

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE QUÍMICA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Proyecto Final de Graduación para optar por el título de Ingeniería Ambiental con el grado académico de Licenciatura

“Saneamiento y disposición de biosólidos provenientes de lodos sépticos residuales”

Fabiola Segura Montero

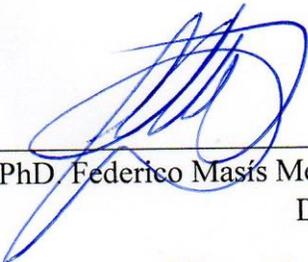
Cartago, noviembre, 2018.

TEC | Tecnológico de Costa Rica
Ingeniería Ambiental

“Saneamiento y disposición de biosólidos provenientes de lodos sépticos residuales”

Informe presentado a la Escuela de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Ambiental con el grado de licenciatura.

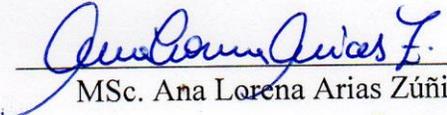
Miembros del tribunal



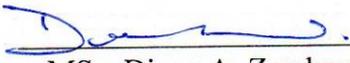
PhD. Federico Masís Meléndez
Director



Dra. Andrea Quesada González
Lector 1



MSc. Ana Lorena Arias Zúñiga
Lector 2



MSc. Diana A. Zambrano Piamba
Coordinadora COTRAFIG



PhD. Floria Roa Gutiérrez
Directora Escuela de Química



MSc. Ana Lorena Arias Zúñiga
Coordinadora de Ingeniería Ambiental

DEDICATORIA

A mi mamá y mi papá, que me han apoyado incondicionalmente en cada uno de mis proyectos y sueños, gracias a Dios por darme padres tan comprensivos y amorosos.

A mi hermano, por inspirarme a entrar a una institución tan prestigiosa.

A mi difunta abuela Adela, por nunca dejar de creer en mí.

A todas mis tías, tíos, primas y primos que me desean lo mejor.

A Estebitan, por aportar chispas de alegría en momentos de monotonía.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por siempre apoyarme en cada uno de mis proyectos. A mi profesor director Federico Masís, quien me inspiró, instruyó, animó y aconsejó oportunamente en cada etapa de este proceso.

A la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A y Fumigadoras Alto S.A en Pérez Zeledón, señor Rogelio Fernández Quesada y L.Q. Rigoberto Núñez Zúñiga, por abrir las puertas de su empresa y brindarme la confianza para trabajar sobre las bases que con mucho esfuerzo han creado. También a al personal de la empresa que me recibieron y ayudaron en cada muestreo.

Al personal del Centro de Investigación y Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC), especialmente al departamento de microbiología: Andrea Quesada, Rodolfo Kiechle y Andrea Araya, por darme el apoyo, tutoría y facilidades para desarrollar este proyecto.

A los asistentes que con tan buena disposición estuvieron presentes: Eliane, Alejandro, Natalia, Valeria y Estrella, gracias por su gran ayuda. También gracias a Marquito por ayudar en todo lo que estuvo en sus manos.

Al profesor Eric Romero Blanco por sacarme de tantas dudas y a la Ing. María Fernanda Jiménez Morales por siempre sacar de su tiempo para guiarme.

Gracias a la Dra. Marquita Taylor de la Universidad de YALE, por ser inspiración y motivación en tiempos difíciles.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1. OBJETIVOS	2
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Incorporación de Biosólidos en el Ciclo de Nutrientes	4
Biosólidos como nutriente.....	4
Peligros Sanitarios.....	7
Legislación y regulaciones vigentes.....	8
2.2. Tratamientos Sanitarios	12
Fermentación Ácido-láctica	12
Encalado	14
Secado solar	15
3 MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Sitio de estudio.....	17
3.2. Caracterización de biosólidos	18
Pruebas Físicoquímicas	18
Pruebas microbiológicas	18
3.3. Tratamientos sanitarios	19
Muestra de lodo para los Tratamientos Sanitarios	19
Fermentación Ácido-Lática.....	19
Encalado	22
Secado solar	23
3.4. Evaluación de los Tratamientos Sanitarios	24
Análisis Estadístico de Datos	24
Análisis Económico de los Tratamientos Sanitarios	24
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1. Caracterización físicoquímica de los biosólidos.....	25
4.2. Caracterización microbiológica de los biosólidos	26

4.3.	Tratamientos Sanitarios	28
	Fermentación Ácido-láctica	28
	Encalado	31
	Secado solar	33
4.4.	Evaluación de Tratamientos Sanitarios y aplicación de biosólidos	35
5	CONCLUSIONES	42
6	RECOMENDACIONES	43
7	REFERENCIAS	44
8	ÁPENDICES	51
	Apéndice I: Planta de Tratamiento de lodos sépticos de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. en el Hoyón de San Isidro de Pérez Zeledón.....	51
	Apéndice II: Jarras de anaerobiosis utilizadas para la incubación de bacterias lácticas... 52	
	Apéndice III: Cálculo del valor de neutralización de la cal a partir del método de titulación según Briceño & Pacheco (1984).	52
	Apéndice IV: Respuesta microbiológica de las muestras procesadas de distintas etapas de la PT de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.....	54
	Apéndice V: Guía para el recuento de microorganismos empleada.	55
9	ANEXOS.....	57
	Anexo I: Reporte de resultados del análisis químico completo de dos muestras de lodos sépticos.....	57
	Anexo II: Reporte de resultados del análisis químico de dos muestras de lodo séptico... 58	
	Anexo III: Reporte de resultados del análisis químico completo de dos muestras de fertilizante orgánico de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.	59
	Anexo IV: Reporte de resultados del análisis microbiológico realizado a dos muestras de fertilizante orgánico de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Planta de Tratamiento de lodos sépticos de la Empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. ubicada en Pérez Zeledón.	17
Figura 3.2. Fase previa al decantado de la técnica de Telemann.....	19
Figura 3.3. Prueba de variación de pH en caldo CTS y leche entera pasteurizada de tres bacterias lácticas.	20
Figura 3.4. UFC de bacterias lácticas <i>Mix</i> y coliformes en su respectivo agar selectivo.	22
Figura 3.5. Métodos de agitación empleados para el tratamiento de Encalado.....	23
Figura 4.1. Efecto de la fuente de carbono en la acidez del lodo durante el tratamiento FAL.	29
Figura 4.2. Efecto del tratamiento de encalado en la acidez del lodo del lote 4.	32
Figura 4.3. Comparación de los tratamientos de FAL y Encalado.....	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. <i>Composición</i> característica del Lodo Fecal Humano por Afolabi&Sohail (2016).	5
Cuadro 2.2. Límites permisibles de microorganismos indicadores para la implementación de biosólidos tratados en distintos países.	9
Cuadro 3.1. Factores del diseño experimental para el primer montaje de la fermentación ácido-láctica.	22
Cuadro 3.2. Factores del diseño experimental para el segundo montaje de la fermentación ácido-láctica.	22
Cuadro 4.1. Caracterización fisicoquímica de muestras de lodo y abonos orgánicos.	25
Cuadro 4.2. Caracterización microbiológica de las muestras del lodo.	27
Cuadro 4.3. Respuesta microbiológica al tratamiento sanitario FAL.	30
Cuadro 4.4. Respuesta microbiológica del lote 4 al tratamiento sanitario de encalado.	32
Cuadro 4.5. Respuesta microbiológica al proceso de secado solar.	33
Cuadro 4.6. Contraste de la respuesta microbiológica de varias muestras en la etapa de secado solar.	34
Cuadro 4.7. Análisis fisicoquímico de dos biosólidos realizados por el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica.	35
Cuadro 4.8. Estructura de costos de los tratamientos sanitarios.	37

LISTA DE SIGLAS Y ACRÓNIMOS

A	Ausente, como respuesta microbiológica.
ANOVA	Análisis de la varianza.
AOAC	Association of Official Analytical Chemists.
CaCO₃	Carbonato de calcio.
CaO	Óxido de calcio.
Ca(OH)₂	Hidróxido de calcio.
CICC	Caldo Infusión Cerebro Corazón.
CCME	Consejo Canadiense de Ministros de Medio Ambiente.
CE	Conductividad eléctrica.
CEQIATEC	Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos.
CF	Coliformes fecales.
CFIA	Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria.
CIA	Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica.
CTS	Caldo Trypticasa Soya.
CVO	Certificado Veterinario de Operación.
C/N	Se refiere a la relación carbono-nitrógeno.
EPA	United States Environmental Protection Agency.
FAL	Fermentación Ácido-Láctica.
IMN	Instituto Meteorológico Nacional.
K	Potasio
N	Nitrógeno
NMP	Número más probable.
N.S	No se observan huevecillos de helmintos.
P	Fósforo
PAPF	Plan de Aplicación de Purines como Fertilizante.
PAS	Prolonged Alkaline Stabilization.
PT	Planta de Tratamiento.
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales.
pH_a	pH crítico ácido.

pH_b	pH crítico básico.
pH_t	pH teórico.
S	Azufre
TS	Tratamiento Sanitario.
UFC	Unidades Formadoras de Colonias.
UFP	Unidades Formadoras de Placa.
USEPA	United States Environmental Protection Agency

RESUMEN

En Costa Rica el tanque séptico es el tratamiento individual de aguas residuales domésticas más extendido, y su uso crece año tras año. La generación de lodos residuales derivados de la purga de los tanques, su tratamiento y disposición final es poco controlada por las autoridades. En la actualidad existen pocas empresas autorizadas para tal propósito. Además, carecen de normativas que les facilite utilizar indicadores microbiológicos o fisicoquímicos confiables para evaluar su desempeño; y no se cuenta con guías prácticas para el tratamiento de los lodos y disposición final de los biosólidos. Por lo tanto, esta investigación estudia a escala de laboratorio dos técnicas conocidas como “de emergencia” para el tratamiento sanitario de lodos sépticos. La Fermentación Ácido-láctica (FAL), asistida por medio de tres cepas de bacterias lácticas: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* y *Mix*; y tres fuentes de carbono: zanahoria, melaza y dextrosa. Además del encalado con “cal viva” ($\text{CaO} = 105.5\% \text{CaCO}_3$) y “cal apagada” ($\text{Ca(OH)}_2 = 75\% \text{CaCO}_3$). Adicionalmente, se valora la fase de secado solar presente en la planta de tratamiento de lodos sépticos de una empresa autorizada. Se caracterizó el material de partida con pruebas fisicoquímicas y microbiológicas y se seleccionó a los coliformes totales como microorganismos indicadores idóneos. Las dosis óptimas para FAL fueron de 0.22 g dextrosa/ g lodo y 0.20 g melaza/ g lodo, alcanzando un $\text{pH}_a \leq 3.89$ y un 100% de efectividad para la eliminación de coliformes. Por otro lado, la dosis de 0.12 g CaO / g lodo fue más exitosa en comparación con el uso de cal apagada, alcanzando un $\text{pH}_b > 12$ y un 100% de efectividad para la eliminación del microorganismo indicador. Después de evaluar la eficiencia de remoción y costos, se estableció el tratamiento de encalado con CaO como el más viable. Los resultados obtenidos son prometedores para el tratamiento de lodos sépticos, sin embargo, es importante considerar su heterogeneidad fisicoquímica y microbiológica y por ende la necesidad de ajustar las curvas de encalado previo a realizar el tratamiento.

Palabras clave: Tratamiento de lodos sépticos, Fermentación Ácido-láctica, Óxido de calcio, biosólido.

ABSTRACT

In Costa Rica, the septic tank is the single largest treatment for domestic wastewater, and its use grows every year. The generation of residual sludge derived from the purging of the tanks, their treatment and final disposal is little controlled by the authorities. Nowadays there are few companies authorized for such purpose. In addition, they lack regulations that allow them to use reliable microbiological or physicochemical indicators to evaluate their performance; and there are no practical guides for the treatment of sludge and final disposal of biosolids. Therefore, this research studies two techniques known as "emergency" for the sanitary treatment of septic sludge, at laboratory scale. Lactic Acid Fermentation (LAF), by three lactic acid bacteria strains: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Mix*, and three sources of carbon: carrot, molasses and dextrose. In addition to liming with "quicklime" ($\text{CaO} = 105.5\% \text{CaCO}_3$) and "slaked lime" ($\text{Ca}(\text{OH})_2 = 75\% \text{CaCO}_3$). Also, the solar drying phase present in the sewage treatment plant of an authorized company is evaluated. The starting sludge was characterized with physicochemical and microbiological tests and the total coliforms were selected as suitable indicator microorganisms. The optimal doses for FAL were 0.22 g dextrose / g sludge and 0.20 g molasses / g sludge, reaching a pH of ≤ 3.89 and a 100% effectiveness for the elimination of coliforms. On the other hand, the dose of 0.12 g CaO / g sludge was more successful compared to the use of slaked lime, reaching a pH > 12 and 100% effectiveness for the elimination of the indicator microorganism. After evaluating the removal efficiency and costs, liming treatment with CaO was established as the most viable. The results obtained are promising for septic sludge treatment, however, it is important to consider its physicochemical and microbiological heterogeneity and consequently the need to adjust the liming curves prior to treatment.

Key words: Septic sludge treatment, Lactic Acid Fermentation, calcium oxide, biosolid.

1 INTRODUCCIÓN

El manejo y eliminación de los lodos sépticos es un gran problema ambiental, especialmente debido al alto contenido de humedad y componentes complejos. Cada país procesa millones de toneladas de biosólidos cada año. En promedio, cada persona produce alrededor de 25 kg de materia fecal (masa/masa) por año y como resultado los lodos de depura se han convertido en un problema considerable (Brodie et al., 2014). La eliminación segura de excrementos humanos ha tenido, tradicionalmente, el doble objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente. Se espera que la cantidad de personas que utilizan tecnologías in situ como letrinas y tanques sépticos, que requieren la gestión de lodos fecales, aumente de 2.700 millones a 5.400 millones para el año 2030 (Orner & Mihelcic, 2018). La disminución global de la fertilidad y la productividad del suelo han impulsado el interés por el reciclaje de nutrientes provenientes de desechos orgánicos. Sin embargo, los lodos de aguas residuales ricos en nutrientes deben ser procesados antes de ser usados como fertilizantes para minimizar el riesgo de contaminación. Por tanto, la eliminación y la gestión de estos lodos con tecnologías ecológica y económicamente sostenibles son de primordial importancia. (Prabhu et al., 2014).

Debido a que el 76.6 % de las viviendas en Costa Rica utilizan sistemas de tanque séptico como sistema de tratamiento de aguas residuales (Programa Estado de la Nación, 2017) y se estima, solo existen siete empresas autorizadas para el tratamiento y disposición de lodos sépticos (Programa Estado de la Nación, 2013). La necesidad de un tratamiento rápido, oportuno y ecológicamente responsable es una realidad nacional, de acuerdo con lo sugerido en el Decreto N°21297 Reglamento para el Manejo de Lodos Sépticos. En este no se detalla parámetros fisicoquímicos ni microbiológicos de control sobre el tratamiento de lodos sépticos, pero enfatiza que el sistema de tratamiento de lodos sépticos deberá ser eficaz, sencillo y orientado hacia el secado de lodos para la posterior utilización como mejorador de suelo.

El tratamiento de aguas residuales, residuos fecales y orina, con el objetivo de reincorporar nutrientes al suelo se ha abordado desde distintos enfoques que contemplan tratamientos térmicos, almacenaje por largos periodos de tiempo, variación de pH, servicios sanitarios divergentes, compostaje y vermi-compostaje, entre otros (Alvarenga et al., 2015; Anand & Apul, 2014; N. Andreev, Ronteltap, Boincean, Wernli, et al., 2017; Bettendorf, Stoeckl, & Otterpohl, 2014; Kim, Sparovek, Longo, De Melo, & Crowley, 2007; Kurt, Aksoy, & Sanin, 2015). Sin embargo, estos tratamientos pueden ser costo, usualmente requieren la separación de la materia fecal y orina, o un largo periodo de tiempo. Por esto, en la presente investigación se evaluaron tratamientos denominados por Anderson et al. (2015) como de emergencia, que buscan ser tratamientos eficientes, de bajo costo económico, rápidos y que puedan tratar el lodo séptico como la materia compuesta que es.

Este estudio busca demostrar la opción que representa la aplicación de tratamientos sanitarios novedosas para lodos sépticos domésticos. Tomando en cuenta la heterogeneidad del material, su carga microbiana y su potencial contenido nutricional como apoyo a la nutrición

de suelos infértiles, promoviendo así el mantenimiento del ciclo de nutrientes común en medios naturales. Además, pretende dar los primeros pasos a nivel de investigación para exponer las carencias legales en el tema y las repercusiones que esto puede tener.

Así, se evaluaron los tratamientos sanitarios de fermentación ácido-láctica (FAL), encalado con dos tipos de cales comerciales: cal hidratada $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ y cal viva (CaO), además de una breve evaluación de la última etapa de la planta de tratamiento de la empresa autorizada Suelos Fértiles Orgánicos S.A. que consiste en un secado solar. Esto en lodos previamente caracterizados a nivel fisicoquímico y microbiológico.

1.1. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la eficiencia de remoción de patógenos en biosólidos sépticos, mediante tratamientos sanitarios para garantizar su inocuidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar los biosólidos mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos.

Establecer y evaluar tratamientos sanitarios para remover patógenos.

Recomendar posibles rutas de disposición final o aplicaciones de los biosólidos, según la inocuidad y el valor económico del tratamiento.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

El crecimiento de la población mundial, la acelerada urbanización, el desarrollo de la economía y el cambio climático aumentan la competencia por agua, energía y tierra. El camino hacia el manejo sostenible de los recursos naturales es uno de los mayores desafíos hoy en día, ya que, la sostenibilidad de la sociedad depende esencialmente de asegurar el abastecimiento de agua, alimentos y una gestión inteligente de los desechos (Factura et al., 2010).

Aunque es bien conocida la necesidad de producir más alimentos para alimentar la población creciente; la degradación mundial del suelo y el agua es cada vez más preocupante. Las prácticas agrícolas intensivas y actividades humanas han alterado los ciclos naturales del fósforo y nitrógeno, la agricultura industrial se basa en el continuo consumo de insumos minerales, fuentes de fósforo no renovables y en un suministro de nitrógeno que demanda mucha energía (Nadejda Andreev, Ronteltap, Boincean, & Lens, 2018; Someus, 2014). Además, la energía puede obtenerse de recursos renovables, pero el agua y el suelo no tienen sustitutos. Por lo tanto, es imperativo evitar su mayor degradación y restaurar su calidad (Nadejda Andreev et al., 2018).

Investigaciones recientes apuntan a mejorar el manejo de lodos fecales para la recuperación de recursos. Las heces humanas son un fertilizante natural que puede reemplazar a los fertilizantes químicos o minerales, dado su contenido de nutrientes, podrían aumentar la fertilidad del suelo para lograr una agricultura sostenible (Odey, Li, Zhou, & Yan, 2018).

