



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

**VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN**



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y  
FORESTAL**

**CALIDAD DE ABONO ORGÁNICO OBTENIDO  
EMPLEANDO VERMICOMPOSTAJE CON LOMBRIZ  
*Eisenia foetida* Sav. EN LODOS PROVENIENTES DE LAS  
LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE JULIACA**

**Tesis para optar el título de Ingeniero en Ingeniería Ambiental  
y Forestal Presentada por:**

**Bach. Yuly Mercedes Apaza Gomez**

**Asesor: Dr. Wile Mamani Navarro**

**Co-Asesor: Dr. Jhon Saul Rojas Mamani**

**Juliaca – Perú  
2019**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

**VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN**



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y  
FORESTAL**

**CALIDAD DE ABONO ORGÁNICO OBTENIDO  
EMPLEANDO VERMICOMPOSTAJE CON LOMBRIZ  
*Eisenia foetida* Sav. EN LODOS PROVENIENTES DE LAS  
LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE JULIACA**

**Tesis para optar el título de Ingeniero en Ingeniería Ambiental  
y Forestal Presentada por:**

**Bach. Yuly Mercedes Apaza Gomez**

**Asesor: Dr. Wile Mamani Navarro**

**Co-Asesor: Dr. Jhon Saul Rojas Mamani**

**Juliaca – Perú  
2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA  
VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN**



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y  
FORESTAL**

**CALIDAD DE ABONO ORGÁNICO OBTENIDO  
EMPLEANDO VERMICOMPOSTAJE CON LOMBRIZ  
*Eisenia foetida* Sav. EN LODOS PROVENIENTES DE LAS  
LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE JULIACA**

Tesis para optar el título de Ingeniero en Ingeniería Ambiental y Forestal  
Presentada por:

**Bach. Yuly Mercedes Apaza Gomez**

Asesor: Dr. Wile Mamani Navarro  
Co-Asesor: Dr. Jhon Saul Rojas Mamani

**Juliaca – Perú**

**2019**

Apaza, Y. (2019). *Calidad de abono orgánico obtenido empleando vermicompostaje con lombriz Eisenia foetida Sav. en lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca.* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Juliaca.

**AUTOR:** Yuly Mercedes Apaza Gomez

**TÍTULO:** Calidad de abono orgánico obtenido empleando vermicompostaje con lombriz *Eisenia foetida* Sav. en lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca.

**PUBLICACIÓN:** Juliaca, 2019

**DESCRIPCIÓN:** Cantidad de páginas (133 pp)

**NOTA:** Tesis Escuela profesional de Ingeniería Ambiental y Forestal - Universidad Nacional de Juliaca.

**CÓDIGO:** 03-00005-02/Ap13

**NOTA:** Incluye bibliografía.

**ASESOR:** Dr. Wile Mamani Navarro

**PALABRAS CLAVE:**

*Eisenia foetida* Sav., lagunas de estabilización, tratamiento biológico, vermicompostaje.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y FORESTAL**

**“CALIDAD DE ABONO ORGÁNICO OBTENIDO EMPLEANDO  
VERMICOMPOSTAJE CON LOMBRIZ *Eisenia foetida* Sav. EN LODOS  
PROVENIENTES DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE JULIACA”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL Y FORESTAL**

**Presentada por:**

**Bach. Yuly Mercedes Apaza Gomez**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

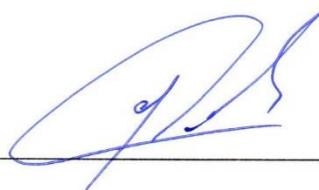
**Dr. José Luis Pineda Tapia  
PRESIDENTE DE JURADO**



**M. Sc. Eliana Mullisaca Contreras  
SEGUNDO MIEMBRO DE JURADO**



**M. Sc. Edgar Pelinco Ruelas  
TERCER MIEMBRO DE JURADO**



**Dr Wile Mamani Navarro  
ASESOR DE TESIS**



**Dr. Jhon Saul Rojas Mamani  
CO-ASESOR DE TESIS**



## DEDICATORIA

*A mis padres, por mostrar su apoyo incondicional y estar siempre a mi lado, por cada palabra, cada consejo que motivaron alcanzar mis sueños, siendo los promotores de la realización de esta meta.*

*A mis hermanos, quienes confiaron siempre en mí y me enseñaron que con perseverancia y dedicación se encuentra el éxito.*

*A las personas que motivaron mis deseos de superación y me apoyaron en el transcurso de mi carrera profesional.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional de Juliaca por las oportunidades brindadas en el transcurso de mi carrera profesional.*

*A la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental y Forestal por brindarme las facilidades en la ejecución el presente estudio.*

*A los Docentes de la Universidad Nacional de Juliaca que contribuyeron con el desarrollo de la presente investigación*

*A mi Asesor y Co-Asesor, quienes con sus conocimientos y gran trayectoria lograron culminar con éxito el presente estudio.*

*A los miembros del jurado que fortalecieron el trabajo realizado de la presente investigación.*

*A todos y cada uno de las personas que contribuyeron en esta investigación.*

## ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN.....	12
INTRODUCCIÓN.....	13

### CAPITULO I

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Situación Problemática.....	15
1.2. Objetivos de la Investigación.....	16
1.2.1. Objetivo General.....	16
1.2.2. Objetivos Específicos .....	16
1.3. Formulación del Problema .....	17
1.3.1. Problema general .....	17
1.3.2. Problemas específicos .....	17
1.4. Justificación de la Investigación.....	17
1.5. Contexto de la Investigación .....	18
1.5.1. Condiciones climáticas .....	18
1.6. Limitaciones.....	18

### CAPÍTULO II

#### MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.....	19
2.1.1. Internacional .....	19
2.1.2. Nacional.....	22
2.1.3. Regional.....	22
2.2. Bases teoricas .....	23
2.2.1. Lagunas de estabilización .....	23
2.2.1.1. Lagunas anaerobias .....	23
2.2.1.2. Lagunas aeradas .....	23
2.2.1.3. Lagunas facultativas.....	24
2.2.2. Lodos residuales.....	24
2.2.3. Biosólido .....	24

2.2.3.1. Clasificación de biosólido .....	25
2.2.3.2. Características del biosólido .....	25
A. Estabilización: .....	25
B. Higienización: .....	26
C. Toxicidad química: .....	26
2.2.3.3. Aplicación del biosólido .....	27
A. Aplicación del biosólido clase A .....	27
B. Aplicación del biosólido clase B .....	27
2.2.4. Compostaje, Vermicultura y Vermicompostaje .....	28
2.2.4.1. Compostaje .....	28
2.2.4.2. Vermicultura .....	28
2.2.4.3. Vermicompostaje .....	28
A. Beneficios del vermicompostaje .....	29
B. Características y funciones del vermicompostaje .....	29
2.2.5. Lombrices composteras .....	30
2.2.5.1. <i>Eisenia Foetida Sav</i> .....	30
2.2.6. Abono orgánico .....	33
2.2.6.1. Materiales de enmienda .....	34
2.2.6.2. Compost .....	34
2.2.6.3. Biol .....	34
2.2.6.4. Humus de lombriz .....	34

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tipo de investigación .....	36
3.2. Diseño de la investigación .....	36
3.3. Ámbito de estudio .....	37
3.4. Universo y muestra .....	38
3.4.1. Población .....	38
3.4.2. Muestra .....	38

3.4.2.1. Método de muestra.....	38
3.4.2.2. Tamaño de muestra .....	38
3.4.2.3. Selección de muestra .....	38
3.5. Materiales y equipos.....	39
3.5.1. Material biológico.....	39
3.6. Metodología .....	39
3.6.1. Evaluación del efecto de la lombriz <i>Eisenia foetida</i> Sav. en la obtención de abono orgánico .....	39
3.6.1.1. Caracterización del lodo .....	39
3.6.1.2. Proceso de vermicompostaje .....	41
3.6.2. Determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado .....	43
3.6.2.1. Determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos .....	44
3.6.3. Determinación del contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido a través del vermicompostaje.....	45

#### CAPITULO IV

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la lombriz <i>Eisenia foetida</i> Sav. en la obtención de abono orgánico	46
4.1.1. Cambios físico químicos durante el proceso de vermicompostaje.....	46
4.1.1.1. Biomasa de lombrices .....	48
4.1.1.2. Número de lombrices .....	49
4.1.2. Número de lombrices .....	49
4.2. Remoción de agentes patógenos .....	50
4.2.1. <i>Echerichia coli</i> .....	50
4.2.2. <i>Salmonella sp</i> .....	53
4.2.3. Huevos viables de helminto .....	54
4.3. Contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido.....	55
4.3.1. Nitrógeno .....	56
4.3.2. Fósforo.....	59
4.3.3. Potasio .....	61
4.3.4. Calcio .....	62

4.3.5. Magnesio .....	63
CONCLUSIONES .....	65
RECOMENDACIONES.....	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS .....	76

## INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Parámetros establecidos para ser considerado biosólido.....	25
Tabla 2. Características de metales pesados.....	26
Tabla 3. Diferencias entre lombrices composteras y nativas .....	30
Tabla 4. Rango analítico de la calidad del humus de la lombriz .....	35
Tabla 5. Diseño de la investigación.....	37
Tabla 6. Distribución de tratamientos.....	42
Tabla 7. Resultados de pH en el proceso de vermicompostaje .....	47
Tabla 8. Peso y cantidad de las lombrices en el proceso de vermicompostaje.....	48
Tabla 9. Prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para biomasa y número de lombrices. ....	49
Tabla 10. Resultados de la concentración de parámetros microbiológicos. ....	51
Tabla 11. Prueba tukey ( $p \leq 0.05$ ) para la remoción de parámetros microbiológicos...	52
Tabla 12. Concentración de macronutrientes en el abono obtenido .....	55
Tabla 13. Prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para la concentración de macronutrientes.....	58

## INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Aspectos generales de las características de materiales húmicos.....	29
Figura 2. Ciclo de vida de la lombriz <i>Eisenia foetida</i> Sav.....	32
Figura 3. Diagrama de evaluación del efecto de la lombriz en la obtención de abono orgánico. ....	43
Figura 4. Diagrama de flujo para la determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado .....	44
Figura 5. Flujograma para la determinación del contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido .....	45
Figura 6 Variación de pH en el proceso de vermicompostaje .....	47
Figura 7. Concentración de Nitrógeno en los diferentes tratamientos .....	56
Figura 8. Concentración de Fósforo .....	60
Figura 9. Concentración de Potasio .....	61
Figura 10. Concentración de Calcio .....	62
Figura 11. Concentración de Magnesio .....	63
Figura 12. Extracción de lodos en las lagunas de estabilización de Juliaca.....	130
Figura 13. Deshidratación del lodo.....	130
Figura 14. Preparación de camas de alimentación.....	131
Figura 15. Proceso de vermicompostaje.....	131
Figura 16. Monitoreo de parámetros físicos químicos.....	132
Figura 17. Análisis de parámetros microbiológicos. ....	132

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Protocolo de monitoreo de biosólidos aprobado con Resolución Ministerial N°093- 2018-Vivienda .....	77
ANEXO 2. Método EPA/625/R-92/013 preparación de muestras para análisis de coliformes fecales y salmonella sp.....	106
ANEXO 3. Método EPA/625/R-92/013 preparación de muestras para análisis de huevos viables de helminto .....	110
ANEXO 4. Resultados iniciales de parámetros químicos en el lodo de lagunas de estabilización de Juliaca .....	114
ANEXO 5. Biomasa y número de lombrices en el proceso de vermicompostaje. ....	117
ANEXO 6. Concentraciones de parámetros microbiológicos después del proceso de vermicompostaje.....	118
ANEXO 7. Concentración de macronutrientes .....	119
ANEXO 8. Resultados de macronutrientes.....	120
ANEXO 9. Prueba de normalidad de los datos.....	122
ANEXO 10. Prueba de homogeneidad de varianzas .....	124
ANEXO 11. Análisis de varianza paramétrica en el efecto de la lombriz para la obtención de abono organico .....	125
ANEXO 12. Análisis de varianza paramétrica en la remoción de agentes patógenos	126
ANEXO 13. Análisis de varianza paramétrica en concentración de macronutrientes	128
ANEXO 14. Tabla de Munsell empleada con la tonalidad 10YR 2/1 .....	129
ANEXO 15. Panel fotográfico .....	130

## RESUMEN

En la presente investigación se determinó la calidad de abono orgánico obtenido empleando el tratamiento biológico de vermicompostaje con la lombriz roja californiana *Eisenia foetida* Sav. en lodos de las lagunas de estabilización de la ciudad de Juliaca, se tomaron 31 muestras de forma aleatoria en cada laguna con un total de 120 kg, el material fue dividido en 9 unidades experimentales, éstos fueron distribuidos en tres grupos con tres repeticiones cada uno conforme al diseño completamente aleatorio, se aplicó tres tratamientos T1 (Lodo+ estiércol+ lombriz), T2 (lodo+ lombriz) y T3 (lodo); seguidamente, se analizó los indicadores de la transformación de lodo en abono orgánico como: biomasa, número de lombrices, color, además se estimó el porcentaje de remoción de agentes patógenos y contenido de macronutrientes; de los resultados, el porcentaje de remoción de agentes patógenos de todos los tratamientos fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ), el tratamiento T1 presentó una reducción de agentes patógenos hasta un 90% siendo este el mejor tratamiento, seguido del tratamiento T2 con 86% y el tratamiento T3 con 57%, no obstante el contenido de macronutrientes presentó diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), donde el tratamiento T1 presentó mayor concentración en nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg) a diferencia del tratamiento T2 y T3, mientras que el contenido de fósforo (P) resultó ser superior en el tratamiento T2. En conclusión, las lombrices aceleran el proceso de remoción de agentes patógenos y mejoran la calidad del lodo transformándolo en abono orgánico de buena calidad, además brinda una alternativa para el aprovechamiento del lodo, apto para ser usado en jardinería, reforestación y cultivos de tallo alto.

Palabras claves: *Eisenia foetida* Sav., lagunas de estabilización, tratamiento biológico, vermicompostaje.

## INTRODUCCIÓN

A medida que el crecimiento poblacional avanza se generan residuos de diferentes actividades antropogénicas, una de las actividades principales a nivel mundial es la generación de aguas residuales y como consecuencia se producen lodos residuales en cantidades significativas (Garg, Gupta, & Yadav, 2008; Sueli et al., 2017) como en China, Australia, Indonesia (Xie, Liu, Wang, Ding, & Ren, 2016), Perú no es la excepción ya que en la actualidad la mayoría de estos residuos carecen de tratamiento y disposición adecuada (OEFA, 2014), en la ciudad de Juliaca se tienen lagunas de estabilización colmatadas por lo que mantienen grandes cantidades de lodo (Seda Juliaca, 2017) causando un impacto negativo ecológico, así como un impacto social ya que las lagunas se encuentran cerca de la zona urbana.

Los lodos pueden llegar a convertirse en un peligro potencial para el ambiente y la salud de las personas (Emamjomeh, Tahergorabi, & Farzadkia, 2017) ya que contiene elevadas concentraciones de contaminantes patógenos, compuestos orgánicos tóxicos, metales pesados, entre otros (Hu & Chen, 2018), los efectos se reflejan en enfermedades gastrointestinales, bajo rendimiento escolar y enfermedades respiratorias (Schiffman et al., 2008).

Sin embargo investigaciones demostraron que el lodo cuenta con alto potencial orgánico y con un tratamiento adecuado puede ser utilizado como fertilizante para el suelo (Caldeira, Delarmelina, Peroni, Gonçalves, & da Silva, 2013), el vermicompostaje es una alternativa para el tratamiento, que emplea lombrices capaces de digerir el lodo si se encuentra en forma aceptable (Zhao et al., 2010) transformándolo en un producto más fragmentado, poroso y microbiológicamente activo debido al incremento de descomposición y la humificación (Edwards y Bohlen, 1996) asimismo el vermicompostaje reduce los olores fétidos, agentes patógenos y metales pesados, además aumenta el contenido de macronutrientes, el mismo que puede ser utilizado como abono orgánico (Zhao et al., 2010).

El propósito de ésta investigación fue la aplicación del vermicompostaje en lodos de las lagunas de estabilización de Juliaca para obtener abono orgánico. Además con esta investigación se buscó determinar la calidad del abono obtenido considerando el contenido de macronutrientes, agentes patógenos y metales pesados, los resultados de este estudio proporcionan información útil sobre el uso del vermicompostaje en el tratamiento de lodos de lagunas de estabilización de Juliaca, cuya importancia radica en brindar una alternativa de aprovechamiento de los lodos residuales empleando

tecnología sostenible que permite el uso adecuado y racional de los lodos, mejorando las características físicas, químicas y microbiológicas, disminuyendo el riesgo sobre los seres humanos convirtiéndolo en un producto con valor agregado en beneficio para la población, así como en beneficio de las entidades encargadas de la gestión de estos residuos, puesto que el producto resultante, es decir el abono orgánico puede ser utilizado en jardinería, cultivos, reforestación entre otros. No obstante, el abono orgánico obtenido podría ser comercializado convirtiéndose en un ingreso potencial al ser un excelente fertilizante orgánico, por otro lado el tratamiento aplicado contribuye con el desarrollo sostenible y sustentable, proponiendo el reúso de los residuos sólidos peligrosos generados en el proceso de tratamiento de aguas residuales en la ciudad de Juliaca.

## CAPITULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Situación Problemática

A nivel mundial la dinámica poblacional genera impactos, muchos de ellos negativos, como resultado de la urbanización se tienen grandes cantidades de lodos, convirtiéndose en un problema la disposición de lodos en forma segura (Suthar, 2009), China produce lodo deshidratado procedente del tratamiento de aguas residuales llegando a alcanzar 9 millones ton/año (Li, Xing, Yang, & Dai, 2014), mientras que el lodo con humedad al 80% es de 26 millones ton/año (Chen et al., 2016) y se producen de 20 a 40 kg de lodo por población equivalente cada año (Xie, Liu, Wang, Ding, & Ren, 2016).

En el Perú, según el reglamento de la ley de gestión integral de residuos sólidos, los lodos residuales son considerados residuos peligrosos debido a que contienen metales y deben ser dispuestos en rellenos de seguridad (Ministerio Nacional del Ambiente [MINAM], 2017), sin embargo se tiene 2 rellenos de seguridad ubicados en Lima y Chíncha; y 9 rellenos de saneamiento ubicados en Lima, Junín, Loreto, Ancash y Cajamarca (Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental [OEFA], 2014), lo que dificulta su disposición, además se realizó un estudio en el año 2015 indicando que el 50% de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) no realiza el mantenimiento ni remoción de lodos, asimismo existe una empresa prestadora servicios de saneamiento (EPS) denominada SEDAPAL, que deposita sus lodos en un relleno sanitario (Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento & Cooperación Alemana GIZ, 2015).

En la ciudad Juliaca, las lagunas de estabilización han superado su capacidad (Seda Juliaca, 2014) y aún más alarmante estas lagunas se encuentran colmatadas en un 85% con más de 80 000 m<sup>3</sup> de lodo almacenado ya que desde el funcionamiento en 1982 no se realizó ningún tipo de mantenimiento (Seda Juliaca, 2017). Los lodos son considerados un peligro potencial para la salud debido a olores fétidos, gran número de quistes de protozoos, óvulos parásitos y patógenos fecales como *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Escherichia coli*, también contiene metales pesados como zinc, cadmio, mercurio y cobre (Emamjomeh, Tahergorabi, & Farzadkia, 2017), cuyos efectos en la salud pública se reflejan en irritación de ojos, nariz y garganta, dolor de cabeza, náuseas, diarrea, dificultad para respirar, entre otros (Schiffman et al., 2008), aun así cuenta con un alto contenido orgánico (Caldeira, Delarmelina, Peroni, Gonçalves, & da Silva, 2013).

Para mejorar la calidad del lodo se necesita realizar un tratamiento, una alternativa es el vermicompostaje, que emplea lombrices que aceleran el proceso de descomposición entre 2 y 5 veces, convirtiéndolo en biofertilizante valioso y más homogéneo en comparación con un compostaje anaeróbico (Atiyeh, Domínguez, Subler, & Edwards, 2000), además la lombriz asimila elevadas concentraciones de compuestos protóxicos y metales (Vera, 2013). Por ello ésta investigación se enfocó en el aprovechamiento de lodos provenientes de las lagunas de estabilización a través del vermicompostaje.

## **1.2. Objetivos de la Investigación**

### **1.2.1. Objetivo General**

- Determinar la calidad del abono orgánico obtenido empleando vermicompostaje con lombriz *Eisenia foetida* Sav. en lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar el efecto de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en la obtención de abono orgánico en base a lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca.
- Determinar el porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado de las lagunas de estabilización de Juliaca.
- Determinar el contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido a través del vermicompostaje en lodos de las lagunas de estabilización de Juliaca.

### **1.3. Formulación del Problema**

#### **1.3.1. Problema general**

- ¿Cuál es la calidad del abono orgánico obtenido utilizando vermicompostaje con lombriz *Eisenia foetida* Sav en lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca?

#### **1.3.2. Problemas específicos**

- ¿Cuál es el efecto de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en la obtención de abono orgánico en base a lodos provenientes de las lagunas de estabilización de Juliaca?
- ¿Cuál es el porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado de las lagunas de estabilización de Juliaca?
- ¿Cuál es el contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido a través del vermicompostaje en lodos de las lagunas de estabilización de Juliaca?

### **1.4. Justificación de la Investigación**

Los lodos residuales actualmente son residuos peligrosos que pueden causar consecuencias negativas en la salud de las personas y en el ambiente (Schiffman et al., 2008), sin embargo éste residuo puede ser tratado con tecnologías ecológicas y de bajo costo (Kuter et al., 1995) investigaciones demostraron que las lombrices californianas son capaces de digerir y ayudar a transformar los lodos en productos libres de agentes patógenos, mejorando el potencial nutricional para el suelo denominado abono orgánico, humus, vermicompost (Caldeira et al., 2013; Atiyeh et al., 2000; Vera, 2013).

La presente investigación brinda una alternativa de aprovechamiento de los lodos residuales de las lagunas de estabilización de la ciudad de Juliaca, los mismos que han llegado a alcanzar niveles alarmantes en lagunas de estabilización, se empleó una tecnología sostenible que permita el uso adecuado y racional de los lodos, mejorando las características físicas, químicas y microbiológicas del lodo, disminuyendo el riesgo sobre los seres humanos, convirtiéndolo en un producto con valor agregado en beneficio de la población y entidades encargadas de la gestión de estos residuos, puesto que el producto resultante, puede ser utilizado en jardinería, cultivos, reforestación

entre otros. No obstante, el abono orgánico obtenido podría ser comercializado convirtiéndose en un ingreso potencial al ser un excelente fertilizante orgánico.

