn</b>	0-46.3	46.3-60.5	>60.52
<b>Fe</b>	0-1.9	1.9-2.415	>2.415
<b>Ba</b>	0-189.7	189.7-309.3	>309.3

Tabla 8. Clasificación de las muestras de acuerdo con su concentración de metales pesados basado en los "límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos" de la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.

Muestra	Clasificación
Lodo agroindustrial	Excelente
Lodo urbano	Excelente
Mezcla de lodos	Excelente
Lodo biorremediado	Excelente

Tabla 9. Tabla recreada de la curva de calibración de Zn del equipo ICP-OES del Centro Universitario de Vinculación y transferencia de Tecnología (CUVyTT – BUAP)

Nombre	Intensidad (c/s)	Conc. Pat.	Conc. Cal	Error	%Error
Blanco	75.6951	0	0	-	-
Patrón 3	3097.05	0.252500	0.284715	0.032215	12.8
Patrón 4	10915.7	1.01000	1.02149	0.011492	1.1
Patrón 5	31017.4	3.03000	2.91576	-0.114242	-3.8
Patrón 7	50635.5	5.05000	4.76445	-0.285550	-5.7

Ecuación:  $y = 10611.9x + 75.7$

Coefficiente de correlación: 0.999878

Gráfico de curva de calibración de Zn

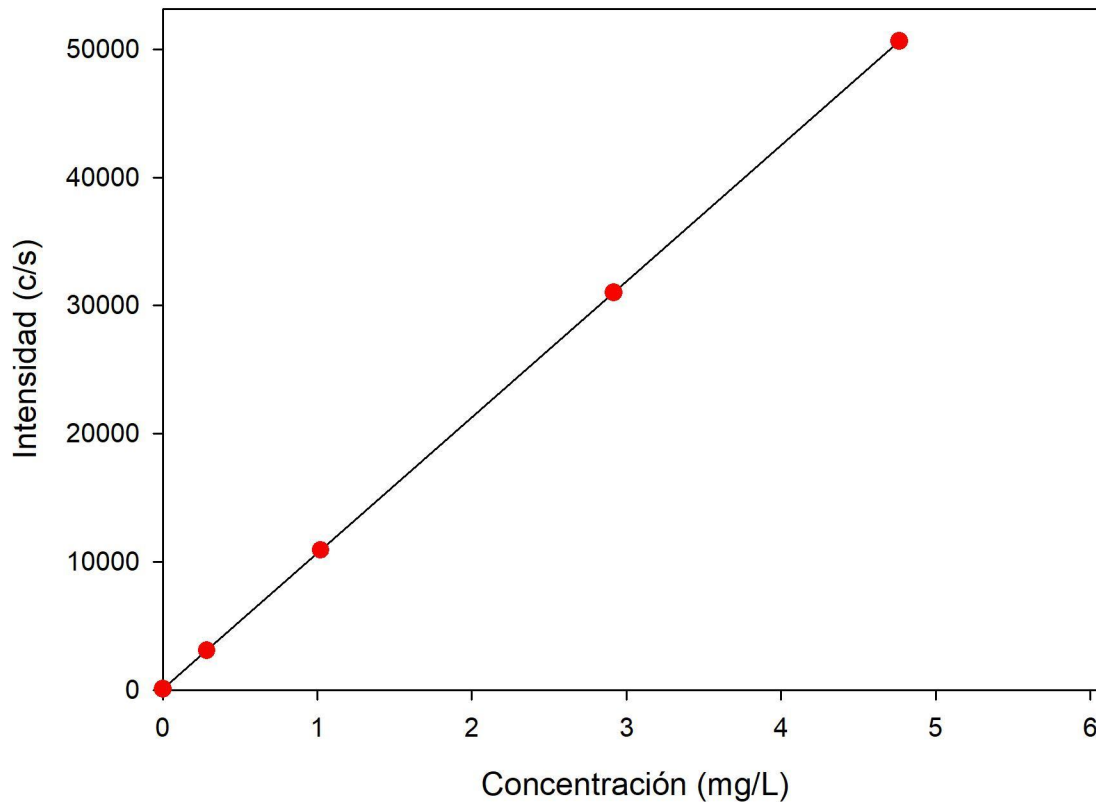


Figura 14. Recreación del gráfico de la curva de calibración de Zn del equipo ICP-OES del Centro Universitario de Vinculación y transferencia de Tecnología (CUVyTT – BUAP)

#### 6.2.6 Análisis de micronutrientes por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)

Los resultados obtenidos de micronutrientes analizados por ICP-OES indican una concentración considerable en las muestras de estos iones de importancia metabólica en las plantas, lo cual ayudaría en la calidad de estos biosólidos para el fin de su utilización como mejorador natural de suelos.

En el caso de la concentración de hierro en el lodo urbano su valor está dentro de los valores del fondo geológico de la ciudad de Puebla como lo muestra la tabla 7 (Castillo Reynoso & Martínez de la Paz, 2013)

Actualmente en México no hay una normativa de biosólidos en la que establezca los límites permisibles de micronutrientes en estos materiales, sin embargo, dada la fisiología de las

plantas, no representaría un problema la concentración de estos nutrientes, ya que las plantas poseen la capacidad de adsorber la concentración de iones necesarios para su metabolismo y eliminar el exceso de cualquiera de estos, sin ningún peligro de toxicidad (Gil Martínez, 1994; Lira Saldívar, 2000).