En Costa Rica, el nitrógeno es un factor limitante generalizado y el 74% de los suelos agrícolas presentan deficiencias de fósforo (Berstch, 2003). Además, el 76.6% de las viviendas del país utilizan sistemas de tanque séptico, y sólo el 21.3% tienen conexión a sistema de alcantarillado sanitario (Programa Estado de la Nación, 2017). Lo que indica una creciente necesidad en tratamiento y disposición final de los lodos de purga de tanques sépticos, sin embargo, se estima que en el país solo hay siete empresas autorizadas para el tratamiento y disposición de lodos sépticos (Programa Estado de la Nación, 2013). Generando así, la producción constante de un material con posible potencial como mejorador de suelo y la necesidad de un tratamiento sanitario oportuno de estos lodos.

2.1. Incorporación de Biosólidos en el Ciclo de Nutrientes

Biosólidos como nutriente

De acuerdo con Zasada & Tenuta (2008), el material definido como biosólido, es la materia orgánica sólida rica en nutrientes recuperada del tratamiento de las aguas residuales domésticas en instalaciones de tratamiento de aguas residuales. Este material es también definido por el Consejo Canadiense de Ministros de Medio Ambiente (CCME) como productos orgánicos, es decir, que contienen materia orgánica y nutrientes vegetales; que pueden ser sólidos, semisólidos o líquidos y provenientes principalmente del tratamiento de aguas residuales domésticas o lodos municipales y que han sido sometidos a un tratamiento para disminuir o eliminar organismos patógenos (CCME, 2010).

El lodo fecal humano se caracteriza por ser una mezcla compleja, heterogénea y cambiante, de agua, microorganismos patógenos (virus, bacterias, helmintos y protozoos), nutrientes en forma de compuestos orgánicos macromoleculares no digeridos (proteínas, lípidos y polisacáridos) e inorgánicos, cenizas y minerales. Los biosólidos cuenta con una importante carga de nutrientes que podrían ser aprovechados, ya que una gran proporción de los nutrientes de los alimentos que consume el ser humano están presentes en la orina y las heces, conteniendo así, valiosos recursos (agua, nutrientes, urea, minerales y sales); tal como se muestra en el siguiente cuadro 2.1 (Afolabi & Sohail, 2016).

Cuadro 2.1. Composición característica del Lodo Fecal Humano por Afolabi&Sohail (2016).

Composición Elemental	Composición Orgánica	Características Físicas	Composición Química	Tasas de Generación
Categoría 1: Presentan cantidades significantes de C, O, H, N, P, K y S.	DQO: 20-50 g/L DBO: 6-7.6 g/L	<u>Color:</u> café <u>Contenido de humedad:</u> 95-97%	En base seca <u>Grasas/lípidos:</u> 2-15% <u>Proteínas y otros materiales nitrogenados:</u> 2-25%	<u>Heces:</u> 130-530 g/p/d <u>Orina:</u> 0.6-2.1 L/p/d
Categoría 2: Presentan cantidades pequeñas pero significantes de Ca, Mg y Zn.	Fósforo total: 150-450 mg/L Nitrógeno Total: 190-300 mg/L	<u>Sólidos Totales:</u> 3-5% <u>Sólidos Volátiles Totales:</u> 45-73%	<u>Carbohidratos:</u> 10-30% <u>Minerales (K, Ca & P):</u> 5-8%	<u>Agua de descarga:</u> 1-12 L/ descarga <u>Papel higiénico:</u> 11.7-36 g/p/d
Categoría 3: Presenta elementos traza como Cu, Ni, Cd, Pb y Hg.	NKT: 1-3.4 g/L Nitratos: 0.2-21 mg/L	<u>Conductividad eléctrica:</u> de la orina 160 ms/cm	<u>Residuos Bacterianos:</u> 10-54% <u>Fracción de urea en orina:</u> más del 50% <u>Valor calorífico:</u> Heces 17-21 MJ/kg Orina 7.1 MJ/kg	<u>Toallas sanitarias y flujo:</u> 34 g/p/d <u>Otros artículos sanitarios:</u> 0.2 g/p/d <u>Tasa de defecación:</u> 0.2-2.5/p/d <u>Frecuencia urinaria:</u> 5.4-8/p/d

Los biosólidos contienen carbono orgánico (C), nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg) y microelementos necesarios para las plantas y la fauna del suelo. El contenido de nutrientes en los biosólidos dependen de la fuente de agua no tratada, los productos químicos utilizados para la purificación y el tipo de operaciones unitarias utilizadas, estos se estiman están en los rangos de 1 a 210 g N/ kg, 1 a 150 g P/ kg, 1 a 65 g K/ kg, 5 a 170 g Ca/ kg y 2 a 94.5 g Mg/ kg (Tori, Correa, & Renella, 2017). Representando así una valiosa fuente secundaria y renovable de fósforo que puede sustituir a los costosos fertilizantes inorgánicos y ayudar a reducir el agotamiento de las reservas finitas de roca de fosfato (Withers, Flynn, Warren, Taylor, & Chambers, 2016).

Los biosólidos no solo mejoran la fertilidad del suelo, sino que también mejoran la biodisponibilidad de macro y microelementos beneficiosos para las plantas. La distribución de elementos entre el suelo y el soluto es la clave en los suelos modificados con lodo (Dede et al., 2017) Las bajas tasas de aplicación de biosólidos en suelos pueden aumentar la diversidad microbiana del suelo, la compensación entre los efectos positivos y negativos puede depender de las características específicas del sitio y los biosólidos aplicados (Mossa, Dickinson, West, Young, & Crout, 2017). Incluso se han acuñado términos que buscan describir el flujo de nutrientes en sistemas sanitarios, por ejemplo, de acuerdo con Simha, Zabaniotou, & Ganesapillai (2018), una bioeconomía basada en excretas humanas puede definirse como un conjunto de enfoques circulares y sostenibles que promueven flujos de recursos y nutrientes desde el saneamiento hacia la agricultura.

Las heces representan una cantidad mucho menor de nutrientes que la orina y muchos de estos nutrientes, especialmente el nitrógeno, están unidos orgánicamente. Dado que la cantidad de N, K y S que se encuentra en el material fecal cubre solo una parte de las necesidades de los cultivos, puede usarse principalmente como un suplemento y acondicionador orgánico del suelo rico en fósforo (Nadejda Andreev et al., 2018). La orina pura, por su parte, es microbiológicamente estéril y se estima que su contenido de nutrientes es comparable con el de un buen fertilizante (Rana, Biswas, Rinklebe, Meers, & Bolan, 2017).

Varios autores, basados en investigaciones sobre las concentraciones de contaminantes orgánicos en los lodos de depura tratados, han concluido que hay un creciente número de evidencias que demuestran que la mayoría de los compuestos estudiados como peligrosos no ponen en peligro la salud humana cuando son reciclados a tierras agrícolas siempre y cuando sean tratados (Alvarenga et al., 2015). La evidencia que muestra los riesgos para la salud asociados con la práctica del procesamiento y aplicación de biosólidos en tierras agrícolas como enmienda sigue siendo ambigua (Mason-Renton & Luginaah, 2016). Así, el tratamiento adecuado de lodos de depura mediante métodos apropiados para obtener biosólidos o compost seguros constituyen un objetivo crucial para mejorar la salud pública (WHO, 2006)

Peligros Sanitarios

El reciclaje de residuos orgánicos, como residuos domésticos, de industrias alimentarias, mataderos, el estiércol y los lodos de depuradora, podrían representar un riesgo potencial para la salud humana y animal debido a los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en estos materiales (Elving, Ottoson, Vinnerås, & Albiñ, 2010). El lodo séptico contiene cantidades significativas de microorganismos patógenos, estos son microorganismos que pueden infectar a un huésped y causar enfermedades. Los nemátodos intestinales tienden a ser más persistentes en el ambiente que los virus, bacterias y protozoarios. La mayor parte de los huevos de helmintos presentes en la materia fecal terminan también en los biosólidos (Odey, Li, Zhou, & Kalakodio, 2017). Las heces humanas pueden contener una carga patogénica en el rango de 10⁵-10¹⁰/ 100 mL coliformes fecales y hasta 60.000 / L de huevos de helmintos (Afolabi & Sohail, 2016).

La presencia de material fecal supone una importante amenaza sanitaria, que debe tenerse en cuenta al utilizar lodos para fines agrícolas. La supervivencia de las bacterias intestinales en el suelo generalmente no excede dos meses, pero bajo condiciones favorables puede superar dos años. Los huevos de parásitos intestinales, particularmente *Toxocara* sp. y *Ascaris* sp., constituyen un grupo importante. Se ha estimado que los huevos de parásitos pueden sobrevivir hasta por 10 años en el suelo fertilizado con aguas residuales que no fueron sometidas previamente a procesos de saneamiento (Sypula, Paluszak, Ligočka, & Skowron, 2013).

Aunque es la materia fecal en lodos fecales la cual contiene la mayoría de los microorganismos patógenos, la orina humana también puede llegar a contener patógenos como *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *S. senftenberg* y *Clostridium* sp. (Rana et al., 2017).

Existe una reconocida vía para la transferencia de patógenos entéricos, como virus de la hepatitis A, adenovirus, *Salmonella* entérica, *Campylobacter* sp., *Escherichia coli* O157:H7, *Cryptosporidium* y *Lambliia*; a seres humanos a partir de suelos modificados con biosólidos, esto a través de la contaminación del agua y cadena alimenticia. La escorrentía sobre la superficie de estos suelos durante eventos de tormenta podría conducir a la contaminación de aguas superficiales, subterráneas o cadena alimentaria. Además, podrían crearse nuevas vías de transmisión de agentes patógenos entre zonas rurales y urbanas mediante el uso de productos provenientes de desechos orgánicos, como el compost, tanto en el medio rural como en el urbano. La transmisión de patógenos puede ocurrir a través de aerosoles, contaminación de aguas subterráneas, contaminación de alimentos, así como, debido a vectores como aves y roedores (Elving et al., 2010; Schwarz, Sidhu, Pritchard, Li, & Toze, 2014).

Por lo tanto, el reciclaje de los residuos orgánicos podría representar un potencial riesgo para la salud a menos que se administre adecuadamente. Es vital así, el saneamiento de los residuos orgánicos antes de su aplicación al suelo. La higienización, que se entiende como la

eliminación o reducción a un nivel aceptable de patógenos, es un paso crucial en la aplicación de residuos biológicos con origen fecal (Stoeckl, Roggentin, Bettendorf, & Otterpohl, 2014).

Legislación y regulaciones vigentes

El uso de microorganismos indicadores para estimar el riesgo sanitario relacionado con la aplicación de lodos al suelo es muy importante, debido a su riesgo potencial de contaminación de suelo y agua por patógenos presentes (Alvarenga et al., 2015). El uso de organismos como *Salmonella*, *E. coli* y coliformes fecales como indicadores de contaminación es común entre varias jurisdicciones (CCME, 2010). Según los reglamentos de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), los biosólidos clasificados como Clase A o B al final de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) están permitidos para aplicaciones no restringidas y restringidas, respectivamente.

En la investigación realizada por Alvarenga et al. (2015), se utilizan dos microorganismos indicadores: cuantificación de *E. coli* y detección de *Salmonella* sp., de acuerdo con la legislación portuguesa para la aplicación de lodos de depuradora. En la investigación científica realizada por Sypula et al. (2013), se utilizan como bacterias indicadoras *Salmonella Senstenberg* W775, *Enterococcus* sp., *Escherichia coli* y huevos de parásito (*Ascaris suum*), ya que su presencia puede indicar el riesgo de presencia de microorganismos patógenos. Sin embargo, *Enterococcus* sp. fue considerado como un mal indicador en el análisis realizado por Fidjeland, Magri, Jönsson, Albiñ & Vinnerås (2013), ya que algunas especies fueron capaces de crecer en condiciones en las que se inactiva la bacteria *Enterococcus faecalis*.

Al realizar una búsqueda en distintas legislaciones de países como Canadá, Estados Unidos y Nueva Zelanda, se pueden encontrar microorganismos patógenos indicadores en común como *Salmonella* sp. y coliformes fecales. Los límites permisibles para algunos de estos microorganismos se presentan en el cuadro 2.2. En el caso de Canadá, se encuentran diferencias entre los lineamientos para el control de uso de biosólidos según cada provincia, pero a nivel nacional según la Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria (CFIA) se establecen los indicadores mostrados en el cuadro.

Cuadro 2.2. Límites permisibles de microorganismos indicadores para la implementación de biosólidos tratados en distintos países.

País	Microorganismos indicadores	Límites permisibles
Canadá	Coliformes fecales <i>Salmonella</i> sp.	<1000 NMP/g muestra No detectable
Estados Unidos	Coliformes fecales <i>Salmonella</i> sp. Virus entéricos Huevos de helminto	<1000 NMP/g suelo total <3 NMP/4 g suelo total <1 UFP/ 4 g suelo total < 1 huevo viable/ 4 g suelo total
Nueva Zelanda	<i>E. coli</i> <i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> sp. Virus entéricos Huevos del helminto	<100 NMP/g muestra <1/25 g muestra <1/25 g muestra <1UFP/4 g muestra <1 huevecillo/4 g muestra

En países como Australia e Inglaterra se presentan también lineamientos para la disposición segura de los biosólidos dependiendo de su inocuidad, sin embargo, estos están basados en el código de regulaciones Federales de la EPA parte 503 (Walker, Knight, & Stein, 1994), misma que determina las leyes y regulaciones para biosólidos en Estados Unidos.

Esta regulación establece dos tipos principales de disposición para biosólidos: la aplicación en el suelo y la disposición de superficie. La aplicación en el suelo es la aplicación de biosólidos a la tierra para acondicionar el suelo o para fertilizar cultivos u otra vegetación cultivada en el suelo. Y la disposición en superficie se define cuando los biosólidos se colocan en un área para disposición final. En ambos casos se debe asegurar la reducción de vectores de atracción de los biosólidos y para esto se proponen doce opciones en la norma:

- Lograr una reducción del 38 % en el contenido de sólidos volátiles.
- Demostrar la reducción de vectores de atracción con una digestión anaeróbica adicional en una unidad a escala de laboratorio.
- Demostrar la reducción de vectores de atracción con una digestión aeróbica adicional en una unidad a escala de laboratorio.
- Cumplir con una tasa específica de absorción de oxígeno para biosólidos digeridos aeróbicamente.
- Utilizar procesos aeróbicos a más de 40 °C durante 14 d o más.
- Adicionar álcali bajo condiciones específicas.

- Secar biosólidos sin estabilizar hasta al menos 75 % de sólidos.
- Secar biosólidos no estabilizados hasta al menos 90 % de sólidos.
- Inyectar biosólidos debajo de la superficie del suelo.
- Incorporar biosólidos en el suelo dentro de las 6 h de la aplicación o colocación en la tierra.
- Cubrir biosólidos dispuestos en un sitio de eliminación de la superficie con tierra u otro material al final de cada día de funcionamiento. Únicamente en caso de disposición en superficie.
- Tratamiento alcalino de residuos sépticos domésticos: a un pH 12 o superior durante 30 min sin agregar más material alcalino.

Adicionalmente, se establecen ciertos lineamientos aplicables sólo a residuos sépticos domésticos (USEPA, 1993). Los cuales son menos rigurosos si se aplican a sitios de baja o nula probabilidad de contacto público (terrenos agrícolas, bosques y sitios de recuperación). En estos casos se contempla incluso la aplicación del lodo séptico doméstico directo, desde un tanque de almacenamiento al sitio. Por el contrario, existen mayores restricciones para la aplicación en zonas de cultivo. Se contemplan restricciones de cultivo, pastoreo y de sitio. Estas restricciones son más leves si el lodo séptico es sometido a un tratamiento de alcalinización que establece que el material permanezca por al menos 30 min a un pH igual o superior que 12.

Restricciones para cultivo:

- Los cultivos alimenticios con partes cosechadas que toquen la mezcla de residuos/suelo y estén totalmente sobre el suelo no se cosecharán durante 14 meses después de la aplicación de residuos sépticos domésticos.
- Los cultivos alimenticios con partes cosechadas debajo de la superficie de la tierra no se cosecharán durante 38 meses después de la aplicación de residuos sépticos domésticos.
- La alimentación animal, la fibra y aquellos cultivos alimenticios que no toquen la superficie del suelo no se cosecharán durante 30 días después de la aplicación de los residuos sépticos domésticos.
- El césped cultivado en terrenos donde se aplican residuos sépticos domésticos no se recogerá durante un año después de la aplicación de los residuos sépticos domésticos cuando el césped cosechado se coloque en césped o en terreno con alto potencial de exposición pública a menos que la autoridad competente lo especifique.

Restricciones para pastoreo:

- No se permite que los animales estén en la tierra durante 30 d después de la aplicación de los residuos sépticos domésticos.

Restricciones de sitio:

- El acceso público a tierras con bajo potencial de exposición pública estará restringido por 30 d después de la aplicación de residuos sépticos domésticos.

Para lodos sépticos aplicados a zonas con potencial contacto público como céspedes y jardines, la rigurosidad es la misma que para aquellos biosólidos no domésticos: límites de contaminantes, reducción de patógenos y vectores de atracción, prácticas de gestión, frecuencia de monitoreo, registros e informes.

En Costa Rica, no se existe normativa vigente para el control de la aplicación de biosólidos como posible mejorador de suelos hasta el día de hoy, aunque en el Decreto N° 21297 Reglamento para el Manejo de Lodos Sépticos Procedentes de Tanques Sépticos se estipula que el tratamiento de estos lodos deberá ser eficaz y sencillo, utilizando una tecnología apropiada, orientado hacia el secado de lodos y posterior utilización como mejorador de suelos. En este mismo reglamento se dan disposiciones generales relacionadas con los deberes y restricciones de las empresas a cargo de dicha operación. Menciona que el permiso sanitario de funcionamiento deberá renovarse anualmente y las empresas deberán cumplir con los requisitos estipulados en las "Normas para la ubicación de sistemas de tratamiento de aguas residuales" y los "Requisitos para la revisión de sistemas de tratamiento de aguas residuales", pero sin indicar límites de control de microorganismos o parámetros fisicoquímicos.

Algunos reglamentos que se pueden relacionar con el tema son el N° 33601-S-MINAET Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales, N° 21297 Reglamento para el Manejo de Lodos Procedentes de Tanques Sépticos, y la Norma 37017 MAG Autorización del Uso de Purines del Ganado Bovino como Mejorador de las Características Físicas, Químicas y Microbiológicas del Suelo.