Por lo señalado, la investigación contribuye a la mejora continua en el aspecto ambiental, social y económico en beneficio de la región.

## **1.5. Contexto de la Investigación**

La presente investigación se llevó a cabo en un espacio cercado, ubicado a 5 km de las lagunas de estabilización de Juliaca (este 15.496220°, norte 70.107536°) en la comunidad Chilla. Posteriormente se continuó en las instalaciones del laboratorio de microbiología ambiental de la Universidad Nacional de Juliaca UNAJ, ubicada en el distrito de Juliaca, provincia de San Román de altitud 3826 m.s.n.m. (MPSR, 2017). La investigación se desarrolló en los años 2018 y 2019.

### **1.5.1. Condiciones climáticas**

Según el SENAMHI, la estación meteorológica de Juliaca de código 007454, reportó que el clima de la ciudad de Juliaca está clasificado como semilluvioso y frío, con otoño, invierno y primavera secos, y está descrito como frío y seco, la temperatura fluctúa entre los 19°C y -7°C, siendo la temperatura promedio anual de 8.4°C. Los meses más cálidos son de noviembre a marzo y los más fríos de junio a agosto. El promedio anual de precipitaciones pluviales es de 610.3 mm, donde los meses de mayor precipitación son de enero a marzo.

## **1.6. Limitaciones**

En el desarrollo de la presente investigación se presentaron algunos factores limitantes como el acceso a las lagunas de estabilización puesto que éstas se encontraban alejadas del ingreso, demandando tiempo adicional fuera de lo previsto en la ejecución; otro factor limitante fue la variación climática presentada en los meses de octubre de 2018 a marzo de 2019.

Finalmente, la carencia de investigaciones previas en lodos de lagunas de estabilización de Juliaca fue limitante, por consiguiente, se utilizó referencias de investigaciones nacionales e internacionales desarrolladas en diferentes condiciones.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes

##### 2.1.1. Internacional

Braga et al. (2017) desarrollaron la investigación concerniente a producción de vermicompost utilizando la lombriz *Eisenia foetida* Sav. a partir de un pre compuesto de lodo de aguas residuales y residuos de poda de jardines mezclados con diferentes proporciones de tierra de diatomeas que contiene aceite, para ello se utilizó mezclas que alcanzaron los 80 L con 1 kg de lombrices, luego de 4 meses se analizaron las características químicas como contenido de nitrógeno (N) con 18.37 g/kg, fósforo (P) con 11.43 mg/kg y potasio (K), los resultados mostraron la disminución drástica de los nutrientes llegando a menos de 0.6 g/kg en N, P y K, concluyen que la proporción de 30.12% de tierra de diatomeas cumplió con los criterios establecidos para usos agrícolas, registro y comercialización del producto como compost orgánico, por otro lado el lodo con diatomeas puede ser vermicompostado sin daños físicos visibles a las lombrices.

Ahmad, Singh, & Pal (2016) llevaron a cabo el estudio de evaluación del crecimiento de *Eisenia foetida* Sav. en lodos provenientes del proceso de clarificación de jugo de caña de azúcar (pressmud), mezclaron el lodo con estiércol de ganado en diferentes proporciones, controlando la temperatura y humedad, así como la cantidad y el peso de las lombrices por un intervalo de 15 días. A los 135 días realizaron el análisis fisicoquímico del vermicompost (producto final), concluyen que el mejor crecimiento, la biomasa y fecundidad de lombriz se muestra en la mezcla de 25% de lodo y 75% de estiércol debido al incremento de potasio total, conductividad eléctrica, fósforo total, sodio total, carbono orgánico total, relación C: N y reducción significativa de metales.

Kizilkaya & Hepşen (2014) evaluaron la capacidad de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. para remover metales pesados en lodos de aguas residuales en diferentes mezclas con estiércol de vaca y cascara de avellana, para ello aplicaron 11 combinaciones de lodo, llevaron el proceso de vermicompostaje durante 90 días, los resultados que obtuvieron respecto al comportamiento de las lombrices fueron mejores en mezclas con proporciones de 30% lodo, 35% estiércol y 35% cascara de avellana, además en todas las combinaciones hubo reducción de metales pesados, concluyeron que la lombriz bioacumula metales pesados y es una buena alternativa emplear el vermicompostaje para remover metales pesados en lodos.

Solis, Islas, & Esteller (2012) determinaron la calidad del vermicompost como fertilizante en cuatro tratamientos que contenían lodo y estiércol de vaca compostado en proporciones de 70% de lodo con 30% estiércol (A), 80% de lodo con 20% estiércol (B), 90% de lodo con 10% estiércol (C) y 95% de lodo con 5% estiércol (D), después de 50 días los tratamientos A y B tuvieron la mayor supervivencia y reproducción de lombrices, sin embargo, el tratamiento C mostró cantidades más altas de nitrógeno (N) y fósforo (P) disponibles (2189.80 y 2310.63 mg/kg) y una relación de carbono nitrógeno de 12.46, lo que lo convierte en un mejor fertilizante. Los valores de densidad aparente (0,64 g/cm<sup>3</sup>), materia orgánica (54.82%), carbono orgánico (31.80%), potasio disponible (1801.92 mg/kg) y nitrógeno total (2.55%) para el tratamiento C estuvieron dentro de los rangos de vermicompost recomendados en las guías mexicanas, concluyeron que el tratamiento puede mejorar la fertilidad y la disponibilidad de nutrientes, así como el crecimiento de la población de lombrices de tierra, en comparación con el lodo de aguas residuales solo.

Liu, Zhu, & Xue, (2012) evaluaron el efecto de la actividad de las lombrices de tierra sobre los lodos de aguas residuales utilizando *Eisenia foetida* Sav., los resultados mostraron que el contenido de agua, pH y el contenido de materia orgánica disminuyeron, sin embargo el contenido total de nitrógeno aumentó pero el contenido total de fósforo, potasio y metales (Cu, Ni, Cd, Pb y Zn) disminuyó, concluyeron que la bioacumulación en las lombrices producto del vermicompostaje puede eliminar eficientemente los metales pesados en el lodo de aguas residuales.

Vicencio, Pérez, Medina, & Martínez (2011) desarrollaron el tratamiento para la producción de composta y vermicomposta a partir de los lodos residuales con dimensiones de lodo aglomerado de 2x1x3.5 m y para el proceso de vermicompostaje se empleó *Eisenia foetida* Sav., utilizando camas de 2 m<sup>2</sup>, con una capa de 10 cm de lodo compostado y 0.5 kg de lombrices/cama, se le añadió el lodo cada 21 días, transcurrido los 150 días, se tuvo 12.7 g de lombriz/kg de vermicompost, los resultados de la calidad de lodos mostraron el contenido de nitrógeno de 2.06% y 1.4% en los dos procesos respectivamente, para el fósforo y potasio de 2.18% y 0.87%, demuestran que la composta y vermicomposta son biosólidos excelentes, libres de patógenos y ricos en nitrógeno, aptos para ser usados en jardinería sin ninguna objeción.

Hait & Tare (2011) emplearon un sistema integrado de compostaje y vermicompostaje empleando la lombriz *Eisenia foetida* Sav., para lo cual se mezcló vermicompost maduro en el proceso de compostaje de forma constante y en condiciones ambientales, el material obtenido redujo significativamente el pH, sólidos volátiles (VS), tasa de absorción de oxígeno específica (SOUR), carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC), relación C / N y patógenos e incrementó la conductividad eléctrica (EC), nitrógeno total (TN) y fósforo total (TP). La temperatura óptima para el vermicompostaje es de 20 °C, la densidad de siembra favorable para vermicompostaje es 3.0 kg/m<sup>2</sup>, concluyeron que el sistema integrado convierte el lodo en abono orgánico de calidad para aplicaciones agronómicas sin ningún efecto adverso.

Gupta & Garg (2008) evaluaron la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en la transformación de lodos de aguas residuales primarios combinado con estiércol de vaca en productos con valor agregado, el proceso duró once semanas, los resultados mostraron incremento de potasio total, fósforo total, conductividad eléctrica y una remoción de metales pesados de 30 a 50% en todas las combinaciones con lodo, concluyen que el lodo de las aguas residuales es un abono de buena calidad si se combina con 30 a 40% de estiércol de vaca.

### 2.1.2. Nacional

Castro (2017) realizó la investigación para remover huevos viables en el lodo residual empleando el vermicompostaje, para ello cuantificó la concentración inicial de huevos viables de helminto (69 n°/4g), posteriormente aplicó el vermicompostaje empleando diseño experimental con tres tratamiento; T1, combinación de lodo, compost y lombrices; T2 combinación de lodo, estiércol de vaca y lombrices y T3; combinación de lodo, estiércol de caballo y lombrices; los resultados obtenidos fueron T1 con 14 n°/4g; T2 con 11 n°/4g y T3 con 9 n°/4g, concluye que el vermicompostaje es efectivo en la remoción de huevos de helminto permitiendo su reutilización como abono orgánico con las condiciones sanitarias adecuadas.

Marquina & Martínez (2016) obtuvieron abono orgánico a partir de lodos residuales aplicando la lombricultura con la especie *Eisenia foetida* Sav. en diferentes mezclas de lodo con estiércol de conejo y compost, además se realizó un análisis de macronutrientes, los resultados mostraron que el más óptimo fue la mezcla de lodo, estiércol de conejo y lombrices y el contenido de macronutrientes es alto N: 1.79%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 4.14%; K<sub>2</sub>O: 0.65%; CaO: 6.36%; MgO: 1.32%; Na: 0.17% y está dentro del rango de los valores analíticos del humus, concluyen que el abono obtenido es de buena calidad.

### 2.1.3. Regional

Serpa (2017) empleó la técnica de vermicompostaje, utilizando la lombriz *Eisenia foetida* Sav. para la remoción de metales pesados Cd y Hg de lodos residuales de origen urbano en base a muestras con cinco repeticiones, cada uno constituido de 1 kg de lodo y cinco lombrices durante 90 días, se determinó la concentración final de Cd y Hg, mediante la técnica ICP-AES (espectrometría de emisión atómica), como resultado obtuvo una remoción de 22 y 18% de Cd y Hg respectivamente, concluye que es una buena alternativa aplicar el vermicompostaje en lodos residuales, además la temperatura y la humedad juegan un papel importante en la remoción de metales pesados y el incremento de lombrices.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Lagunas de estabilización**

En las lagunas de estabilización se presentan procesos de autodepuración físico, químico y biológico a fin de mejorar las características sanitarias del agua residual, constan de estructuras de profundidad baja (hasta 4 m) para almacenar aguas residuales, el periodo de retención es alto (más de 2 días), las lagunas primarias contienen agua residual cruda; las lagunas secundarias contienen el agua de la primaria y así sucesivamente las terciarias, cuaternarias, quinquenarias, etc., asimismo desde las lagunas terciarias también se conoce como lagunas de acabado, maduración o pulimento (Organización Panamericana de la Salud [OPS] & Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente [CEPIS], 2005).

Las lagunas de estabilización se clasifican en aeradas, anaerobias y facultativas (MVCS, 2006).

#### **2.2.1.1. Lagunas anaerobias**

Las lagunas anaerobias son consideradas procesos sin presencia de oxígeno, el color característico es el gris oscuro, además las reacciones que se producen en esta laguna son lentas y generan olores fétidos, debido que el consumo de oxígeno disuelto supera a incorporación de éste en el agua (OPS & CEPIS, 2005).

#### **2.2.1.2. Lagunas aeradas**

Son consideradas lagunas aeradas las masas de agua que contienen oxígeno disuelto suficiente para ser consumidas por las bacterias aerobias y/o facultativas para descomponer la materia orgánica generando compuestos inorgánicos que son consumidos por algas en forma de nutrientes, asimismo las algas producen oxígeno y este es aprovechado por bacterias aerobias generando procesos de simbiosis entre las algas y bacterias. (OPS & CEPIS, 2005).

### **2.2.1.3. Lagunas facultativas**

Las lagunas facultativas resultan de la combinación entre lagunas aerobias y anaerobias, durante el día se genera procesos aerobios gracias a la radiación solar que ayuda a las algas a producir más de oxígeno molecular, el mismo que es utilizado por las bacterias para procesos de oxidación bioquímica de materia orgánica, por el contrario la fase anaerobia predomina durante la noche, puesto que el consumo de oxígeno supera al contenido del mismo en el agua, causando un desequilibrio ecológico (OPS & CEPIS, 2005).

### **2.2.2. Lodos residuales**

Son los subproductos o residuos sólidos que se generan en el tratamiento de aguas residuales, contienen altas concentraciones de materia orgánica, principalmente en el tratamiento primario y secundario, así como en las instalaciones sanitarias in situ (Environmental Protection Agency [EPA], 2003; UNESCO, 2017; Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento [MVCS], 2017). El lodo residual es considerado una mezcla compleja de agua, bacterias y materiales orgánicos e inorgánicos que contienen fósforo, compuestos de nitrógeno y diversos contaminantes tales como patógenos y metales pesados (Li et al., 2014). Los lodos pueden ser usados benéficamente después de ser sometidos a procesos de estabilización, procesos biológicos de digestión aerobia o anaerobia (Water Environment Federation [WEF], American Society of Civil Engineers [ASCE] & Environmental and Water Resources Institute [EWRI], 2010).

### **2.2.3. Biosólido**

Según el (MVCS (2017); UNESCO (2017) & EPA (2003) define al biosólido como subproducto resultante de la estabilización de la fracción orgánica de lodos residuales que se generan en el tratamiento de las aguas residuales, son utilizados como acondicionador del suelo debido a sus características físico químicas y microbiológicas, además para su reaprovechamiento requiere necesariamente control y reducción de patógenos.

### 2.2.3.1. Clasificación de biosólido

Según MVCS (2017) y EPA (2003) establece que, según sus características los biosólidos se clasifican en:

Los biosólidos clase A son catalogados sin restricciones sanitarias para la aplicación en suelo, donde la densidad de patógenos debe ser: *Escherichia coli* < 1000 NMP/ 1 g ST, *Salmonella sp.* < 1 NMP / 10 g ST y huevos viables de helmintos < 1 / 4 g ST (MINAM, 2017; EPA, 2003).

La clase B posee restricción sanitaria para su aplicación, esto depende del suelo y/o tipo de cultivo (MINAM, 2017; EPA, 2003).

Tabla 1

*Parámetros establecidos para ser considerado biosólido.*

Parámetro	Clase A						Clase B	
Estabilización de lodos	Materia orgánica (SV) <= 60% de Materia seca (ST)							
Toxicidad química (mg/Kg)	Arsénico	Cadmio	Cromo	Cobre	Plomo	Mercurio	Níquel	Zinc
	40	40	1200	1500	400	17	400	2400
Higienización	<i>Escherichia coli</i>		< 1000 NMP/ 1g ST			Se demuestra al aplicar tecnologías que aseguren bajos niveles de agentes patógenos.		
	<i>Salmonella sp.</i>		< 1 NMP / 10g ST					
	Huevos viables de helmintos		< 1 / 4g ST					

ST: sólidos totales; SV: sólidos volátiles. Fuente: MVCS (2017).

### 2.2.3.2. Características del biosólido

Los biosólidos son aquellos que cumplen con los rangos establecidos a nivel nacional e internacional de parámetros de estabilización, toxicidad química e higienización. (MVCS, 2017; EPA, 2003).

#### A. Estabilización:

Es el proceso de reducción de fracción orgánica (sólidos volátiles) en relación a la materia seca (sólidos totales) para controlar la degradación biológica en el producto, los potenciales de generación de olores, de atracción de vectores y de patogenicidad aplicados a lodos de planta de tratamiento de aguas residuales (MVCS, 2017).

## B. Higienización:

Proceso de reducción de la concentración de indicadores de contaminación de origen fecal y/o agentes patógenos en relación con los niveles establecidos (MVCS, 2017; EPA, 2003).

## C. Toxicidad química:

Es la máxima concentración de metales pesados que tiene un biosólido (MVCS, 2017; EPA, 2003).

### - Metales pesados

Son elementos tóxicos, con densidad mayor o igual a 5 g/cm<sup>3</sup>, en la tabla periódica representa a un total de 65 elementos, en su forma elemental, la densidad es cinco veces mayor a la del agua. Los metales más importantes son: Arsénico, Cadmio, Cromo, Cobre, Plomo, Mercurio, Níquel y Zinc (Juarez, Franco, & Ascensio, 2009).

Tabla 2

*Características de metales pesados.*

Metal	Características
Arsénico	Metaloide de amplia distribución, se emplea como conservador de la madera, en plaguicidas y en la fabricación de algunos medicamentos, su ingestión en dosis baja produce desórdenes gastrointestinales, alteraciones del sistema nervioso central y afectación del tejido dérmico y se acumula en la cadena trófica de los cuerpos de agua,
Plomo	Elemento ampliamente distribuido en la naturaleza, las actividades humanas como la fabricación de pinturas, insecticidas, vidrios y baterías eléctricas, las emisiones peligrosas al ambiente como detonantes de la gasolina, en los animales superiores afecta el riñón, hígado y glóbulos rojos y retarda la degradación de la materia orgánica en los microorganismos.
Níquel	Es empleado en la metalurgia, cerámica como un agente catalizador que afecta el pulmón del hombre, además Inhibe la actividad biológica de los microorganismos.
Zinc	Elemento utilizado en recubrimiento de metales (metalurgia), considerado elemento de baja toxicidad.
Cadmio	Subproducto de la explotación de otros metales como el cobre, zinc y plomo, la forma más tóxica se presenta en el ion Cd <sup>2+</sup> , este elemento es empleado en la fabricación de pinturas, plástico, baterías, el cadmio puede afectar directamente al riñón e hígado.
Cobre	Es considerando un micronutriente esencial que se encuentra en la naturaleza en grandes cantidades.
Cromo	Se utiliza en la industria del cromado, fabricación de acero y curtido de pieles.
Mercurio	Es uno de los metales más peligrosos, se usa en la fabricación de componentes eléctricos y electrónicos en la industria del papel y en la agricultura. Su ingestión altera el sistema nervioso.

Fuente: Martínez (2003).

### **2.2.3.3. Aplicación del biosólido**

Según MVCS (2017); EPA (2003) el biosólido puede ser aprovechado como acondicionador de suelos en agricultura y/o mejoramiento

#### **A. Aplicación del biosólido clase A**

- Producción de almácigo y utilización en viveros (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Acondicionamiento de suelos para agricultura, pastos y forrajes (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Mejoramiento de suelos y áreas verdes urbanas (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Aplicación en las áreas destinadas para la clase B (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Comercialización a las empresas productoras de insumos agrícolas que producen compost, humus u otros productos con fin de acondicionamiento del suelo (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Comercialización a las empresas que producen, comercializan y cuentan con la disposición final del biosólido. (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Aplicación en áreas forestales y cultivos para la producción de madera y/o fibra, así como cultivos en plantas de tallo alto, como cultivo de café (MVCS, 2017; EPA 2003).

#### **B. Aplicación del biosólido clase B**

- Recuperación de áreas degradadas ubicadas a 100 metros de distancia de pueblos y viviendas (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Reforestación de suelos (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Aplicados como sustrato para la cobertura en rellenos sanitarios, de seguridad, incluso puede ser empleado en áreas destinadas a la reforestación y cultivos (MVCS, 2017; EPA 2003).
- Comercialización a empresas que transformen el biosólido en compost, humus o biosólidos de clase B en A (MVCS, 2017; EPA 2003).

## **2.2.4. Compostaje, Vermicultura y Vermicompostaje**

### **2.2.4.1. Compostaje**

Según Garg, Gupta, & Yadav (2008) el compostaje es la bioconversión de la materia orgánica por microorganismos heterotróficos (bacterias, hongos, actinomicetos y protozoos) en un material similar a humus llamado compost. El proceso ocurre naturalmente siempre que los organismos dispongan de humedad, condiciones aeróbicas, material de alimentación y nutrientes están disponibles para el crecimiento microbiano. Al controlar estos factores, el proceso de compostaje puede ocurrir a una gran cantidad y velocidad más rápida. Asimismo el compostaje se realiza por procesos aerobios de oxidación que genera temperaturas mayores a 50 °C (Vicencio et al., 2011).

### **2.2.4.2. Vermicultura**

Vermicultura es el cultivo de las lombrices, el objetivo es aumentar continuamente la cantidad de lombrices para obtener una cosecha sostenible. Las lombrices son usados ya sea para expandir una operación de vermicompostaje o comercializados a clientes que lo usan para el mismo u otros fines (Garg et al., 2008).

### **2.2.4.3. Vermicompostaje**

Vermicompostaje es el proceso por el cual se utilizan las lombrices para convertir materiales orgánicos (generalmente desechos) en un material similar a humus conocido como vermicompost, el objetivo es procesar el material de la manera más rápida y eficiente posible (Garg et al., 2008) utilizando procesos de biooxidación causada por procesos de metabolismo entre las lombrices y los microorganismos generando la estabilización de la materia orgánica (Paco, Loza-Murguía, Mamani, & Sainz, 2012).

Esta tecnología emplea a las lombrices de tierra para ingerir materia orgánica, de tal forma que sea asimilado por las bacterias, debido a la fragmentación causada por las lombrices, acelera el proceso de descomposición y genera un sustrato rico en nutrientes (Atiyeh et al., 2000).

Para la obtención de vermicompost, la especie de lombriz que comercialmente más se emplea es *Eisenia foetida* Sav., lombriz roja californiana, el olor de sus exudados son considerados una defensa ante los predadores (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2013).

## A. Beneficios del vermicompostaje

Según Calderín, Guridi & Berbara (2014); Grama, (2005); FAO (2013); los beneficios son:

- Incremento del contenido mineral en el suelo.
- Actúa como depósito de nutrientes que se van liberando poco a poco para alimentar a las plantas.
- Incremento de materia orgánica.
- Facilita el desarrollo radicular de las plantas mejorando las condiciones y estructura del suelo.
- Aporta nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas.
- Mejora la retención del agua.
- Evita la compactación, así como la erosión de suelos.
- Promueve el incremento de microorganismos y beneficia al suelo.
- Inhibe plagas y enfermedades gracias al incremento de microorganismos causado por el humus de lombriz
- Incrementa la población microbiana mejorando las relaciones simbióticas con las plantas incrementando la absorción de nutrientes.

## B. Características y funciones del vermicompostaje

La utilización del vermicompost en actividades agrícolas y ambientales se relaciona con la capacidad de este material para mejorar las condiciones químicas, físicas y biológicas del suelo y para mejorar directa o indirectamente el rendimiento de la planta biológica y agrícola. El vermicompost junto a microorganismos mejora las condiciones físicas del suelo, tales como la densidad, capacidad de retención, así como propiedades físicas, como el pH, niveles de carbono orgánico, nitrógeno, fósforo y potasio (Calderín et al., 2014).