Por lo cual la concentración elevada de estos micronutrientes no sería un problema para el crecimiento y nutrición de plantas.

### Resultados de análisis de micronutrientes por ICP-OES

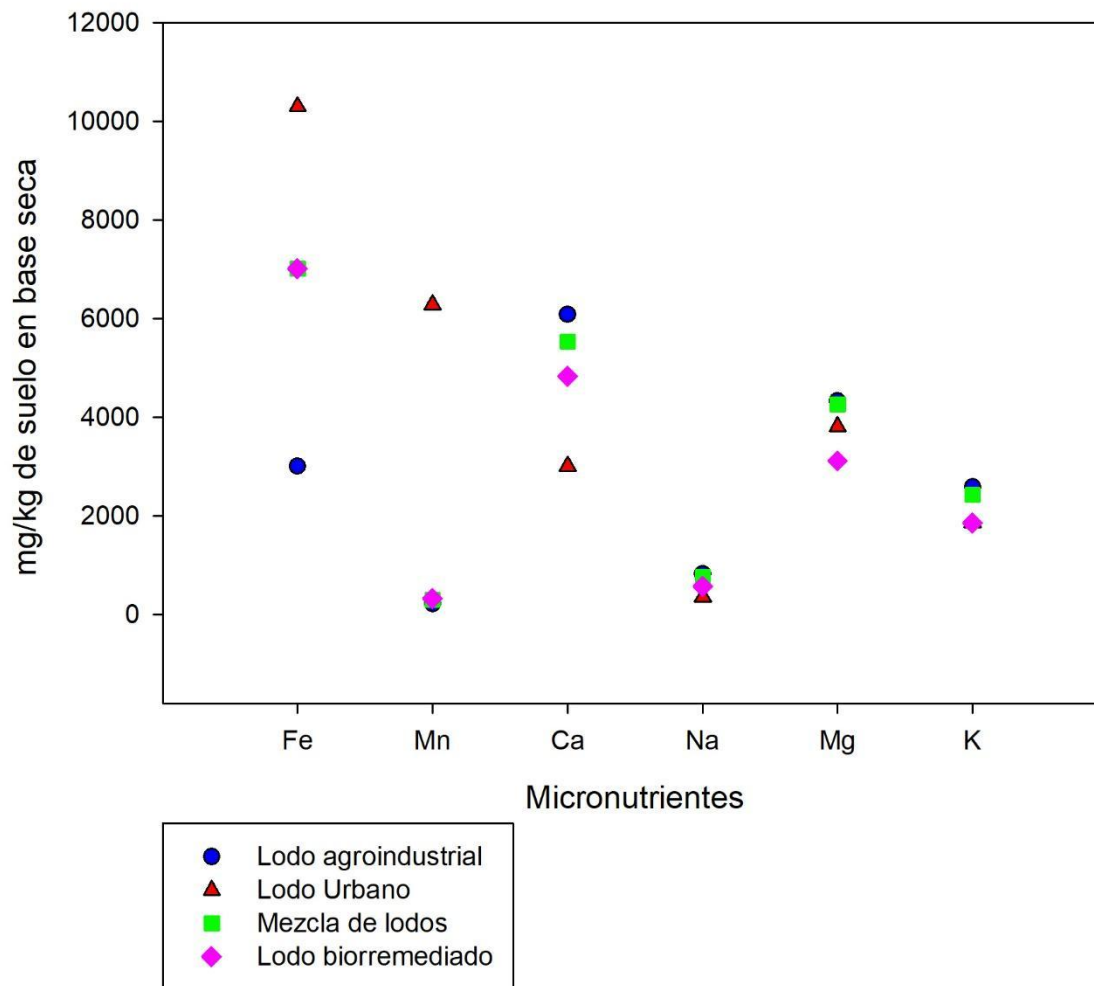


Figura 15. Resultados de la cuantificación total de micronutrientes por la técnica de ICP-OES

### 6.2.7 Determinación total de boro por ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica).

Los resultados obtenidos de la determinación total de boro por ICP-OES, refleja una alta concentración de este elemento de acuerdo con los límites establecidos por la NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Tabla 10 y Tabla 11.).

Sin embargo, la concentración de este elemento no se considera un riesgo potencial ni actual para el uso de estos biosólidos, mencionado anteriormente las plantas poseen un mecanismo fisiológico lo cual les permite solo adsorber los nutrientes que necesita para llevar a cabo sus procesos metabólicos, el exceso que pueda adsorber es desechado en forma de “gotas” a la tierra para poderlo utilizar cuando lo requiera (Gil Martinez, 1994; Lira Saldívar, 2000).