En el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales se establecen parámetros de control mayoritariamente químicos. Para el vertido de aguas residuales a cuerpos receptores se menciona que el límite de coliformes fecales no puede ser mayor a 1000 NMP/100 mL de muestra. En cuanto al reuso de aguas residuales ordinarias se presentan como parámetros de análisis obligatorio el caudal, coliformes fecales (CF) y nemátodos intestinales (NI). El reglamento establece un número de nemátodos intestinales/L de 1 (promedio aritmético) y coliformes fecales que van de 1000 hasta 10000 NMP/100 mL dependiendo del tipo de reuso, tales como agrícola, recreativo, urbano y de riego.

En la Norma N°37017-MAG Autorización del Uso de Purines del Ganado Bovino como Mejorador de las Características Físicas, Químicas y Microbiológicas del Suelo, se indica que para llevar a cabo el plan de aplicación de purines como fertilizante (PAPF) se debe primero determinar el volumen de purín (mediante una fórmula ya establecida en la norma), realizar un análisis fisicoquímico del suelo, determinar las hectáreas disponibles reales para aplicar PAPF, seleccionar el sistema de aplicación y las áreas limitantes para recibir purines. Sin embargo, no se menciona en la norma ningún parámetro microbiológico ni fisicoquímico a controlar en los purines antes de la aplicación en el suelo más que el Certificado Veterinario de Operación (CVO).

2.2. Tratamientos Sanitarios

Se han evaluado distintos tratamientos sanitarios para lodos fecales humanos con el fin de asegurar su posterior aprovechamiento agrícola y disposición segura, tales como, procesos térmicos de secado, microondas e incineración, inodoros divergentes, compostaje de lodo fecal, vermi-compostaje como parte de la técnica de saneamiento Terra Preta, entre otros (Afolabi & Sohail, 2016; Alvarenga et al., 2015; Fidjeland et al., 2013; Mozo & Gómez, 2016; Silva-Leal, Bedoya-Rios, & Torres-Lozada, 2013; Soewondo, Febriana, Handajani, & Firdayati, 2014; Wong & Fang, 2000). Sin embargo, estos tratamientos requieren de energía, tiempo y/o de la separación de orina y heces.

También se han evaluado tratamientos sanitarios denominados de emergencia para tratar posibles desbordes de sistemas como los tanques sépticos en caso de inundaciones o demás desastres naturales; estos tienen la característica de ser tratamientos rápidos y de bajo costo económico. Entre estos se encuentran la fermentación ácido-láctica, adición de cal y urea (Anderson et al., 2015). De particular interés para esta investigación aquellos tratamientos que procesan orina y material fecal como uno solo, ya que tratar la orina conjuntamente con la materia fecal es un reto (De Gisi, Petta, & Wendland, 2014). Los tratamientos sanitarios que admiten tal característica y fueron elegidos para la investigación se detallan en las siguientes subsecciones.

Fermentación Ácido-láctica

La fermentación ácido-láctica (FAL) es ampliamente utilizada en la producción y la conservación de alimentos, pero también en el tratamiento de desechos de cocina o excrementos animales y humanos. Es un proceso anaeróbico en el que las bacterias ácido-lácticas y algunos hongos metabolizan hidratos de carbono fácilmente degradables, como la glucosa, la fructosa y la sacarosa, a piruvato a través de la glucólisis. El piruvato se convierte principalmente en ácido láctico y algunos otros subproductos metabólicos dependiendo del tipo de lacto-fermentadores involucrados. Existen dos vías distintas para el metabolismo de los carbohidratos; mediante las bacterias de ácido-lácticas homofermentativas que forman ácido láctico como producto metabólico final y las bacterias ácido-lácticas heterofermentativas, que producen dióxido de carbono y etanol o acetato en cantidades equimolares además del ácido láctico (Yemaneh, Bulbo, Schmale, & Otterpohl, 2013).

Las bacterias ácido-lácticas son microorganismos anaerobios facultativos capaces de modificar una parte central de sus rutas metabólicas de acuerdo con la disponibilidad de oxígeno en el medio. Generalmente son exigentes en medios artificiales, pero crecen fácilmente en la mayoría de los sustratos alimentarios, producen ácido y reducen rápidamente el pH del cultivo hasta el punto en el que otros microorganismos competidores no pueden crecer. Sin embargo, la formación de ácidos orgánicos depende del tipo de fermentación, tiempo, temperatura, sustrato y cepa de bacterias ácido-lácticas empleada (Abbasiliasi et al., 2017; Nadejda Andreev et al., 2018).

Este proceso conduce a la desactivación de diferentes tipos de patógenos como coliformes fecales, *Salmonella*, *Staphylococcus* o *Clostridium*. Los complejos proteicos como las

bacteriocinas producidas por las bacterias lácticas, la glucosa oxidasa, el peróxido de hidrógeno y los exopolisacáridos también tienen un efecto supresor sobre los microorganismos patógenos, sin embargo, los mecanismos de reducción de huevos de helmintos están pobremente descritos. Uno de los factores que aporta a dicha reducción es el aumento de la temperatura entre 36 °C a 37 °C durante la fermentación. Debido a que la FAL no induce un aumento de temperatura tal, una opción es realizar la fermentación bajo la luz del sol directa o en barriles oscuros que aumenten la temperatura al exponerse al sol (N. Andreev, Ronteltap, Boincean, & Lens, 2017; Nadejda Andreev et al., 2018).

La FAL también desodoriza el olor de las excretas, mediante la eliminación de compuestos mal olientes producidos durante la degradación microbiológica de las proteínas, H₂S, NH₃ y ácidos grasos inferiores. La formación de ácidos grasos volátiles se inhibe durante el proceso de FAL, así después de algunos días de fermentación el olor fecal cambia a uno de ensilaje agrio (Nadejda Andreev et al., 2018). Una apropiada fermentación es considerada así cuando se logra la reducción de pH a 4 o menos y se produce más del 2 % de concentración de ácido láctico aproximadamente (Yemaneh et al., 2013).

Las bacterias ácido-lácticas están ampliamente distribuidas en alimentos fermentados naturales como microflora indígena, por ejemplo, en leche fermentada de vaca, cabras, búfalas o camellos (Wang et al., 2016). Sin embargo, aunque la fermentación represente un método simple y económico que se puede lograr a través de la acidificación a pH < 4, varias especies de bacterias ácido-lácticas no producen ácidos lácticos efectivos para la inactivación de patógenos. Por ejemplo, la yuca es conocida por producir bacterias de ácido láctico tales como *Pediococcus*, *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*, pero al utilizar el ácido láctico de la harina de yuca fermentada para desinfectar lodo fecal, ni el pH y ni los patógenos disminuyen significativamente. El agua de arroz fermentada permite el crecimiento de bacterias ácido-lácticas e incluso se ha probado la combinación de harina de arroz fermentada y azúcar morena para la inactivación de patógenos en el lodo fecal (Odey et al., 2018). Sin embargo, la fermentación de la harina de arroz es generalmente un procedimiento no controlado, por lo que, para producir ácido láctico efectivo a partir del arroz, debe entenderse el crecimiento microbiano y la población durante la fermentación.

Para el proceso de FAL, el contenido de azúcar en el sustrato es particularmente crucial, ya que los azúcares constituyen el factor limitante en el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas y aunque la composición de las excretas humanas varía mucho con la dieta, el clima y el estado de salud de las personas, la cantidad de azúcar simple excretada es insignificante para apoyar el crecimiento de las bacterias para el proceso de fermentación (Yemaneh et al., 2013). Por lo que es muy importante establecer fuentes de carbono de bajo costo y fácil acceso para la FAL. Algunos investigadores han empleado hidratos de carbono como melaza, para la fermentación y bacterias lácticas como *Lactobacillus casei Shirota* por un periodo de aproximadamente una semana (Anderson et al., 2015). Por otra parte Andreev et al., (2017), emplearon bacterias ácido-lácticas extraídas de repollo fermentado mezclado con melaza de remolacha y agua, por un periodo de 36 d para la fermentación de orina humana. También se han empleado grupos de bacterias como inóculo para la fermentación, tal como *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* y *Pediococcus acidilactici*, junto con

suplementos de carbono constituidos por residuos orgánicos caseros y melaza, por un periodo de 21 d (Yemaneh et al., 2013).

La bacteria *Lactobacillus casei* cepa Shirota, tiene más de 75 años de historia de consumo seguro y beneficios comprobados para la salud, respaldada por amplia investigación científica enfocada principalmente en la reducción de enfermedades intestinales funcionales e infecciosas y su efecto de modulación inmune. Existen muchos mecanismos sugeridos para la acción probiótica de esta bacteria en el intestino, la producción de ácido láctico (que produce una reducción del pH local) y la adhesión competitiva o desplazamiento de bacterias patógenas se han citado con mayor frecuencia en la literatura (Sutula, Ann Coulthwaite, Thomas, & Verran, 2013).

También la bacteria *Lactobacillus acidophilus* consumida en grandes cantidades se ha utilizado para restablecer la flora intestinal normal después de terapia con antibióticos orales y para tratar pacientes infectados con patógenos intestinales. A escala de laboratorio *L. acidophilus* ha producido sustancias parecidas a los antibióticos al cultivarse en medios controlados. Se ha reportado la producción de antibióticos en leche a temperaturas de 37 °C por esta bacteria (Gilliland & Speck, 1977). Lo que podría indicar un potencial uso en saneamiento de estas bacterias lácticas, sin embargo, poca información se encuentra disponible al respecto.

Encalado

La cal es un material de estabilización de acidez comúnmente usado en el tratamiento de aguas residuales para deshidratar, prevenir problemas de olores y eliminar microorganismos patógenos. Estudios previos demuestran que el co-compostaje de lodo de aguas residuales con materiales alcalinos tales como ceniza de carbón y residuos de bauxita alcalina son factibles para reducir las fracciones solubles e intercambiables de metales pesados en el compost de lodo (Wong & Fang, 2000).

Este material es considerado uno de los materiales de enmienda más comunes e importantes para la estabilización de lodos de depuradora pues desempeña un papel importante en la reducción de la disponibilidad de metales pesados, el aumento de los beneficios agrícolas y la reducción de los riesgos ambientales respectivos. Al aumentar el pH disminuye la captación de metales por los cultivos (Gul, Naz, Fareed, & Irshad, 2015).

Los resultados de ensayos experimentales llevados a cabo con el uso de lodos de depuradora permiten suponer que se puede lograr una alta eficacia de desinfección mediante la aplicación de compuestos de calcio, que como resultado del aumento del pH y alta temperatura generada por una reacción exotérmica rápida, llevan a cabo la eliminación de microorganismos de la biomasa (Paluszak & Bauza-kaszewska, 2011). En la investigación realizada por Anderson et al. (2015), la desinfección fue alcanzada luego de 30 min a un pH 12, a los 60 min a un pH de 11.5 y luego de 120 min a un pH de 11.

Existe evidencia de que una gran porción de microorganismos nativos presentes en lodos se destruyen después de la estabilización de la cal a un pH superior a 11 (Wong & Fang, 2000). Otros autores indican niveles de pH superiores a 12, para la destrucción de las membranas

celulares de los patógenos nocivos, y el pH alto también conduce a altas fracciones de hidróxido de amonio que actúa como un biocida y contribuye a la eliminación de patógenos en periodos de tiempo cortos de hasta 1 h (Anderson et al., 2015).

En países como Brasil, Estados Unidos, Canadá, Turquía, Irlanda y Sudáfrica, la estabilización alcalina prolongada (PAS) es una de las técnicas utilizadas para desinfectar los lodos provenientes de PTAR. El principio de este tratamiento es la eliminación de patógenos al aumentar el pH del lodo a niveles iguales o superiores a 12, lo que se logra mediante la adición de CaO o CaO + MgO (Barbosa et al., 2017). Sin embargo, de acuerdo con Anderson et al. (2015), el tratamiento con cal implica la aplicación de cal hidratada $[Ca(OH)_2]$ para crear el ambiente alcalino hostil para la actividad biológica.

De acuerdo con la investigación realizada por Barbosa et al. (2017), la aplicación del lodo de aguas residuales alcalinizado en suelos ácidos demostró ser una alternativa interesante para el reciclaje de este tipo de desechos, ya que mejora la fertilidad de estos suelos y podría reducir los costos asociados a procesos de fertilización.

Secado solar

El principio fundamental detrás de un sistema de secado se basa en el hecho de que las moléculas de agua pueden cambiar de un estado líquido a vapor al exponerse al calor. El secado ayuda a reducir el volumen y la masa al disminuir el contenido de agua en el lodo, lo que reduce los costos de transporte, manipulación y almacenamiento. Además, el secado al 80% del contenido de sólidos secos ayuda a asegurar la reducción de los patógenos y vectores de atracción (Youssef & Kahil, 2016).

En los últimos años, los principales tipos de secadores utilizados para lodos provenientes de PTAR se pueden dividir en tres métodos: secado por convección, secado conductivo y secado solar, además de los tipos híbridos y combinados. Los sistemas de secado solar de lodos generalmente incluyen tres componentes: calentamiento del lodo a través de la absorción de radiación solar, como resultado de un efecto en estructuras tipo invernadero, cuando los lodos se extienden en capas sobre el piso; aireación del lodo a través de ventiladores pasivos y ventiladores de extracción para liberar el aire saturado y acumulado dentro de las celdas de secado; y el proceso de mezclado de lodo que busca ayudar a la aireación y garantizar un secado confiable en todas las capas de lodo (Belloulid, Hamdi, Mandi, & Ouazzani, 2017; Youssef & Kahil, 2016). Sin embargo, el rendimiento de los sistemas de secado cambian a lo largo del período de uso, la situación geográfica del lugar donde se realice el secado y del origen de las aguas residuales (Belloulid et al., 2017).

En la investigación realizada por Dellbrügge et al. (2015), donde se evaluaron sistemas como calentamiento por suelo y calentamiento por ventilación, se determinó que la reducción de coliformes fecales era posible a una temperatura de 80 °C, pero sin alcanzar la desinfección adecuada según estándares de ≤ 1000 NMP/ g de sólidos totales. De acuerdo con Kamil et al. (2007), cuando la humedad del lodo llega por debajo del 50 % la velocidad de reducción de bacterias coliformes aumenta en un sistema de secado solar cubierto.

Por otra parte, de la investigación de Shanahan et al. (2010), se concluye que los niveles de virus y helmintos se reducen mediante el tratamiento de secado solar a niveles aceptables, y los conteos de *Salmonella* sp. y *E. coli* se reducen a niveles aceptables para el cumplimiento de la categoría biosólido grado A. Sin embargo, los resultados para coliformes fecales no fueron tan favorables. Aunque se identificó una reducción general en los microbios potencialmente patógenos después del proceso de secado solar.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se muestra en detalle los procedimientos realizados en esta investigación. Uno de los puntos clave en el proceso de investigación fue la selección del material para evaluar los tratamientos sanitarios propuestos, posteriormente se realizó la caracterización fisicoquímica y microbiológica de las muestras antes y después de los tratamientos. Igualmente se detalla el análisis estadístico de los datos y una evaluación económica de los tratamientos, para evaluar la viabilidad de los tratamientos. Tal como se muestra en los siguientes apartados.

3.1. Sitio de estudio

El trabajo aquí presentado se llevó de la mano con las empresas Fumigadoras Alto S.A y Suelos Fértiles Orgánicos S.A. en sus instalaciones ubicadas en el cantón de Pérez Zeledón, provincia de San José. La empresa Fumigadoras Alto S.A se dedica, entre otros, a la limpieza de tanques sépticos en varias zonas del territorio nacional, mientras que el tratamiento de estos lodos corre por cuenta de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. Esta última genera dos productos denominados fertilizante orgánico y Tierra mejorada (relación 1:2 de fertilizante y tierra negra) para comercialización nacional.

La Planta de Tratamiento (PT) de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A se compone de cuatro etapas principales: tamizado y reactores en serie, filtros, secado previo, solarización o secado solar y molienda del material final. Tal como se muestra en la siguiente figura.

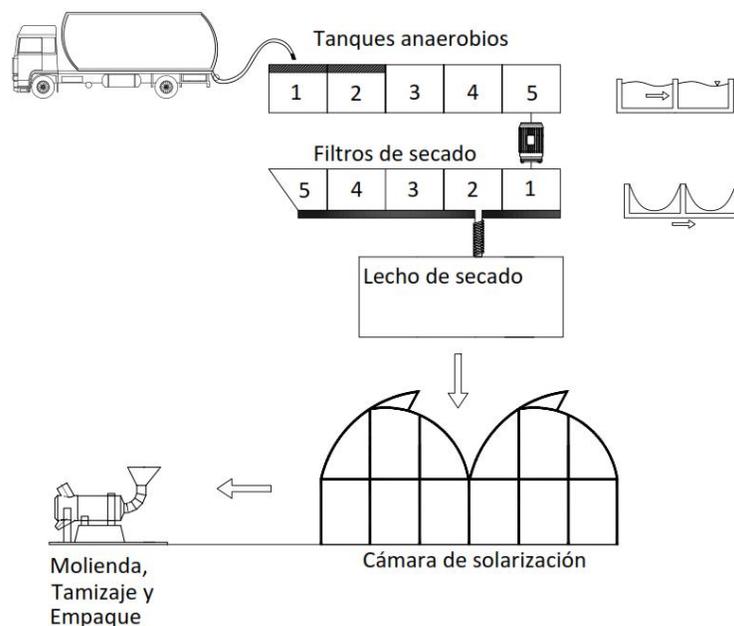


Figura 3.1. Planta de Tratamiento de lodos sépticos de la Empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. ubicada en Pérez Zeledón.

Se recolectaron muestras en los principales puntos del tratamiento, como parte del proceso de selección del material para la evaluación de los tratamientos sanitarios propuestos, con ayuda de material estéril como bolsas de muestreo, cucharas, guantes y mascarillas. Las muestras se transportaron en frío con ayuda de hieleras y fueron almacenadas en refrigeración en el laboratorio de aguas residuales del Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC) por disponibilidad de espacio.

3.2. Caracterización de biosólidos

La elección de los parámetros de caracterización del material se basó en la consulta de artículos científicos, legislación nacional y literatura internacional relacionada con la disposición segura de biosólidos o/y aguas residuales, además de los recursos disponibles para esta investigación.

Pruebas Fisicoquímicas

La caracterización fisicoquímica completa se llevó a cabo únicamente en el material elegido para la evaluación de los tratamientos sanitarios, esto mediante pruebas comunes de caracterización de suelos, considerando que la textura del material se asemeja. Los análisis de suelos y abonos orgánicos se realizaron en el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica. Estas pruebas incluyeron análisis de relación C/N, % C, análisis químico completo y porcentaje de humedad. La conductividad eléctrica (CE) fue medida por método directo con ayuda de un medidor de conductividad y temperatura para suelos de la marca *HANNA* modelo HI98331 Soil Test. Adicionalmente, las mediciones de pH y porcentaje de humedad se realizaron en los laboratorios del CEQIATEC.