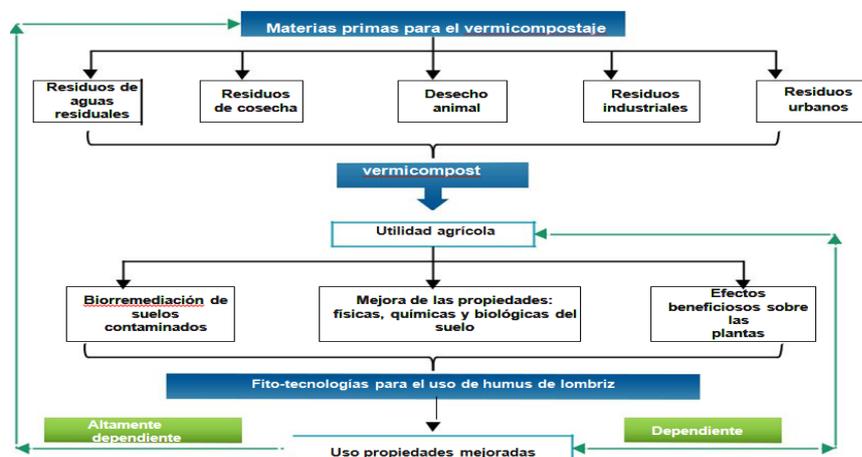


Figura 1. Aspectos generales de las características de materiales húmicos. Fuente: Calderín, Guridi, & Berbara (2014).

## 2.2.5. Lombrices composteras

Existe gran diversidad de lombrices, las más comunes son las lombrices de tierra (*Lumbricus terrestris*), sin embargo existen otras especies que cuentan con características necesarios para la transformación de residuos en productos de valor agrícola, los mismos que cuentan con alta capacidad de reproducción, alta resistencia, capaces de adaptarse en el medio de forma inmediata, de las 8 500 especies de lombrices, sólo para el manejo de desechos orgánicos se utilizan lagunas como: *Lumbricus rubellus*, *Perionyx excavatus*, *Bimastus Eudrillus eugeniae*, *Eisenia foetida* (Secretaria de Agricultura Ganaderia Desarrollo rural pesca y alimentación [SEGARPA], 2010).

Tabla 3

*Diferencias entre lombrices composteras y nativas.*

Características	<i>Eisenia foetida</i> Sav.	<i>Eisenia andrei</i> B.	<i>Lumbricus terrestris</i> L.
Color	Rojo pardo	Rojo fresa	Café oscuro
Tamaño (cm)	8 - 10	7 – 9	30 – 35
Peso adulto (g)	1.5 - 2.3	1.5 – 2.7	4 - 4.5
Reproducción	Alta	Alta	Baja
Capsulas o cococes	1 cada 7 días	1 cada 5 días	Hasta 12 por año
Nº lombrices / capsula	De 6 a 8	De 6 a 11	De 1 a 2
Ciclo de vida*	De 90 a 100 días	De 80 a 90 días	180 días
Voracidad	Alta	Alta	baja

\*Depende de las condiciones de manejo. Fuente: SEGARPA (2010).

### 2.2.5.1. *Eisenia Foetida* Sav.

#### A. Taxonomía

De acuerdo con Shain (2009); Brusca & Brusca (2005) la clasificación de la lombriz roja californiana es la siguiente:

Reino	: Animalia
Phyllum	: Annelida
Clase	: Clitellata
Subclase	: Oligochaeta
Orden	: Haplotaxida
Familia	: Lumbricidae
Género	: <i>Eisenia</i>
Especie	: <i>Eisenia foetida</i> (Savigny, 1826)

## B. Descripción de la lombriz

Esta especie de lombriz, es muy hábil en su alimentación, de forma que cada 24 horas consume alimento correspondiente a su propio peso al día. La lombriz obtiene su alimento a partir de materiales orgánicos vegetales, animales o mixtos, frescos o en diferente estado de descomposición, para producir más biomasa de lombriz (crecimiento y nuevas lombrices) y estiércol (FAO, 2013). La especie generalmente se encuentra en lugares con altas concentraciones de materia orgánica (Reinecke & Kriel, 1981).

## C. Características de la lombriz

- **Morfología:** El cuerpo de la lombriz parece una cadena formada de anillos, destacándose un anillo más grande, que contiene los órganos reproductivos, denominada clitelo (FAO, 2013).
- **Sistema Digestivo:** la lombriz carece de dientes y mandíbulas obtienen su alimento por succión al presionar sobre la superficie una pequeña estructura presente en la boca que se conoce como prostomio o lengua. Indistintamente del desecho que consume la lombriz, la cantidad que excreta corresponde al 40% de lo que come, su sistema inicia con la boca que se conecta a estructuras como la faringe, el buche, la molleja hasta llegar al intestino (SEGARPA, 2010).
- **Sistema respiratorio:** La cutícula es el medio por donde las lombrices son capaces de respirar, la cutícula debe permanecer siempre húmeda, de lo contrario la lombriz llega a morir; las lombrices carecen de sistema circulatorio organizado; la sangre circula por vasos capilares que se ubican junto a la cutícula húmeda de la pared del cuerpo lo que favorece la absorción de oxígeno y liberación de anhídrido carbónico (SEGARPA, 2010).

- **Sistema reproductivo:** La lombriz es hermafrodita, es decir que en un mismo individuo tiene los dos sexos, pero para la reproducción se requiere de dos individuos, la fertilización cruzada, se realiza por la unión de los clitelos de dos individuos, donde se realiza la cópula, cada 7-10 días, los dos individuos producen huevos, llamados cocones, cocun o capullos, éstos tienen forma de limón y apariencia amarilla transparente al inicio, siendo más café a medida que progresa el desarrollo de la lombriz, cada capullo contiene de 2 a 12 lombrices que emergen a los 21 días de ser depositadas, la lombriz recién eclosionada mide 1 mm de longitud, cuando alcanza los 3 cm se encuentra en la etapa juvenil en donde empieza su etapa reproductiva (FAO, 2013).

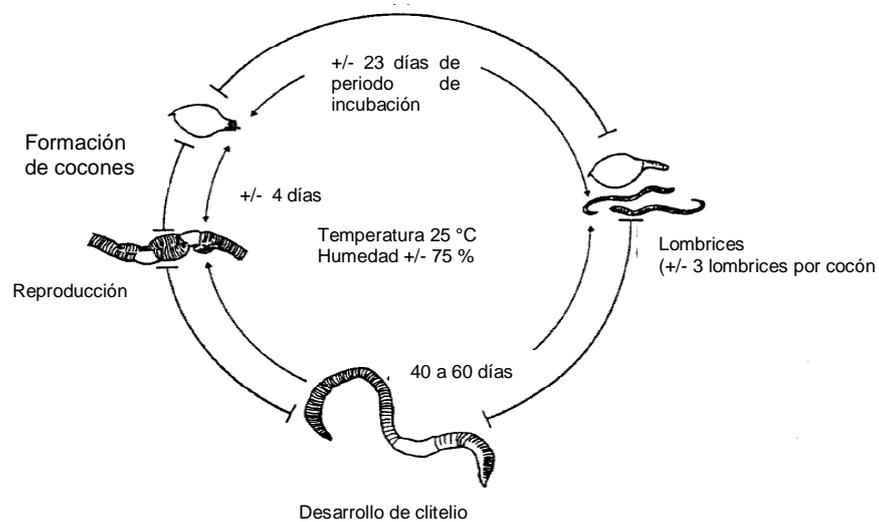


Figura 2. Ciclo de vida de la lombriz *Eisenia foetida* Sav.  
Fuente: Renieckk, Viligen & Saayman (1992).

#### D. Condiciones básicas para el desarrollo de la lombriz *Eisenia foetida* Sav.

Requiere de altas concentraciones de materia orgánica para su alimentación, y de igual forma requiere de ciertas condiciones ambientales como una temperatura óptima de 19-25°C, con humedad del 80%, pH de 6,5- 7,5 y baja luminosidad. La supervivencia de la lombriz depende de la cantidad de materia orgánica en el medio, disminuyendo la supervivencia según baja el porcentaje de materia orgánica (FAO, 2013).

- **Contenedor o cama:** existen diferentes opciones, tamaños y calidad de contenedores para cultivar lombrices, lo importante es que sean recipientes abiertos para que se facilite la alimentación y la visualización, generalmente estos contenedores son de madera. Las lombrices normalmente profundizan en el sustrato buscando alimento, pero no lo hacen más allá de 40 cm (Schuldt et al., 2007) citado por FAO (2013) por lo que la cama debe tener una profundidad de 50-60 cm y 1 m de ancho, siendo el largo en función del área disponible en la finca. La recomendación más común es un kilo de lombriz comercial por metro cuadrado de lecho (FAO, 2013).
- **Humedad:** El rango ideal de la humedad es de 70% a 80%, ésta es la humedad máxima, ya que la lombriz respira por la piel, y una humedad más alta impediría su respiración (FAO, 2013).
- **Temperatura:** La temperatura es una variable que afecta la reproducción, producción y fecundidad de las capsulas o capullos. Una temperatura entre 20-25 °C es considerada óptima, ya que conlleva al máximo de rendimiento de lombrices, es decir a una alta tasa de proliferación y producción de humus (Kaplan, Hartenstein, Neuhauser, & Malecki, 1980). Aunque según la (FAO, 2013), las condiciones ambientales para la lombriz es de 30 °C. Cuando la temperatura es inferior a 15 °C las lombrices entran en un estado de menor actividad y en consecuencia baja producción de humus, asimismo se prolonga el proceso de eclosión de los cocones y pasan más tiempo encerrados en los embriones, hasta que se presentan condiciones del medio más favorables, sucediendo lo mismo con la lombriz juvenil (Reinecke & Kriel, 1981).
- **pH:** El rango ideal de las condiciones ambientales es de 5 a 8.5 para un buen desarrollo de la lombriz (FAO, 2013).
- **Luz:** La lombriz es fotosensible, por lo que siempre preferirá ambientes oscuros (FAO, 2013).

#### 2.2.6. Abono orgánico

Los abonos orgánicos son materiales para mejorar la fertilidad y la productividad de los suelos, el abono orgánico abarca los abonos elaborado con estiércol de ganado, compost rurales y urbanos, otros desechos de origen animal y residuos de cultivos (FAO, 2013).

#### **2.2.6.1. Materiales de enmienda**

La lombriz *Eisenia foetida* Sav. puede aceptar lodo fresco como alimento, si se combina con materiales de enmienda como cenizas, compost, aserrín, restos de alimentos y si se utiliza estiércol de vaca se debe combinar con al menos 10%, es recomendable utilizar 20-30% de estiércol de vaca para producción de lombrices y 10% para fertilizante de suelo (Ludibeth et al., 2012).

#### **2.2.6.2. Compost**

Es el proceso biológico mediante el cual algunos microorganismos actúan sobre la materia orgánica en condiciones controladas, descomponiéndola en forma rápida para obtener un producto denominado compost, que sirve como abono para los cultivos (Fundación para la Investigación y el Desarrollo Agrícola [FIDAR], 2014).

El proceso de compost es una descomposición predominante aeróbica y se puede dividir en tres fases; la fase inicial de descomposición de los materiales más lábiles, tales como azúcares, proteínas y almidones. La segunda fase de temperaturas más altas, donde se degradan los materiales más recalcitrantes como celulosa y lignina (FIDAR, 2014).

#### **2.2.6.3. Biol**

El biol es el resultado de la fermentación de materiales orgánicos como el estiércol de animales, plantas verdes, productos lácteos y agua, en un ambiente anaeróbico, en recipientes cerrados o biodigestores, además de ser fuentes de nutrientes (N, P, K, Ca) también es un fitorregulador de crecimiento porque contiene fitohormonas que aceleran el crecimiento del follaje, inducen la floración y aceleran la maduración de los cultivos (FIDAR, 2014).

#### **2.2.6.4. Humus de lombriz**

El humus es elaborado por acción de las lombrices, la misma que transforma residuos orgánicos en abono orgánico de buena calidad, además incrementa el contenido de Ca y regula el pH del producto final, se ha demostrado que se obtiene mayores poblaciones de microorganismos comparados con el compost convencional, este producto se emplea frecuentemente en los viveros para enriquecer los sustratos durante el establecimiento de plántulas o semillas (FIDAR, 2014).

Tabla 4

*Rango analítico de la calidad del humus de la lombriz.*

<b>Parámetro</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Unidad</b>	<b>Rango</b>
pH	pH	-	6.8 a 7.2
Nitrógeno total	N <sub>total</sub>	%	1.5 a 3.35
Fósforo total	P <sub>total</sub>	ppm	700 a 2500
Potasio total	K <sub>total</sub>	ppm	4400 a 7700
Relación carbono-nitrógeno	C / N	-	10 a 13
Capacidad de intercambio catiónico	CIC	meq / 100g	75 a 81
Calcio total	Ca <sub>total</sub>	%	2.8 a 8.7
Magnesio total	Mg <sub>total</sub>	ppm	260 a 576
Manganeso total	Mn <sub>total</sub>	ppm	0.2 a 0.5
Cobre total	Cu <sub>total</sub>	ppm	85 a 490
Zinc total	Zn <sub>total</sub>	ppm	87 a 404

Fuente: SEGARPA (2010).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Tipo de investigación**

La presente investigación es de tipo aplicada, según Hernández, Fernández, & Baptista, (2014) indican que la investigación aplicada cumple con el propósito de resolver problemas, los planteamientos son útiles para evaluar, comparar, interpretar, establecer precedentes y determinar causalidad y sus implicaciones. La investigación cumple con lo descrito ya que se aplicó tratamiento en el lodo de las lagunas de estabilización de Juliaca a fin de obtener abono orgánico.

#### **3.2. Diseño de la investigación**

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, utiliza la recolección de datos para probar la hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico, con el fin establecer pautas de comportamiento y probar teorías (Hernández, Fernández, & Baptista, 2014). El diseño de la investigación corresponde a un diseño experimental. Según Hernández, Fernández, & Baptista (2014) el diseño con postprueba únicamente y grupo de control incluye grupos que reciben tratamiento y grupo control (ausencia de tratamiento), terminado la manipulación en los grupos se realizó la medición, ésta investigación consta de tres grupos (G1, G2 y G3) los dos primeros grupos recibieron tratamiento, mientras que el último grupo fue control, la postprueba se aplicó para medir parámetros físicos, químicos y microbiológicos después de aplicar el tratamiento.

El diseño experimental aplicado en la presente investigación se muestra en el siguiente esquema:

Tabla 5

*Diseño de la investigación.*

Diseño experimental		
RG1	X	O1
RG2	X	O2
G3	—	O3

Fuente: Hernández, Fernández, & Baptista (2014).

Dónde:

R: Asignación al azar del lodo.

G1: Grupo 1, definido como la mezcla de lodos con estiércol de vaca antes de recibir el tratamiento.

G2: Grupo 2, definido como los lodos antes de recibir el tratamiento.

G3: Grupo 3, definido como lodos que no recibirá tratamiento (control).

X: Tratamiento denominado vermicompostaje con lombriz *Eisenia foetida* S.

O1: Medición de parámetros químicos y microbiológicos después del tratamiento en el grupo 1.

O2: Medición de parámetros químicos y microbiológicos después del tratamiento en el grupo 2.

O3: Medición de parámetros químicos y microbiológicos después del tratamiento en el grupo 3.

— Ausencia de tratamiento denominado control.

### 3.3. **Ámbito de estudio**

La presente investigación se llevó a cabo en área cercado, ubicado a 5 km de las lagunas de estabilización de Juliaca, en la comunidad Chilla, posteriormente se continuó en las instalaciones del laboratorio de microbiología ambiental de la Universidad Nacional de Juliaca UNAJ, ubicada en el distrito de Juliaca, provincia de San Román, meseta altiplánica de altitud 3826 m.s.n.m. (MPSR, 2017). La investigación se desarrolló en los meses de octubre de 2018 a marzo del 2019.

### **3.4. Universo y muestra**

#### **3.4.1. Población**

La población está constituida por la cantidad total de lodos almacenados en las 8 lagunas de estabilización de Juliaca, el mismo que consta de más de 80 000 m<sup>3</sup> de lodo correspondientes a lagunas primarias (Seda Juliaca, 2017).

#### **3.4.2. Muestra**

##### **3.4.2.1. Método de muestra**

Se extrajó muestras compuestas preparadas en base a las muestras puntuales en lagunas de estabilización de la ciudad de Juliaca, éstas muestras fueron extraídas de forma aleatoria respecto a la ubicación en el cuerpo total de lodo acumulado (MVCS, 2018), se utilizó la metodología sugerida en la Resolución Ministerial N° 093-2018-Vivienda (ver anexo 1).

##### **3.4.2.2. Tamaño de muestra**

Asimismo el número de muestras de acuerdo a lo sugerido en protocolo de monitoreo de biosólidos (anexo 1) fue 31 muestras puntuales debido al caudal de 260 L/s de ingreso a las lagunas de estabilización (seda Juliaca, 2017), los puntos de muestreo fueron de forma aleatoria, la ubicación de los puntos de toma de muestras puntuales se realizó conforme al procedimiento señalado en el protocolo mencionada, para el desarrollo de esta investigación las muestras estuvieron comprendidas por 15 kg de lodos residuales de las 8 lagunas de estabilización, que involucra un total de 120 kg, los mismos que se distribuyeron en 3 grupos con tres repeticiones cada uno, (Kizilkaya & Hepşen, 2014) a fin de comparar y obtener el tratamiento más óptimo (Zhao et al., 2010), se utilizó 3 kg del lodo restante para los análisis físicos, químicos y microbiológicos iniciales, puesto que como mínimo se requieren 2 kg de lodo para análisis físico químico y 1 kg para análisis microbiológico (MVCS, 2018). La distribución de las muestras se encuentra detallada en la tabla 6.

##### **3.4.2.3. Selección de muestra**

Según Hernández, Fernández, & Baptista (2014) las muestras homogéneas poseen el mismo perfil característico, la muestra de ésta investigación es homogénea, puesto que las ocho lagunas son primarias (Seda Juliaca, 2017).

### **3.5. Materiales y equipos**

Se utilizó tubos de polietileno de 4" con una válvula check en el fondo para la extracción del lodo (Vivienda, 2018), equipos de protección personal (EPPs), para la preparación de camas de alimentación se utilizó 9 bandejas (45x33x25 cm) de polietileno transparente de 15 L (Gupta et al., 2007), para el análisis microbiológico se empleó materiales de vidrio (Boro 3.3.5), envases de plástico de 100, 250, 500 y 1000ml, GPS Garmin, potenciómetro, balanza analítica, estufa, mufla, microscopio electrónico, termómetro de suelo, densímetro, multiparámetro, baño maría, autoclave, destiladora, centrífuga.

#### **3.5.1. Material biológico**

Se empleó lombriz roja californiana *Eisenia foetida* Sav (Gupta & Garg, 2008; Pérez, Lagunes, Corona, & Barajas, 2017), se obtuvo del vivero ornamental denominado Flor Puno, ubicado en el centro poblado Jayllihualla, provincia y departamento de Puno; las lombrices adquiridas constaron de 1 kg, equivalentes a un promedio de 1000 lombrices en edad juvenil.

### **3.6. Metodología**

#### **3.6.1. Evaluación del efecto de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en la obtención de abono orgánico**

##### **3.6.1.1. Caracterización del lodo**

Los lodos residuales fueron extraídos de las 8 lagunas de estabilización de la ciudad de Juliaca, para ello se empleó la metodología establecida en el protocolo de monitoreo de biosólido aprobado con Resolución Ministerial N° 093-2018-Vivienda (ver anexo 1), posteriormente se deshidrató con radiación solar directa con giro manual a fin de tener un secado uniforme durante 21 días, de tal forma que se eliminen los gases tóxicos presentes en el lodo (Azizi et al., 2013) previamente se extrajo manualmente materiales no biodegradables (Azizi, Lim, Noor, & Abdullah., 2013; Bakar, Mahmood, Teixeira, & Abdullah, 2011; Gupta & Garg, 2008), por otro lado, se extrajo una muestra utilizando el método de cuarteo, para el análisis inicial de los parámetros químicos tales como arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc (anexo 4) y parámetros microbiológicos de *Echerichia coli*, *Salmonella sp* y huevos viables de helmintos, el análisis fue realizado en base al peso seco del lodo (Azizi et al., 2013; Bakar et al., 2011; Gupta, Mutiyar, Rawat, Saini, & Garg, 2007; Sangwan, Kaushik, & Garg, 2008).

## **A. Análisis de metales pesados**

Se extrajo una muestra compuesta empleando el método de cuarteo hasta obtener 1 kg de muestra homogénea, para ello se homogenizó el lodo manualmente y se dividió el material en cuatro partes uniformes, dos partes diametralmente opuestas se homogenizaron nuevamente y se dividió en cuatro partes, la operación se repitió hasta obtener una muestra de 1kg (Vivienda, 2018), seguidamente se envasó en bolsa ziploc rotulada, este fue transportado en una caja de almacenamiento térmico con refrigerante ice (4°C) para el análisis de la concentración de los metales pesados totales; arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc, debido a que las investigaciones demuestran la existencia de estos metales pesados en los lodos residuales (Emamjomeh, Tahergorabi, & Farzadkia, 2017; Kizilkaya & Hepşen, 2014), éste análisis fue realizado por el laboratorio certificado denominado NSF Inassa Envirolab., ubicado en la Av. La marina 3059, del distrito de San Miguel, Lima, el mismo que empleó la técnica de espectrometría de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo ICP-AES, utilizando la metodología 7474 del EPA para el análisis de mercurio total y la metodología 6010-B del EPA para el arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, níquel y zinc (Bakar et al., 2011; Gupta & Garg, 2008; Gupta et al., 2007; Kizilkaya & Hepşen, 2014; Sangwan et al., 2008) (anexo 4).

## **B. Análisis microbiológico**

Se extrajo una muestra compuesta empleando el método de cuarteo hasta obtener 2 kg de muestra homogénea seguidamente se envasó en bolsa ziploc rotulada, posteriormente se transportó en una caja de almacenamiento térmico con refrigerante ice (4°C) (Vivienda, 2018) hacia el laboratorio de microbiología ambiental de la Universidad Nacional de Juliaca a fin de efectuar el análisis de parámetros microbiológicos tales como; *Echerichia coli*, *Salmonella sp* y huevos viables de helmintos para conocer la concentración inicial presente en el lodo (Gupta et al., 2007; Hait & Tare, 2011), la metodología empleada para la determinación de *Echerichia coli* fue el método de los tubos múltiples, la muestra fue preparada de acuerdo al método EPA/625/R-92/013 (anexo 2) posteriormente se analizó mediante el método estandarizado 9221 C de APHA AWWA WPCF (1992), para la determinación de *Sallmonella sp* la muestra fue preparada de acuerdo al método EPA/625/R-92/013 (anexo 2) y para el análisis se empleó el método estandarizado 9260 D de APHA AWWA WPCF (1992),

finalmente para la determinación de huevos viables de helminto, se empleó el método EPA/625/R-92/013 (anexo 3) para la preparación de muestras y el análisis.