Tabla 10. Resultados y clasificación de las muestras analizadas por ICP-OES para la cuantificación total de boro

Muestra	Boro (mg/kg)	Clasificación
Lodo agroindustrial	17.8488	Muy alto
Lodo urbano	3.42972	Muy Alto
Mezcla de lodos	12.68541	Muy Alto
Lodo biorremediado	9.62379	Muy alto

Tabla 11. Valores de referencia de boro disponible que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Clasificación	Boro disponible (mg/kg)
Muy bajo	Menor de 0.39
Bajo	0.39 – 0.79
Medio	0.80 – 1.29
Alto	1.30 – 2.10
Muy alto	Mayor de 2.10

## 6.2.8 Análisis de porcentaje de nitrógeno.

Los resultados obtenidos del análisis del porcentaje de nitrógeno presentaron un contenido bajo de este nutriente (Tabla 12) en todas las muestras analizadas, de acuerdo con los valores de referencia que marca la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 13), esto puede deberse a la presencia de los microorganismos fermentadores, puesto que requieren de una fuente de nitrógeno para realizar sus procesos bioquímicos para poder continuar con la degradación de la materia orgánica.

El pequeño incremento de nitrógeno de la mezcla de lodos y el lodo biorremediado se debe al mismo proceso de degradación de materia orgánica especialmente aminoácidos o algún antibiótico o antiparasitario generando especies libres de nitrógeno en el lodo biorremediado para ser utilizado por las plantas o por las mismas bacterias para su supervivencia.

El valor elevado de nitrógeno en el lodo agroindustrial con respecto a los demás se puede deber tanto a la dieta del cerdo como al uso de antibióticos o antiparasitario para el control de alguna infección que pueda afectar a la granja. Este grupo de fármacos mencionados anteriormente son ricos en compuestos nitrogenados como las penicilinas, quinolonas, cefalosporinas, carbapenems, aminoglucósidos entre otros (Brunton, Chabner, & Knollmann, 2012; Golan & Armstrong, 2017; Lorenzo Fernández et al., 2008).

Tabla 12. Resultados y clasificación de las muestras a partir del análisis de porcentaje de nitrógeno, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Muestra	% de Nitrógeno	Clasificación
Lodo agroindustrial	0.10	Medio
Lodo urbano	0.01	Muy bajo
Mezcla de lodos	0.016	Muy bajo
Lodo biorremediado	0.05	Bajo

Tabla 13. Valores de referencia de porcentaje de nitrógeno que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.

Clasificación	Nitrógeno total %
Muy bajo	< 0.05
Bajo	0.05 – 0.10
Medio	0.10 – 0.15
Alto	0.15 – 0.25
Muy alto	> 0.25

### 6.2.9 Determinación de fósforo

Los resultados obtenidos del análisis de fósforo muestran un alto contenido en los materiales con respecto a la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 14 y Tabla 15), sin embargo, al observar los resultados podemos percatarnos que en la muestra del lodo biorremediado el contenido de fósforo es menor en comparación con las otras muestras, este bajo valor se debe al resultado del metabolismo microbiano del proceso de biorremediación que está presente en la muestra de lodo biorremediado.

Para los microorganismos el fósforo es necesario para los ácidos nucleicos y los fosfolípidos que normalmente absorben este elemento en forma de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, & Stahl, 2015). Para las plantas el requerimiento de este elemento es fundamental para que tengan una buena forma, color y se obtengan frutos de buena calidad, el papel fundamental de los microorganismos presentes en el material es la solubilización del fósforo en especies químicas que las plantas puedan absorber para poder utilizar en su metabolismo (Gil Martínez, 1994).

*Tabla 14. Resultados y clasificación de las muestras con base en la determinación de fósforo, de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.*

Muestra	Fósforo (mg/kg)	Clasificación
<b>Lodo agroindustrial</b>	7283.78	Alto
<b>Lodo urbano</b>	549.55	Alto
<b>Mezcla de lodos</b>	6675.67	Alto
<b>Lodo biorremediado</b>	3644	Alto

La clasificación del suelo en cuanto a su valor de fósforo puede interpretarse en la Tabla 15.

*Tabla 15. Valores de referencia de concentración de fósforo que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.*

Clasificación	Fósforo (mg/kg)
<b>Bajo</b>	< 15
<b>Medio</b>	15 – 30
<b>Alto</b>	> 30

### 6.2.10 Determinación de azufre por XRF

En la actualidad no hay una norma ambiental en la cual nos determinen límites permisibles del porcentaje de azufre en las muestras, sin embargo, haciendo la comparación de los resultados obtenidos del análisis de azufre con otros trabajos como se muestra en la Tabla 16, se observa que nos encontramos en un rango aproximado de sus valores de porcentaje de azufre (Tabla 17), por lo cual podemos inferir que los resultados obtenidos son muy buenos.

La presencia de azufre en estas muestras nos indica la constante degradación de la materia orgánica realizada por los microorganismos de modo que el azufre orgánico se mineraliza en forma de sulfatos para que pueda ser utilizado por los mismos microorganismos y también por las plantas a través de sus raíces (Azcón Bieto & Talón, 2003).

Tabla 16. Resultados de la determinación de porcentaje de azufre de las muestras analizadas por XRF

Muestra	% de S
Lodo agroindustrial	0.622
Lodo urbano	0.054
Mezcla de lodos	0.202
Lodo biorremediado	0.257

Tabla 17. Referencias bibliográficas de porcentajes de azufre obtenidos en varios lodos de distintas estaciones depuradoras de aguas residuales (Mendoza, Izquierdo, Martínez, Ma, & Prats, 2011).