Pruebas microbiológicas

La caracterización microbiológica se realizó en todas las muestras de acuerdo con los métodos establecidos por la Asociación de Salud Pública Americana (APHA, 2013) y directrices requeridas para el uso del laboratorio de microbiología del CEQIATEC, los análisis microbiológicos realizados fueron:

- Determinación de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* por la técnica de tubos múltiples o número más probable (NMP).
- Determinación de *Salmonella* sp.
- Determinación de *Listeria monocytogenes*.
- Determinación de *Pseudomonas aeruginosa*.

La detección de huevecillos de helmintos (Nemátodos intestinales) se realizó por la técnica de Telemann que implica la sedimentación con ácido-éter, como se muestra en la figura 3.2, de acuerdo con el libro de Técnicas de Diagnóstico Parasitológico (Castro & Guerrero, 2010). Ya que era la técnica que más se ajustaba a las características del lodo y a los recursos disponibles.

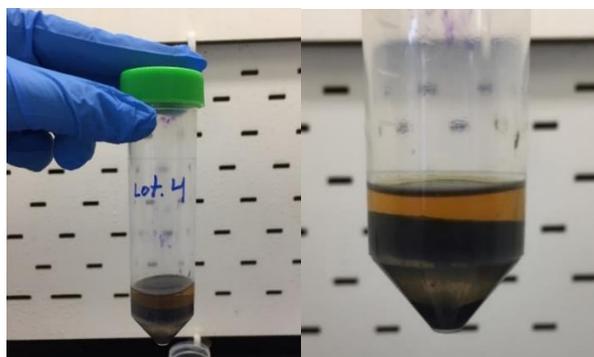


Figura 3.2. Fase previa al decantado de la técnica de Telemann.

Este análisis se realizó sólo para las muestras de lodo que serían empleadas en los tratamientos sanitarios elegidos y para el fertilizante orgánico comercializado por la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.

3.3. Tratamientos sanitarios

Muestra de lodo para los Tratamientos Sanitarios

La muestra de lodo séptico para evaluar los tratamientos sanitarios se recolectó de los lechos de secado de la PT de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A, esto porque el material que llega hasta esta etapa está compuesto por múltiples lodos que pasaron tanto por el tamizaje como los reactores y filtros, creando un material que representa una gran muestra compuesta de lodos sépticos y con propiedades mecánicas favorables para la investigación, facilitando el manejo y transporte hasta los laboratorios del CEQIATEC, y dentro de los mismos.

Una vez elegido el material para evaluar los tratamientos sanitarios se recolectaron un total de 4 muestras aleatorias cada 2 meses aproximadamente para asegurar que cada muestra representara un material diferente. Dichas muestras se consignan como lote 1, 2, 3 y 4. Esto porque el personal de la empresa estima que el tiempo de residencia del lodo en los lechos de secado es de aproximadamente 19 d.

Fermentación Ácido-Láctica

- Selección de las bacterias lácticas

La fermentación ácido-láctica se da por medio de bacterias ácido-lácticas, y gran parte de este grupo se compone por *Lactobacillus* sp. Se realizó la compra de dos de estas bacterias: *Lactobacillus casei* ATCC 0334 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Adicionalmente, se realizó el aislamiento de bacterias lácticas provenientes de leche agria casera como fuente de bacterias lácticas de bajo costo económico. Estas bacterias fueron denominadas como *Mix*.

Para el aislamiento de estas bacterias provenientes de leche agria casera se siguieron los siguientes pasos:

- Se recolectó 10 mL de la leche refrigerada y se agregaron en una bolsa estéril con 90 mL de agua peptonada estéril para hacer una primera dilución y se procedió a hacer ocho diluciones decimales.
- Se depositó 0,1 mL de cada dilución y se depositó por duplicado en placas Petri con agar MRS. Además, se trabajó con controles de esterilidad del agar.
- La incubación se realizó en una jarra de anaerobiosis con una candela encendida para generar una atmósfera rica en CO₂ por 48 h a 35 °C.
- Las cepas sospechosas se incubaron, se rayaron en agar estándar, se incubaron por 24 h a 35 °C para la realización de pruebas bioquímicas.
- Se realizó una tinción de Gram y una prueba catalasa de las colonias que crecieron.
- Del mismo aislamiento en agar estándar se tomó un inóculo de las cepas y se depositaron en un tubo con capacidad de 1.5 mL conteniendo Caldo Infusión Cerebro Corazón (CICC) con 20 % glicerol como crioprotector.
- Este tubo se congeló a -80 °C para conservar las bacterias aisladas.

La conservación en estado de congelación se utilizó también para las bacterias lácticas compradas. Se realizaron pruebas previas para evaluar el crecimiento de estas bacterias, en leche entera pasteurizada y en caldo tripticasa soya (CTS), por recomendación de la profesional en el área. Estas pruebas consistieron en agregar las bacterias en suspensión acuosa a los medios mencionados en Erlenmeyers plásticos estériles cerrados por 8 d y por 15 d a temperatura ambiente, monitoreando la variación de pH antes y después del tiempo establecido, tal como se muestra en la figura 3.3.



Figura 3.3. Prueba de variación de pH en caldo CTS y leche entera pasteurizada de tres bacterias lácticas.

De acuerdo con la variación de pH presentada en dichas pruebas se determinó que las bacterias que se aplicarían en el tratamiento de fermentación ácido-láctica serían *Lactobacillus casei* y *Mix*. Además, de acuerdo con la revisión de literatura la bacteria *L. casei* está clasificada como homofermentativa lo que indica que su principal producto de la fermentación es ácido láctico (Escobar, Rojas, Giraldo, & Padilla, 2010).

- Dosificación de las Bacterias Lácticas

Para agregar las bacterias lácticas *Lactobacillus casei* y *Mix* al lodo a tratar se siguió el siguiente procedimiento:

- Se rayaron las cepas congeladas en agar MRS se incubaron por 48 h a 35 °C.
- Se suspendieron las colonias en 90 mL de agua peptonada estéril utilizando como guía un patrón Mc Farland de 2.
- Se agregó 1 mL de esta suspensión de bacterias lácticas en cada frasco estéril con una cantidad de lodo y fuente de carbono conocida.
- De la suspensión inicial de bacterias se realizaron 8 diluciones decimales y se agregaron 0.1 mL por duplicado en placas con agar MRS.
- Estas placas se incubaron por 48 h a 35 °C para su posterior cuantificación.

- Selección de Fuente de Carbono

Debido a las características fisicoquímicas que presentó el lodo séptico elegido para el tratamiento y basado en la revisión de literatura, se estimó que se requería una fuente de carbono para optimizar el crecimiento de las bacterias lácticas. Se realizaron pruebas con fuentes como pergamino de café, puré de zanahoria y dextrosa. A partir de estas pruebas se decidió evaluar también la melaza como fuente alternativa y más rentable de carbono. Se realizó la medición de grados Brix de las fuentes puré de zanahoria y melaza para poder determinar los gramos teóricos requeridos para la fermentación. Se agregó 10 % peso húmedo de cada fuente de carbono, de acuerdo con lo descrito por Soewondo et al. (2014).

- Caracterización antes y después del Tratamiento Sanitario

Posterior a la caracterización fisicoquímica y microbiológica de varias muestras se estableció que los parámetros a evaluar, previos y posterior al tratamiento de fermentación serían el pH alcanzado con ayuda de un electrodo electroquímico de vidrio marca *HANNA* Instruments modelo HI10530. Además, como muestra la figura 3.4, se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). La bacteria láctica en agar MRS^(a) (incubación de 48 h a 35 °C), y coliformes totales en agar MacConkey^(b) (incubación de 48 h a 35 °C, observando la morfología a las 24 h). Esto por recomendación de la microbióloga de utilizar agares selectivos y siguiendo las reglas mostradas en el apéndice IV.

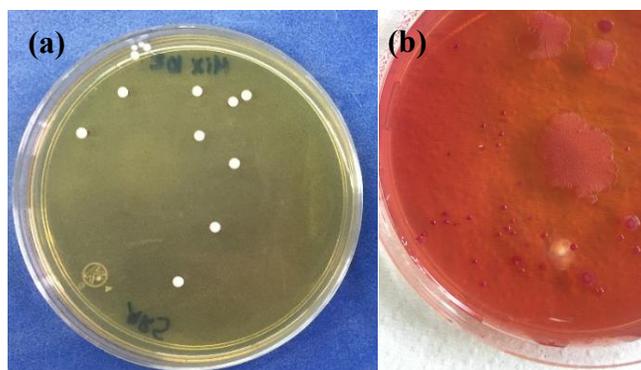


Figura 3.4. UFC de bacterias lácticas *Mix*^(a) y coliformes totales^(b) en su respectivo agar selectivo.

- Diseño Experimental

Se realizaron dos montajes para este tratamiento, para el primero se siguió la configuración mostrada en el cuadro 3.1. De los resultados de este montaje se basaron los ajustes y reformulación para el segundo montaje, las especificaciones del segundo montaje se muestran en el cuadro 3.2.

Cuadro 3.1. Factores del diseño experimental para el primer montaje de la fermentación ácido-láctica.

Factor	Niveles		
Pergamino de café	0 g	17.53 g	
Fuente de carbono	Dextrosa: 2.09 g	Zanahoria: 6.75 g	0 g
Tipo de bacteria láctica	<i>Lactobacillus Casei</i>	Mix	

Cuadro 3.2. Factores del diseño experimental para el segundo montaje de la fermentación ácido-láctica.

Factor	Niveles		
<i>Lactobacillus Casei</i>	0 mL	1 mL	
Melaza	0%	10%	20%

Una vez alcanzado el tiempo de tratamiento de 1 mes basado en la experiencia de varios investigadores, se realizaron las mediciones de pH final y conteo de bacterias en los agares selectivos correspondientes, antes mencionados.

Encalado

- Tipos de Cal y Dosificación

De la revisión de literatura y consulta a expertos, se determinaron dos tipos de cales comerciales de reconocido poder encalate en suelos: Super Cal [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] y Cal Viva (CaO). Se realizó una prueba del valor de neutralización de la cal por medio de una valoración química con indicador de fenolftaleína según el procedimiento presentado por Briceño & Pacheco (1984), mostrado en el apéndice III. Sin embargo, se realizó la modificación de no pasar las cales por la malla No° 60 ya que lo que se busca es evaluar la capacidad del material tal y como se comercializa, en el tratamiento sanitario.

Luego, para determinar la relación g cal/g lodo que permitiera llegar al pH deseado se realizaron varias dosificaciones de menor a mayor probando distintos baches del lodo y tomando mediciones de pH, previo y posterior al tratamiento.

Se agregaron cantidades conocidas de lodo y cal en frascos plásticos con capacidad de 50 mL, con ayuda de una balanza electrónica y material estéril como cucharas, espátula y guantes. Se agitó vigorosamente la mezcla con ayuda de un agitador eléctrico y un agitador de vidrio, tal como se muestra en la siguiente figura.



Figura 3.5. Métodos de agitación empleados para el tratamiento de Encalado.

Posteriormente se taparon los frascos con papel aluminio para evitar contaminación durante el tiempo de reposo del tratamiento. Se evaluó un periodo de 1 h y 24 h de tratamiento.

- Caracterización antes y después del Tratamiento Sanitario

Para la evaluación del tratamiento de encalado, con base a la caracterización fisicoquímica y microbiológica previa en varios puntos de la PT de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. Se estableció como parámetros de evaluación, la medición de pH y el conteo de UFC de coliformes totales en agar MacConkey. Con un periodo de incubación de 48 h a 35 °C, observando la morfología a las 24 h.

Secado solar

La empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A., en su planta de tratamiento, cuenta con una sección de secado solar denominada cámara de solarización. Esto previo a moler, tamizar y empacar el material denominado fertilizante orgánico. El material de entrada al área de secado solar es el mismo utilizado para evaluar los anteriores tratamientos. Por lo que esta etapa de la PT fue evaluada como un tratamiento adicional y como punto de comparación para la empresa. Para esto se realizó un análisis fisicoquímico y microbiológico completo del

material de entrada y del fertilizante orgánico en el Centro de Investigaciones Agronómicas de la UCR (CIA). Estos se muestran en los anexos I, II y III. Adicionalmente, se realizó el recuento de UFC en agar MacConkey de tres muestras del fertilizante orgánico y lodo, a manera de evaluar la entrada y salida de este tratamiento.

3.4. Evaluación de los Tratamientos Sanitarios

Análisis Estadístico de Datos

Se realizó un análisis estadístico de la respuesta pH en los tratamientos de fermentación ácido-láctica y encalado, tomando en cuenta el diseño experimental de estos ensayos (factor, niveles y réplicas). Para esto se realizó un análisis de varianza ANOVA de los datos de ambos tratamientos, además de una prueba de comparación de Tukey. Para la respuesta de pH en el tratamiento de encalado se realizó una regresión no lineal en las respuestas del tratamiento de Encalado. Se utilizó el software Minitab 17 y Sigmaplot 12.0 para el análisis estadístico de los datos.

Análisis Económico de los Tratamientos Sanitarios

Para evaluar la factibilidad de los tratamientos sanitarios, además de tomar en cuenta la legislación correspondiente, se llevó a cabo una estructura de costos con base a 1 tonelada de lodo a tratar. Para ello se realizó la consulta a expertos, cotización de servicios e implementos, y se estimaron algunos costos basados en la experiencia a nivel de laboratorio. Los datos fueron tratados con Microsoft Excel (2017). La estructura detalla se adjunta en el apéndice VI.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización fisicoquímica de los biosólidos

Los residuos sépticos domésticos contienen distintas sustancias según el tipo de residuo tratado en el sistema séptico (USEPA, 1993), por lo que la caracterización del lodo a nivel fisicoquímico y microbiológico es de crucial importancia.

Para la caracterización fisicoquímica del material se evaluó el pH, % de Humedad, conductividad eléctrica, la relación C/N y contenido en % m/m de nutrientes relevantes para el mejoramiento del suelo, tal como muestra el cuadro 4.1. Los lotes que se muestran corresponden a lodo de la etapa de lecho de secado de la PT de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A, mostrado en la figura 3.1. Contrario a lo esperado, el lodo parece presentar una tendencia constante y composición química homogénea a través del tiempo en los lotes 1, 3 y 4. No obstante, el lote 2 presenta menor humedad y conductividad eléctrica (CE), esto puede deberse a que el tiempo de residencia de los lodos en el lecho de secado en el momento de tomar cada muestra fue variable.

Un periodo más prolongado en el lecho de secado promueve la pérdida de humedad y esto podría disminuir la CE si se considera la consistencia del lodo como similar a un suelo. La CE del suelo varía, entre otros factores, con el contenido de humedad ya que está relacionada con la movilidad de los iones presentes en el fluido que llena los poros por lo que depende de la concentración y la viscosidad del agua (Samouëlian, Cousin, Tabbagh, Bruand, & Richard, 2005). A mayor capacidad de almacenamiento de agua se podría alcanzar valores más altos de CE.

Cuadro 4.1. Caracterización fisicoquímica de muestras de lodo y abonos orgánicos.

Lote	Fecha (m/a)	pH	Humedad %	CE (mS/cm)	Relación C/N	% m/m					
						C	N	P	K	Ca	Mg
1	08/2017	7.34	84.5	2.38	9.5	39.35	4.14	0.98	0.09	2.63	0.22
2	11/ 2017	7.39	40.5	1.93	9.7	40.05	4.13	0.90	0.08	2.68	0.21
3	02/ 2018	7.41	80.4	2.06	10.3	35.64	3.47				
4	03/ 2018	7.11		2.35	9.6	36.02	3.75				
Estiércol de vaca*		9.01		4.16		52	1.07	0.24	2.18		
Vermicompost*		4.69		8.19		37	1.11	0.90	1.28		
Gallinaza**							5.48	1.19	1.82		
Lodos residuales**							3.51	2.39	0.54		

CE: Conductividad eléctrica

% m/m: masa/masa

Naiji & Souri, (2018)*

Hanč, Tlustoš, Száková, & Balík (2008)**

Algunos de los abonos orgánicos más comúnmente utilizados para el mejoramiento de suelos, mostrados en el cuadro 4.1, son reportados con valores de elementos químicos de importancia nutricional comparables con los obtenidos en los lodos. El contenido de nitrógeno y fósforo en los lodos se encuentra en un rango aceptable e incluso supera en algunos casos los valores establecidos para los abonos orgánicos comunes, a excepción del potasio.

Las limitantes químicas cambian según la exigencia de cada cultivo y las prácticas de manejo que se empleen. En Costa Rica, los suelos cañeros presentan una disminución considerable de reservas de bases K, Mg y Ca, y las prácticas de fertilización en suelos cafetaleros a conducido a una acidificación progresiva importante (Alvarado-Hernández et al., 2001). Lo que podría indicar una vía para la incorporación de lodo con las características químicas expuestas en este tipo de suelos agrícolas. Las posibles vías de disposición de los biosólidos se detallan en las últimas subsecciones.

4.2. Caracterización microbiológica de los biosólidos

La carga microbiana de los lodos sépticos representa una de las principales preocupaciones para la población en general, de ahí la importancia de la caracterización microbiológica inicial del lodo a tratar. De acuerdo con la legislación nacional e internacional correspondiente consultada, y los medios disponibles, se estableció el paquete de análisis microbiológicos mostrado en el cuadro 4.2.

La presencia de coliformes totales evaluados por el método de número más probable (NMP), es constante en todos los lotes, y se observan respuestas similares para coliformes fecales y *E. coli* a diferencia del lote 4 por la heterogeneidad de la naturaleza del material. Los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. y huevecillos de helmintos resultaron ausentes en las muestras procesadas. Estos datos difieren con lo presentado por Afolabi & Sohail (2016), de una carga patogénica en el rango de 105-1010/100 mL coliformes fecales y hasta 60.000 / L de huevos de helmintos para heces humanas.

La presencia del grupo coliformes sugiere la prevalencia de otros patógenos y por eso es empleado por unanimidad como indicador de contaminación (Mishra et al., 2018). Los indicadores preferidos son coliformes totales, coliformes fecales y *Enterococos*, sin embargo, *Escherichia coli* se considera el indicador más adecuado de contaminación fecal pues se encuentra en grandes cantidades en heces humanas y animales (Omondi-Donde & Bangding, 2017). Algunos autores incluso aseveran que el único indicador confiable de contaminación fecal es *E. coli* (Martin, Trmcic, Hsieh, Boor, & Wiedmann, 2016).

Cuadro 4.2. Caracterización microbiológica de las muestras del lodo.