### **3.6.1.2. Proceso de vermicompostaje**

Los lodos se agruparon en tres grupos: tratamiento 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y finalmente tratamiento 3 (T3), con tres repeticiones cada uno, se empleó 9 bandejas de 15 L para la preparación de camas de alimentación (Gupta et al., 2007), el tratamiento T1 estuvo compuesto por 7 kg de lodo combinado con 3 kg de estiércol, teniendo la proporción 70% de lodo con 30% de estiércol de vaca (Gupta & Garg, 2008; Bakar, 2011; Rodriguez et al 2014) mientras que, los tratamientos T2 y T3 estuvieron compuestos por 10 kg lodo es decir una proporción de 100% de lodo, además se introdujo 75 g de lombrices de la especie *Eisenia foetida* Sav. Equivalente a 100 lombrices juveniles a los primeros tratamientos (T1 y T2) (ver tabla 6), asimismo todas las camas de alimentación se mantuvieron bajo la oscuridad a temperatura ambiente (12 – 18°C), el contenido de humedad se mantuvo a  $70 \pm 10\%$ , durante todo el período de estudio empleando aspersion para mantener la humedad, además ningún alimento adicional se añadió durante todo el proceso de ejecución de la presente investigación. El proceso de vermicompostaje, se desarrolló por 03 meses (Vicencio et al., 2011) en el que se monitorearon parámetros físico-químicos como: pH, temperatura, humedad de forma semanal (Atiyeh et al., 2000; Bakar et al., 2011; Gupta & Garg, 2008; Li et al., 2014; Sangwan et al., 2008; Vicencio et al., 2011) y se realizó procesos de aireación debido a que las lombrices requieren oxígeno para su desarrollo, este proceso se llevó a cabo de forma semanal (Azizi et al., 2013; Gupta & Garg, 2008).

Tabla 6

*Distribución de tratamientos.*

Tratamiento	Contenido	Lodo	Estiércol	Lombriz
Tratamiento 1 T1	Lodo+ estiércol+ lombriz	7 kg	3 kg	75 gr
		7 kg	3 kg	75 gr
		7 kg	3 kg	75 gr
Tratamiento 2 T2	Lodo + lombriz	10 kg	-	75 gr
		10 kg	-	75 gr
		10 kg	-	75 gr
Tratamiento 3 T3	Lodo	10 kg	-	-
		10 kg	-	-
		10 kg	-	-

Fuente: Elaboración propia

El efecto de las lombrices en el proceso de vermicompostaje se evaluó considerando el número de lombrices y la biomasa total de forma mensual (Zhi, Tao, Wen & Wang, 2019; Ahmad et al, 2016; Duran & Enriquez, 2009), otro indicador del efecto de las lombrices en la obtención de abono fue el color del lodo, con éstos indicadores se realizó la comparación entre tratamientos y por consecuencia se determinó el mejor medio de crecimiento y desarrollo de la lombriz, además se registró el cambio de color que indica la degradación de la materia orgánica asociándola con el color negro, para ello se empleó la tabla Munsell 10YR, comparándola con la tonalidad 10 YR 2/1 (anexo 14) (Marquina & Martinez, 2016).

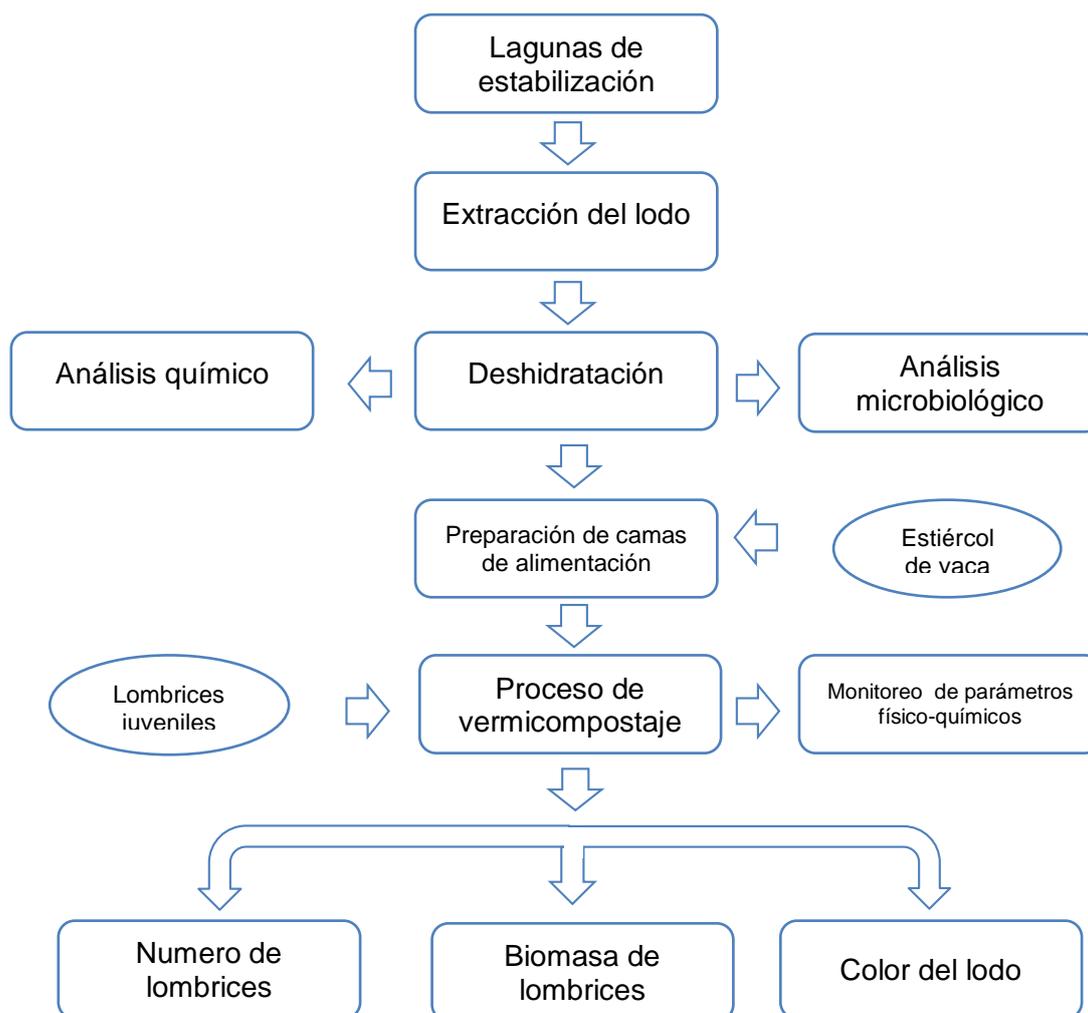


Figura 3. Diagrama de evaluación del efecto de la lombriz en la obtención de abono orgánico.

### 3.6.2. Determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado

Transcurrido el proceso de vermicompostaje se extrajo una muestra de cada cama de vermicompostaje y se envasó en bolsa ziploc posteriormente se trasladó en una caja temperada ice (4°C) hasta el laboratorio de microbiología ambiental de la Universidad Nacional de Juliaca, la muestra fue analizada dentro de las 24 horas, se realizó el análisis microbiológico a fin de conocer la concentración final de *Echerichia coli*, *Salmonella sp* y huevos viables de helminto (Soobhany, 2018), para la determinación de *Echerichia coli* se empleó el método de los tubos múltiples. para ello la muestra fue preparada de acuerdo al método EPA/625/R-92/013 (anexo 2), asimismo el método estandarizado de análisis fue 9221 C de APHA AWWA WPCF (1992), para la determinación de *Sallmonella sp* la muestra fue preparada de acuerdo al método EPA/625/R-

92/013 (anexo 2) y para el análisis se empleó el método estandarizado 9260 D de APHA AWWA WPCF (1992), finalmente para la determinación de huevos viables de helminto, se utilizó el método EPA/625/R-92/013 (anexo 03).

### 3.6.2.1. Determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos

Para determinar el porcentaje (%) de remoción, se utilizó la concentración inicial y final, con la siguiente formula (Romero, Colín, Sánchez, & Ortiz, 2009):

$$\% \text{ remoción} = (C_i - C_f) * 100 / C_i$$

Dónde:

C<sub>i</sub>: Concentración inicial

C<sub>f</sub>: Concentración final

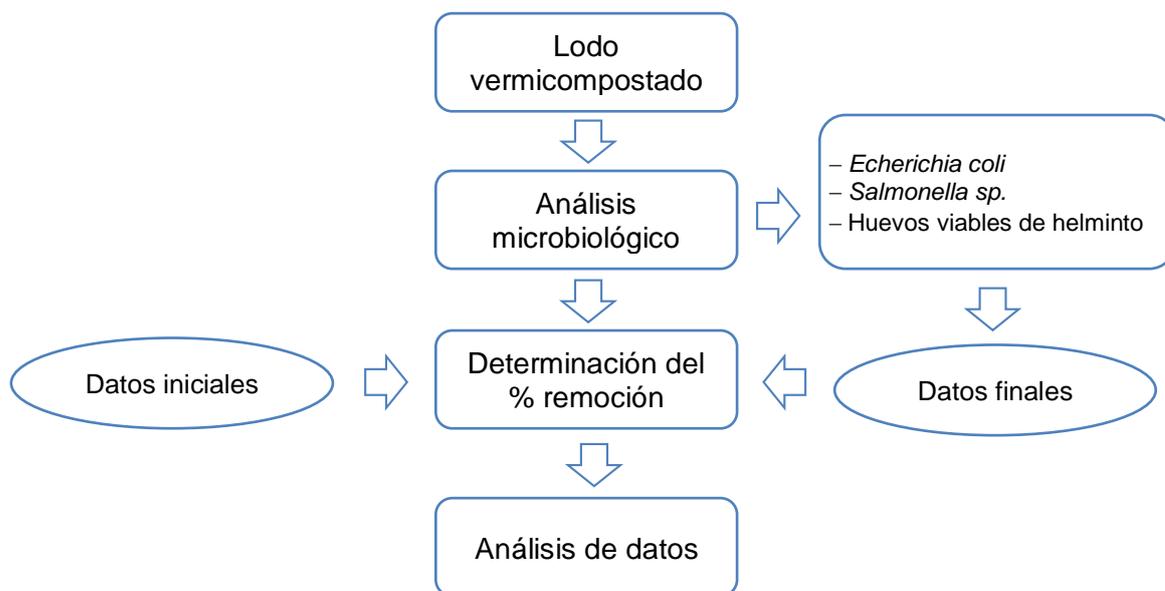


Figura 4. Diagrama de flujo para la determinación del porcentaje de remoción de agentes patógenos en lodo vermicompostado.

### 3.6.3. Determinación del contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido a través del vermicompostaje

Se extrajo una muestra de 1 kg de lodo después del tratamiento aplicado y se envasó en bolsa ziploc posteriormente se trasladado en una caja temperada ice (4°C) hasta el laboratorio certificado denominado Laboratorios Analíticos del Sur E.I.R.Ltda., ubicado en el Parque Industrial Rio Seco de la ciudad de Arequipa, a fin de realizar el análisis de concentración de macronutrientes tales como nitrógeno (N), potasio (K) y fósforo (P), calcio (Ca) y magnesio (Mg) presente en el abono orgánico obtenido (Braga et al. 2017; Vicencio, et al., 2011), la técnica y el método empleado fue 7102 determinación de macronutrientes.

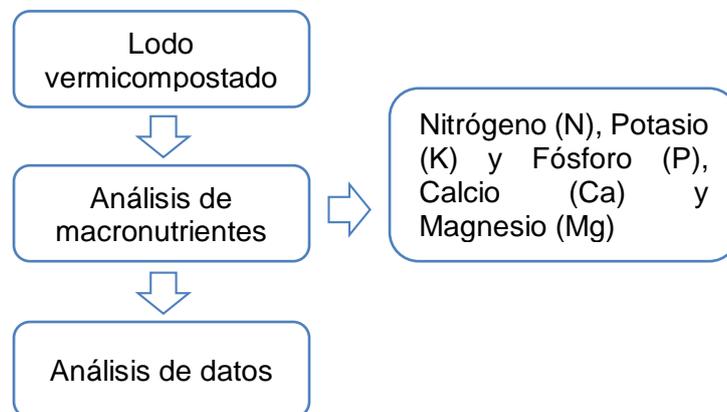


Figura 5. Flujograma para la determinación del contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Efecto de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en la obtención de abono orgánico

##### 4.1.1. Cambios físico químicos durante el proceso de vermicompostaje

En la tabla 7 muestra los valores de pH en los tratamientos T1, T2 y T3; en el tratamiento T1 el pH inicial fue de 7.7, en las semanas siguientes descendió hasta 7.14, presentó un ligero incremento pero en las últimas semanas disminuyó hasta 6.6, de igual forma en el tratamiento T2 el pH disminuyó hasta 6.87 en la última semana, el tratamiento T1 muestra niveles de pH más bajos que en el tratamiento T2, investigaciones demostraron que el pH en el proceso de vermicompostaje desde, Takia, Gogoib, Mazumderc, Bhattacharyab, Kumard (2019) obtuvieron valores iniciales de pH entre 7 a 7.3 éste disminuyó hasta 5.5, igualmente Gupta (2008) encontró valores por debajo de 6, mientras que Suthar (2009) obtuvo 7.7 en un inicio, sin embargo descendió hasta 7.2, esto puede ser causado por procesos de mineralización del nitrógeno y fósforo en nitritos, nitratos y ortofosfatos, ya que el pH disminuye en la bioconversión del material orgánico en procesos intermedios de ácidos orgánicos (Ndegwa, Thompson & Das, 2000). Además la diferencia entre los tratamientos T1 y T2 puede estar atribuida a las camas de alimentación, el estiércol de vaca contiene naturalmente diferentes bacterias anaerobias que conducen a la generación de hidrógeno causada por la presencia de estiércol de vaca en el tratamiento (Takia, et al, 2019).

Tabla 7

*Resultados de pH en el proceso de vermicompostaje.*

SEMANA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T1 Lodo+ Estiércol + Lombriz	7.70	7.50	7.40	7.30	7.14	7.24	7.26	7.20	7.12	7.08	6.77	6.60
T2 Lodo+ Lombriz	7.69	7.22	7.16	7.27	7.14	7.26	7.23	7.08	7.05	7.11	6.80	6.87
T3 Lodo	7.70	7.63	7.67	7.70	7.67	7.63	7.53	7.43	7.37	7.30	7.03	7.03

La figura 6 muestra las variaciones del pH a lo largo de los tres meses para los tratamientos T1, T2 y T3 los resultados muestran la disminución del pH, sin embargo los tratamientos T1 y T2 disminuyeron más que el tratamiento T3, esto podría ser atribuido al efecto de las lombrices puesto que los fluidos celómicos aceleran la transformación del lodo en humus por la acción de bacterias que metabolizan de forma más rápida los componentes presentes en el lodo generando la disminución del pH (Garg, 2008).

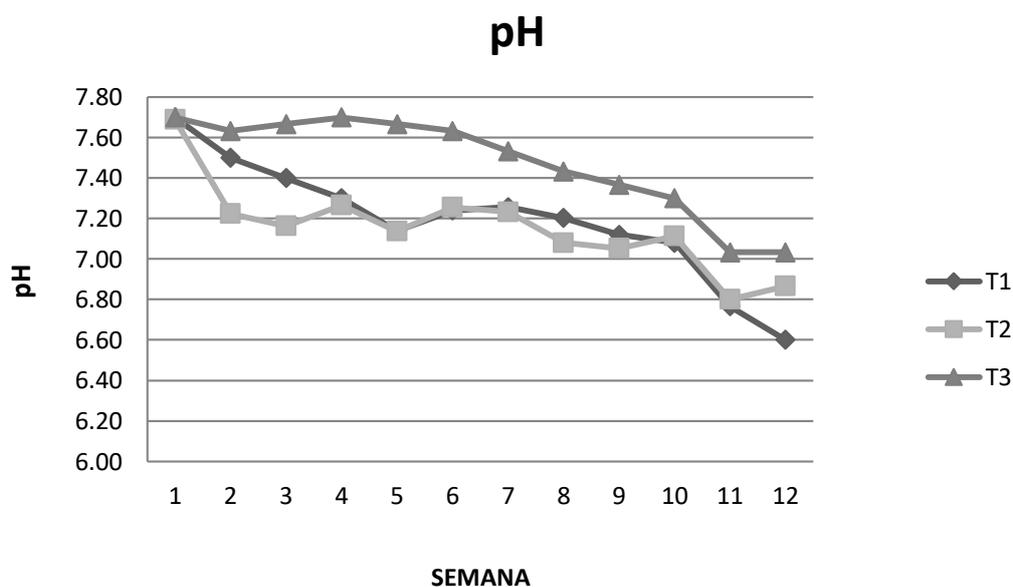


Figura 6. Variación de pH en el proceso de vermicompostaje.

#### 4.1.1. Biomasa de lombrices

La tabla 8 muestra los resultados del peso de las lombrices en los diferentes tratamientos aplicados (T1 y T2), en el primer mes el peso fue 136.33 g en el tratamiento T1, mientras que en el tratamiento T2 el peso fue más bajo con 84.00 g, aun así no hubo pérdida de peso en ambos tratamientos con respecto al peso inicial, en el segundo mes el peso promedio de las lombrices fue 133.67 g en el tratamiento T1, mientras que en el tratamiento T2 el peso fue más bajo con 82.00 g, en el tercer mes se obtuvo un promedio de 160.67 g en el tratamiento T1, pero en el tratamiento T2, el peso fue más bajo 90.00 g (anexo 5). La pérdida de peso total de las lombrices puede ser causado por consumo y agotamiento del sustrato fresco, así lo demuestra Gupta (2008) quien obtuvo la misma tendencia de pérdida de peso en las lombrices ocasionado por el agotamiento de alimento fresco, asimismo Benitez (1999) obtuvo un promedio de 48 g en la semana 7 luego empezó a descender, esto se contrasta con la investigación de Gajalakshmi et al. (2005) demostró que 100% de lodo residual como alimento no fue preferido por la lombriz, mientras que la adición de estiércol de vaca tuvo un impacto positivo sobre el aumento de la biomasa, igualmente en la presente investigación el tratamiento T1 con presencia de estiércol de vaca tuvo mejor aceptación por las lombrices incrementando su peso el mismo que podría estar asociado al material de enmienda, puesto que, los productos de enmienda como el estiércol, compost, aserrín entre otros contribuyen a la transformación del lodo en abono y/o humus (Kuter et al., 1995), esto debido a la interacción de la lombriz para descomponer desechos orgánicos, lodos residuales, etc, los mismos que proveen abono orgánico y proteína animal (Appelhof, 1981).

Tabla 8

*Peso y cantidad de las lombrices en el proceso de vermicompostaje.*

Tratamiento	Biomasa inicial (g)	Mes 1 (g)	Mes 2 (g)	Mes 3 (g)	Ganancia de biomasa (g)	N° L inicial	N° L mes 1	N° L mes 2	N° L mes 3
T1 Lodo+ Estiércol +Lombriz	75.00	136.33	133.67	160.67	85.67	100	159	177	209
T2 Lodo + Lombriz	75.00	84.00	82.00	90.00	15.00	100	98	103	130
T3 Lodo	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N° L: número de lombrices

#### 4.1.2. Número de lombrices

En el tratamiento T1 no hubo mortalidad ya que el número de las lombrices en el primer mes se incrementó a 159 para el segundo mes incrementó a 177 finalmente en el último mes se obtuvo el doble de lombrices con respecto al inicial, sin embargo, en el tratamiento T2 presento mortandad, el primer mes disminuyo 2 lombrices, para el segundo mes incrementó y el último mes las lombrices aumentaron en número llegando hasta 130 lombrices (anexo 5).

Investigaciones demostraron que el sustrato de las lombrices influye de forma directa en la reproducción y multiplicación de la lombriz (Bollo 1999, Ferruzi 1986), el estiércol incrementa la temperatura del medio, lo cual influye en la reproducción de la lombriz (reikenk, 1992), además el material de alimentación que contiene mayor cantidad de lodo es difícil que pueda ser asimilada por la lombriz (Gajalakshmi et al., 2002) ya que no podría contener suficiente cantidad de materia orgánica y carbohidratos metabolizable el mismo que es esencial para el crecimiento y reproducción de las lombrices (Edwards, 1988), es por ello que el mejor medio para la reproducción es el lodo con presencia de estiércol de vaca así lo demostraron las investigaciones de Gupta (2007), Gajalakshmi et al. (2005), éstos consiguieron un impacto positivo sobre el incremento del número de lombrices, asimismo la mortandad fue mínima, esto puede ser atribuido al precompostaje durante 21 días ya que todos los gases tóxicos producidos podrían haber sido eliminados a consecuencia del pre compostaje (Kaushik y Garg, 2003)

Tabla 9  
Prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para biomasa y número de lombrices.

Prueba	Parámetro	Mes	Tratamiento	N	Media	Agrupación
Tukey	Biomasa de la lombriz	1	T1	3	136.330	A
			T2	3	84.000	B
		2	T1	3	133.670	A
			T2	3	82.000	B
		3	T1	3	160.670	A
			T2	3	90.000	B
Tukey	Número de lombrices	1	T1	3	158.670	A
			T2	3	98.330	B
		2	T1	3	177.000	A
			T2	3	103.667	B
		3	T1	3	209.000	A
			T2	3	130.000	B

La tabla 9 muestra las comparaciones múltiples de las medias de la biomasa de la lombriz *Eisenia foetida* Sav. en los diferentes tratamientos aplicados T1 y T2 utilizando el análisis de varianza (anexo 11) y la prueba de tukey ( $p \leq 0.05$ ), previo análisis de normalidad y homogeneidad en los datos (anexo 9 y 10), se aprecia que el tratamiento T1 (lodo + estiércol + lombriz) es más óptimo para el incremento de la biomasa con respecto al tratamiento T2 (Lodo + lombriz), por consecuencia estadísticamente los tratamientos T1 y T2 son diferentes, esto podría estar asociado a la presencia de estiércol, ya que el sustrato de crecimiento influye en la masa de la lombriz afectando directamente a la reproducción de la lombriz y su estado (Ferruzi, 1986), además la lombriz *E. foetida* en presencia de estiércol reacciona de forma positiva aumentando la supervivencia, crecimiento y reproducción de esta especie (Haynes y Zhou, 2016).