Autor	% de S
Hartman <i>et al.</i> 2003	0.26
Cui <i>et al.</i> 2006	0.8
Houillon y Jolliet 2005	0.31
Murakami <i>et al.</i> 2009	0.96

### 6.2.11 Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.

Los resultados obtenidos del análisis de carbonatos de calcio equivalentes, clasifican todas nuestras muestras en cuanto a su valor de porcentaje de carbonatos de calcio con una clasificación de contenido mediano (Tabla 18.) de acuerdo con los valores de referencia establecidos por la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Tabla 19.), por lo cual estas muestras se

posicionan en un nivel equilibrado de este parámetro, y la concentración no generaría algún problema para su aplicación como acondicionador de suelos.

Al observar los valores obtenidos podemos identificar que el valor de porcentaje de carbonatos de calcio del lodo biorremediado es más baja a comparación de la mezcla de lodos, debido al metabolismo propio de los microorganismos presentes en la muestra tratada, ya que como vimos en la Tabla 2, el pH del lodo biorremediado ya es clasificado como moderadamente ácido, así que mientras un biosólido tenga un pH cercano a la acidez, menor será el contenido de carbonatos de calcio (Eyherabide et al., 2014).

*Tabla 18. Resultados y clasificación de las muestras obtenidos del análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida, que corresponden al método AS-29 de la NOM-021-SEMARNAT-2000.*

Muestra	% de CaCO <sub>3</sub>	Clasificación
<b>Lodo agroindustrial</b>	13.8	Mediano
<b>Lodo urbano</b>	7.4	Mediano
<b>Mezcla de lodos</b>	10.2	Mediano
<b>Lodo biorremediado</b>	9.1	Mediano

La clasificación del suelo en cuanto a su valor de porcentaje de CaCO<sub>3</sub> puede interpretarse de acuerdo con la Tabla 19.

*Tabla 19. Valores de referencia de porcentaje de CaCO<sub>3</sub> que corresponden al método AS-29 de la NOM-021-SEMARNAT-2000.*

Clasificación	% de CaCO <sub>3</sub>
<b>Muy bajo</b>	< 0.5
<b>Bajo</b>	0.5 – 2.0
<b>Mediano</b>	2.1 – 15
<b>Alto</b>	16 – 40
<b>Muy alto</b>	> 40

Tabla 20. Tabla de resultados de análisis de la mezcla de lodos sin tratar y del lodo biorremediado con la clasificación de cada parámetro evaluado de acuerdo con la normatividad ambiental mexicana vigente.

Parámetro	Mezcla de lodos	Lodo biorremediado	NOM-004-SEMARN AT-2002	NOM-021-SEMARNAT-2000
<b>Coliformes fecales</b>	9 NMP/g	23 NMP/g	Cumple	NA
<b>Salmonella spp.</b>	Negativo en 25 g	Negativo en 25 g	Cumple	NA
<b>Huevos de helminto</b>	1 huevo de helminto/g	1 huevo de helminto/g	Cumple	NA
<b>pH</b>	8.0	5.4	NA	Moderadamente alcalino/ Moderadamente ácido
<b>Textura</b>	Franco arenosa	Franco arenosa	NA	Franco arenosa
<b>Materia Orgánica</b>	20 %	13.5 %	NA	Muy alto
<b>As</b>	<LC	2.69 mg/kg	Excelente	NA
<b>Cd</b>	0.04 mg/kg	0.27 mg/kg	Excelente	NA
<b>Cr</b>	21.03 mg/kg	21.29 mg/kg	Excelente	NA
<b>Cu</b>	103.73 mg/kg	71.65 mg/kg	Excelente	NA
<b>Pb</b>	7.93 mg/kg	4.57 mg/kg	Excelente	NA
<b>Ni</b>	14.07 mg/kg	14.97 mg/kg	Excelente	NA
<b>Zn</b>	324.88 mg/kg	323.77 mg/kg	Excelente	NA
<b>Boro</b>	12.68 mg/kg	9.62 mg/kg	NA	Muy alto
<b>Nitrógeno</b>	0.10 %	0.05 %	NA	Bajo
<b>Fósforo</b>	6675.67 mg/kg	3644 mg/kg	NA	Alto
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	10.2 %	9.1 %	NA	Mediano

\*NA: No aplica

\* <LC: Menor de límite de cuantificación

## 7 Conclusión

Los resultados obtenidos del análisis indican que el proceso de biorremediación realizado por las empresas Química Industrial Olympus S. A. de C. V. y Némesis Asesores Ambientales S. C. producen un material inocuo fisicoquímica y microbiológicamente en cumplimiento con la normatividad ambiental mexicana vigente, rico en nutrientes con mejoras en las propiedades texturales para la fácil manipulación del material para su futura aplicación como acondicionador de suelos desgastados.

## 8 Sugerencias

- Evaluar el rendimiento de productividad de cultivos que crezcan en presencia del producto de biorremediación.
- Evaluar N total presente en los mismos cultivos.