Análisis	Lodos en etapa de lechos de secado			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Coliformes totales (NMP/g muestra)	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³
Coliformes fecales (NMP/g muestra)	< 3	< 3	< 3	43
<i>Escherichia Coli</i> (NMP/g muestra)	< 3	< 3	< 3	< 3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/g muestra)	est 3.2x10 ⁵	A	est 1.0x10 ²	A
<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC / 25 g muestra)	A	A	A	A
<i>Salmonella</i> sp. (UFC/ 25 g muestra)	A	A	A	A
Huevecillos de helmintos		N.S	N.S	N.S

N.S: No se observaron huevecillos de helmintos

A: Ausente

est: estimado, según metodología del apéndice IV

La bacteria *Pseudomonas aeruginosa* presenta una respuesta intermitente en las muestras procesadas. Este microorganismo representa una de las principales causas de infección en hospitales y presenta resistencia a múltiples fármacos, más recientemente se ha convertido en causa importante de infecciones a nivel comunitario (Sader, Castanheira, Duncan, & Flamm, 2018). Tiene un gran potencial para adherirse a superficies sólidas y formar biopelículas, esta es una adaptación que utiliza en el cuerpo humano (Azizian et al., 2015). Debido a su amplio potencial fisiológico pueden poblar constantemente diversos entornos que conducen a infecciones graves en humanos, como septicemia, úlceras en las piernas y quemaduras (Buivydas et al., 2013; Chen, Mangoni & Di, 2017).

Sin embargo, investigaciones como la de Arif et al. (2016), afirman que el género *Pseudomonas* es el más abundante en las rizobacterias y estas son beneficiosas porque promueven la fijación de nitrógeno, la movilización de nutrientes, la síntesis del crecimiento vegetal y la supresión de enfermedades de las plantas a manera de control biológico. (Rivera-Cruz et al., 2008). En la investigación de Uzair et al. (2018), se evalúa la cepa *Pseudomonas aeruginosa* PS24 como control biológico contra los hongos fitopatógenos. Dicho estudio destaca la importancia de buscar cepas microbianas específicas de cada región, con ayuda de la biotecnología ambiental para comprender su uso correcto y puntual en la rizosfera, su comportamiento y rendimiento en el sistema del suelo.

La caracterización fisicoquímica y microbiológica de un material el cual se asume heterogéneo es importante para determina las necesidades de los tratamientos sanitarios, por ejemplo, dosis de fuentes de carbono, cales y humedad inicial. No obstante, a pesar de que

las muestras mostraron poca variabilidad microbiológica. Es necesario caracterizar cada lote de lodo de forma independiente, y no asumir comportamientos generales. En la siguiente subsección se detallan los resultados obtenidos de los tratamientos sanitarios de fermentación ácido-láctica y encalado. Además, de una pequeña evaluación de la última etapa de la PT de la empresa.

4.3. Tratamientos Sanitarios

Fermentación Ácido-láctica

Las bacterias lácticas en el proceso de FAL producen varios tipos de ácidos y compuestos que disminuirán el valor de pH en el medio (Soewondo et al., 2014), por lo que promover condiciones óptimas para el crecimiento de estas bacterias es crucial. Sin embargo, de la información analizada, experiencia experimental y análisis estadístico se determinó que la variación de pH en el proceso de FAL puede cambiar por varios factores, debido también a la naturaleza biológica del tratamiento, ya que el crecimiento de las bacterias y la acumulación de sus metabolitos están determinados por el ambiente, la composición de los medios, el pH del cultivo, las fuentes de carbono y nitrógeno, los factores de crecimiento y los minerales (Abbasiliasi et al., 2017).

El pH crítico teórico (pH_t) esperado se basó en los resultados de investigaciones que indican valores de pH óptimos para la fermentación de 4.0 (Soewondo et al., 2014) y de 4.0 a 4.5 (N. Andreev, Ronteltap, Boincean, Wernli, et al., 2017). Para lograr la disminución del pH hasta estos valores se tomaron en cuenta los factores establecidos en el cuadro 3.1 y 3.2. Del análisis de varianza ANOVA, se determinó que el tipo de bacteria (*Lactobacillus casei* y *Mix*), no influye significativamente en la respuesta pH del tratamiento ($p > 0.05$). Esto puede representar una respuesta favorable, pues el uso de bacterias lácticas nativas aisladas y de bajo costo económico (*Mix*) pueden ser igualmente efectivas para el tratamiento sanitario, sin embargo, se requiere más investigación para confirmarlo.

Como se observa en el cuadro 3.1, el pergamino de café no influye significativamente en la respuesta pH del tratamiento ($p > 0.05$), y parece impedir la disminución del pH en las muestras (datos no mostrados). Por el contrario, la fuente de carbono muestra una influencia significativa ($p < 0.05$) en el pH final del tratamiento con un 95 % de confianza.

Por tanto, de los factores contemplados en el diseño experimental la fuente de carbono es el único que influye estadísticamente en las respuestas. Esto coincide con lo expuesto por Nadejda Andreev et al. (2018), que determina la adición de fuentes de carbohidratos fácilmente fermentables como una de las principales limitaciones en FAL de heces.

Como se muestra en la figura 4.1, leves variaciones de la dosis representan cambios en el pH del lodo tratado. Para la dextrosa se obtuvo como respuesta ausente UFC/g muestra de coliformes totales a un pH de 3.89 y con melaza a un pH de 3.48. Por lo tanto, se establece un pH crítico ácido experimental (pH_a) ≤ 3.89 para el lodo del lote 4. Esto concuerda con los resultados de Odey et al., (2018), de entre 3.7 y 3.9 en FAL con azúcar moreno, en el

tratamiento de lodo fecal. En la figura 4.1 se observa el cambio en el pH producto de pequeñas variaciones en la dosificación de la fuente de carbono.

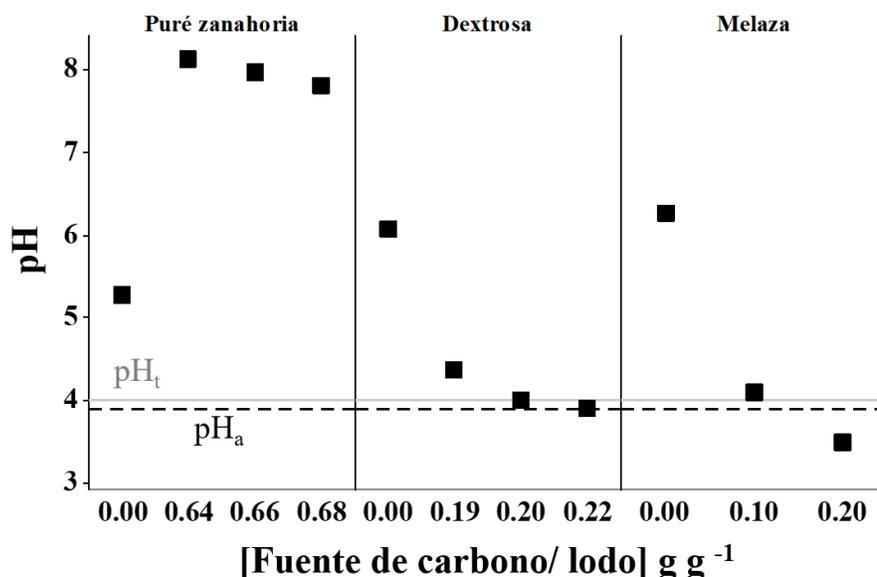


Figura 4.1. Efecto de la fuente de carbono en la acidez del lodo durante el tratamiento FAL.

También del análisis estadístico se determina que el puré de zanahoria como fuente de carbono tiene influencia estadísticamente significativa en el pH final ($p < 0.05$), en un 95% de confianza. La dextrosa no tiene una influencia significativa ($p > 0.05$), y la melaza sí representa una influencia significativa ($p < 0.05$), en un 95% de confianza. Esto concuerda con lo concluido por Andreev, Ronteltap, Boincean, Wernli, et al. (2017), sobre que el contenido de melaza en la fermentación de orina conduce a una acidificación efectiva a $pH < 4$. De acuerdo con Andreev et al. (2018), una de las principales limitaciones de la FAL es la adición de fuentes de carbono fácilmente fermentables como melaza o salvado de trigo.

Al establecer un tratamiento sanitario de FAL, se espera condiciones de acidez en el medio generadas por la actividad metabólica de las bacterias inoculadas. Por tanto, la influencia no significativa de la dextrosa podría interpretarse que a pesar de ser importante para el crecimiento de las bacterias lácticas no inhibe el mismo. La composición de la dextrosa es más pura en comparación con la melaza o puré de zanahoria, esto puede representar menos fibra y agua en el medio. Lo que podría facilitar la metabolización por parte de las bacterias, como muestran los resultados expuesto en el cuadro 4.3.

En el caso de la melaza, la influencia significativa en el pH puede interpretarse en el mantenimiento, pero no precisamente el crecimiento, de la bacteria *Lactobacillus casei* en el biosólido. No obstante, de acuerdo con Andreev, Ronteltap, Boincean & Lens (2017) el pH bajo y la formación de ácido láctico durante la lacto-fermentación inhibe el crecimiento de microorganismos, incluido el crecimiento de las propias bacterias ácido-lácticas, promoviendo así la preservación del material fecal y la inhibición de la descomposición

adicional. Esto puede explicar el mantenimiento y leve crecimiento de la bacteria *L. Casei* en el lodo.

La respuesta estadística para el puré de zanahoria parece ser significativamente negativa e impide la disminución del valor de pH en el medio, debido a esto la muestra no fue evaluada microbiológicamente. Según Escobar et al. (2010), una concentración alta de azúcares en el medio puede ejercer una fuerte presión osmótica sobre la bacteria y generar un proceso de deshidratación de la célula inhibiendo su crecimiento e incluso provocando su muerte. Además, en la investigación de Yemaneh et al. (2013), la adición de mayores porcentajes de melaza provocó una tasa de fermentación inicial más lenta. Sin embargo, el pH final fue similar al obtenido con concentraciones menores de la fuente de carbono. Esto puede explicar la respuesta de pH con el puré, debido a que de la medición de grados Brix de las fuentes de carbono, el puré de zanahoria presentó 30 °Bx y la melaza 20 °Bx.

Cuadro 4.3. Respuesta microbiológica al tratamiento sanitario FAL.

	Tiempo	Coliformes totales (UFC/g)	<i>Lactobacillus casei</i> (UFC/g)
Lodo	t _{0d}	1.8x10 ⁶	est. 5.0x10 ⁸
Biosólido + dextrosa	t _{30d}	No detectable	est. 2.0x10 ⁹
Control	t _{30d}	2.0x10 ⁴	
Lodo	t _{0d}	6.5x10 ³	3.8x10 ¹⁰
Biosólido + melaza	t _{30d}	No detectable	5.2x10 ¹⁰
Control	t _{30d}	2.3x10 ⁶	

Los datos mostrados en el cuadro 4.3 son resultado de 30 d de tratamiento, periodo de tiempo establecido como resultado de varios ensayos previos, superando lo expuesto por Andreev et al. (2018), de (7 - 10) d para excreta humana y los 15 a 17) d propuestos por Odey et al. (2018), pero no sobrepasa los 36 d de fermentación estudiados para orina humana (N. Andreev, Ronteltap, Boincean, Wernli, et al., 2017). La respuesta de pH puede estar influenciada por factores fuera del diseño experimental, ya que las variaciones en el conteo de coliformes en ambos controles muestran una disminución de microorganismos. Por lo tanto, es importante considerar elementos que podrían tener un efecto supresor sobre los microorganismos patógenos en el lodo y las fuentes de carbono, como los complejos proteicos, la glucosa oxidasa, el peróxido de hidrógeno y los exopolisacáridos (Nadejda Andreev et al., 2018).

El tratamiento propuesto logró la reducción de coliformes totales en condiciones de anaerobiosis básicas y una temperatura ambiente promedio dentro del laboratorio de 24 °C en un lodo con las características antes presentadas. Aunque patógenos más resistentes, no detectados en el escaneo inicial del lodo, como los nemátodos no siempre son removidos de manera efectiva, parecen haber excepciones. Por ejemplo, la viabilidad de los huevecillos de *Ascaris suum*, puede ser reducida luego de 21 d de fermentación y eliminados luego de 56 d de fermentación (Andreev et al., 2018).

Esto indica una respuesta microbiológica positiva. Es importante mencionar que, aunque la capacidad de saneamiento de este tratamiento ha sido evaluada tanto para orina y heces en sistemas como servicios sanitarios divergentes, la aplicación del tratamiento en materiales homogéneos como el lodo séptico ha sido poco evaluado a nivel internacional, y a nivel nacional parece ser la primera investigación al respecto. En la siguiente subsección se detallan los resultados del segundo tratamiento sanitario evaluado.

Encalado

El uso de cal para compensar el valor de pH, controlar olores o apaciguar agentes como moscas en suelos y heces de animales es una práctica utilizada comúnmente en el país, sin embargo, en esta investigación se evalúa el poder sanitario de la práctica, basado en crear un ambiente alcalino hostil para microorganismos patógenos, debido al cambio de pH que provoca un efecto perjudicial sobre las membranas y las estructuras bacterianas (Silva-Leal et al., 2013).

Como paso inicial, se realizó la valoración química para establecer el valor de neutralización de ambas cales. El valor de neutralización equivalente para el óxido de calcio (conocido como cal viva) fue de 105.5% CaCO_3 y de 78.0% CaCO_3 para el hidróxido de calcio (súper cal o cal hidratada). Esto concuerda con la variación de pH resultante de la aplicación de ambas cales y el análisis estadístico, ya que el tipo de cal utilizada presenta una influencia significativa ($p < 0.05$), en el pH final con un 95% de confianza.

Posteriormente se evaluaron varias dosis de cal en distintas muestras de lodo como el lote 1 y 2, para un último montaje con el lote 3. Se identificó, de acuerdo a la revisión de literatura, un rango de pH que va de 11 a 12 (Anderson et al., 2015; Barbosa et al., 2017; Paluszak & Bauza-kaszewska, 2011; Silva-Leal et al., 2013; Wong & Fang, 2000). Por tanto, se estableció un pH crítico teórico (pH_t), > 11 . No obstante, a nivel experimental se identificó un pH crítico básico (pH_b) > 12 , como se muestra en la figura 4.3. El pH_b presentó la supresión de coliformes totales en la muestra evaluada, como se presenta en el cuadro 4.4. Lo que concuerda con los valores de pH recomendados por Paluszak & Bauza-kaszewska (2011), Silva-Leal et al. (2013) y Barbosa et al. (2017).

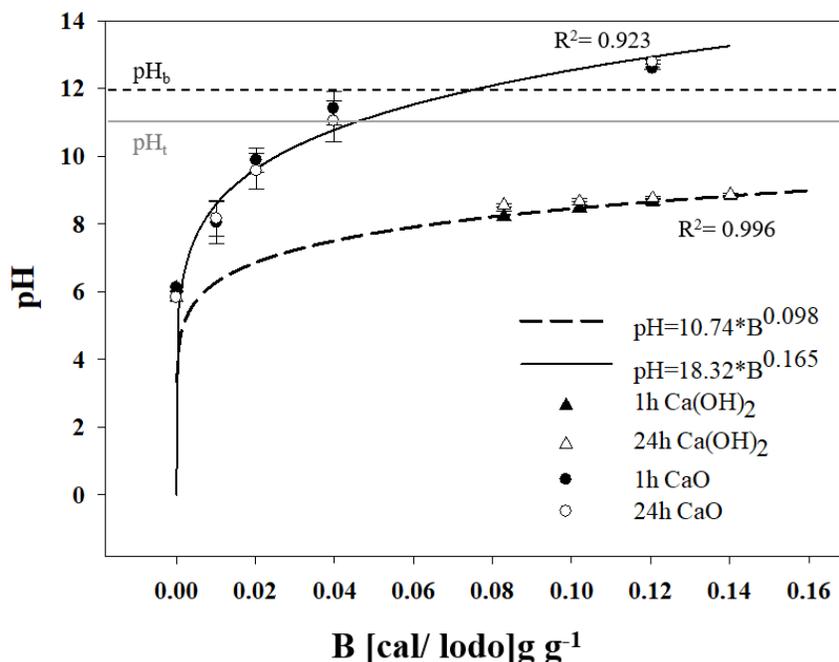


Figura 4.2. Efecto del tratamiento de encalado en la acidez del lodo del lote 4.

Se midió el pH pasado el periodo de (1 - 24) h con el propósito de determinar alguna variación, sin embargo, esta no se dio. El análisis de varianza revela una efectividad en el encalado de ambos tiempos de tratamiento según la respuesta de pH ($p > 0.05$), al 95 % de confianza. Además, se observa un mantenimiento del pH final por al menos 24 h luego de la dosificación en la muestra de lodo evaluada.

El CaO conocido como cal viva logró la elevación de pH deseada y la reducción de coliformes totales al nivel deseado, como se muestra en el cuadro 4.4 y la figura 4.3.

Cuadro 4.4. Respuesta microbiológica del lote 4 al tratamiento sanitario de encalado.

	Tiempo	Coliformes totales (UFC/g)
Lodo	t _{0h}	8.3x10 ⁶
Biosólido + CaO	t _{1h}	No detectable
Biosólido + Ca(OH) ₂	t _{1h}	4.3x10 ⁶
Control	t _{1h}	3.7x10 ⁶

Debido a que los lotes tratados presentaron un % de humedad alto (lote 2, 3 y 4), la dosificación de cada cal fue directa, sin necesidad de utilizar soluciones líquidas. Es importante considerar que la eficiencia de FAL y encalado con CaO se dan en materiales con porcentajes de humedad altos.

Con todo, el encalado parece representar un tratamiento sanitario efectivo, rápido y de bajo costo para el lodo evaluado; puesto que sus factores más relevantes fueron la dosificación que depende de las características de cada lodo y el proceso de mezcla inicial. En la siguiente subsección se evalúa la última etapa de la planta de tratamiento de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. Esto porque como se detalla en secciones anteriores, el material de entrada de dicha etapa proviene del lecho de secado, mismo lodo procesado en los tratamientos sanitarios propuestos.

Secado solar

El secado solar es un proceso que permite la reducción del volumen del material lo que facilita el manejo, pero además puede promover la reducción de microorganismos, ya que la reducción del porcentaje de humedad en más de un 50 % en el lodo puede genera un ambiente hostil para la actividad microbiana (Belloulid et al., 2017). El secado al 80 % del contenido de sólidos secos ayuda a garantizar la reducción de patógenos y vectores de atracción (Youssef & Kahil, 2016). El efecto del secado por medio de energía solar se presenta como última etapa del tratamiento de lodos sépticos en la Planta de Tratamiento (PT) de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A., ver figura 3.1. Este trabajo comparó la efectividad de la reducción de organismos patógenos de la cámara de solarización, procesando la respuesta microbiológica y fisicoquímica de muestras aisladas de la entrada y de la salida de dicha etapa, este último considerado el material final llamado fertilizante orgánico y aquí denominado biosólido.