El color en los tres tratamientos varió, siendo el tratamiento T1 el único que llegó a la tonalidad 10YR 2/1, seguido del tratamiento T2 (anexo 14).

## **4.2. Remoción de agentes patógenos**

### **4.2.1. *Echerichia coli***

La tabla 10 muestra los resultados de la concentración inicial y final de *Echerichia coli*, se observa que las concentraciones finales más bajas se presentan en los tratamientos con presencia de lombriz (T1, T2) con 423.317 NMP/1g ST y 598.199 NMP/1g ST respectivamente, éstos se encuentran por debajo del límite establecido en la normativa vigente, por lo tanto cumplen con los criterios de higienización establecidos, mientras que el tratamiento T3 presentó concentración final de 1844.727 NMP/1g ST superando el límite establecido (anexo 6).

Tabla 10

*Resultados de la concentración de parámetros microbiológicos.*

Parámetro	Detalle	T1	T2	T3
		Lodo+Estiercol +Lombriz	Lodo+Lombriz	Lodo
<i>Echerichia coli</i>	Inicial (NMP/ 1g ST)	4299.754	4299.754	4299.754
	Final (NMP/ 1g ST)	423.317	598.199	1844.727
	% remoción	90.155	86.088	57.097
	limite (NMP/ 1g ST)	< 1000.000	< 1000.00	< 1000.00
<i>Salmonella sp</i>	Inicial (NMP/ 10g ST)	4.300	4.300	4.300
	Final (NMP/ 10g ST)	0.847	1.888	3.582
	% remoción	80.310	56.097	16.696
	limite (NMP/ 10g ST)	< 1	< 1	< 1
Huevos viables de helminto	Inicial (Nº/ 4g ST)	4.914	4.914	4.914
	Final (Nº/ 4g ST)	1.134	1.969	3.690
	% remoción	76.933	59.923	24.920
	limite (Nº/ 4g ST)	< 1	< 1	< 1

La reducción de coliformes es causado por la presencia de lombrices en su totalidad por el efecto de tránsito intestinal (Monrey, 2009), además la lombriz causa mortandad selectiva de bacterias usando sus sistemas antioxidantes y funciones inmunes antimicrobianas (Liu, 2009), en el presente estudio los tratamientos (T1 y T2) con presencia de lombrices tuvieron porcentajes de remoción mayores a 86%, la reducción de *Echerichia coli* durante el vermicompostaje puede ser atribuido a diversas acciones de lombrices como la acción enzimática intestinal, la secreción de fluidos celómicos que tienen propiedades antibacterianas (Domínguez & Edwards, 1997; Panikkar et al., 2004), así lo demuestran las investigaciones efectuadas por Hait, (2001) y Fernandes, (2010) los cuales obtuvieron remoción de 98% pero en ambos casos se aplicaron doble tratamiento incluyendo el compostaje, mientras que Hu, Chen, (2018) obtuvieron remoción de 30.1% hasta 85.4%, esto indica que las lombrices son capaces de acelerar la mortandad de *Echerichia coli* en el lodo, por otro lado Dominguez (2004) indica que el vermicompostaje reduce los patógenos hasta causar la mortandad total de *Echerichia coli* en 60 días.

Tabla 11

Prueba tukey ( $p \leq 0.05$ ) para la remoción de parámetros microbiológicos.

	Prueba	Tratamiento	N	Media angular	% Remoción	Agrupación
Tukey	<i>Echerichia coli.</i>	T1	3	71.714	90.155	A
		T2	3	68.106	86.088	A
		T3	3	49.130	57.097	B
	<i>Salmonella sp.</i>	T1	3	63.658	80.310	A
		T2	3	48.504	56.097	B
		T3	3	23.840	16.696	C
	Huevos viables de helminto	T1	3	61.630	76.933	A
		T2	3	50.890	59.923	A
		T3	3	29.410	24.920	B

En la tabla 11 muestra las comparaciones múltiples de las medias del porcentaje de remoción de *Echerichia coli* en los diferentes tratamientos aplicados utilizando el análisis de varianza (anexo 12) y prueba de tukey ( $p \leq 0.05$ ), se aprecia que el tratamiento T1 (Lodo + estiércol + lombriz) es el más óptimo para la remoción de *Echerichia coli* con 90.155% seguido del tratamiento T2 (lodo+ lombriz) con 86.088% y finalmente el tratamiento T3 (lodo) con 57.097% de remoción. Además los tratamientos T1 y T2 tienen la misma agrupación A, por lo tanto estadísticamente los tratamientos T1 y T2 son iguales, mientras que el tratamiento T3 difiere encontrándose en la agrupación B, sin embargo de acuerdo a los resultados reales obtenidos se infiere que los 3 tratamientos son diferentes, estos resultados pueden ser atribuidos a la presencia de las lombrices en los tratamiento T1 y T2, los mismos que tuvieron alto porcentaje de remoción, asimismo el tratamiento T1 presentó porcentaje más alto de remoción, podría ser causado por el sustrato de alimentación, el estiércol de vaca, ya que contribuye a la supervivencia, crecimiento y reproducción de la lombriz *E. foetida* (Haynes y Zhou, 2016) generando un medio más óptimo para el proceso de aeróbico y desarrollo óptimo acelerando la remoción de *Echerichia coli* (Hu, Chen, 2018).

#### 4.2.2. *Salmonella sp*

La tabla 10 muestra los resultados de la concentración inicial y final de *Salmonella sp.*, se observa que las concentraciones finales más bajas se presentan en los tratamientos con presencia de lombriz (T1, T2) con 0.847 NMP/10g ST y 1.888 NMP/10g ST respectivamente y la concentración más alta se presenta en el tratamiento T3 con 3.582 NMP/10g ST, además el tratamiento T1 está por debajo del límite establecido en la normativa vigente, por lo tanto cumple con el criterio de higienización, mientras que los tratamiento T2 y T3 superan el límite, Asimismo el tratamiento T1 resultó ser más eficaz en la remoción de *Salmonella* con 80.310%, seguido del tratamiento T2 con 56.097%, mientras que el tratamiento T3 mostró un bajo porcentaje de remoción de 16.969% (anexo 6).

En la tabla 11 muestra las comparaciones múltiples de las medias del porcentaje de remoción de *Salmonella sp.* en los diferentes tratamientos aplicados utilizando la prueba de tukey ( $p \leq 0.05$ ), se aprecia que el tratamiento T1 (Lodo + estiércol + lombriz) es el más óptimo para la remoción de *Salmonella sp.* con 80.310% encontrándose en el grupo A seguido del tratamiento T2 (lodo+ lombriz) con 56.097% en el grupo B y finalmente el tratamiento T3 (lodo) con 16.696% de remoción en el grupo C. Por lo tanto estadísticamente todos los tratamientos son diferentes, éstos resultados pueden ser atribuidos a la presencia de lombrices debido altos niveles de remoción en los tratamientos T1 y T2 en comparación con el tratamiento T3, las lombrices tienen la capacidad de reducir de forma acelerada agentes microbianos patógenos como el caso de la *Salmonella* (Biscsi, 1990), además Hassett et al. (1988) y Amaravadi et al. (1990) concluyeron que *E. foetida* puede poseer un sistema enzimático virucida y puede contribuir a la inactivación de los virus patógenos potencialmente asociados con la aplicación de lodos de aguas residuales, así lo demuestran las investigaciones realizadas por Soobhany (2018) y Brown & Mitchell (1981) las lombrices causaron una disminución máxima en *Salmonella* del 29% en comparación con la disminución máxima del 14% en ausencia de lombriz, en la presente investigación el porcentaje de remoción con presencia de lombriz fue 80.315% y 56.097% en los tratamientos T1 y T2 respectivamente, mientras que en ausencia de la lombriz se obtuvo 16.696% de remoción, se infiere que la lombriz *Eisenia foetida* Sav. acelera la remoción de salmonella en el lodo, además investigaciones desarrolladas por Rodríguez- Cardoso Maldonado

Martínez (2010) obtuvieron porcentajes de remoción al 99% de salmonella en lodos, esto a causa de la temperatura superior al 30 °C, sin embargo en la presente investigación la temperatura fue inferior a 30°C.

#### **4.2.3. Huevos viables de helminto**

La tabla 10 muestra los resultados de la concentración inicial y final de huevos viables de helminto, las concentraciones finales más bajas se presentaron en los tratamientos con presencia de lombriz (T1, T2) con 1.134 N°/4g ST y 1.969 N°/4g ST respectivamente, mientras que el tratamiento T3 obtuvo 3.69 N°/4g ST, todos los resultados superan el límite establecido por la normativa vigente, sin embargo se obtuvieron altos porcentajes de remoción, el tratamiento T1 resulto ser más eficaz en la remoción de huevos viables de helminto con 76.933%, seguido del tratamiento T2 con 59.923%, mientras que el tratamiento T3 presentó bajo porcentaje de remoción de 24.92%, los resultados pueden ser atribuidos a factores de temperatura, el mismo que no superó los 30°C puesto que para la remoción de huevos viables de helminto influye la temperatura, el proceso termofílico (temperatura alta) puede ser capaz de la inactivación de huevos de helminto (Dougherty, 1999) incluso llega a la eliminación de organismos patógenos, pero se ha demostrado que estos patógenos no sobreviven en el vermicompostaje (Dominguez & Edward, 2004) debido a que la lombriz por su efecto inhibitor causa mortandad selectiva de agentes patógenos, demostrada en la investigación de Vera y Col (2001) los cuales reportaron la remoción de huevos de helminto en lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales del 14% y 65%, mientras que Hait (2011) obtuvo una remoción del 99.9%, este alto porcentaje de remoción se explica por su doble tratamiento (compostaje y vermicompostaje), de igual forma ocurre con Yavad, Tare & Ahammed (2012) en donde se presenta remoción de 35.2% (compostaje) y 99.9% (vermicompostaje). En el presente estudio los resultados muestran que el mayor porcentaje de remoción de huevos de helminto se presenta en los tratamientos T1 y T2 con presencia de lombrices, mientras que en la ausencia de la lombriz se presenta los niveles más bajos de remoción, se deduce que la lombriz *Eisenia foetida* acelera el proceso de remoción de huevos viables de helminto en lodos (anexo 6).

La tabla 11 muestra las comparaciones múltiples de las medias del porcentaje de remoción de huevos viables de helminto en los tratamientos T1, T2 y T3 aplicados al lodo, para ello se analizó a través de la prueba estadística Tukey considerando un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados muestran que el nivel más alto de remoción se presenta en el tratamiento T2 con 61.627%, seguido del tratamiento T1 con 50.888% mientras que el tratamiento T3 presenta la más baja remoción con 29.414%, los resultados estadísticos muestran que los tratamientos T1 y T2 se encuentran en la agrupación A por lo tanto los tratamientos T1 y T2 son iguales, mientras que el tratamiento T3 difiere por la ubicación de agrupación B, sin embargo de acuerdo a los datos reales se puede deducir que estos tratamientos difieren entre sí, siendo el tratamiento T1 mejor que el tratamiento T2 así como el tratamiento T2 mejor que el tratamiento T3.

#### 4.3. Contenido de macronutrientes en el abono orgánico obtenido

La tabla 12 muestra las concentraciones finales de macronutrientes en el lodo vermicompostado en los tratamientos T1, T2 y T3, los resultados se detallan en el anexo 7 y 8.

Tabla 12

*Concentración de macronutrientes en el abono obtenido.*

Tratamiento	Nitrógeno (N) ppm	Potasio (K) ppm	Fósforo (P) ppm
T1 (Lodo+ Estiércol + lombriz)	14.853	8799.333	5979.666
T2 (Lodo + lombriz)	13.473	6986.667	6085.333
T3 (lodo)	11.643	5734.667	5533.333

	Calcio (Ca) ppm	Magnesio (Mg) ppm
T1 (Lodo+ Estiércol + lombriz)	23821.667	4590.667
T2 (Lodo + lombriz)	19317.667	4155.667
T3 (lodo)	18505.000	3795.333

### 4.3.1. Nitrógeno

La tabla 12 muestra los resultados de las concentraciones de nitrógeno (N) en los tratamientos T1, T2 y T3, el contenido más alto se presenta en el tratamiento T1 con 14.853 ppm, seguido del tratamiento T2 con 13.473 ppm, finalmente T3 presentó la más baja concentración con 11.643 ppm, la concentración de nitrógeno más alto se obtuvo en los tratamientos T1 y T2 con presencia de lombrices (Figura 7) puesto que la materia orgánica y carbohidratos son fácilmente asimilados por la lombriz, favoreciendo el crecimiento y la reproducción de *Eisenia foetida* Sav. (Edwards, 1988), por consecuencia el nitrógeno se concentró mejor en la mezcla de estiércol, lodo y lombriz, el proceso de vermicompostaje está relacionado con la reducción de masa del material, ya que el nitrógeno es utilizado por las bacterias que utilizan este nutriente para descomponer la materia orgánica, sin embargo las lombrices incrementan la concentración de nitrógeno a través de la excreción de productos nitrogenados (Rodrigues, 2017). Estos productos posiblemente provienen de excrementos anélidos, orina (en forma de amoníaco y urea), mucoproteínas y de los propios tejidos de las lombrices de tierra después de la muerte, ya que el 65% al 75% de la composición corporal de estos animales está formada por proteínas (Atiyeh et al., 2002; Tripathi y Bhardwaj, 2004; Suthar, 2006; Vig et al., 2011).

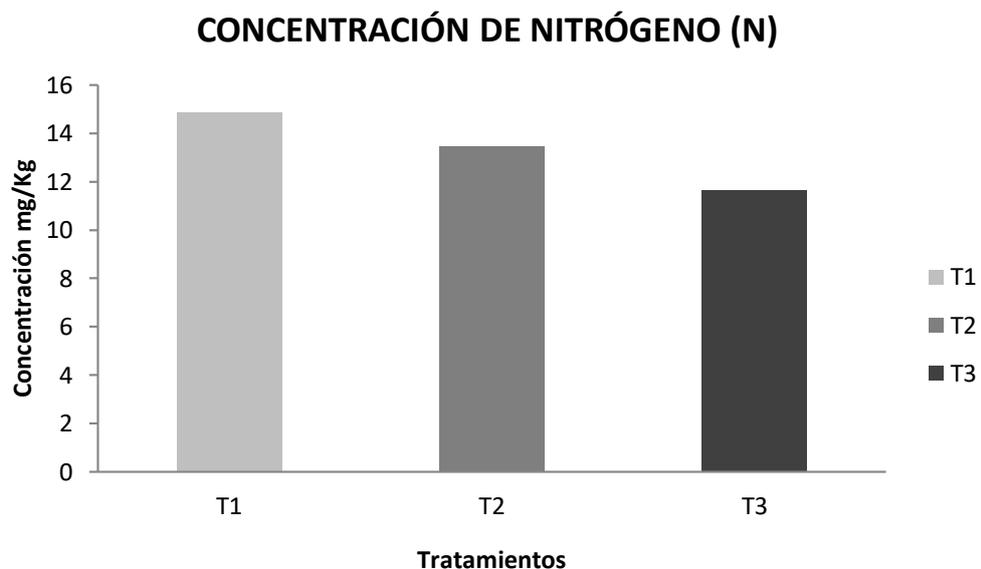


Figura 7. Concentración de Nitrógeno en los diferentes tratamientos.

De acuerdo con Dores-Silva et al. (2011), el uso del nitrógeno mejora la calidad del producto obtenido en el proceso de vermicompostaje, ya que el nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, Atiyeh et al. (2002) llegó a la conclusión que el aumento de nutrientes como el nitrógeno está directamente relacionado con la mineralización de materia orgánica generada por las lombrices de tierra, esta información es corroborada por Rodrigues (2017) cuyo contenido de nitrógeno N fue entre 2100 mg/kg a 4800 mg/kg mientras que en ausencia de lombrices fue 2400 mg/kg, por el contrario Perez, Lagunes, Corona & Barajas (2017) obtuvieron concentraciones más bajas en presencia de lombriz que en el lodo sin lombriz, a diferencia en esta investigación se obtuvo concentración de N más alto en muestras con presencia de lombriz, sin embargo en los tres tratamientos (T1, T2 y T3) se obtuvo baja concentración del N puede ser causado por la volatilización del amoníaco y los compuestos de N fácilmente disponibles para las bacterias (Tremier et al., 2005). El aumento o disminución en el contenido de N después de 3 meses de vermicompostaje es causado por la mineralización de materia húmica orgánica (Francou et al., 2008). La razón de las variaciones en el contenido de nitrógeno después de la vermicomposición de diferentes desechos podría ser la calidad de los sustratos de *E. foetida*, junto con su estructura física y composición química, que afectan la mineralización de compuestos nitrogenados orgánicos y la cantidad de nitrógeno liberado del compuestos (Tognetti et al., 2007), diferentes estudios han informado que el vermicompostaje causa un aumento significativo en el contenido de nitrógeno después de la actividad de la lombriz (Garg y Gupta, 2011; Yadav y Garg, 2011a; Soobhany et al., 2015b) sin embargo, el contenido de nitrógeno en el vermicompost depende de la concentración inicial presente en la materia prima y el grado de descomposición (Crawford, 1983), en la presente investigación únicamente se analizó la concentración final, el resultado obtenido muestra concentraciones bajas respecto a otras investigaciones, esto podría ser atribuido al contenido inicial de nitrógeno en el lodo.

Tabla 13

*Prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para la concentración de macronutrientes.*

Prueba	Parámetro	Tratamiento	N	Media angular	Contenido ppm	Agrupación
Tukey	Nitrógeno	T1	3	14.853	14.853	A
		T2	3	13.473	13.473	A B
		T3	3	11.643	12.500	B
	Fosforo	T2	3	6085.300	6085.333	A
		T1	3	5980.000	5979.667	A
		T3	3	5533.300	5533.333	B
	Potasio	T1	3	8799.000	6085.333	A
		T2	3	6987.000	5979.667	B
		T3	3	5734.700	5533.333	C
	Calcio	T1	3	23822.000	23821.667	A
		T2	3	19318.000	19317.667	B
		T3	3	18505.000	18505.000	B
	Magnesio	T1	3	4590.700	4590.667	A
		T2	3	4155.700	4155.667	B
		T3	3	3795.300	3795.333	C

En la tabla 13 se muestra las comparaciones múltiples de las medias de la concentración de nitrógeno en los tratamientos T1, T2 y T3, se utilizó el análisis de varianza (anexo 13) y la prueba estadística Tukey con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados muestran que el contenido más alto de nitrógeno se presenta en el tratamiento T1 con 14.853 ppm, seguido del tratamiento T2 con 13.473 ppm mientras que el tratamiento T3 presenta la más baja concentración con 11.643 ppm, los tratamientos T1 y T2 se encuentran en la agrupación A, por lo tanto ambos tratamientos estadísticamente son iguales, asimismo los tratamientos T2 y T3 se encuentran en la agrupación B por consiguiente, los tratamientos T2 y T3 estadísticamente son iguales sin embargo de acuerdo a los datos reales se puede deducir que estos tratamientos difieren entre sí, siendo el tratamiento T1 mejor que el tratamiento T2 así como el tratamiento T2 mejor que el tratamiento T3.

#### 4.3.2. Fósforo

La tabla 12 muestra el contenido de fósforo en los diferentes tratamientos aplicados al lodo, el contenido más alto se presenta en el tratamiento T2 con 6085.333 ppm, seguido del tratamiento T1 con 5979.667 ppm mientras que el tratamiento T3 presenta la más baja concentración con 5533.333 ppm, este resultado podría ser causado por la presencia de la lombriz contribuyendo a mejorar la actividad microbiana presente en el proceso de vermicompostaje por consecuencia los microorganismos incrementan del proceso de digestión y aceleran en la mineralización del fósforo (Kuczak et al., 2006) incrementando su concentración, otro factor podría ser la actividad fosfatasa fecal de las lombrices de tierra, de esta forma las lombrices incrementan el contenido de fósforo en el lodo (Salas et al., 2003; Suthar, 2008; Tripathi y Bhardwaj, 2004), sin embargo el contenido de fósforo puede disminuir debido al agotamiento de los compuestos orgánicos utilizados por las bacterias (actúan como la fuente de fósforo) (Castillo et al., 2010; Garg et al., 2008), en la presente investigación se presenta las concentraciones más altas en el tratamiento T1 y T2, ambos tratamientos con presencia de lombriz, mientras que la concentración más baja se presenta en el tratamiento T3 en ausencia de las lombrices (Figura 8).

La investigación realizada presenta niveles más altos en el contenido de fósforo, superando los resultados obtenidos por otras investigaciones, Rodrigues (2017) obtuvo en el producto final 1800 mg/Kg de igual forma Perez, Lagunes, Corona & Baraja (2017) obtuvieron 2860 mg/kg de fósforo, asimismo Ghosh y col. (1999) informaron que el vermicompostaje es un método eficiente para la transformación de formas no disponibles de fósforo en formas fácilmente disponibles para las plantas.

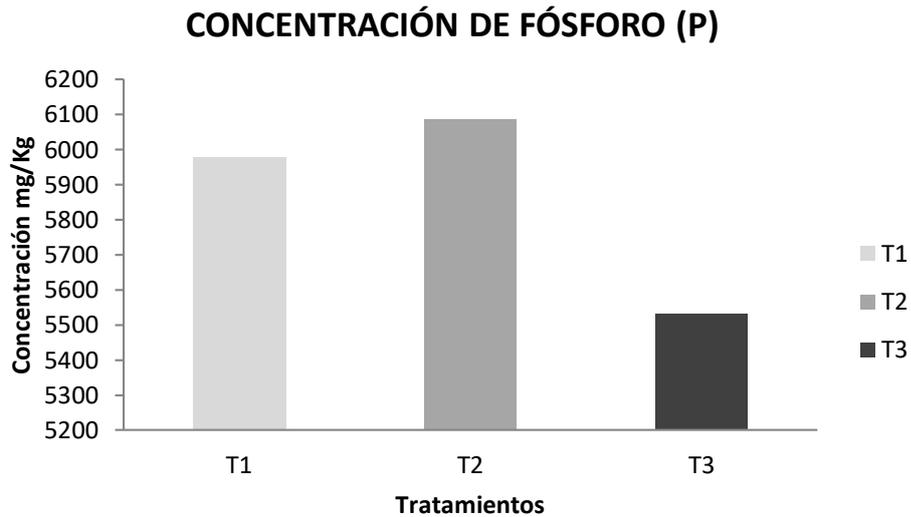


Figura 8. Concentración de Fósforo.