## 9 Bibliografía

- Azcón Bieto, J., & Talón, M. (2003). *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGrawHill (Primera ed). Barcelona, España: McGrawHill. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Baca, M. T., Fornasier, F., & de Nobili, M. (1992). Mineralization and humification pathways in two composting processes applied to cotton wastes. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 74(3), 179–184. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0922-338X\(92\)90080-E](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0922-338X(92)90080-E)
- Benito, M., Masaguer, A., De Antonio, R., & Moliner, A. (2005). Use of pruning waste compost as a component in soilless growing media. *Bioresource Technology*, 96(5), 597–603. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.006>
- Brunton, L. L., Chabner, B. A., & Knollmann, B. C. (2012). *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica* (12a Edición). México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V.
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F. C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M. P., & Moral, R. (2008). Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability. *Chemosphere*, 72(4), 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.030>
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Moral, R., Agulló, E., Pérez-Murcia, M. D., & Abad, M. (2008). Composts from distillery wastes as peat substitutes for transplant production. *Resources, Conservation and Recycling*, 52(5), 792–799. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2007.11.005>
- Calderon, L. (n.d.). Soil texture triangle: hydraulic properties calculator. Retrieved October 24, 2018, from [http://www.drcalderonlabs.com/Metodos/Analisis\\_Fisico\\_de\\_Suelos/Calculador Textural.htm](http://www.drcalderonlabs.com/Metodos/Analisis_Fisico_de_Suelos/Calculador_Textural.htm)
- Castillo Reynoso, J. E., & Martínez de la Paz, C. D. (2013). *San Francisco Totimehuacán, Clave: E14-B53 Escala: 1:50000, Estado de Puebla*.
- Couillard, D., & Zhu, S. (1992). Bacterial leaching of heavy metals from sewage sludge for agricultural application. *Water, Air, and Soil Pollution*, 63(4), 67–80.
- D.O.F. ACUERDO por el que se delegan en los titulares de las delegaciones federales de la Secretaría de Medio Ambiente, facultades para emitir la Licencia Ambiental Unica (1998).
- Eweis, J. B., Schroeder, E. D., Chang, D. P. Y., & Ergas, S. J. (1998). *Bioremediation principles*. Boston: Boston WCB/McGraw-Hill.
- Eyherabide, M., Saínez Rozas, H., Barbieri, P., & Eduardo Echeverría, H. (2014). Comparación De Métodos Para Determinar Carbono Orgánico En Suelo. *Cienc Suelo (Argentina)*, 32(1), 13–19.
- García-Gómez, A., Bernal, M. P., & Roig, A. (2002). Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes. *Bioresource Technology*, 83(2), 81–87. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00211-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00211-5)
- Gil Martínez, F. (1994). *Elementos de Fisiología Vegetal* (Primera). Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Glaser, A. N., & Nikaido, H. (2007). *Microbial biotechnology. Fundamentals of Applied Microbiology*,

- Golan, D. E., & Armstrong, A. W. (2017). *Principios de Farmacología: Bases Fisiopatológicas Del Tratamiento Farmacológico* (4a Edición). Barcelona, España: Lippincott Williams & Wilkins. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=yXjRjwEACAAJ>
- Harris, D. C. (2007). *Análisis químico cuantitativo* (Tercera ed). Barcelona, España: Editorial Reverté S.A.
- Herrera, F., Castillo, J. E., Chica, A. F., & López Bellido, L. (2008). Use of municipal solid waste compost (MSWC) as a growing medium in the nursery production of tomato plants. *Bioresource Technology*, 99(2), 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.042>
- Iturbe-Argüelles, C., Flores-Torres, C., Chávez-López, C., & Roldán-Martín, A. (2002). Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 25–35. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Lira Saldívar, R. H. (2000). *Fisiología vegetal*. (Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Ed.). Trillas. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=jYcUPwAACAAJ>
- López Pérez, M. A. (2016). *Determinación de la confiabilidad de los métodos de ollas isobáricas y centrífuga para la determinación de capacidad de campo y punto de marchitez permanente*. Universidad Central Del Ecuador.
- Lorenzo Fernández, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J. C., Moro, M. A., & Portolés, A. (2008). *Velázquez. Farmacología básica y Clínica* (18a Edició). Madrid, España: Editorial Medica Panamericana S. A.
- Madejón, E., López, R., Murillo, J. M., & Cabrera, F. (2001). Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: Effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 84(1), 55–65. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(00\)00191-2](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(00)00191-2)
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos* (14a edición). Madrid, España: Pearson Educación S.A.
- Manios, T. (2004). The composting potential of different organic solid wastes: Experience from the island of Crete. *Environment International*, 29(8), 1079–1089. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00119-3](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00119-3)
- Mbagwu, J. S. C., & Ekwealor, G. C. (1990). Agronomic potential of brewers' spent grains. *Biological Wastes*, 34(4), 335–347. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0269-7483\(90\)90034-P](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0269-7483(90)90034-P)
- Mendoza, C., Izquierdo, G., Martínez, R., Ma, D., & Prats, H. (2011). Opciones de valoración de lodos de distintas estaciones depuradoras de aguas residuales. *Ingeniería*, 3(2010), 177–190.
- Milistone. (n.d.). *Method for the acid digestion of the sludge sample in a closed vessel device using temperature control microwave heating for the metal determination*. (DG-EN-11 No. DG-EN-11).
- Moreno, J., Colín, A., & Gomeztagle, M. (2000). Irradiación de lodos residuales y su uso en el cultivo de avena. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 44(3), 219–223 Sociedad.
- Mujica F, V. C., Pérez, C., Ledezma, G., & Ortega, M. (2009). Propuesta técnica para el tratamiento y

disposición final de los lodos provenientes de una planta potabilizadora.

- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, D. O. de la F. 15 de agosto de 2003. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. (2003).
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, D. O. de la F. 31 de diciembre de 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. (2002).
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número mas probable. (1994).
- Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos. (1994).
- Ostos, J. C., López-Garrido, R., Murillo, J. M., & López, R. (2008). Substitution of peat for municipal solid waste- and sewage sludge-based composts in nursery growing media: Effects on growth and nutrition of the native shrub *Pistacia lentiscus* L. *Bioresource Technology*, *99*(6), 1793–1800. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.03.033>
- Quiles, A. (2005). Efecto del zinc en la alimentación porcina. *Cría y Salud*, *3*, 42–49.
- Ribeiro, H. M., Romero, A. M., Pereira, H., Borges, P., Cabral, F., & Vasconcelos, E. (2007). Evaluation of a compost obtained from forestry wastes and solid phase of pig slurry as a substrate for seedlings production. *Bioresource Technology*, *98*(17), 3294–3297. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.002>
- Rigaku. (2015). Análisis elemental por fluorescencia de rayos X. Espectrómetro secuencial de WDXRF de sobremesa. Retrieved from <https://docplayer.es/7846383-Analisis-elemental-por-fluorescencia-de-rayos-x-espectrometro-secuencial-de-wdxrf-de-sobremesa.html>
- Salehi, M. H., Beni, O. H., Harchegani, H. B., Borujeni, I. E., & Motaghian, H. R. (2011). Refining Soil Organic Matter Determination by Loss-on-Ignition. *Pedosphere*, *21*(4), 473–482. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(11\)60149-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(11)60149-5)
- Sánchez-Monedero, M. A., Cayuela, M. L., Mondini, C., Serramiá, N., & Roig, A. (2008). Potential of olive mill wastes for soil C sequestration. *Waste Management*, *28*(4), 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.09.029>
- Sánchez-Monedero, M. A., Serramiá, N., Civantos, C. G. O., Fernández-Hernández, A., & Roig, A. (2010). Greenhouse gas emissions during composting of two-phase olive mill wastes with different agroindustrial by-products. *Chemosphere*, *81*(1), 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.022>
- Sánchez, J., & Rodríguez, J. (2010). Fundamentos y Aspectos Microbiológicos: Biorremediación. *Universidad de Oviedo*, *1*, 12–16.
- Saval, S. (1998). Situación actual y perspectivas de la biorremediación de suelos y acuíferos en México. *Biotecnología*. Retrieved from <http://biblat.unam.mx/es/revista/biotecnologia/articulo/situacion-actual-y-perspectivas-de-la-biorremediacion-de-suelos-y-acuiferos-en-mexico>

- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Revista de La Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.*, 16(1), 14–46. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.005>
- Seiple, K. T., Reid, B. J., & Fermor, T. R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soil contaminated with diesel fuel.pdf. *Environmental Pollution*, 112, 269–283.
- Skoog, Douglas A., West Donald M., Holler, F. James, Crouch, S. R. (2015). *Fundamentos de química analítica* (Novena edi). México, D.F.: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V.
- Tadesse, W., Shuford, J. W., Taylor, R. W., Adriano, D. C., & Sajwan, K. S. (1991). Comparative availability to wheat of metals from sewage sludge and inorganic salts. *Water, Air, and Soil Pollution*, 55(3–4), 397–408. <https://doi.org/10.1007/BF00211202>
- Thieman, W. J., & Palladino, M. A. (2010). *Introducción a la biotecnología*. (Pearson Educación S.A., Ed.) (Segunda ed). Madrid, España: Pearson Educación S.A.
- Tosun, I., Gönüllü, M. T., Arslankaya, E., & Günay, A. (2008). Co-composting kinetics of rose processing waste with OFMSW. *Bioresource Technology*, 99(14), 6143–6149. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.039>
- United States Department of Agriculture. (n.d.). Soil Texture Calculator | NRCS Soils. Retrieved October 24, 2018, from [https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/?cid=nrcs142p2\\_054167](https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/?cid=nrcs142p2_054167)
- US EPA. (2000). Method 6010 D - Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry. *US Environmental Protection Agency*, (July), 1–35.
- US EPA. (2007). Method 3015a - Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts. *US Environmental Protection Agency*, (February), 25. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Van Deuren; J.; Z. Wang y J. Ledbetter. (1997). *Remediation technologies screening matrix and reference guide* (Tercera). Technology Innovation Office, EPA.
- Velasco, J. A., & Volke Sepulveda, T. L. (1997). El composteo : una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *Gaceta Ecológica ISSN: 1405-2849*, 66, 41–53.