Debido a que no se logró dar trazabilidad a las muestras desde la entrada hasta la salida, no se logró evaluar la influencia de la etapa en cada lodo. Como se muestra en el cuadro 4.5, del conteo de unidades formadoras de colonia en contraste con una muestra de lodo el efecto del secado solar parece ser nulo. Contrario a lo presentado por Belloulid et al. (2017), donde se da una reducción de estas mismas bacterias en una matriz similar luego de 24 horas en una estructura tipo invernadero, y lo obtenido por Mathioudakis et al. (2013), de una reducción de coliformes totales y fecales de 3 órdenes de magnitud en un periodo de hasta 31 días.

Cuadro 4.5. Respuesta microbiológica al proceso de secado solar.

	Fecha de muestreo	Tiempo	Coliformes totales (UFC/g)
Lodo	08/2018	t _{0h}	3.5x10 ⁴
Biosólido 1	05/2018	t _{19d}	4.9x10 ⁴
Biosólido 2	07/2018	t _{19d}	4.6x10 ⁴
Biosólido 3	08/2018	t _{19d}	4.5x10 ⁴

A pesar de ello, de la serie de análisis microbiológicos realizados en la caracterización del lodo, en contraste con los resultados de tres muestras de biosólidos, se puede ver un comportamiento distinto en más microorganismos patógenos, como se muestra en el cuadro 4.6. Se observa un aumento de coliformes totales, fecales, *Escherichia coli* y *Pseudomonas*

aeruginosa en las muestras procesadas. Incluso en la prueba de confirmación realizada en el laboratorio de microbiología del CIA (UCR), los resultados son superiores a los presentados por las muestras de lodo. Además, los datos mostrados en el cuadro 4.6 difieren de lo registrado por la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. en datos presentados en enero del año 2005. Se reportaron valores de < 14 NMP/g para coliformes totales, < 2 NMP/g para coliformes fecales, < 2 NMP/g para *Escherichia Coli* y negativo para *Pseudomonas aeruginosa*.

Cuadro 4.6. Contraste de la respuesta microbiológica de varias muestras en la etapa de secado solar.

Análisis	Lodos en etapa de lecho de secado				Biosólidos		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3*
Coliformes totales (NMP/g muestra)	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	53	
Coliformes fecales (NMP/g muestra)	< 3	< 3	< 3	43	1.1x10 ³	9.1	> 1.6x10 ⁴
<i>Escherichia Coli</i> (NMP/g muestra)	No detectable	No detectable	No detectable	< 3	1.1x10 ³	9.1	> 1.6x10 ⁴
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/g muestra)	est 3.2x10 ⁵	No detectable	est 1.0x10 ²	No detectable	est 2.3x10 ⁴	2.0x10 ⁴	3.7x10 ⁴

est: estimado, según metodología del apéndice IV

*Pruebas de confirmación

Este comportamiento podría indicar la presencia de contaminación externa en esta etapa del tratamiento de la empresa o podría dar un indicio de que no se están alcanzando temperaturas ideales para la supresión de microorganismos patógenos, sino más bien para su crecimiento. De acuerdo con el trabajo de Silva-Leal et al. (2013), el secado térmico en temperaturas de entre 60 y 75 °C por tiempos de (0 – 13) h fueron suficientes para lograr el saneamiento de los biosólidos. En la investigación de Ameri, Hanini, Benhamou, & Chibane (2018) la deshidratación de los lodos se llevó a cabo a temperaturas que oscilaron entre (38 – 67) ° C. Pero en el Barrio el Hoyón de San Isidro de Pérez Zeledón donde se ubica la PT, la temperatura puede alcanzar los 31 °C en el día según algunos datos del Instituto Meteorológico Nacional (IMN). Lo que liga la efectividad de esta etapa, tal como está diseñada, a las variaciones climáticas de la zona.

De acuerdo con Sypuła, Paluszak, & Szała (2013), el secado solar de lodos no garantiza la desinfección por lo que parece ser necesario prolongar el tiempo de secado y aplicar métodos adicionales como encalado o compostaje para aumentar su bioseguridad.

La dependencia de la etapa a las condiciones climáticas podría explicar los resultados mostrados en el cuadro 4.7, donde se observa un porcentaje de humedad de hasta el 23 %. Al

considerar los datos de la caracterización fisicoquímica previa del lodo, el material podría no estar alcanzando la reducción en humedad necesaria para lograr el efecto deseado.

Cuadro 4.7. Análisis fisicoquímico de dos biosólidos realizados por el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica.

Biosólido	pH	Humedad %	CE (mS/cm)	Relación C/N	% m/m					
					C	N	P	K	Ca	Mg
Muestra 2	6.1	21	4.0	9.3	35.11	3.80	1.25	0.10	3.76	0.25
Muestra 3	6.2	23	3.2	9.3	33.67	3.61	1.18	0.09	3.60	0.25

CE: Conductividad eléctrica

%m/m: masa/masa

Es importante denotar que de acuerdo con los datos presentados en el cuadro 4.1, los valores del grupo NPK para los biosólidos presentados en el cuadro 4.7 son comparables con los del estiércol de vaca, vermicompost y gallinaza. Incluso superan los valores de N y P del estiércol de vaca y vermicompost. Lo que podría indicar que el contenido nutricional es competitivo con los abonos orgánicos tradicionales.

De acuerdo con registros de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. (2005), los valores del cuadro 4.7 difieren a lo reportado por la empresa en algunos parámetros; como en el caso de la relación C/N igual a 20 y C de 70 %. Sin embargo, según el mismo registro se tiene un valor de pH de 7.98, humedad de 26.85 % y N total igual 3.57 % que se son comparables con lo presentado en el cuadro 4.7.

A pesar de la eficiencia y rentabilidad que un tratamiento basado en energía solar pueda tener, es importante la revisión del diseño de la estructura para secado, el control de calidad microbiológico y fisicoquímico periódico en varios puntos de la PT. En la siguiente subsección se busca comparar los tratamientos sanitarios propuestos y las posibles aplicaciones de los biosólidos.

4.4. Evaluación de Tratamientos Sanitarios y aplicación de biosólidos

Como parte de un proceso de evaluación y comparación de los tratamientos sanitarios propuestos se toman en cuenta tres aspectos principales: cumplimiento de normativa, estructura de costos e inversión inicial y eficiencia. Y además, evaluar una posible ruta de disposición final para el mejor biosólido obtenido para su manejo como mejorador de suelos.

En cuanto al aspecto de cumplimiento de la normativa, los biosólidos de FAL con dextrosa y melaza, y el tratamiento de encalado con CaO resultaron inocuos según coliformes totales, por lo que pueden cumplir con la disminución de coliformes fecales de las normativas expuestas en la sección de revisión de literatura. No obstante, el biosólido tratado con Ca(OH)₂ resultó con una población de coliformes totales de 4.3 x 10⁶ UFC/g muestra y los biosólidos provenientes del secado solar 4.9 x 10⁴ UFC coliformes totales/g muestra.

En pruebas de carácter interlaboratorial a nivel internacional se comparan resultados reportados en unidades de recuento (UFC/g) con aquellos reportados a partir de tablas estadísticas (NMP/g) sin concluir diferencias estadísticamente representativas (Dra. Andrea Quesada, comunicación personal); por lo que en tal caso se podría contemplar el parámetro de coliformes totales. La respuesta microbiológica para el encalado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y el secado solar podrían exceder los valores estipulados de < 1000 NMP/g muestra en coliformes fecales, de acuerdo con las normativas Estados Unidos, Canadá, Nueva Zelanda e incluso la del Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales a nivel nacional. Sin embargo, pruebas bioquímicas son necesarias para comprobar las colonias sospechas reproducidas en agar MacConkey como coliformes fecales.

Con todo, gracias a la caracterización inicial de los lodos y el set de análisis microbiológicos realizados para las muestras de biosólidos provenientes del secado solar, se puede observar que las muestras de lodo superan por poco el valor de < 1000 NMP/g muestra para coliformes fecales. Las muestras procesadas de biosólidos del secado solar cumplen con el parámetro de coliformes fecales. A pesar de ello, presenta una contaminación por *Pseudomonas aeruginosa*, parámetro que no fue encontrado en la legislación consultada y no debe tomarse por menos.

Para la evaluación económica de los tratamientos sanitarios propuestos se estableció una estructura de costos modificada debido a la naturaleza del proceso a evaluar, en esta los costos operativos se dividen en tres principales secciones: operatividad, control de calidad y comercialización tal como se muestra en el cuadro 4.8, en base a una tonelada de lodo por procesar al mes.

Se asumen dos posibles escenarios, el primero contempla asumir todos los procesos que promueven el buen funcionamiento del tratamiento por parte de la empresa, por ejemplo, en el caso de FAL incluye la reproducción de las bacterias lácticas. En el segundo escenario se establece la subcontratación de todos los servicios posibles. Además, se hace una estimación de la inversión inicial en ambos escenarios.

La sección de operatividad se refiere a los insumos necesarios para llevar a cabo el tratamiento, el control de calidad hace referencia a la asesoría técnica y análisis microbiológicos – fisicoquímicos necesarios. La comercialización contempla el empaque, transporte y encargado de la venta del biosólido. La estructura de costos detallada se adjunta con en el apéndice IV. Es recomendable analizar la tasa de retorno de la inversión inicial del tratamiento de interés para la empresa. El tratamiento de encalado presentado en el cuadro 4.8 se refiere al tratamiento con cal viva pues esta presenta los mejores resultados microbiológicos.

Cuadro 4.8. Estructura de costos de los tratamientos sanitarios.

	I Escenario			II Escenario			
	FAL	Encalado	Secado solar	FAL	Encalado	Secado solar	
Costos operativos	Operatividad	\$0.52	\$0.575	\$0.57	\$0.421	\$0.282	\$0.57
	Control de calidad	\$0.19	\$0.191	\$0.14	\$0.191	\$0.191	\$0.14
	Comercialización	\$1.70	\$1.704	\$1.70	\$1.704	\$1.704	\$1.70
	Total (ton/mes)	\$2.41	\$2.47	\$2.41	\$2.32	\$2.18	\$2.41
	■ Operatividad	■ Control de calidad	■ Comercialización				
Inversión inicial (\$/ 5 ton)	\$5734	\$2059	\$0	\$2102	\$2079	\$0	

Pese a que la inversión inicial para el secado solar se estima en \$0 es importante evaluar la posibilidad de mejorar la estructura de la cámara de solarización para optimizar esta etapa en caso de que la empresa desee mantenerla. Además, se estiman también los costos operativos para el secado solar pues las recomendaciones de control de calidad aplican de igual manera. La operatividad y comercialización de esta etapa de la PT son elementos existentes, no obstante, se evaluaron a manera de comparación con los tratamientos propuestos.

Se observa que la comercialización representa el mayor porcentaje de los costos operativos en todos los tratamientos. Tomando en cuenta que este es un procedimiento con el que ya se cuenta en la empresa, los costos operativos parecen no representar mayor monto económico. Considerando la capacidad aproximada de recolección de lodo séptico de la empresa, con 7 vehículos recolectores, de 143 m³. La empresa cuenta con otra PT ubicada en Buenos Aires de Puntarenas, que se estima tiene mayor capacidad que la contemplada en este trabajo, por lo tanto, no todo este material será procesado en Pérez Zeledón.

Es importante también, para determinar el mejor tratamiento sanitario aquí evaluado, el análisis de varios factores conjuntamente. Para esto se realizó un gráfico de radar que permite sobreponer dos factores considerados de interés, la eficiencia en la remoción de coliformes totales y el costo operativo, como se muestra en la figura 4.4. Se evaluaron así el tratamiento de encalado con ambas fuentes y el tratamiento FAL. El secado solar no se incluye debido a que no se logró evaluar el comportamiento de las muestras desde la entrada hasta la salida de la cámara de solarización y por ende la eficiencia de la etapa no se puede estimar.

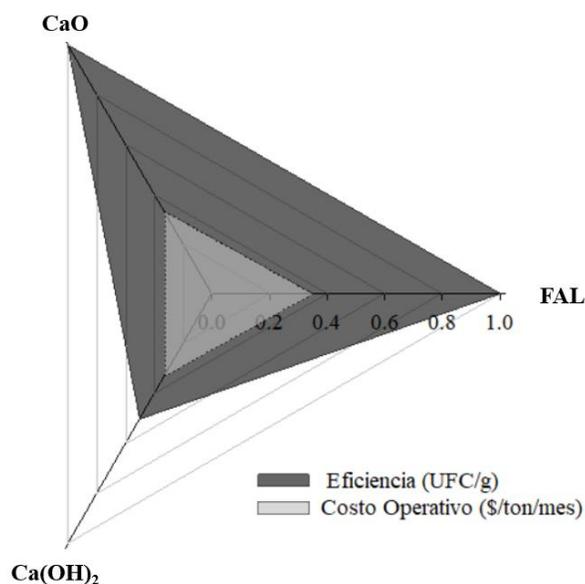


Figura 4.3. Comparación de los tratamientos de FAL y Encalado.

Tal como se puede observar, tanto el encalado con cal viva como el tratamiento FAL presentan una eficiencia de remoción de coliformes totales de un 100 % y así el cumplimiento de este parámetro según las normativas internacionales, el costo operativo es prácticamente el mismo. A pesar de ello es importante contemplar el tiempo que requiere cada tratamiento,

para FAL se evaluó un periodo de 30 d y para el encalado de 1 h. Por lo que el tratamiento de encalado con óxido de calcio (CaO), conocido como cal viva, cumple con todas las variables de comparación establecidas y por ser un tratamiento de rápida respuesta puede representar una opción más rentable.

Biosólidos ácidos con las características presentadas podrían ser evaluados para la reincorporación a suelos básicos del norte de Costa Rica. Los biosólidos básicos tratados con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ podrían no cumplir con los requerimientos microbiológicos mínimos para ser considerados biosólidos clase B según la EPA, ya que se propone un parámetro de coliformes fecales $< 2.0 \times 10^6$ NMP/ g. Es necesario considerar un tratamiento sanitario adicional o la reincorporación a otro distinto para dicho biosólido. Por otra parte, las muestras del fertilizante orgánico cumplen la reducción de coliformes fecales antes mencionada para ser considerado biosólido clase B a pesar de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* que no es considerada en esta norma. En este caso puede considerarse un tratamiento alcalino que consiste en la exposición del material a pH superior a 12 por al menos 30 min.

En cuanto a la incorporación del biosólido básico estabilizado con CaO en suelos costarricenses, tal como lo recomienda en el Reglamento para el Manejo de Lodos Sépticos Procedentes de Tanques Sépticos, podría llevarse a cabo en suelos ácidos. Se estima que los problemas de acidez de suelos están distribuidos en muchas zonas de importancia agrícola en el país con características fisicoquímicas muy variables que inciden en la fertilidad y el manejo. De acuerdo con Alvarado-Hernández et al. (2001), el 35 % de los suelos del país son bajos en Ca y Mg, siendo la acidez un problema importante en los suelos nacional en 20 a 30 % ; sumado a deficiencias de N y P, también de gran importancia en suelos ácidos, y a menudo la eficiencia de la respuesta a la aplicación de fertilizantes se ve reducida por la presencia de alta acidez que limita el crecimiento radical de las plantas.

De acuerdo con el libro Fertilidad de Suelos y Manejo de la Nutrición de Cultivos en Costa Rica del CIA/UCR, el encalado de este tipo de suelos ha sido una práctica común en el país, incluyendo cales como la roca caliza, calcárea o calcita ricas en carbonato de calcio (CaCO_3), CaO, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y la cal dolomítica aunque esta última con uso limitado ser importada y costosa. Por tanto, la incorporación de biosólidos encalados podría ser una opción importante por evaluar, tomando en cuenta que esto permitiría la reincorporación de materia orgánica y la posible compensación de pH.

Sin embargo, ya que la cal requiere de humedad para reaccionar más investigación se requiere para evaluar el grado de compensación de pH del suelo que los biosólidos podrían ofrecer. Se podría considerar, además, la técnica de incorporación de la cal al suelo como una opción para el biosólido, esta consiste en agregar el material en los primeros (15 – 20) cm de suelo para asegurar el contacto en la capa arable (Alvarado-Hernández et al., 2001). De ser incorporado a suelos no agrícolas, esta sigue siendo una vía de incorporación quizás mejor a la aplicación superficial.

De acuerdo con regulaciones internacionales como la parte 503 de la EPA para residuos sépticos domésticos. Se contempla la aplicación de lodos sépticos domésticos tratados con un aumento de pH hasta 12, utilizando material alcalino. No obstante, la norma establece

restricciones de cultivo para la aplicación de estos biosólidos que podrían tomarse en cuenta a nivel nacional. Por ejemplo, los cultivos con partes cosechables que toquen la mezcla biosólida/suelo (tomate, pepino, apio, repollo o lechuga), no se deben cultivar durante 14 meses después de la aplicación de los biosólidos. Aquellos con partes cosechables por debajo de la superficie de la tierra (papa, camote, cebolla) no deberán cultivarse durante 20 meses después de la aplicación de biosólidos, si estos permanecen en la superficie del terreno durante cuatro meses o más antes de incorporarlo al suelo. Cuando el biosólido permanezca en la superficie durante menos de cuatro meses antes de incorporarlo al suelo, cultivos con partes cosechables por debajo de la superficie no se cultivarán durante 38 meses.

La parte 503 para residuos sépticos domésticos también menciona que la alimentación de animales, la fibra y aquellos cultivos alimenticios cuyas partes cosechadas no toquen la superficie del suelo (naranja, manzana, limón), no deben cosecharse durante 30 d después de la aplicación del biosólido. El césped cultivado en terrenos donde se aplican biosólidos no se recogerá durante un año después de la aplicación cuando el césped cosechado se coloque en zonas con probabilidad de exposición pública a menos que la autoridad competente lo especifique. La EPA no señala restricciones de pastoreo ni de sitio cuando el biosólido ha tenido un tratamiento alcalino por al menos 30 min.

El efecto de la aplicación de biosólidos a largo plazo en las dinámicas del suelo depende de las características específicas de cada sitio y de los biosólidos aplicados, en una investigación realizada en un área destinada a la disposición de aguas residuales municipales por más de 100 años en Nottingham, Reino Unido, se determinó que bajas tasas de aplicación de biosólidos pueden aumentar la diversidad microbiana del suelo, pero esta tendencia se invierte a tasas de aplicación mayores por la concentración de metales pesados a mayores tasas de aplicación (Mossa et al., 2017).

De acuerdo con la investigación de Montiel-Rozas et al. (2018), en un suelo español expuesto a un derrame tóxico de una mina y clima mediterráneo, luego de 13 años de aplicación de biosólidos provenientes de compostaje la mejora de la fertilidad química y biológica en el suelo aún eran efectivos. Pero se determinó que se requieren adiciones repetidas de enmiendas durante largos intervalos de tiempo para garantizar la durabilidad los efectos beneficiosos. La efectividad de la enmienda orgánica resultó principalmente de la neutralización del pH y causó una mejora general de las propiedades fisicoquímicas del suelo, favoreciendo el establecimiento de comunidades microbianas más activas.