La tabla 13 muestra comparaciones múltiples de las medias de la concentración de fósforo en los tratamientos T1, T2 y T3 aplicados al lodo, se utilizó prueba estadística Tukey con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados estadísticos muestran que el tratamiento T1 y el tratamiento T2 se encuentran en la categoría A, por lo tanto ambos tratamientos estadísticamente son iguales, mientras que el tratamiento T3 se encuentra en la categoría B por consecuencia el tratamiento T3 es diferente, asimismo los tratamientos T1 y T2 estadísticamente son mejores que el tratamiento T3, sin embargo de acuerdo a los datos reales se puede inferir que estos tratamientos difieren entre sí, siendo el tratamiento T2 mejor que el tratamiento T1 así como el tratamiento T1 es mejor que el tratamiento T3, el resultado en el tratamiento T1 podría atribuirse al agotamiento de los compuestos orgánicos utilizados por las bacterias, las mismas que actúan como la fuente de fósforo (Castillo et al., 2010; Garg et al., 2008), el número de lombrices fue superior en este tratamiento contribuyendo a la activación de microorganismos que mineralizan los compuestos orgánicos (Sanwang, 2008).

### 4.3.3. Potasio

La tabla 12 muestra el contenido de potasio (K) en los diferentes tratamientos, la concentración más alta se presenta en el tratamiento T1 con 8799.333 ppm (mg/Kg), seguido del tratamiento T2 con 6986.667 ppm mientras que el tratamiento T3 presenta la concentración más baja con 5734.667 ppm, el potasio fue mayor en presencia de lombriz que en el tratamiento sin lombriz (Figura 9), el resultado podría atribuirse al proceso de mineralización de la materia orgánica, la lombriz contribuye al proceso de mineralización y activación de microorganismos encargados de la mineralización (Sanwang, 2008), el mismo que obtuvo una concentración final de potasio entre 5800 y 10000 ppm en presencia de lombriz, mientras que en la ausencia obtuvo 4900 ppm, asimismo Rodrigues (2017) también reportó valores de 162 y 513 ppm, en la presente investigación la concentración más alta se presenta en la combinación de estiércol, lombriz y lodo, por lo que se deduce que este sustrato resulta ser el más óptimo en la obtención de fósforo.

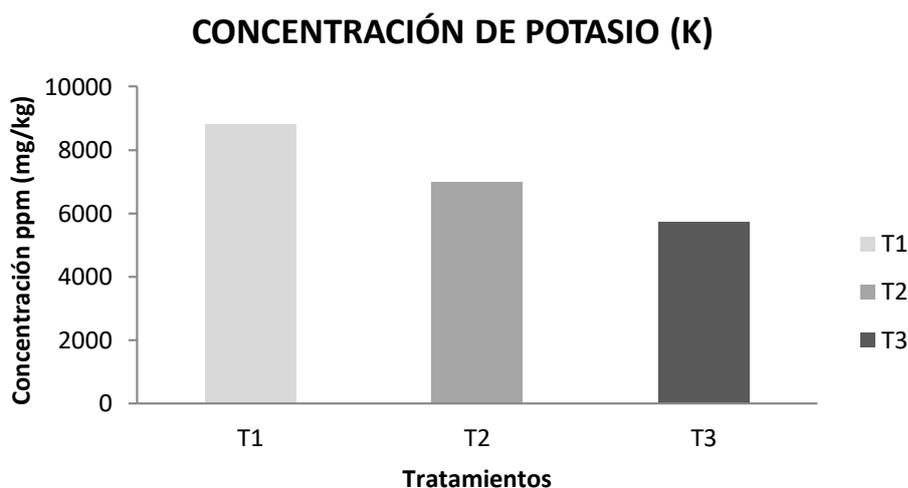


Figura 9. Concentración de Potasio.

La tabla 13 muestra las comparaciones múltiples de las medias de la concentración de potasio en los tratamientos T1, T2 y T3 aplicados al lodo, se utilizó la prueba estadística Tukey considerando un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados estadísticos muestran que los tratamientos T1, T2 y T3 se encuentran en diferentes agrupaciones A, B y C respectivamente por lo tanto estadísticamente todos los tratamientos son diferentes, siendo el tratamiento T1 mejor que el tratamiento T2 así como el tratamiento T2 es mejor que el tratamiento T3, el incremento podría ser causado por la fosfatasa fecal de las lombrices que contribuyen al incremento de este mineral (Suthar, 2008).

#### 4.3.4. Calcio

La tabla 12 muestra los resultados del contenido de calcio (Ca) en los tratamientos T1, T2 y T3, el valor más alto se presenta en el tratamiento T1 con 23821.667 ppm, seguido del tratamiento T2 con 19317.667 ppm mientras que el tratamiento T3 presenta la más baja concentración con 18505.000 ppm (figura 10), esto puede estar atribuido por la combinación con estiércol, lodo y lombriz, puesto que las interacciones entre las lombrices y los microorganismos son de gran importancia en la degradación de la materia orgánica y la liberación de nutrientes esenciales (Lee, 1985; Aira et al., 2002), por otro lado Sangwan (2008), encontró mayor contenido de calcio en lodo combinado con estiércol entre 10800 ppm hasta 13500 ppm, asimismo Garg (2005) obtuvo 1900 ppm hasta 3600 ppm demostrando la mezcla de lodo con estiércol influye de forma positiva en la concentración de calcio, por lo que se demuestra que el estiércol podría contribuir en un incremento de la concentración de calcio presente en el lodo vermicompostado.

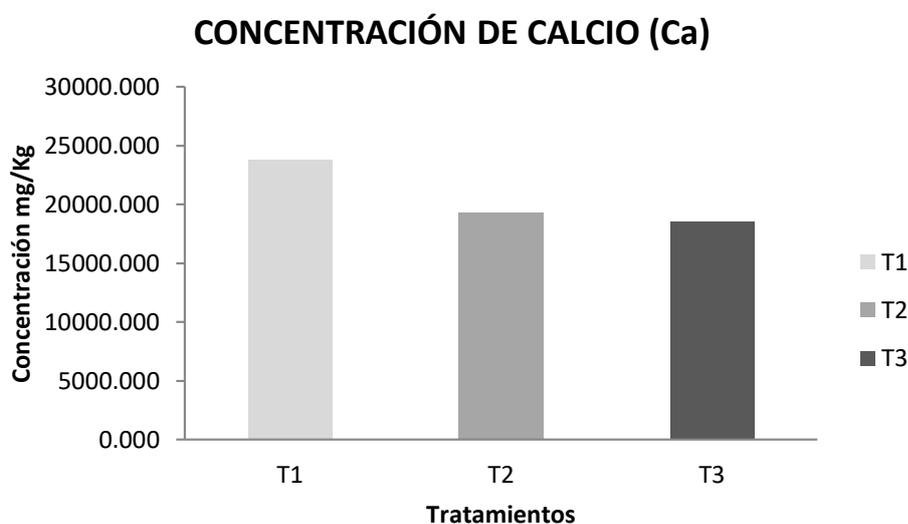


Figura 10. Concentración de Calcio.

En la tabla 12 muestra comparaciones múltiples de las medias de la concentración de calcio en los tratamientos T1, T2 y T3 aplicados al lodo, se utilizó la prueba estadística Tukey con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados muestran que los tratamiento T2 y el tratamiento T3 se encuentran en la agrupación B por lo tanto ambos tratamientos estadísticamente son iguales, mientras que el tratamiento T1 se encuentra en la agrupación A por consiguiente este tratamiento es diferente, por lo tanto se demuestra que el tratamiento T1 es mejor que el tratamiento T2 y T3, sin embargo de acuerdo a los datos reales se puede deducir que estos tratamientos difieren entre sí, siendo el tratamiento T1 mejor que el tratamiento T2 así como el tratamiento T2 es mejor que el tratamiento T3.

#### 4.3.5. Magnesio

La tabla 12 muestra los resultados del contenido de Magnesio (Mg) en los tratamientos T1, T2 y T3, el valor más alto se presenta en el tratamiento T1 con 4590.667 ppm, seguido del tratamiento T2 con 4155.667 ppm mientras que el tratamiento T3 presenta la más baja concentración con 3795.333 ppm (figura 11), esto puede estar atribuido por la combinación con estiércol, lodo y lombriz, puesto que las interacciones entre las lombrices y los microorganismos son de gran importancia en la degradación de la materia orgánica y la liberación de nutrientes esenciales (Lee, 1985; Aira et al., 2002), la mezcla de lodo con estiércol influye de forma positiva en la concentración de magnesio, por lo que se demuestra que el estiércol podría contribuir al incremento de la concentración de calcio presente en el lodo vermicompostado.

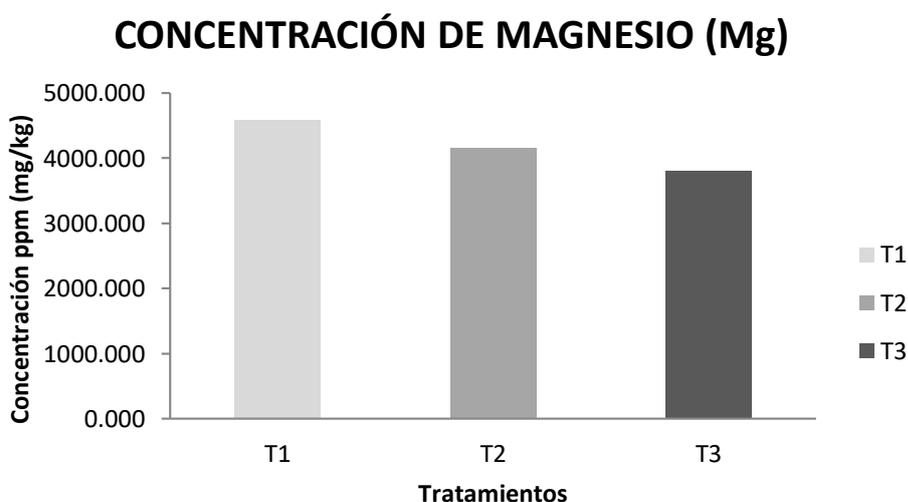


Figura 11. Concentración de Magnesio.

En la tabla 13, muestra comparaciones múltiples de las medias de la concentración de Mg en los tratamientos T1, T2 y T3 aplicados al lodo, para ello se analizó a través de la prueba estadística Tukey considerando un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ), los resultados muestran que el contenido más alto de Mg se presenta en el tratamiento T1, el mismo que se encuentra en la agrupación A, seguido del tratamiento T2 en el grupo B, mientras que, el tratamiento T3 presenta la más baja concentración encontrándose en el grupo C. De acuerdo a los resultados estadísticos muestra que el tratamiento T1 es mejor que el tratamiento T2, así como el tratamiento T2 es mejor que el tratamiento T3.

## CONCLUSIONES

La lombriz *Eisenia foetida* Sav. causa un efecto positivo en la obtención de abono orgánico mejorando la estabilización, higienización y toxicidad química convirtiéndolo en abono orgánico de buena calidad; el tratamiento más óptimo fue la combinación del lodo, estiércol y lombriz, obteniendo 58.67 g de ganancia en masa de lombriz e incremento de 209 lombrices en el proceso, según el indicador de degradación y transformación del lodo en abono, el producto final obtenido del tratamiento T1 presentó un color característico del abono orgánico de tonalidad 10YR 2/1, estos indicadores de masa, número de lombrices y color determinaron que las lombrices contribuyeron eficientemente en la transformación del lodo en abono orgánico.

El porcentaje de remoción de los tratamientos T1 (lodo + estiércol+ lombriz), T2 (lodo + lombriz) y T3 (lodo) fueron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ), donde la lombriz *Eisenia foetida* Sav. acelera la remoción de *Echerichia coli* en un 90% y 86%, *Salmonella sp* en 80% y 56% asimismo presenta una remoción de huevos de helminto de 77% y 59% en los tratamientos T1 y T2 respectivamente a diferencia del tratamiento T3 que no superó el 57% de remoción, siendo esta una tecnología eficaz para reducir los agentes patógenos presentes en el lodo de las lagunas de estabilización de la ciudad de Juliaca.

El contenido de macronutrientes presentó diferencia significativa entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), donde el tratamiento T1 presentó mayor concentración en nitrógeno (N) y potasio (K) magnesio (Mg) y Calcio (Ca) a diferencia del tratamiento T2 y T3, mientras que el contenido de fósforo (P) resultó ser superior en el tratamiento T2, por lo tanto se demuestra que el vermicompostaje mejora y contribuye al incremento del contenido de los macronutrientes.

## RECOMENDACIONES

Explorar la viabilidad del tratamiento a escala piloto empleando el compostaje y el vermicompostaje para obtener mejores resultados en el producto final, debido a que investigaciones demostraron la remoción del 100% de agentes patógenos.

Identificar las diferentes especies microbianas presentes en el proceso de vermicompostaje a fin de identificar el comportamiento entre la lombriz *Eisenia foetida* Sav. y los microorganismos.

Realizar un análisis inicial del contenido de macronutrientes a fin de identificar la variación de macronutrientes en el proceso de vermicompostaje.

Emplear otras especies de lombrices para evaluar el proceso de transformación del lodo en abono orgánico e integrar los invertebrados en la reducción de agentes patógenos así como procedimientos sanitarios que permitan garantizar la calidad del producto final.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, S., Singh, J., & Pal, A. (2016). Effect on Growth of Earthworm and Chemical Parameters during Vermicomposting of Pressmud Sludge Mixed with Cattle Dung Mixture. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 425–434. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.025>
- APHA AWWA WPCF. (1992). *Metodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. (American Public Health Association, American Water Works Association, & Federation Water Pollution Control Federation, Eds.) (17 Edicion). Madrid: Diaz de Santos S.A.
- Atiyeh, R., Domínguez, J., Subler, S., & Edwards, C. (2000). Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouche) and the effects on seedling growth. *Pedobiologia*, 44(6), 709–724. [https://doi.org/10.1078/S0031-4056\(04\)70084-0](https://doi.org/10.1078/S0031-4056(04)70084-0)
- Azizi, A., Lim, M., Noor, Z. M., & Abdullah, N. (2013). Ecotoxicology and Environmental Safety Vermiremoval of heavy metal in sewage sludge by utilising *Lumbricus rubellus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 90, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.006>
- Bakar, A., Mahmood, N., Teixeira, J., & Abdullah, N. (2011). Vermicomposting of Sewage Sludge by *Lumbricus rubellus* Using Spent Mushroom Compost as Feed Material: Effect on Concentration of Heavy Metals. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 1043, 1036–1043. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0147-y>
- Berna Yazici & Senay Yolacan (2007) A comparison of various tests of normality, *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 77:2, 175-183, DOI: 10.1080/10629360600678310
- Braga, F., Cardoso, P., Barbosa, M., Rodrigues, M., Sampaio, R., Fernandes, L., Fernandes, L., (2017). Chemical characterization of vermicompost of sewage sludge with different proportions of diatomaceous material. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 21(8), 519–523. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n8p519-523>
- Brusca R & Brusca G. (2005). *Invertebrados*. Sinauer Associates, Inc. Second edition. España. ISBN. 84-486-0246-3. M. 20-291-2005. (2)-1028

- Caldeira, M., Delarmelina, W., Peroni, L., Gonçalves, E., & da Silva, A. (2013). Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 43(2), 155–163. <https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000200002>
- Calderín, A., Guridi, F., & Berbara, R., (2014). Effects of Humic Materials on Plant Metabolism and Agricultural Productivity. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance: Biological Techniques* (Vol. 1, pp. 449-466). San Diego. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800876-8.00018-7>
- Castro, S. (2017). *Vermicompostaje utilizando Eisenia Foetida y bioabonos para la reducción de Huevos de Helminto de lodos residuales - planta de tratamiento CITRAR 2016*. Universidad César Vallejo. Universidad César Vallejo. Retrieved from <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/883>
- Cervantes & Marquez (2007). Diseño de experimentos, curso practico. Universidad Nacional Autonoma de Mexico. Mexico. 970-32-2913-1. Recuperado de [https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/biologia/ecocuan/ecocuan\\_dis\\_manual.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/biologia/ecocuan/ecocuan_dis_manual.pdf)
- Chen, Z., Hu, S., Hu, C., Huang, L., Liu, H., & Vymazal, J. (2016). Preliminary investigation on the effect of earthworm and vegetation for sludge treatment in sludge treatment reed beds system. *Environmental Science and Pollution Research*, 12(119), 57–63. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6399-5>
- Edwards, C. (1988). Breakdown of animal, vegetable and industrial organic wastes by earthworm. *Agric. Ecosyst. Environ.* 24, 21–31.
- Edwards, C., & Bohlen, P. J. (1996). *Biology and Ecology of Earthworms*. (1996 Springer Science & Business Media, Ed.) (3rd ed.). New York, NY: Springer Netherlands. Retrieved from [https://books.google.com.pe/books/about/Biology\\_and\\_Ecology\\_of\\_Earthworms.html?hl=es&id=ad4rDwD\\_GhsC&redir\\_esc=y&fbclid=IwAR0XZbXiXZdpC\\_ctsDt21Tl0DoQ6lZ2Wugwvs3yKionZ42qs7\\_lAltZiWSc](https://books.google.com.pe/books/about/Biology_and_Ecology_of_Earthworms.html?hl=es&id=ad4rDwD_GhsC&redir_esc=y&fbclid=IwAR0XZbXiXZdpC_ctsDt21Tl0DoQ6lZ2Wugwvs3yKionZ42qs7_lAltZiWSc)
- Emamjomeh, M. M., Tahergorabi, M., & Farzadkia, M. (2017). A Review of the Use of Earthworms and Aquatic Worms for Reducing Sludge Produced : An Innovative Ecotechnology. *Waste and Biomass Valorization*, 0(0), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9907-z>

- Fundación para la Investigación y el Desarrollo Agrícola [FIDAR]. (2014). *Manual de Utilización de los Residuos Orgánicos en la Agricultura*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Retrieved from [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos\\_CIAT/Residuos\\_Organicos\\_Agricultura\\_FIDAR.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_CIAT/Residuos_Organicos_Agricultura_FIDAR.pdf)
- Garg, K., Gupta, R., & Yadav, A. (2008). Potential of Vermicomposting Technology in Solid Waste Management. I. Pandey A., Soccol C.R. (Ed.), *Current Developments in Solid-state Fermentation Earth* (p. 517/521). Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-75213-6\\_20](https://doi.org/10.1007/978-0-387-75213-6_20)
- Gajalakshmi, S., Ramasamy, E.V., Abbasi, S.A., 2002. Vermi-composting of different forms of water hyacinth by the earthworm *Eudrilus eugeniae*, Kinberg. *Biores. Technol.* 82, 165–169.
- Gram. (2005). Manual De Vermicompostaje. Canarias. Retrieved from <http://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/campus/doc/htmls/sostenibilidad/ManualVermicompostaje.pdf>
- Gupta, R., & Garg, V. (2008). Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials*, 153, 1023–1030. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.055>
- Gupta, R., Mutiyar, P., Rawat, N., Saini, M., & Garg, V. (2007). Development of a water hyacinth based vermireactor using an epigeic earthworm *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, 98(1), 2605–2610. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.007>
- Hait, S., & Tare, V. (2011). Optimizing vermistabilization of waste activated sludge using vermicompost as bulking material. *Waste Management*, 31(3), 502–511. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.11.004>
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). Metodología de la investigación. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Hu, S., & Chen, Z. (2018). Earthworm effects on biosolids characteristics in sludge treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 118(March), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.04.016>

- Juarez, J., Franco, H., & Ascensio, R. (2009). Manual de Prácticas de Laboratorio de Química Ambiental I. Instituto Politécnico Nacional.
- Kaplan, D., Hartenstein R., Neuhauser, E., & Malecki, M. (1980). Physicochemical requirements in the environment of the earthworm *Eisenia foetida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 12(4), 347–352. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(80\)90008-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(80)90008-5)
- Kizilkaya, R., & Hepşen, F. (2014). Vermicomposting of anaerobically digested sewage sludge with hazelnut husk and cow manure by earthworm *Eisenia foetida*. *Compost Science and Utilization*, 22(2), 68–82. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2014.895454>
- Kuter, G., Blackwood, K., Díaz, J., Donovan, D., Durfee, E., Epstein, J., Williams, T. (1995). Biosolids Composting. *Water Environment Federation*. Whashington. 187p.
- Li, X., Xing, M., Yang, J., & Dai, X. (2014). Earthworm eco-physiological characteristics and quantification of earthworm feeding in vermifiltration system for sewage sludge stabilization using stable isotopic natural abundance. *Journal of Hazardous Materials*, 276, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.042>
- Liu F., Zhu P., & Xue J. (2012). Comparative study on physical and chemical characteristics of sludge vermicomposted by *Eisenia fetida*. *Procedia Environmental Sciences*, 16, 418 – 423. doi: 10.1016/j.proenv.2012.10.058
- Ludibeth, S., Marina, I., Vicenta, E. M., Ludibeth, S., Marina, I., & Vicenta, E. M. (2012). Vermicomposting of Sewage Sludge: Earthworm Population and Agronomic Advantages Vermicomposting of Sewage Sludge: Earthworm Population and Agronomic Advantages. *Compost Science & Utilization*, 20(1), 11–17. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2012.10737016>
- Marquina, L., & Martinez, J. (2016). *Obtención de abonos orgánicos por medio de las lombrices "Eisenia Foetida" a partir de los lodos residuales de la Planta de Tratamiento de aguas residuales San Antonio de Carapongo Lima - Perú. (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional del Callao. Lima, Perú. Retrieved from <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/1745>
- Martinez, C. (2003). Abonos Orgánicos: Origen, Usos y Aplicación. Secretaría de Desarrollo Social del Gobierno del Estado de Chiapas. Dirección de Promoción Social. Chiapas, Mexico:

- Ministerio de Ambiente (21, de Diciembre de 2006). Decreto Supremo que aprueba el Reglamento de la ley integral de residuos solidos. [D.S. 014-2017-MINAM]. DO: [Diario Oficial el Peruano]. Recuperdo de [http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/12/ds\\_014-2017-minam.pdf](http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/12/ds_014-2017-minam.pdf)
- Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento (13, de Mayo de 2006). Decreto Supremo que aprueba el Reglamento General de Edificaciones. Norma OS.090. [D.S.011-2006-VIVIENDA]. DO: [Diario Oficial el Peruano]. Recuperdo de <http://www3.vivienda.gob.pe/ejes/vivienda-y-urbanismo/documentos/Reglamento%20Nacional%20de%20Edificaciones.pdf>
- Ministerio de Vivienda construcción y Saneamiento. (22, de Junio de 2017)) Decreto Supremo que aprueba el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. [D.S. 015-2017-VIVIENDA]. DO: [Diario Oficial el Peruano]
- Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento (13, de Marzo de 2018). Resolución Ministerial que aprueba el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos. [R.M. 093-2018-VIVIENDA]. DO: [Diario Oficial el Peruano]
- Municipalidad Provincial de San Róman. (2017). *Plan de Desarrollo Urbano de la ciudad de Juliaca 2016-2025*. Juliaca. Retrieved from <http://eudora.vivienda.gob.pe/OBSERVATORIO/documentos/PDU/Juliaca/1 Volumen 1 - PDU Juliaca>
- Ndegwa, Pius & Thompson, Sidney & Das, K.C.. (2000). Effects of Stocking Density and Feeding Rate on Vermicomposting of Biosolids. *Bioresource Technology*. 71. 5-12. 10.1016/S0960-8524(99)00055-3.
- Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental [OEFA]. (2015). *Fiscalizacion ambiental en residuos solidos de gestion municipal*. Lima. *Primera edicion hecha en el depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2014-01884*. Retrieved from [webmaster@oefa.gob.pe](mailto:webmaster@oefa.gob.pe)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2013). *Manual de compostaje del agricultor, Experiencias en América Latina. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe*. Santiago. Recuperado en <http://www.fao.org/3/a-i3388s.pdf>

- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura UNESCO. (2017). Aguas Residuales el recurso desaprovechado. Paris. Retrieved from <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002476/247647s.pdf>
- Organización Panamericana de la Salud [OPS], & Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente [CEPIS]. (2005). *Manual de Agua Potable , Alcantarillado y Saneamiento Manual de Agua Potable , Alcantarillado y Saneamiento Diseño de Plantas de Tratamiento Pretratamiento y Tratamiento Primario Comisión Nacional del Agua. Publicaciones Estadísticas y Geográficas. SINA* (Vol. 130). Lima. <https://doi.org/10.3390/w10020099>
- Paco, G., Loza-Murguía, M., Mamani, F., & Sainz, H. (2012). Effect of the californian red worm ( *Eisenia foetida* ) during the compost. *Selva Andina Research Society*, 2(2), 24–39. Retrieved from [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2072-92942011000200004](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942011000200004)
- Pérez, E. A., Lagunes, J., Corona, J., & Barajas, M. (2017). Growth and reproductive potential of *Eisenia foetida* ( Sav ) on various zoo animal dungs after two methods of pre-composting followed by vermicomposting. *Waste Management*, 64, 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.036>
- Pedrosa, I., Juarros, J., Robles, A., Basteiro, J., & García, E. (2014). Pruebas de bondad de ajuste en distribuciones simétricas, ¿qué estadístico utilizar?. *Universitas Psychologica*, 14(1), 245-254. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.upsy14-1.pbad>
- Reinecke, A. J., & Kriel, J. R. (1981). Influence of temperature on the reproduction of the earthworm *Eisenia foetida* ( *Oligochaeta* ). *South African Journal of Zoology*, 16(2), 96–100. <https://doi.org/10.1080/02541858.1981.11447740>
- Renieckk, A., Viligen, S., & Saayman, R. (1992). The Suitability of *Eudrilus Exca Vatus* And *Ersenia* for In Southern Africa in Terms of their Temperature Requirements. *Soil, Biol, Biochem*, 24(12), 1295–1307.
- Romero-Aguilar, M., Colín-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. L. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: Evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 25(3), 157–167. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n3/v25n3a4.pdf>

- Sangwan, P., Kaushik, C. P., & Garg, V. K. (2008). Feasibility of utilization of horse dung spiked filter cake in vermicomposters using exotic earthworm *Eisenia foetida*, 99, 2442–2448. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.061>
- Schiffman, S. S., Walker, J. M., Dalton, P., Lorig, T. S., James, H., Shusterman, D., & Williams, M. (2008). Potential Health Effects of Odor from Animal Operations , Wastewater Treatment , and Recycling of Byproducts. *Agromedicine*, 7(1), 7–81. [https://doi.org/10.1300/J096v07n01\\_02](https://doi.org/10.1300/J096v07n01_02)
- Secretaria de Agricultura Ganaderia Desarrollo rural pesca y alimentación [SEGARPA]. (2010). Ficha técnica de Lombricultura. *Sistema de Agronecios de Traspatio*. Mexico: Texoco, Edo. de Mexico. Retrieved from <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrollorural/documents/fichasaapt/lombricultura.pdf>
- Seda Juliaca. (2014). *Memoria anual 2014*. Juliaca: . Retrieved from <https://www.sedajuliaca.com/images/indicadoresgyg/memoria2014.pdf>
- Seda Juliaca. (2017). Especialistas del Ministerio de Vivienda visitan las lagunas de estabilización de Seda Juliaca para evaluar y financiar el mantenimiento de su infraestructura. Consultado el 26 Julio 2018. Retrieved from <http://www.sedajuliaca.com/index.php/71-especialistas-del-ministerio-de-vivienda-visitacion-lagunas-de-estabilizacion-de-sedajuliaca-para-evaluar-y-financiar-el-mantenimiento-de-su-infraestructura>
- Seda Juliaca. Plan Operativo Institucional 2018 (2018). Juliaca. Retrieved from <http://www.sedajuliaca.com/images/transparencia/poi2018.pdf>
- Serpa, M. (2017). *Remoción de metales pesados Cd y Hg en lodos residuales de la laguna de estabilización secundaria el Espinar Puno, utilizando vermicomposteo. (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional del Altiplano Puno. Retrieved from <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5070>
- Shain D. (2009). *Annelids in Modern Biology*. Wiley-Blackwell. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Canada. 2- 373.
- Sueli, A., Rodrigues, D. L., Mesak, C., Luiz, M., Silva, G., Souza, G., ... Malafaia, G. (2017). Organic waste vermicomposting through the addition of rock dust inoculated with domestic sewage wastewater. *Journal of Environmental Management*, 196, 651–658. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.072>

- Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento-SUNASS, & Cooperación Alemana GIZ. (2015). *Diagnóstico de las plantas de tratamiento de aguas residuales en el ámbito de operación de las entidades prestadoras de servicios de saneamiento* (Vol. I). Lima. Retrieved from <http://www.sunass.gob.pe/doc/Publicaciones/ptar.pdf>
- Suthar, S. (2009). Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Journal of Hazardous Materials*, 163, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.106>
- Taki K., Gogoi A., Mazumder P, Bhattacharya S., Kumar M., (2019). Efficacy of vermitechnology integration with Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) and activated sludge for metal stabilization: A compliance study on fractionation and biosorption, *Journal of Environmental Management*, 236, 603-612, ISSN 0301-4797. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.006>.
- U.S. Environmental Protection Agency EPA. (2003). *Environmental Regulations and Technology Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge Control of Pathogens and Vector Attraction*. EPA/625/R-92/013 Cincinnati.
- Vera, J. (2013). Bioremediation Treatments for Disposal of Waste Generated of Inorganic Salts General Chemistry Laboratory Using Technical Vermiculture Tratamientos Biorremediacion. *Agua, Aire y Suelo*, 4(1), 33–41. Retrieved from [http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs\\_viceinves/index.php/RA/article/view/148](http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/RA/article/view/148)
- Vicencio, M. G., Pérez, M. E., Medina, E., & Martínez, M. A. (2011). Producción de composta y vericomposta a partir de los lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales de un rastro. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(3), 263–270. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992011000300011&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992011000300011&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Water Environment Federation, American Society of Civil Engineers, & Environmental and Water Resources Institute. (2010). *WEF Manual of Practice No. 8, Design of Municipal Wastewater Treatment Plants* (5th ed.). New York, NY: McGraw-Hill Education. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Joshua\\_Boltz4/publication/313774106\\_Biofilm\\_Reactor\\_Technology\\_and\\_Design/links/58a59e0f92851cf0e397bd20/Biofilm-Reactor-Technology-and-Design.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Joshua_Boltz4/publication/313774106_Biofilm_Reactor_Technology_and_Design/links/58a59e0f92851cf0e397bd20/Biofilm-Reactor-Technology-and-Design.pdf)

- Xie, G. J., Liu, B. F., Wang, Q., Ding, J., & Ren, N. Q. (2016). Ultrasonic waste activated sludge disintegration for recovering multiple nutrients for biofuel production. *Water Research*, 93(1), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.012>
- Zhao, L., Wang, Y., Yang, J., Xing, M., Li, X., Yi, D., & Deng, D. (2010). Earthworm – microorganism interactions : A strategy to stabilize domestic wastewater sludge. *Water Research*, 44(8), 2572–2582. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.01.011>
- Zhi-Wei S, Tao S, Wen-Jing D, Jing W. (2019). Investigation of rice straw and kitchen waste degradation through vermicomposting. *J Environ Management*. 243, 269-272. doi:10.1016/j.jenvman.2019.04.126. PMID: 31102894.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

Protocolo de monitoreo de biosólidos aprobado con Resolución Ministerial N°093-2018-Vivienda.



[www.ingesa.pe](http://www.ingesa.pe)

# Resolución Ministerial

13 MAR. 2018

N° 093-2018-VIVIENDA

### CONSIDERANDO:

Que, la Sexta Disposición Complementaria Final del Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos establece que el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento emite, mediante Decreto Supremo, el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos de los Sistemas de Tratamiento generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas para consumo humano, Plantas de Tratamiento de Agua Residuales y otros sistemas vinculados a la prestación de los servicios de saneamiento, el cual debe contar con el refrendo del Ministerio del Ambiente

Que, mediante Decreto Supremo N° 015-2017-VIVIENDA, se aprueba el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, el cual tiene por objeto establecer las disposiciones para determinar las características de los Lodos, así como la clasificación, los parámetros para la producción y el control de la aplicación de los biosólidos provenientes de la estabilización de Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales domésticas o municipales;

Que, la Quinta Disposición Complementaria Final del referido Reglamento dispone que el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento en el término de ciento ochenta (180) días calendario aprueba, mediante Resolución Ministerial, el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos;

Que, el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos es la herramienta que permite establecer los procedimientos y metodologías que deben cumplirse para la determinación de la calidad de los Lodos provenientes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales u otros sistemas de saneamiento para la disposición final o reaprovechamiento, en el marco de lo establecido en las Condiciones Mínimas de Manejo de Lodos y las Instalaciones para su Disposición Final, aprobadas mediante Resolución Ministerial N° 128-2017-VIVIENDA;

De conformidad con lo dispuesto en la Ley N° 30156, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, su Reglamento de Organización y Funciones, aprobado por Decreto Supremo N° 010-2014-VIVIENDA, modificado por el Decreto Supremo N° 006-2015-VIVIENDA y en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, aprobado mediante Decreto Supremo N° 015-2017-VIVIENDA;



**SE RESUELVE:**

**Artículo 1. Aprobación del Protocolo de Monitoreo de Biosólidos**

Apruébese el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos que como anexo forma parte integrante de la presente Resolución Ministerial.

**Artículo 2. Publicación**

La presente Resolución Ministerial y el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos que se aprueba en el artículo precedente, son publicados en el Portal Institucional del Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento ([www.vivienda.gob.pe](http://www.vivienda.gob.pe)) el mismo día de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

Regístrese, comuníquese y publíquese



  
.....  
**CARLOS BRUCE**  
Ministro de Vivienda,  
Construcción y Saneamiento

## PROTOCOLO DE MONITOREO DE BIOSÓLIDOS

### CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	3
2	JUSTIFICACIÓN.....	4
3	OBJETIVO.....	4
3.1	Objetivo general.....	4
3.2	Objetivo específico.....	4
4	MARCO LEGAL.....	4
5	ALCANCE Y APLICACIÓN DEL PROTOCOLO.....	5
6	METODOLOGÍA.....	5
6.1	Toma y manejo de muestra.....	5
6.1.1	Plan de monitoreo – Control de calidad en el monitoreo.....	5
6.1.2	Toma de muestra.....	6
6.1.3	Preservación - Conservación y transporte de muestra.....	17
6.1.4	Frecuencia de monitoreo.....	19
6.1.5	Documentación.....	19
6.1.6	Normas y buenas prácticas nacionales e internacionales.....	21
6.2	Análisis de muestras en laboratorios.....	21
6.2.1	Parámetros relevantes.....	21
6.2.2	Número de análisis.....	22
6.2.3	Términos de referencia para el análisis en los primeros 3 años.....	22
6.2.4	Términos referencia para el análisis luego de los 3 años.....	27
6.2.5	Manejo de los resultados de monitoreo.....	27
7	BIBLIOGRAFÍA.....	28
8	ANEXOS.....	29
8.1	Etiqueta del envase de muestra.....	29
8.2	Protocolo de transporte – Cadena de custodia.....	30
8.3	Equipos de muestreo de lodos o biosólidos.....	31



### Índice de ilustraciones

Ilustración 1:	Ejemplo de una tabla de números aleatorios (Brobst, 2017).....	13
Ilustración 2:	Las líneas 3 hasta 5 de la tabla de número aleatorios según Ilustración 1 con determinación de los 27 números de dos (2) dígitos que representan los números de las cuadras de donde se tomará la muestra de puntual del cuerpo del sustrato. ....	13
Ilustración 3:	Esquema de la laguna con malla de 100 cuadrados uniformes sobre toda la superficie de lodo o biosólido acumulado (cuadro con línea ancha). ....	14

**Índice de tablas**

Tabla 1: Cantidad de muestras requeridas (Brobst, 2017)..... 12

Tabla 2: Equipos de toma de muestra según consistencia del lodo o biosólido (Brobst, 2017) (Véase también el anexo) ..... 16

Tabla 3: Condición de preservación y tiempos de almacenamiento de muestras de biosólidos (US EPA, POW Sludge Sampling And Analysis Guidance Document , 1989), (State of Ohio Environmental Protection Agency, 2009) (New Jersey Department of Environmental Protection, 2012)..... 19

TABLA 4: Normas y recomendaciones internacionales para la medición de los parámetros de biosólidos relevantes según el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (Moodley, Archer, Hawksworth, & Leibach, 2008) (New Jersey Department of Environmental Protection, 2012) (State of Ohio Environmental Protection Agency, 2009) (US EPA, Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge, 2003) ..... 25



## 1 INTRODUCCIÓN

El Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos<sup>1</sup> establece entre las finalidades de la gestión integral, la valorización de los residuos, a través de la reutilización, reciclaje, compostaje u otras alternativas de aprovechamiento o disposición final.

Por otro lado, el precitado Decreto Legislativo establece en su Sexta Disposición Complementaria Final que el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento regula el reaprovechamiento de lodos generados en las plantas de tratamiento de agua para consumo humano, las plantas de tratamiento de aguas residuales y otros sistemas vinculados a la prestación de los servicios de saneamiento, de acuerdo con el tipo de actividad a desarrollar.

En ese marco, se emitió el Decreto Supremo N° 015-2017-VIVIENDA que aprueba el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, el cual establece las características de los lodos; así como la clasificación, los parámetros para la producción y el control de la aplicación de biosólidos provenientes de la estabilización de lodos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) domésticas o municipales.

El Protocolo de Monitoreo de Biosólidos es la herramienta que permite establecer los procedimientos y metodologías que deben cumplirse para determinar si un lodo proveniente de una PTAR puede ser calificado como biosólido, cumpliendo exigencias definidas respecto:

- Al grado mínimo de estabilización,
- A concentraciones máximas de metales pesados y
- A concentraciones máximas de parámetros microbiológicos, según el caso.

Además, permite determinar las restricciones en la tasa de aplicación de biosólidos en suelos para evitar dotaciones en exceso de nitrógeno y metales pesados.

La aplicación del protocolo, ante la ausencia de capacidades y oferta actual de laboratorios acreditados a nivel Nacional permite el desarrollo de actividades de monitoreo y control del cumplimiento de las disposiciones contenidas en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos Generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, contribuyendo a la protección del ambiente y la salud de las personas.



<sup>1</sup> Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos se emitió en el marco de la Ley N° 30506, Ley que delega en el Poder Ejecutivo la facultad de legislar en materia de reactivación económica y formalización, seguridad ciudadana, lucha contra la corrupción, agua y saneamiento y reorganización de Petroperú S.A., mediante la cual el Congreso de la República delega en el Poder Ejecutivo la facultad para legislar, por el término de noventa (90) días calendario, entre otras, en materia de reactivación económica y formalización, así como en agua y saneamiento.

## 2 JUSTIFICACIÓN

El Protocolo de Monitoreo de Biosólidos es la herramienta que brinda la orientación técnica necesaria para sustentar la producción de biosólidos y su reaprovechamiento adecuado, de conformidad con lo establecido en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. Asimismo, permitirá el desarrollo de acciones de monitoreo a cargo de productores y comercializadores, siendo una herramienta indispensable para las acciones de supervisión y fiscalización ambiental, ante la ausencia de laboratorios con acreditación de métodos necesarios para la caracterización de biosólidos.

Esta herramienta podrá utilizarse supletoriamente para la determinación de la calidad de los lodos generados en las PTAR u otros sistemas de saneamiento para la disposición final o reaprovechamiento en el marco de la Resolución Ministerial N° 128-2017-VIVIENDA.

## 3 OBJETIVO

### 3.1 Objetivo general

Estandarizar la metodología y unidades para el desarrollo del monitoreo, análisis de muestras y evaluación de biosólidos.

### 3.2 Objetivo específico

El protocolo de monitoreo tiene los siguientes objetivos específicos:

- a) Determinar el procedimiento y criterio técnico para la toma y manejo de muestras de lodos o sustratos de lodo producido en una PTAR; y,
- b) Definir criterios de análisis de estas muestras para evaluar si el lodo o sustrato de lodo producido en una PTAR cumple los criterios para ser calificado como biosólido.

## 4 MARCO LEGAL

El Protocolo de Monitoreo de Biosólidos es la herramienta que sirve como base para el desarrollo de las acciones de monitoreo, supervisión y fiscalización en el marco de lo establecido en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. En este sentido estas acciones están vinculadas a la aplicación e implementación de las siguientes normas:

- Ley N° 28611, Ley General del Ambiente.
- Ley N° 28245, Ley Marco del Sistema Nacional de Gestión Ambiental.
- Ley N° 29325, Ley del Sistema Nacional de Evaluación y Fiscalización Ambiental.
- Ley N° 30224, Ley que crea el Sistema Nacional para la Calidad y el Instituto Nacional de Calidad.
- Decreto Legislativo N° 1280, Decreto Legislativo que aprueba la Ley Marco de la Gestión y Prestación de los Servicios de Saneamiento.
- Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos.



- Decreto Supremo N° 014-2017-MINAM, que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo N° 1278, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos.
- Decreto Supremo N° 019-2017-VIVIENDA, que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo N° 1280, Decreto Legislativo que aprueba la Ley Marco de la Gestión y Prestación de los Servicios de Saneamiento.
- Decreto Supremo N° 015-2017-VIVIENDA, que aprueba el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales.
- Decreto Supremo N° 004-2015-PRODUCE, que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Calidad.
- Resolución Ministerial N° 128-2017-VIVIENDA, que aprueba las Condiciones Mínimas de Manejo de Lodos y las Instalaciones para su Disposición Final.

## 5 ALCANCE Y APLICACIÓN DEL PROTOCOLO

El Protocolo de Monitoreo de Biosólidos es aplicable de forma obligatoria para determinar si se ha producido un biosólido a partir de lodos o sustratos de lodos provenientes de una PTAR, así como para las acciones de monitoreo, supervisión y fiscalización en el proceso de producción y comercialización de biosólidos.

Por otro lado, el Protocolo de Monitoreo de Biosólidos se centra en la definición de condiciones para el análisis de los parámetros con límites definidos en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales y otros sistemas de saneamiento que los generen.

No obstante, según el Reglamento precitado, la Dirección General de Asuntos Ambientales del Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento (en adelante, **MVCS**) puede exigir el monitoreo de parámetros adicionales. En este caso, es responsabilidad del productor o comercializador revisar si las condiciones definidas en el presente protocolo son aplicables para el monitoreo de parámetros adicionales.

El Protocolo de Monitoreo de Biosólidos debe ser aplicado para efectos de control operacional de los productores o comercializadores de biosólidos, sin perjuicio de la acreditación de laboratorios ante el Instituto Nacional de Calidad (en adelante, **INACAL**).

Asimismo, el presente Protocolo podrá ser aplicado para las actividades de monitoreo y supervisión en el marco de la Resolución Ministerial N° 128-2017-VIVIENDA "Aprueban Condiciones Mínimas de Manejo de Lodos y las Instalaciones para su Disposición Final".



## 6 METODOLOGÍA

### 6.1 Toma y manejo de muestra

#### 6.1.1 Plan de monitoreo – Control de calidad en el monitoreo

El plan de monitoreo del lodo o biosólido es un documento adicional al manual de operación y mantenimiento de una PTAR (productora del lodo o biosólido) y es la base principal para el control de la calidad en el monitoreo. El plan debe asegurar condiciones similares cada vez que se realiza el monitoreo, a fin de asegurar la comparabilidad de los resultados, considerando los siguientes puntos:

- Metodología para la toma de muestra (se deben considerar las condiciones operacionales representativas de la PTAR productora del lodo o biosólido,

punto de toma muestra – de ser posible georreferenciación, volúmenes de muestras, reactivos de preservación, equipamiento usado, descripción del procedimiento, seguridad del trabajo).

- Contratación de laboratorios externos (lista de laboratorios, verificación de acreditación por parámetro requerido, definición de análisis requeridos, organización de la cadena de custodia, asegurar la adecuada cantidad y calidad de envases para el transporte).
- Documentación (etiquetas estandarizadas, formato y/o registro en el libro de ocurrencias, cadena de custodia).
- Procesamiento de la data (ruta para la evaluación interna, reportes de resultados a terceros).

### 6.1.2 Toma de muestra

La correcta toma de muestra es crucial para la representatividad de los resultados del análisis del lodo o biosólido y, por lo tanto, para concluir que se cumple con los criterios o parámetros establecidos para los biosólidos, lo que permite su aprovechamiento con riesgos controlados.

La representatividad de los resultados de una toma de muestra se aumenta analizando varias muestras puntuales en una ocasión o muestras compuestas preparadas de varias muestras puntuales. Sin embargo, el mejor conocimiento y fiabilidad sobre la calidad de lodos o biosólidos a largo plazo se logra realizando los monitoreos con las frecuencias definidas en el presente protocolo.