## 10 Anexo 1: Tablas de resultados de análisis fisicoquímico y microbiológico

*Tabla 21. Descripción de colonias típicas de Salmonella spp. en el agar verde brillante, sulfito de bismuto y XLD*

Agar	Descripción de colonias típicas de <i>Salmonella</i> spp.
<b>Verde brillante</b>	Colonias rojas rodeadas por un halo rojo.
<b>Sulfito de bismuto</b>	Colonias negras con brillo metálico
<b>XLD</b>	Colonias rojas con centro negro

*Tabla 22. Descripción positiva al crecimiento y vire de Salmonella spp. en los tubos con TSI, LIA y MIO*

Prueba bioquímica	Descripción positiva a <i>Salmonella</i> spp.
Agar TSI	en el fondo del tubo se observa vire del indicador debido a la fermentación de la glucosa; en la superficie del medio se observa un color rojo más intenso que el medio original debido a la no fermentación de la lactosa ni de la sacarosa. En la mayoría de los casos se observa coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de H <sub>2</sub> S.
Agar LIA	se observa intensificación del color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina. La mayoría de las cepas de <i>Salmonella</i> producen H <sub>2</sub> S en este medio con ennegrecimiento a lo largo de la punción.
Agar MIO	Se observa un color gris-púrpura debido a la descarboxilación de la ornitina. Retener todos los cultivos que muestren las reacciones características de <i>Salmonella</i> en los medios TSI y LIA.

*Tabla 23. Resultados de la determinación de bacterias coliformes fecales por la técnica del número más probable*

Muestra	Coliformes fecales (NMP/g)
Lodo agroindustrial (Almacenado por 2 meses)	Menor a 3
Lodo urbano (Almacenado por 2 meses)	9
Mezcla de lodos (Almacenado por 2 meses)	9
Lodo agroindustrial	Menor a 3
Lodo urbano	430
Mezcla de lodos	24
Mezcla de lodos (04-Dic-17)	Mayor de 1100
Mezcla de lodos (10-Dic-17)	240
Mezcla de lodos (18-Dic-17)	Menor a 3
Mezcla de lodos (26-Dic-17)	3,6
Mezcla de lodos (02-Ene-18)	43
Lodo biorremediado	23

*Tabla 24. Resultados de la investigación de salmonella spp.*

Muestra	Salmonella spp.	Equivalencia a Salmonella spp. (NMP/g)
Lodo agroindustrial (Almacenado por 2 meses)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Lodo urbano (Almacenado por 2 meses)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (Almacenado por 2 meses)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Lodo agroindustrial	Negativo en 25 g	Menor a 3
Lodo urbano	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (04-Dic-17)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (10-Dic-17)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (18-Dic-17)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (26-Dic-17)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Mezcla de lodos (02-Ene-18)	Negativo en 25 g	Menor a 3
Lodo biorremediado	Negativo en 25 g	Menor a 3

**Tabla 25. Resultados del Número de Huevos de Helmintos**

MUESTRA	NÚMERO DE HUEVOS/ g EN BASE SECA (Promedio del triplicado)
Lodo agroindustrial	0
Lodo Urbano	2
Mezcla de lodos	1
Mezcla de lodos (04-Dic-17)	3
Mezcla de lodos (10-Dic-17)	2
Mezcla de lodos (18-Dic-17)	2
Mezcla de lodos (26-Dic-17)	3
Mezcla de lodos (02-Ene-18)	1
Lodo biorremediado	1

**Tabla 26. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.**

	Indicador bacteriológico de contaminación	Patógenos	Parásitos
<b>Clase</b>	Coliformes fecales NMP/g en Base seca	<i>Salmonella</i> spp. NMP/g en base seca	Huevos de Helmintos/g en base seca.
<b>A</b>	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1
<b>B</b>	Menor de 1000	Menor de 3	Menor e 10
<b>C</b>	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

(a) Huevos de helmintos viables.

*Tabla 27. Aprovechamiento de biosólidos de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.*

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

*Tabla 28. Resultados de la cuantificación total de metales pesados por la técnica de ICP-OES y “límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos” de la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002.*

	L. agroindustrial	L. Urbano	Mezcla de lodos	L. Biorremediado	Excelente	Bueno
As (mg/kg)	1.15812	2.99655	<LC	2.68722	41	75
Cd (mg/kg)	<LC	0.29088	0.04401	0.26955	39	85
Cr (mg/kg)	11.71485	23.88285	21.0321	21.28959	1200	3000
Cu (mg/kg)	142.1739	11.32794	103.7259	71.65242	1500	4300
Pb (mg/kg)	2.0007	7.53651	7.92936	4.57398	300	840
Ni (mg/kg)	13.32594	14.08203	14.06898	14.9679	420	420
Zn (mg/kg)	492.2514	30.43503	324.8775	323.7741	2800	7500

<LC: Menor al límite de cuantificación

*Tabla 29. Resultados de la cuantificación total de micronutrientes por la técnica de ICP-OES*

Muestra	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Na (mg/kg)	Mg (mg/kg)	K (mg/kg)
<b>Lodo agroindustrial</b>	3000.021753	213.84	6080.106819	824.4549	4327.101	2583.396
<b>Lodo urbano</b>	10303.04117	6279.522558	3006.648	354.1941	3816.495	1860.759
<b>Mezcla de lodos</b>	7012.46652	299.2077	5534.784	765.3978	4264.389	2428.344
<b>Lodo biorremediado</b>	7015.5032	327.8502	4835.718	566.7273	3108.555	1852.83

*Tabla 30. Límites máximos permisibles de hierro y manganeso que corresponden a la NOM-021-SEMARNAT-2000.*