Además, según Price, Astatkie, Gillis, & Liu (2015) la aplicación de biosólidos tratados alcalinamente en un suelo “arenoso ácido”, dieron como resultado un cambio ascendente en el pH del suelo durante todo el período de 4 años de estudio, las tasas más altas de aplicación anual de biosólidos alcalinos sugiere que la actividad general del suelo relacionada con la mineralización de nitrógeno y/o la nitrificación se incrementa. La aplicación de estos biosólidos a tierras agrícolas proporcionó nitrógeno para mejorar la producción de cultivos. De acuerdo con Coors et al. (2016), la abundancia de fauna del suelo y su actividad alimenticia están fuertemente influenciados por los parámetros abióticos del suelo y el enriquecimiento orgánico, incluso años después de la aplicación de los biosólidos.

Sin embargo, el uso de biosólidos no se reduce al mejoramiento nutricional de los suelos orientado al cultivo. Pueden considerarse otras vías de disposición como mejorador de jardines, parques, recuperación de suelos explotados por la minería, para promover el crecimiento rápido de madera, además de ser compostados y comercializados para su uso en céspedes y huertos domésticos (EPA, 2018).

5 CONCLUSIONES

A pesar de que la características fisicoquímicas y microbiológicas de los lodos en apariencia son homogéneas, es probable que la capacidad buffer del material sea heterogénea, resultando en respuestas variables de pH. Esto implica la necesidad de evaluar de forma independiente cada lote de lodo antes de iniciar un tratamiento sanitario.

La presencia o ausencia de bacterias del grupo coliformes es insuficiente para asegurar la inocuidad del material. Por esto, es importante el análisis de patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. y huevecillos de helmintos en cada lote de lodo y biosólidos.

El tratamiento FAL fue 100 % efectivo para la reducción de coliformes totales con las dosis de 0.22 g dextrosa/ g lodo y 0.20 g melaza/ g lodo. El tratamiento de encalado fue igualmente efectivo con una dosis de 0.12 g CaO/ g.

La composición nutricional NPK de los lodos estudiados y fertilizante orgánico, es semejante al contenido nutricional encontrado en abonos orgánicos como el estiércol de vaca, vermicompost y gallinaza. Se evidencia el potencial beneficio para la nutrición de plantas si se considera la inocuidad del material.

La evaluación de factores de eficiencia, tiempo de tratamiento, costos de inversión favorecen al tratamiento de encalado con CaO, sobre FAL. Biosólidos básicos pueden ser empleados a su vez para la neutralización de la acidez característica de los suelos tropicales degradados y aumentar la base nutricional de los mismos.

6 RECOMENDACIONES

Considerar el uso de trazadores para establecer el tiempo de residencia del lodo séptico en los tanques anaerobios, filtros de secado, hasta llegar al lecho de secado que permita establecer la función actual de estas etapas en la actividad microbiológica del lodo, para poder evaluar los tratamientos sanitarios en materiales más frescos.

Ampliar el estudio de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la cámara de solarización de la PT de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A., que permita confirmar la posible contaminación cruzada.

Optimizar el diseño de la cámara de solarización en caso de que se desee mantener, o bien, evaluar la utilización de sistemas alternos al secado: estructuras tipo invernadero con varios niveles, ventilación pasiva de aire caliente, paneles solares, entre otros.

Evaluar las características fisicoquímicas de los lodos luego de ser tratados con óxido de calcio y la FAL con melaza.

Estudiar el contenido de contaminantes orgánicos emergentes, metales pesados, nanopartículas y microplásticos en el material séptico y biosólido comercializado.

Continuar la evaluación de microorganismos indicadores de control que se ajusten a la naturaleza del lodo para la apropiada evaluación de la inocuidad de los biosólidos.

Analizar la tasa de retorno de la inversión inicial de los tratamientos sanitarios propuestos.

Evaluar la eficiencia de FAL y encalado con CaO en lodos sépticos con contenidos de humedad mayores e inferiores.

Investigar la matriz de cultivos nacionales que puedan ajustarse a las recomendaciones de uso como mejorador de suelos de los biosólidos.

7 REFERENCIAS

- Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Tengku Ibrahim, T. A., Bashokouh, F., Ramakrishnan, N. R., Mustafa, S., & Ariff, A. B. (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *RSC Adv.*, 7(47), 29395–29420. <https://doi.org/10.1039/C6RA24579J>
- Afolabi, O. O. D., & Sohail, M. (2016). Microwaving human faecal sludge as a viable sanitation technology option for treatment and value recovery – A critical review. *Journal of Environmental Management*, 187, 401–415. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.067>
- Alvarado-Hernández, Alfredo; Bertsch-Hernández, Floria; Durán, Norberto; Gutierrez, Marco; Herrera, Walter; Molina, Eloy; Sancho-Mora, Freddy; Soto, Gabriela; Flores, Carlos; Salas, Rafael; Rofríguez, J. (2001). *Fertilidad de Suelos y Manejo de la Nutrición de Cultivos en Costa Rica. Centro de Investigaciones Agronómicas: Laboratorio de Suelos y Foliares* (Vol. 1). Retrieved from <http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/Memorias/Memoria Curso Fertilidad de Suelos.pdf>
- Alvarenga, P., Mourinha, C., Farto, M., Santos, T., Palma, P., Sengo, J., ... Cunha-Queda, C. (2015). Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors. *Waste Management*, 40(276), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.01.027>
- Ameri, B., Hanini, S., Benhamou, A., & Chibane, D. (2018). Comparative approach to the performance of direct and indirect solar drying of sludge from sewage plants, experimental and theoretical evaluation. *Solar Energy*, 159(November 2016), 722–732. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2017.11.032>
- Anand, C. K., & Apul, D. S. (2014). Composting toilets as a sustainable alternative to urban sanitation - A review. *Waste Management*, 34(2), 329–343. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.006>
- Anderson, C., Malambo, D. H., Perez, M. E. G., Nobela, H. N., de Pooter, L., Spit, J., ... Brdjanovic, D. (2015). Lactic acid fermentation, urea and lime addition: Promising faecal sludge sanitizing methods for emergency sanitation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(11), 13871–13885. <https://doi.org/10.3390/ijerph121113871>
- Andreev, N., Ronteltap, M., Boincean, B., & Lens, P. N. L. (2017). Treatment of Source-Separated Human Feces via Lactic Acid Fermentation Combined with Thermophilic Composting. *Compost Science and Utilization*, 25(4), 220–230. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2016.1277809>
- Andreev, N., Ronteltap, M., Boincean, B., & Lens, P. N. L. (2018). Lactic acid fermentation of human excreta for agricultural application. *Journal of Environmental Management*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.072>
- Andreev, N., Ronteltap, M., Boincean, B., Wernli, M., Zubcov, E., Bagrin, N., ... Lens, P. N. L. (2017). Lactic acid fermentation of human urine to improve its fertilizing value

- and reduce odour emissions. *Journal of Environmental Management*, 198, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.059>
- Arif, M. S., Riaz, M., Shahzad, S. M., Yasmeen, T., Akhtar, M. J., Riaz, M. A., ... Buttler, A. (2016). Associative interplay of plant growth promoting rhizobacteria (*Pseudomonas aeruginosa* QS40) with nitrogen fertilizers improves sunflower (*Helianthus annuus* L.) productivity and fertility of aridisol. *Applied Soil Ecology*, 108, 238–247. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.08.016>
- Azizian, R., Nasser, A., Askari, H., Taheri Kalani, M., Sadeghifard, N., Pakzad, I., ... Azizi Jalilian, F. (2015). Sewage as a rich source of phage study against *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *Biologicals*, 43(4), 238–241. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2015.05.004>
- Barbosa, J. Z., Poggere, G. C., Dalpisol, M., Serrat, B. M., Bittencourt, S., & Motta, A. C. V. (2017). Aplicação de lodo de esgoto alcalinizado melhora a fertilidade de solos ácidos. *Ciencia e Agrotecnologia*, 41(5), 483–493. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017415006717>
- Belloulid, M. O., Hamdi, H., Mandi, L., & Ouazzani, N. (2017). Solar Greenhouse Drying of Wastewater Sludges Under Arid Climate. *Waste and Biomass Valorization*, 8(1), 193–202. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9614-1>
- Berstch, F. (2003). Décimo Informe sobre el Desarrollo Humano Sostenible: El Recurso Suelo en Costa Rica. *Estado de La Nación*, 1–40.
- Bettendorf, T., Stoeckl, M., & Otterpohl, R. (2014). Vermicomposting of municipal solid organic waste and fecal matter as part of Terra Preta Sanitation - a process and product assessment, 1–8. <https://doi.org/10.13140/2.1.3748.0320>
- Brodie, G., Destefani, R., Schneider, P. A., Airey, L., & Jacob, M. V. (2014). Dielectric Properties of Sewage Biosolids: Measurement and Modeling. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 48(3), 147–157. <https://doi.org/10.1080/08327823.2014.11689879>
- Buivydas, Andrius; Pasanen, Tanja; Sencilo, Ana; Daugelavicius, Rimantas; Vaara, M. & Bamford, D. (2013). Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from superficial skin infections have different physiological patterns.
- CCME. (2010). *A Review of the Current Canadian Legislative Framework for Wastewater Biosolids*. Retrieved from http://www.ccme.ca/files/Resources/waste/biosolids/pn_1446_biosolids_leg_review_eng.pdf
- Chen, Chen; Mangoni, Maria Luisa & Di, P. (2017). In vivo therapeutic efficacy of frog skin-derived peptides against *Pseudomonas aeruginosa*-induced pulmonary infection.
- Coors, A., Edwards, M., Lorenz, P., Römbke, J., Schmelz, R. M., Topp, E., ... Lapen, D. R. (2016). Biosolids applied to agricultural land: Influence on structural and functional endpoints of soil fauna on a short- and long-term scale. *Science of the Total Environment*, 562, 312–326. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.226>

- De Gisi, S., Petta, L., & Wendland, C. (2014). History and technology of Terra Preta sanitation. *Sustainability (Switzerland)*, 6(3), 1328–1345. <https://doi.org/10.3390/su6031328>
- Dede, G., Özdemir, S., Dede, H., Altundağ, H., DüNDAR, M., & Kızıloğlu, F. T. (2017). Effects of biosolid application on soil properties and kiwi fruit nutrient composition on high-pH soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(7), 1451–1458. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1252-z>
- Dellbrügge, R., Bauerfeld, K., Dichtl, N., Großer, A., & Paris, S. (2015). Technology transfer-oriented research and development in the wastewater sector - Validation at industrial-scale plants' (EXPOVAL) -subgroup 6: Solar sewage sludge drying: First results from investigations with a pilot plant. *Water Practice and Technology*, 10(2), 371–380. <https://doi.org/10.2166/wpt.2015.045>
- Domestic Septage Regulatory Guidance A Guide to Excellence in compliance through. (1993). *Office of Water 4204, 1*, 91.
- Elving, J., Ottoson, J. R., Vinnerås, B., & Albiñ, A. (2010). Growth potential of faecal bacteria in simulated psychrophilic/mesophilic zones during composting of organic waste. *Journal of Applied Microbiology*, 108(6), 1974–1981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04593.x>
- Escobar, L. F., Rojas, C. A., Giraldo, G., & Padilla, L. (2010). Evaluación del Crecimiento de *Lactobacillus casei* y producción de Ácido láctico usando como sustrato el suero de leche vacuno. *Rev. Invest. Univ. Quindío - Colombia*, 20, 42–49.
- Factura, H., Bettendorf, T., Buzie, C., Pieplow, H., Reckin, J., & Otterpohl, R. (2010). Terra Preta sanitation: Re-discovered from an ancient Amazonian civilisation - Integrating sanitation, bio-waste management and agriculture. *Water Science and Technology*, 61(10), 2673–2679. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.201>
- Fidjeland, J., Magri, M. E., Jönsson, H., Albiñ, A., & Vinnerås, B. (2013). The potential for self-sanitisation of faecal sludge by intrinsic ammonia. *Water Research*, 47(16), 6014–6023. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.07.024>
- Gilliland, S. E., & Speck, M. L. (1977). Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*, 12(4), 820–272. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-40.12.820>
- Gul, S., Naz, A., Fareed, I., & Irshad, M. (2015). Reducing heavy metals extraction from contaminated soils using organic and inorganic amendments – a review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(3), 1423–1426. <https://doi.org/10.15244/pjoes/26970>
- Hanč, A., Tlustoš, P., Száková, J., & Balík, J. (2008). The influence of organic fertilizers application on phosphorus and potassium bioavailability. *Plant, Soil and Environment*, 54(6), 247–254.
- Kamil Salihoglu, N., Pinarli, V., & Salihoglu, G. (2007). Solar drying in sludge management in Turkey. *Renewable Energy*, 32(10), 1661–1675.

<https://doi.org/10.1016/j.renene.2006.08.001>

- Kim, J. S., Sparovek, G., Longo, R. M., De Melo, W. J., & Crowley, D. (2007). Bacterial diversity of terra preta and pristine forest soil from the Western Amazon. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(2), 684–690. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.08.010>
- Kurt, M., Aksoy, A., & Sanin, F. D. (2015). Evaluation of solar sludge drying alternatives by costs and area requirements. *Water Research*, 82, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.043>
- Martin, N. H., Trmcic, A., Hsieh, T. H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>
- Mason-Renton, S., & Luginaah, I. (2016). Interfering with therapeutic tranquility: Debates surrounding biosolid waste processing in rural Ontario. *Health and Place*, 41, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2016.07.004>
- Mathioudakis, V. L., Kapagiannidis, A. G., Athanasoulia, E., Paltzoglou, A. D., Melidis, P., & Aivasidis, A. (2013). Sewage Sludge Solar Drying: Experiences from the First Pilot-Scale Application in Greece. *Drying Technology*, 31(5), 519–526. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.744998>
- Mishra, M., Arukha, A. P., Patel, A. K., Behera, N., Mohanta, T. K., & Yadav, D. (2018). Multi-drug resistant coliform: Water sanitary standards and health hazards. *Frontiers in Pharmacology*, 9(JUN), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00311>
- Montiel-Rozas, M. M., Domínguez, M. T., Madejón, E., Madejón, P., Pastorelli, R., & Renella, G. (2018). Long-term effects of organic amendments on bacterial and fungal communities in a degraded Mediterranean soil. *Geoderma*, 332(June), 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.06.022>
- Mossa, A.-W., Dickinson, M. J., West, H. M., Young, S. D., & Crout, N. M. J. (2017). The response of soil microbial diversity and abundance to long-term application of biosolids. *Environmental Pollution*, 224, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.056>
- Mozo, W., & Gómez, A. (2016). Biosolids and Biosolid Ashes as Input for Producing Brick-like Construction Materials. *Tecciencia*, 12(21), 45–51.
- Naiji, M., & Souri, M. K. (2018). Nutritional value and mineral concentrations of sweet basil under organic compared to chemical fertilization. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 17(2), 167–175. <https://doi.org/10.24326/asphc.2018.2.14>
- Odey, E. A., Li, Z., Zhou, X., & Kalakodio, L. (2017). Fecal sludge management in developing urban centers: a review on the collection, treatment, and composting. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(30), 23441–23452. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0151-7>
- Odey, E. A., Li, Z., Zhou, X., & Yan, Y. (2018). Locally produced lactic acid bacteria for pathogen inactivation and odor control in fecal sludge. *Journal of Cleaner Production*,

184, 798–805. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.276>

- Omondi-Donde, O., & Bangding, X. (2017). Understanding wastewater treatment mechanisms: A review on detection, removal and purification efficiencies of faecal bacteria indicators across constructed wetlands. *Canadian Science Publishing*, 1–36. <https://doi.org/10.1139/er-2017-0017>
- Paluszak, Z., & Bauza-kaszewska, J. (2011). INACTIVATION OF INDICATOR BACTERIA IN ANIMAL BY-PRODUCT SANITISED BY CaO, 699–703.
- Prabhu, M., Horvat, M., Lorenz, L., Otterpohl, R., Bettendorf, T., & Mutnuri, S. (2014). Terra Preta as an Alternative for the Management of Sludge from Wastewater Treatment Plants, 1–10.
- Price, G. W., Astatkie, T., Gillis, J. D., & Liu, K. (2015). Long-term influences on nitrogen dynamics and pH in an acidic sandy soil after single and multi-year applications of alkaline treated biosolids. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 208, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.04.010>
- Rana, S., Biswas, J. K., Rinklebe, J., Meers, E., & Bolan, N. (2017). Harnessing fertilizer potential of human urine in a mesocosm system: a novel test case for linking the loop between sanitation and aquaculture. *Environmental Geochemistry and Health*, 39(6), 1545–1561. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-9942-5>
- Rivera-Cruz, M. del C., Trujillo Narcía, A., Córdova Ballona, G., Kohler, J., Caravaca, F., & Roldán, A. (2008). Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(12), 3092–3095. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.09.003>
- Sader, H. S., Castanheira, M., Duncan, L. R., & Flamm, R. K. (2018). Antimicrobial Susceptibility of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from United States Medical Centers Stratified by Infection Type: Results from the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 92(1), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.04.012>
- Samouëlian, A., Cousin, I., Tabbagh, A., Bruand, A., & Richard, G. (2005). Electrical resistivity survey in soil science: A review. *Soil and Tillage Research*, 83(2), 173–193. <https://doi.org/10.1016/j.still.2004.10.004>
- Schwarz, K. R., Sidhu, J. P. S., Pritchard, D. L., Li, Y., & Toze, S. (2014). Decay of enteric microorganisms in biosolids-amended soil under wheat (*Triticum aestivum*) cultivation. *Water Research*, 59, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.037>
- Shanahan, E. F., Roiko, A., Tindale, N. W., Thomas, M. P., Walpole, R., & Ipek Kurtböke, D. (2010). Evaluation of pathogen removal in a solar sludge drying facility using microbial indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(2), 565–582. <https://doi.org/10.3390/ijerph7020565>

- Silva-Leal, J., Bedoya-Rios, D., & Torres-Lozada, P. (2013). Effect of Thermal Drying and Alkaline Treatment on the Microbiological and Chemical Characteristics of Biosolids From Domestic Wastewater Treatment Plants. *Quimica Nova*, 36(2), 207–214.
- Simha, P., Zabaniotou, A., & Ganesapillai, M. (2018). Continuous urea–nitrogen recycling from human urine: A step towards creating a human excreta based bio–economy. *Journal of Cleaner Production*, 172, 4152–4161. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.01.062>
- Soewondo, P., Febriana, A., Handajani, M., & Firdayati, M. (2014). Faeces Treatment By Lactic Fermentation Process and Future Perspectives of Terra Preta Sanitation Concept in Indonesia, 1–10.
- Someus, E. (2014). REFERTIL : reducing mineral fertilizers and chemicals use in agriculture by recycling treated organic waste as compost and bio-char products, 1–12.
- Stoeckl, M., Roggentin, P., Bettendorf, T., & Otterpohl, R. (2014). Assessment of hygienisation of faecal matter during terra preta inspired vermicomposting by qualitative identification of Salmonella spec ., 42(M), 1–9.
- Sutula, J., Ann Coulthwaite, L., Thomas, L. V., & Verran, J. (2013). The effect of a commercial probiotic drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on oral health in healthy dentate people. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 24(0). <https://doi.org/10.3402/mehd.v24i0.21003>
- Sypula, M., Paluszak, Z., Ligocka, A., & Skowron, K. (2013). Effects of spring season solar drying process on sanitation indicators in sewage sludge and potential as a method for fertilizer production. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20(1), 8–12.
- Sypuła, M., Paluszak, Z., & Szała, B. (2013). Effect of sewage sludge solar drying technology on inactivation of select indicator microorganisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(2), 533–540.
- Tori, S. I., Correa, R. S., & Renella, G. (2017). Biosolid Application to Agricultural Land—a Contribution to Global Phosphorus Recycle: A Review. *Pedosphere*, 27(1), 1–16. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60106-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60106-0)
- Uzair, B., Kausar, R., Bano, S. A., Fatima, S., Badshah, M., Habiba, U., & Fasim, F. (2018). Isolation and Molecular Characterization of a Model Antagonistic *Pseudomonas aeruginosa* Divulging *In Vitro* Plant Growth Promoting Characteristics. *BioMed Research International*, 2018, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/6147380>
- Walker, J., Knight, L., & Stein, L. (1994). A Plain English Guide to the EPA Part 503 Biosolids Rule. *Office of Wastewater Management 4204*, (September), 183. Retrieved from water.epa.gov/scitech/wastetech/biosolids/503pe_index.cfm
- Wang, D., Liu, W., Ren, Y., De, L., Zhang, D., Yang, Y., ... Menghe, B. (2016). Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional dairy products in Baotou and Bayannur of Midwestern Inner Mongolia and q-PCR analysis of predominant species. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(4), 499–507.