Parámetro	Deficiente (mg/kg)	Marginal (mg/kg)	Adecuado (mg/kg)
<b>Hierro</b>	<2.5	2.5-4.5	> 4.5
<b>Manganeso</b>	<1.0		>1.0

## 11 Anexo 2: Fundamento de las técnicas fisicoquímicas y microbiológicas usadas

### 11.1 Número más probable.

El número más probable (N.M.P.) es el valor que resulta de la estimación de un contenido microbiano, con base a la probabilidad, cuando se aplica una técnica en tubo de dilución múltiple en el análisis de un producto. Esta técnica se recomienda emplear cuando se estima que el grupo o microorganismos sometidos a estudio se encuentran en baja concentración o se encuentran estresados. La técnica consta de tres pruebas: Prueba presuntiva, prueba confirmatoria y prueba completa (Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, 2003).

### 11.2 Investigación de *Salmonella spp.*

La presente técnica para la detección de *Salmonella* describe un esquema general que consiste en 5 pasos básicos (Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, 1994): Pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, selección en medios sólidos, identificación bioquímica y serotipificación

### 11.3 Huevos de Helminto

La prueba se basa en lavados continuos, combinados con diversas etapas de filtración y flotación para lograr la separación de los huevos de helmintos del resto de las partículas de mayor y menor tamaño, así como su concentración (Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, 2003).

### 11.4 Análisis de pH

La evaluación electrométrica del pH se basa en la determinación de la actividad del ion H mediante el uso de un electrodo cuya membrana es sensitiva al H. En el caso de los suelos el pH se mide potenciométrica mente en la suspensión sobrenadante de una mezcla de relación suelo: agua 1:2 (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

### 11.5 Análisis de textura por el procedimiento de Bouyoucos

La textura del suelo define como la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas. Proporciona una idea general de las propiedades físicas del suelo. El tiempo de lectura se ha escogido de 40 segundos para la separación de partículas mayores de 0.05 mm (arena) y de 2 horas para partículas de diámetro mayores de 0.002 mm (limo y arena). Estos límites han sido establecidos por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos y se han

usado para construir el triángulo de texturas (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

**11.6 Análisis de porcentaje de materia orgánica por el método de pérdida por ignición**  
El método de calcinación o pérdida por ignición (loss on ignition, LOI) cuantifica directamente el contenido de MO y se basa en determinar la pérdida de peso de una muestra de suelo al someterla a elevadas temperaturas (Salehi, Beni, Harchegani, Borujeni, & Motaghian, 2011).

**11.7 ICP-OES (Plasma de acoplamiento inductivo de emisión atómica)**

Técnica espectrométrica utilizada para determinar los elementos traza en soluciones acuosas, capaz de medir hasta 70 elementos de forma simultánea, además de eliminar muchas interferencias. En ICP-OES, una solución se nebuliza continuamente en una descarga de plasma de argón de acoplamiento inductivo, donde los analitos se convierten en átomos o iones de fase gaseosa en estado excitado a medida que los átomos o iones regresan a su estado fundamental, emiten energía en forma de luz en las longitudes de onda que son características de cada elemento específico. La intensidad de la energía emitida a la longitud de onda elegida es proporcional a la concentración de ese elemento en la muestra analizada. (Harris, 2007; Skoog, Douglas A., West Donald M., Holler, F. James, Crouch, 2015; US EPA, 2000).

**11.8 Determinación de nitrógeno por el procedimiento de micro Kjeldahl.**

Se basa en la extracción del amonio intercambiable por equilibrio de la muestra de suelo con KCl 2 N y su determinación por destilación mediante arrastre de vapor en presencia de MgO. La adición de la aleación de Devarda permite incluir la determinación de nitratos y nitritos (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

**11.9 Determinación de fósforo por el procedimiento de Bray y Kurtz 1**

La solución extractora de P consiste en una combinación de HCl y  $\text{NH}_4\text{F}$  la cual remueve formas de P ácido-solubles como los fosfatos de calcio y una porción de fosfatos de aluminio y hierro. El  $\text{NH}_4\text{F}$  disuelve los fosfatos de aluminio y de hierro al formar un ion complejo con estos iones metálicos en solución ácida (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).

#### 11.10 Determinación de azufre por WDXRF

El análisis de fluorescencia de rayos X (XRF o FRX) comienza con la exposición de una muestra a fotones de alta energía desde un tubo de rayos X, lo que induce la transición de electrones entre orbitales atómicos y da como resultado la emisión de fotones fluorescentes. Mediante la medición de energía y la intensidad (velocidad de conteo) estos fotones, se obtiene la información cualitativa y cuantitativa de la composición elemental (Rigaku, 2015).

#### 11.11 Análisis de carbonatos de calcio equivalentes por el método de neutralización ácida.

Método para la determinación de carbonatos de calcio equivalentes por neutralización ácida. Se sigue el método de titulación rápida por Piper, también llamado método ácido de neutralización. La muestra es tratada con ácido diluido y el ácido restante (no usado por el carbonato), se titula. Los resultados son referidos como carbonato de calcio equivalente, dado que la disolución no es selectiva para la calcita, también otros carbonatos pueden ser disueltos de la misma manera, como la dolomita (Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, 2002).