<https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.4.499>

- WHO. (2006). Safe Use of Wastewater , Excreta and Greywater Guidelines for the Safe Use of. *World Health, II*, 204. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Withers, P. J. A., Flynn, N. J., Warren, G. P., Taylor, M., & Chambers, B. J. (2016). Sustainable management of biosolid phosphorus: A field study. *Soil Use and Management*, 32(June), 54–63. <https://doi.org/10.1111/sum.12235>
- Wong, J. W. C., & Fang, M. (2000). Effects of lime addition on sewage sludge composting process. *Water Research*, 34(15), 3691–3698. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00116-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00116-0)
- Yemaneh, a, Bulbo, M., Schmale, C., & Otterpohl, R. (2013). Investigation of Low-Cost Sugar Supplement for Lactic Acid Fermentation in Terra Preta Sanitation System, 1–7.
- Youssef, A. S., & Kahil, M. A. (2016). Solar Sludge Drying for Medina Al-Munawarah Sewage Treatment Plant in the Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of Environmental Engineering*, 142(12), 05016006. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001152](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001152)
- Zasada, I. A., & Tenuta, M. (2008). Alteration of the soil environment to maximize *Meloidogyne incognita* suppression by an alkaline-stabilized biosolid amendment. *Applied Soil Ecology*, 40(2), 309–317. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.05.006>

8 ÁPENDICES

Apéndice I: Planta de Tratamiento de lodos sépticos de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A. en el Hoyón de San Isidro de Pérez Zeledón.



Apéndice II: Jarras de anaerobiosis utilizadas para la incubación de bacterias lácticas.



Apéndice III: Cálculo del valor de neutralización de la cal a partir del método de titulación según Briceño & Pacheco (1984).

$$\% \text{CaCO}_3 = (\text{mL HCl} \times \text{mol L}^{-1}\text{HCl} - \text{mL NaOH} \times \text{mol L}^{-1}\text{NaOH}) \times 0.050 \times \frac{100}{\text{P.M}}$$

Apéndice IV: Respuesta microbiológica de las muestras procesadas de distintas etapas de la PT de la empresa Suelos Fértiles

Orgánicos S.A.

Análisis	Lodos tanque anaerobio 1			Lodos en filtros de secado			Lodos en lecho de secado				Biosólidos		
	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3*
Fecha (m/a)	08/2017	02/2018	04/2018	08/2017	02/2018	05/2018	08/2017	11/2017	02/2018	03/2018	11/2017	04/2018	05/2018
Coliformes totales (NMP/g muestra)	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	53	
Coliformes fecales (NMP/g muestra)	< 3	> 1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	1.1x10 ³	> 1.1x10 ³	43	< 3	< 3	< 3	43	1.1x10 ³	9.1	> 1.6x10 ⁴
<i>Escherichia Coli</i> (NMP/g muestra)	< 3	> 1.1x10 ³	23	2.3x10 ¹	2.9x10 ²	15	A	A	A	< 3	1.1x10 ³	9.1	> 1.6x10 ⁴
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/g muestra)	est 1.5x10 ³	2.3x10 ⁴	A	A	est 1.3x10 ³	A	est 3.2x10 ⁵	A	est 1.0x10 ²	A	2.3x10 ⁴	2.0x10 ⁴	3.7x10 ⁴

M: muestra

A: Ausente

*Pruebas de control cruzado

Apéndice V: Guía para el recuento de microorganismos empleada.

De acuerdo con los procedimientos establecidos en el Compendio de Métodos para la Examinación Microbiológica de Alimentos de la Asociación Americana de Salud Pública y en el laboratorio de microbiología del CEQIATEC.

La siguiente guía de “reglas” se utilizó para seleccionar los platos para recuento y calcular las UFC por g ó mL.

1. Un plato con (25-250) colonias sin dispersadores o accidentes de laboratorio. Se cuenta las UFC y se multiplica por el factor de la dilución empleada.
2. Platos duplicados: con (25-250) colonias sin dispersadores o accidentes de laboratorio. Se cuentan las UFC de ambos platos y se promedia, recordar la dilución empleada para reportar el dato real.
3. Diluciones consecutivas con (25-250) colonias, se cuenta cada dilución y se reporta el promedio de ambas, a menos que el recuento de la dilución mayor sea más que el doble de la dilución menor. En ese caso, se reporta el recuento de la dilución menor.
4. Ningún plato con (25-250) colonias: si no hay platos con un recuento entre (25-250) colonias, pero hay uno o más platos que tienen recuentos mayores a 250, se deben seleccionar aquellos cercanos a 250, se reporta como estimado (est).
5. Todos los platos con recuentos menores a 25 colonias: se realiza el recuento con los platos más cercanos a 25 y se reporta como estimado (est).
6. Platos sin crecimiento: si los platos de todas las diluciones no tienen colonias y no se agregó ninguna sustancia inhibitoria, se reporta el recuento como “menor que” correspondiendo a la menor dilución y se reporta como estimado (est).
7. Platos con crecimiento abundante (más de 250 colonias): si el número de colonias por plato excede 250, se cuentan las colonias en porciones del plato que sea representativa a la distribución.
 - a. Si hay menos de 10 colonias por cm^2 , se cuentan las colonias en 12 cm^2 seleccionando 6 cuadrados consecutivos, tener cuidado de no contar más de 2 veces un mismo cuadrado.
 - b. Si hay más de 10 colonias por cm^2 , se cuentan las colonias en 4 cuadrados representativos.

En ambos casos se multiplica el promedio de colonias por centímetro cuadrado por el área del plato para determinar un número estimado. Cada laboratorio determinar el área de los platos Petri empleados, sin embargo, el área de un plato Petri plástico estándar de 15mm x 100mm es 56 mm^2 y por lo tanto, el factor es 56.

- c. Cuando los recuentos son mayores a 100 colonias por cm^2 se reporta como “mayor que” el área del plato multiplicado por 100, multiplicado por la máxima dilución plateada.
8. Existen 3 tipos de esparcidores:

- a. El primero es una cadena de colonias, en la que es difícil distinguir que parece ser causado por la desintegración de un grupo de bacterias cuando el inóculo es dispersado en el medio de cultivo. Si aparece una o más cadenas que parezcan originadas cada una de una fuente distinta, se debe contar cada cadena como una colonia. No se debe contar cada colonia dentro de la cadena como colonias separadas.
- b. El segundo tipo de esparcidor se forma a partir de agua entre el agar y el plato Petri.
- c. El tercer tipo se forma a partir de agua en el borde del plato o sobre la superficie del agar. Estos dos tipos de esparcidores deforman por la humedad acumulada y su formación puede impedir el crecimiento de colonias individuales.

Cuando el agua de dilución se distribuye de manera uniforme en el medio, raramente se producen esparcidores.

Si los esparcidores se presentan en platos Petri seleccionados para recuento, se debe contar las colonias solamente si están distribuidas en áreas alejadas del esparcidor y que el esparcidor no cubra más del 50% de la placa. Si el área de crecimiento por si solo excede 25% del total del área, se debe reportar “esparcidor” o accidente de laboratorio (LA).

9 ANEXOS

Anexo I: Reporte de resultados del análisis químico completo de dos muestras de lodos sépticos.

		CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, UCR LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES				 Centro de Investigaciones Agronómicas Facultad de Ciencias Agroalimentarias Universidad de Costa Rica						
		REPORTE DE ENSAYO RE-R01 (V1)										
N° DE REPORTE:		65125						  Laboratorio de Ensayo Alcance de Acreditación N°. LE-033 Acreditado a partir de: 12.06.2006 Alcance disponible en www.eca.or.cr				
USUARIO:		INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA										
RESPONSABLE:		FEDERICO MASIS						ANÁLISIS:		QC, pH, CE		
CORREO:		fmasis@itcr.ac.cr						FECHA RECEPCIÓN:		07/12/2017		
TELÉFONO:		2550-2364						EMISIÓN DE REPORTE:		18/12/2017		
FAX:								N° DE MUESTRAS TOTAL:		5		
PROVINCIA:		SAN JOSE						PÁGINA:		1/2		
CANTÓN:		TARRAZU										
CULTIVO:		ABONOS SÓLIDOS										
ANÁLISIS QUÍMICO DE ABONOS ORGÁNICOS												
ID USUARIO	IDLAB	% masa						mg/kg				
		N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
SOL: CASCARILLA	AO-17-00585	0.45	0.01	0.14	0.04	0.24	0.04	142	9	4	16	3
SOL: ASERRIN	AO-17-00586	2.87	0.70	0.57	0.51	1.16	0.34	30176	90	236	996	4
SOL: CAFE	AO-17-00587	3.61	0.48	0.89	0.36	1.37	0.36	1631	34	122	159	14
SOL: LOTE 2**	AO-17-00588	4.14	0.98	2.63	0.22	0.09	1.33	13030	239	1500	296	6
SOL: LOTE 3	AO-17-00589	4.13	0.90	2.68	0.21	0.08	1.27	14671	232	1329	270	6



CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS
CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, UCR
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES



REPORTE DE ENSAYO
RE-R01 (V1)

Nº DE REPORTE: **65125**

USUARIO: INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

RESPONSABLE: FEDERICO MASIS

CORREO: fmasis@itcr.ac.cr

TELÉFONO: 2550-2364

FAX:

PROVINCIA: SAN JOSE

CANTÓN: TARRAZU

CULTIVO: ABONOS SOLIDOS

ANÁLISIS: QC,pH,CE

FECHA RECEPCIÓN: 07/12/2017

EMISIÓN DE REPORTE: 18/12/2017

Nº DE MUESTRAS TOTAL: 5

PÁGINA: 2/2

ANÁLISIS QUÍMICO DE ABONOS ORGÁNICOS

ID USUARIO	IDLAB	%	H ₂ O		%		Relación
			HUM	pH	CE	C	
SOL: CASCARILLA	AO-17-00585	13	5.7	1.9	48.25	107.6	
SOL: ASERRIN	AO-17-00586	29	7.0	12.1	26.76	9.3	
SOL: CAFE	AO-17-00587	67	6.7	8.1	45.23	12.5	
SOL: LOTE 2**	AO-17-00588	85	6.6	4.1	39.35	9.5	
SOL: LOTE 3	AO-17-00589	41	7.3	2.6	40.05	9.7	

Nota: - El % C y N totales se determinaron con el Autoanizador de C/N por combustión seca. Los valores de % C total correlacionan muy bien ($R^2 \geq 0.95$) con el % N. Si quiere estimar el valor del % MD a partir del dato de % C total determinado con esta metodología, multiplique el % C total por 1.43. La CE fue determinada en una de 10 g de material: 20 a 50 mL de agua, hasta alcanzar el punto de saturación de la pasta. Las lecturas se hicieron del extracto filtrado con succión.

Anexo II: Reporte de resultados del análisis químico de dos muestras de lodo séptico.



CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS
CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, UCR
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES



REPORTE DE ENSAYO
RE-R01 (V1)

Nº DE REPORTE: **67332**

USUARIO: FABIOLA SEGURA MONTERO

SUBCLIENTE: FITTACORI

RESPONSABLE: FABIOLA SEGURA MONTERO

CORREO: fasegmo3@gmail.com; fmasis@itcr.ac.cr

TELÉFONO: 8706-1854

PROVINCIA: SAN JOSE

CANTÓN: PEREZ ZELEDON

CULTIVO: SIN CULTIVO

ANÁLISIS: CN

FECHA RECEPCIÓN: 07/06/2018

EMISIÓN DE REPORTE: 15/06/2018

Nº DE MUESTRAS TOTAL: 2

PÁGINA: 1/1

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS

ID USUARIO	ID LAB	%		Relación
		C	N	
LOTE 4	S-18-05688	35.64	3.47	10.3
LOTE 5	S-18-05689	36.02	3.75	9.6

Anexo III: Reporte de resultados del análisis químico completo de dos muestras de fertilizante orgánico de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.

		CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, UCR LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES				
REPORTE DE ENSAYO						
RE-R01 (V1)						
Nº DE REPORTE: 67334						
USUARIO:	FABIOLA SEGURA MONTERO					
SUBCLIENTE:	FITTACORI					
RESPONSABLE:	FABIOLA SEGURA MONTERO					
CORREO:	fasegmo3@gmail.com; fmasis@itcr.ac.cr					
TELÉFONO:	8706-1854					
PROVINCIA:	SAN JOSE	ANÁLISIS:	QC			
CANTÓN:	PEREZ ZELEDON	FECHA RECEPCIÓN:	07/06/2018			
		EMISIÓN DE REPORTE:	18/06/2018			
		Nº DE MUESTRAS TOTAL:	2			
CULTIVO:	ABONO SOLIDO	PÁGINA:	2/2			
ANÁLISIS QUÍMICO DE ABONOS ORGÁNICOS						
		%	H ₂ O	mS/cm	%	Relación
ID USUARIO	IDLAB	HUM	pH	CE	C	C/N
SOL: ABONO 3	AO-18-00314	23	6.2	3.2	33.67	9.3
SOL: ABONO 2	AO-18-00315	21	6.1	4.0	35.11	9.3
<p>Nota: - El % C y N totales se determinaron con el Autoanalizador de C/N por combustión seca. Los valores de % C total correlacionan muy bien ($R2 \geq 0,95$) con el % de MO. Si quiere estimar el valor del % MO a partir del dato de % C total determinado con esta metodología, multiplique el % C total por 1,43. La CE fue determinada en una proporción de 10 g de material: 20 mL de agua, hasta alcanzar el punto de saturación de la pasta. Las lecturas se hicieron del extracto filtrado con succión.</p>						

		CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, UCR LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES										
REPORTE DE ENSAYO												
RE-R01 (V1)												
Nº DE REPORTE: 67334												
USUARIO:	FABIOLA SEGURA MONTERO											
SUBCLIENTE:	FITTACORI											
RESPONSABLE:	FABIOLA SEGURA MONTERO											
CORREO:	fasegmo3@gmail.com; fmasis@itcr.ac.cr											
TELÉFONO:	8706-1854											
PROVINCIA:	SAN JOSE	ANÁLISIS:	QC									
CANTÓN:	PEREZ ZELEDON	FECHA RECEPCIÓN:	07/06/2018									
		EMISIÓN DE REPORTE:	18/06/2018									
		Nº DE MUESTRAS TOTAL:	2									
CULTIVO:	ABONO SOLIDO	PÁGINA:	1/2									
ANÁLISIS QUÍMICO DE ABONOS ORGÁNICOS												
		% masa					mg/kg					
ID USUARIO	IDLAB	N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
SOL: ABONO 3	AO-18-00314	3.61	1.18	3.60	0.25	0.09	1.56	22280	230	1528	390	8
SOL: ABONO 2	AO-18-00315	3.80	1.25	3.76	0.25	0.10	1.60	20708	224	1503	396	10




Laboratorio de Ensayo
Alcance de Acreditación Nº. LE-033
Acreditado a partir de: 12.06.2006
Alcance disponible en www.eca.or.cr

Anexo IV: Reporte de resultados del análisis microbiológico realizado a dos muestras de fertilizante orgánico de la empresa Suelos Fértiles Orgánicos S.A.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIA Centro de
Investigaciones
Agronómicas

Reporte de Resultados de Ensayo

Número de Solicitud: 67333 Fecha de emisión del reporte: 18/06/18
 Información del Usuario:
 Nombre: FABIOLA SEGURA MONTERO.
 Subcliente: FITTACORI.
 Dirección: Pérez Zeledón, San José.
 Contacto: Fabiola Segura Montero.
 Teléfono: 8706-1854

Resultados del ensayo

Para la ejecución de los ensayos de coliformes se utiliza el procedimiento Determinación de Coliformes Totales, Coliformes fecales y *Escherichia coli* en abonos orgánicos metodología desarrollada de acuerdo al Standard Methods for the examination of water and wastewater, 20ª Edición, 1998 y Test Methods for the Examination of Composting and Compost, 2002

ID. Lab.	ID. Cliente	<i>Escherichia coli</i> NMP/g	Coliformes Fecales NMP/g
MI-358-18	Abono 3*	>16000	>16000

ID. Lab.	ID. Cliente	<i>Pseudomonas</i> UFC/g
MI-358-18	Abono 3*	3,7X10 ⁸
MI-359-18	Abono 2	7,9X10 ⁸

Lideth Uribe

Dra. Lideth Uribe Lorio
 M.Q.C. cod 664
 Coordinadora
 Laboratorio de Microbiología Agrícola.



Teléfono: (506) 2511-2070 Fax: (506) 2234-1627 Correo electrónico: cia@ucr.ac.cr
 Página web: www.cia.ucr.ac.cr