Los lodos o los biosólidos se monitorean, principalmente, en las condiciones en las cuales son entregados al usuario o comercializador, en el momento de la extracción de la PTAR. En caso los lodos o los biosólidos proceden de diferentes procesos de una PTAR como, por ejemplo, de los lechos de secados de los Tanques Imhoff (tratamiento primario) o de las lagunas de estabilización (tratamiento secundario) de la misma PTAR, donde no se puede asegurar una buena homogenización de los diferentes sustratos, se debe realizar lo siguiente:

1. Analizar el lodo o el biosólido de cada procedencia por separado.
2. Producir muestras compuestas con fracciones relacionadas a la producción de cada lodo o biosólido dentro la producción total de estos.

#### 6.1.2.1 Tipos de muestras

##### 6.1.2.1.1 Muestra puntual

La muestra puntual es la muestra de cierto tamaño que ha sido tomada en un punto y momento determinado. La muestra puntual representa únicamente la calidad del lodo o biosólido en el momento del muestreo y respecto a un punto determinado.

La extrapolación de los resultados a partir de una sola muestra puntual a todo el lodo o biosólido producido no es válida. Para asegurar la representatividad sobre la calidad del lodo o biosólido se deben tomar varias muestras puntuales y analizar cada muestra de manera separada o preparar y analizar muestras compuestas a partir de varias muestras puntuales.

##### 6.1.2.1.2 Muestra compuesta

La muestra compuesta es una muestra que resulta de la mezcla y homogenización de varias muestras puntuales. En caso del monitoreo de un lodo o biosólido acumulado por varias semanas o incluso por años, antes de la entrega al usuario (por ejemplo, en



contenedores, reservorios, lechos de secado, fondo de lagunas de estabilización, almiarés, etc.), la muestra compuesta se constituye de muestras puntuales tomadas al azar respecto a la ubicación en el cuerpo total del lodo acumulado, siguiendo las especificaciones en adelante.

Considerando que se trata de la toma de muestra de lodos o biosólidos acumulados por varias semanas, el tiempo entre dos (2) tomas de muestras puntuales no es un factor relevante para la calidad de la muestra compuesta. Se pueden tomar las muestras en el mismo momento o una tras otra, según el avance del trabajo de la toma de muestra.

En caso del monitoreo de un lodo o biosólido de un proceso productivo continuo (deshidratación mecánica, purga de lodo o biosólido líquido a un camión con tanque) la muestra compuesta se compone de muestras puntuales tomadas en el mismo punto. El intervalo entre la toma de cada muestra puntual debe ser por lo menos de treinta (30) minutos. Sin embargo, una mayor representatividad se asegura con la toma de un mínimo de cinco (5) muestras puntuales en un período de dos (2) semanas.

Generalmente, se produce la muestra compuesta de muestras puntuales de la misma masa o volumen. Es importante asegurar una buena homogenización de las muestras puntuales que forman la muestra compuesta, porque finalmente en el laboratorio se utiliza solo una menor parte de la muestra, lo que aumenta el riesgo de analizar solo la parte de una muestra puntual.

De toda la muestra compuesta se obtiene el volumen de muestra necesario para el análisis principal y en caso de su necesidad el volumen para la muestra dirimente.

El procedimiento práctico de la preparación y subdivisión de la muestra compuesta depende de la condición física de la muestra (véase los ítems 6.1.2.1.2.1 hasta 6.1.2.1.2.3).

#### **6.1.2.1.2.1 La preparación de muestras compuestas de lodos o biosólidos líquidos**

Las muestras compuestas de sustratos líquidos se producen asegurando una homogenización completa entre muestras puntuales dentro de un envase / botella de cuello ancho de plástico o acero inoxidable con un volumen que permite una agitación intensiva con barras batidoras de vidrio, teflón o cucharas de acero inoxidable.

Es importante que se evite la separación de las fases de la muestra por sedimentación, especialmente en el momento de transvasado de una submuestra, por ejemplo, para el envío al laboratorio. Una alternativa es la toma de la submuestra del volumen bien agitado mediante una pipeta con boca suficientemente abierta para tomar todas fracciones de sólidos de la muestra.

#### **6.1.2.1.2.2 La preparación de muestras compuestas de lodos o biosólidos pastosos**

Dependiendo de la consistencia se puede homogenizar lodos o biosólidos pastosos con batidoras mecánicas manuales. Otra opción aceptable es la homogenización con la mano (con guantes adecuados) de varias submuestras antes de juntar y homogenizar todo el sustrato.

La reducción de la muestra compuesta al volumen necesario para el análisis se realiza por cuarteo. Se forma de toda la muestra homogenizada una torta regular encima de una superficie lisa y limpia, partiéndola en 4 pedazos uniformes; 2 partes



diametralmente opuestas se homogeniza nuevamente y cuartea de la manera descrita antes, hasta cuando el volumen de la muestra se haya reducido al volumen necesario para el análisis principal y de ser el caso para la muestra dirimente.

La subdivisión y toma de la muestra se debe realizar rápidamente para evitar que se descomponga la mezcla.

#### **6.1.2.1.2.3 La preparación de muestras compuestas de lodos o biosólidos secos**

Los sustratos o lodos o biosólidos secos tienen la tendencia a formar conglomerantes de diferentes tamaños y de alta dureza. Por lo tanto, para una buena homogenización puede ser necesario reducir sus tamaños mediante el uso de molinos, batidoras o almireces.

Las submuestras, preparadas de tal manera, se juntan y homogenizan posteriormente en un envase cerrado, agitándolas o rotándolas.

En caso de grandes cantidades de muestras de sustrato granular se asegura la homogenización, ordenando las muestras puntuales en forma de un anillo encima de una superficie plana, lisa y limpia. Posteriormente, con una pala se lleva una parte del anillo hacia su centro avanzando por todo el perímetro del anillo donde se acumula un cono de las muestras mezcladas. Luego, se aplasta el cono para obtener un disco el cual se divide en cuatro (4) partes, se apila nuevamente en un cono, el cual se aplasta y divide nuevamente para su apilamiento. Este procedimiento se repite por lo menos 3 (tres) veces.

La reducción de la muestra compuesta al volumen necesario para el análisis se realiza por cuarteo como descrito en el ítem 6.1.2.1.2.2.

#### **6.1.2.1.3 Tipo de muestras para el análisis de los diferentes parámetros**

En caso del análisis de los parámetros químicos se analiza en el laboratorio muestras compuestas preparadas de un mínimo de cinco (5) muestras puntuales, salvo la definición de cantidades diferentes en el presente protocolo.

En caso del análisis de los parámetros microbiológicos se analizan muestras puntuales, sin mezcla con otras muestras.

#### **6.1.2.2 Punto de la toma de muestra**

Un buen punto de toma de muestra es representativo del material a evaluar, debe ser fácil de alcanzar sin peligros para la persona que toma la muestra. En el caso ideal debe asegurar la toma de muestra del lodo o biosólido en un proceso de movimiento, por ejemplo descargas de máquinas procesadoras del lodo, fajas transportadoras, tubos y canal de transporte de lodo. Sin embargo, esto depende mucho del proceso de generación del lodo y su condición física.

#### **6.1.2.2.1 Lodos o biosólidos líquidos**

##### Toma de muestra de tubos

Las muestras puntuales deben obtenerse directamente de tuberías transportadoras del lodo o biosólido. El punto de la toma de muestra debe ser siempre el mismo. Los puntos que aseguran una buena homogenización de las muestras son tubos de presión directamente después de la bomba de lodos, y tubos de mayor velocidad de flujo ( $> 0,6$  m/s). La instalación de la toma de muestra (tubos, válvulas) debe ser lavado con el mismo flujo de lodo o biosólido ante de la toma de muestra. El tiempo de lavado debe asegurar un volumen de lavado correspondiente a mayor que 3 veces del



volumen de la instalación misma. Además, hay que asegurar que sedimentos filamentosos atrapados en la instalación de muestra no favorezcan una filtración de la muestra tomada.

La toma de muestra de canales abiertos se realiza en zonas de buena mezcla mediante baldes o probetas adecuadas. Dependiendo del contenido de sólidos del lodo es posible toma la muestra por bombeo.

#### Toma de muestra de reservorios o cisternas

En caso de la toma de muestras puntuales de reservorios con agitación completa se puede sacar muestras de lodos o biosólidos líquidos en cualquier punto que asegure la representatividad y la toma de muestra en condiciones de seguridad.

En caso de toma de muestra de reservorios o camiones cisternas sin mezcla completa, se toma las muestras puntuales preferentemente durante la descarga del contenido en determinados intervalos. De esta manera se asegura la toma de muestras de los distintos estratos que se pueden formar en el lodo estancado. De las muestras puntuales se prepara una muestra compuesta, representativa del lodo total.

En caso de toma de muestra de reservorios sin agitación completa y acceso correspondiente se puede sacar también muestras puntuales de diferentes puntos distribuidos al azar sobre la superficie del reservorio. La cantidad (N) mínima de muestras puntuales a tomar en este caso se puede determinar según la Ecuación 1. de un volumen de lodo o biosólido conocido (V en m<sup>3</sup>) se puede determinar según la siguiente fórmula:

*Ecuación 1: Determinación de la cantidad mínima de muestras puntuales de un volumen de lodo o biosólido conocida*

$$N = V^{0.5}/2.$$

N = Cantidad mínima de muestras puntuales

V = Volumen del lodo o biosólido en m<sup>3</sup>

La cantidad mínima (n) debe ser en todo caso mayor o igual que 5. Opcionalmente se puede aplicar también el método descrito en el ítem 6.1.2.2.1.

Si no es posible asegurar la toma de todo el perfil del lodo o biosólido, se puede tomar en los puntos definidos alternativamente submuestras en diferentes profundidades, por ejemplo, a 25%, 50%, 75% de la profundidad total del sustrato acumulado.

#### **6.1.2.2.2 Lodos o biosólidos pastosos y secos**

##### Toma de muestra de descargas

En caso de la toma de muestra de lodos o biosólidos deshidratados mecánicamente se deben tomar muestras puntuales de la descarga del equipo de deshidratación, de las caídas de las fajas transportadoras a otras fajas o al punto almacenamiento temporal (contenedor o apilamiento), cada vez captando la muestra directamente de la caída de los lodos o biosólidos. Si es posible se capta toda la caída durante un tiempo definido en un recipiente adecuado o solo una parte.

##### Toma de muestras de fajas transportadoras

Como conglomerados de lodo tienen la tendencia de clasificarse según tamaño en una faja transportadora es importante tomar muestras de la sección transversal completa



de la faja. Esto se logra por ejemplo pasando una pala de forma transversal de un lado al otro lado de la faja operativa, desviando la cantidad necesaria del lodo o biosólido al recipiente de la muestra. En caso que la cinta no opere se toma el volumen necesario de la muestra directamente de la cinta.

#### Toma de muestra de contenedores

En caso de la toma de muestra de un contenedor estándar para el transporte vial, se debe conseguir al menos cuatro (4) muestras de diferentes puntos del contenedor. Cada muestra debe contener todo el perfil del lodo o biosólido acumulado o submuestra de diferentes profundidades a lo largo del perfil. Es importante no tomar solo muestras superficiales, porque la superficie generalmente está expuesta a impactos climáticos, lo que puede afectar la concentración de sólidos, sólidos volátiles y nutrientes. Por lo tanto, preferentemente se toma muestras intermitentes durante el proceso de descarga del lodo o biosólido.

#### Toma de muestra de lechos de secado

En caso de toma de muestras de lechos de secado se divide la superficie de un lecho en cuatro (4) cuadros. Del centro de cada cuadro se saca una muestra puntual (en total cuatro (4) muestras) de todo el perfil del lodo o biosólido acumulado, permitiendo la preparación de una muestra compuesta por lecho a partir de las cuatro (4) muestras puntuales. Es importante evitar que la muestra de lodo sea contaminada con arena de la capa filtrante del lecho de secado.

En caso de la operación de varios lechos de secado en paralelo se repite este procedimiento en cada lecho.

Si los lechos de secado reciben el lodo o biosólido de diferentes procesos, por ejemplo, de diferentes Tanques Imhoff de una PTAR, es responsabilidad del productor decidir:

1. Si las unidades que alimentan los lechos de secado tienen un funcionamiento y eficiencia similar (por lo cual se pudiera esperar calidades similares en cada lecho de secado) y/o
2. El lodo o biosólido de los lechos de secado será bien homogenizado antes de su entrega.

En caso que se puedan homogenizar las muestras tomadas en cada lecho, se debe preparar mínimo una (1) muestra compuesta de las muestras compuestas por lecho de secado para el análisis en el laboratorio. De no ser posible, se deben analizar las muestras compuestas por lecho de secado separado.

#### Toma de muestra de almiarés o apilamientos

En caso de la toma de muestra de almiarés o apilamientos de lodos o biosólidos secos, que requieren ser removidos frecuentemente como en el proceso de compostaje, se obtienen las muestras puntuales de la máquina o del equipo que descarga el lodo o biosólido al envase de entrega o a diferentes profundidades de la parte del almiar desde la cual se está tomando el sustrato para el envasado. Es importante no tomar solo muestras superficiales, porque la superficie generalmente está expuesta a impactos climáticos, que pueden afectar la concentración de sólidos y nutrientes.



La cantidad mínima de muestras a tomar se puede determinar según la Ecuación 1. Opcionalmente se puede aplicar también el método descrito en el ítem 6.1.2.2.1.

En caso de toma de muestra desde arriba de almiares o apilamientos hay que tomar precauciones especiales respecto a la seguridad en el trabajo.

#### 6.1.2.2.1 Muestras de cuerpos de lodo o biosólido acumulado de grandes extensiones

En caso de toma de muestras puntuales de cuerpos de lodo o biosólido acumulado de grandes extensiones, por ejemplo, en patios de acopio y/o en el fondo de lagunas de estabilización, se deberá determinar mediante consideraciones estadísticas:

- la ubicación de los puntos de la toma de muestra y
- la cantidad (N) mínima de muestras puntuales

La cantidad (N) de muestras puntuales a tomar por superficie del cuerpo de lodo o biosólido corresponde a lo indicado en la Tabla 1 y depende del caudal de ingreso a la PTAR generadora del lodo o biosólido.

##### Determinación de la ubicación de los puntos de muestra

Para determinar la ubicación de los puntos de toma de muestras puntuales se sigue los siguientes pasos:

- 1) Preparar un esquema del cuerpo del lodo o biosólido según escala en una hoja A4.
- 2) Poner una malla de 100 cuadrados de la misma superficie encima del esquema. Asignar a cada cuadrado un número, contando de 0 a 99 de un cuadrado al siguiente. Este procedimiento es comparable con el procedimiento para la definición de los puntos de medición cuando se realiza la batimetría de lodos en una laguna operativa.
- 3) Determinar en una tabla de números aleatorios la cantidad (N) de números de dos (2) dígitos. Se empieza con una línea de la tabla de números aleatorios elegida al azar. La Ilustración 1 demuestra el ejemplo de una tabla de números aleatorios. Entre los números de 2 dígitos determinados no se permite repeticiones.
- 4) Los (N) números aleatorios determinados corresponden con los números de los cuadrados de la malla puesta encima del esquema en el segundo paso.

Cabe mencionar que en caso de irregularidad del cuerpo de lodos o biosólidos algunos cuadrados de la malla quedan fuera de cuerpo de lodo o biosólido. En este caso hay que aumentar la cantidad de los números determinados de la tabla de número aleatorios hasta cuando la cantidad de los cuadrados dentro del cuerpo de biosólidos determinados corresponde con la cantidad (N) mínima de muestras a tomar "N".

Como se indica en el ítem 6.1.2.1.3, para el análisis de parámetros microbiológicos se analizan muestras puntuales. Por lo tanto, la Tabla 1 indica también la cantidad mínima de muestras puntuales del lodo o biosólido que se deben analizar en caso de necesidad, dependiendo del tamaño de la PTAR.



Tabla 1: Cantidad de muestras requeridas (Brobst, 2017)

Tamaño de la PTAR en caudal en L/s	Cantidad mínima de muestras puntuales tomadas "N" <sup>1),3)</sup>  (Para preparar muestra compuesta)	Número de muestras compuestas preparadas a partir de (N) a analizar <sup>1),2)</sup>	Número mínimo de muestras puntuales para el análisis de parámetros microbiológicos <sup>1)</sup>
< 10	15	1	2
≥ 10 < 100	27	1	3
≥ 100 < 300	31	2	4
≥ 300	36	3	5

Nota:

- 1) En caso de lagunas el número de muestras se refiere a cada laguna.
- 2) Corresponde con la frecuencia anual de monitoreo para PTAR con producción anual de sustrato, según tabla 4 del Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales para biosólidos de Clase A
- 3) De forma opcional se puede determinar la cantidad mínima (N) de muestras puntuales por laguna según la Ecuación 1, considerando el volumen de lodo acumulado en la laguna.



39 65 76 45 45	19 90 69 64 61	20 26 36 31 62	38 24 97 14 97	95 06 70 99 00
73 71 23 70 90	65 97 60 12 11	31 56 34 19 19	47 83 75 51 33	30 62 38 20 46
72 20 47 33 84	51 67 47 97 19	98 40 07 17 66	23 05 09 51 80	59 78 11 52 49
75 17 25 69 17	17 95 21 78 58	24 33 45 77 48	69 81 84 09 29	93 22 70 45 50
37 48 79 83 74	63 52 06 34 30	01 31 60 10 27	35 07 79 71 53	28 99 52 01 41
02 89 08 16 94	85 53 83 29 95	56 27 09 24 43	21 78 55 09 82	72 61 88 73 61
87 18 15 70 07	37 79 49 12 38	48 13 93 53 96	41 92 45 71 51	09 18 25 38 94
98 83 71 70 15	89 09 39 59 24	00 06 41 41 20	14 36 59 25 47	54 45 17 24 89
10 08 58 07 04	76 62 16 48 68	58 76 17 14 86	59 53 11 52 21	66 04 18 72 07
47 90 56 37 31	71 82 13 50 41	27 55 10 24 92	28 04 67 53 44	95 23 00 84 47
93 05 31 03 07	34 18 04 52 35	74 13 39 35 22	68 95 23 92 35	36 63 70 35 33
21 89 11 47 99	11 20 99 45 18	76 51 94 84 86	13 79 93 37 55	98 16 04 41 67
95 18 94 06 97	27 37 83 28 71	79 57 95 13 91	09 61 87 25 21	56 20 11 32 44
97 08 31 55 73	10 65 81 92 59	77 31 61 95 46	20 44 90 32 64	26 99 76 75 63
69 26 86 86 13	59 71 74 17 32	48 38 75 93 29	73 37 32 04 65	60 82 29 20 25
41 47 10 25 03	87 63 93 95 17	81 83 83 04 49	77 45 85 50 51	79 88 01 97 30
91 94 14 63 62	08 61 74 51 69	92 79 43 89 79	29 18 94 51 23	14 85 11 47 23
80 06 54 18 47	08 52 85 08 40	48 40 35 94 22	72 65 71 08 86	50 03 42 99 36
67 72 77 63 99	39 85 84 46 06	64 71 06 21 66	89 37 20 70 01	61 65 70 22 12
59 40 24 13 75	42 29 72 23 19	06 94 76 10 08	81 30 15 39 14	81 83 17 16 33
63 62 06 34 41	79 53 36 02 95	94 61 09 43 62	20 21 14 68 86	94 95 48 46 45
78 47 23 53 90	79 93 96 38 63	34 35 52 05 09	85 43 01 72 73	14 93 87 81 40
87 68 62 15 43	97 48 72 66 48	53 16 71 13 81	59 97 50 99 52	24 62 29 42 31
47 60 92 10 77	26 97 05 73 51	88 46 38 03 58	72 68 49 29 31	75 70 16 08 24
36 88 87 59 41	06 87 37 78 48	65 88 69 58 39	88 02 84 27 83	85 81 56 39 38
22 17 68 65 84	87 02 22 57 51	68 69 80 95 44	11 29 01 95 80	49 34 35 86 47
19 36 27 59 46	39 77 32 77 09	79 57 92 36 59	89 74 39 82 15	08 58 94 34 74
16 77 23 02 77	28 06 24 25 93	22 45 44 84 11	87 80 61 65 31	09 71 91 74 25
78 43 76 71 61	97 67 63 99 61	80 45 67 93 82	59 73 19 85 23	53 33 65 97 21
03 28 28 26 08	69 30 16 09 05	53 58 47 70 93	65 56 45 65 79	45 56 20 19 47
04 31 17 21 56	33 73 99 19 87	28 72 39 27 67	53 77 57 68 93	60 61 97 22 61
61 05 98 03 91	87 14 77 43 96	43 00 65 98 50	45 60 33 01 07	98 99 46 50 47
23 68 35 26 00	99 53 93 61 28	52 70 05 48 34	56 65 05 61 88	90 92 10 70 80
15 39 25 70 99	93 86 52 77 85	15 33 59 05 28	22 87 26 07 47	86 96 98 29 06
58 71 56 30 24	18 46 23 34 27	85 13 99 24 44	49 18 09 79 49	74 16 32 23 02
93 22 53 64 39	07 10 63 76 35	87 03 04 79 88	08 13 13 85 51	55 34 57 72 69
78 76 58 54 74	92 38 70 96 92	52 06 79 79 45	82 63 18 27 44	69 66 92 19 09
61 81 31 96 82	00 57 25 60 59	46 72 60 18 77	55 66 12 62 11	08 99 55 64 57
42 88 07 10 05	24 98 65 63 21	47 21 61 88 32	27 80 30 21 60	10 92 35 36 12
77 94 30 05 39	28 10 99 00 27	12 73 73 99 12	49 99 57 94 82	96 88 57 17 91

Ilustración 1: Ejemplo de una tabla de números aleatorios (Brobst, 2017)

El siguiente ejemplo ilustra la determinación de los 27 puntos de monitoreo del lodo o biosólido de una laguna de una PTAR de un caudal de  $\geq 10 < 100$  L/s.

- La Ilustración 2 indica la determinación de los 27 números de dos (2) dígitos en el rango de 00 hasta 99 de la tabla de números aleatorios según Ilustración 1, empezando con la línea 3, siguiendo con las líneas 4 y 5 de la tabla.

72 20 47 33 84	51 67 47 97 19	98 40 07 17 66	23 05 09 51 80	59 78 11 52 49
75 17 25 69 17	17 95 21 78 58	24 33 45 77 48	69 81 84 09 29	93 22 70 45 80
37 48 79 83 74	63 52 06 34 30	01 31 60 10 27	35 07 79 71 53	28 99 52 01 41

Ilustración 2: Las líneas 3 hasta 5 de la tabla de número aleatorios según Ilustración 1 con determinación de los 27 números de dos (2) dígitos que representan los números de las cuadras de donde se tomará la muestra de puntual del cuerpo del sustrato.

- La Ilustración 3 muestra el esquema de la laguna de estabilización con la malla de 0 hasta 99 cuadrados uniformes encima de su superficie (según el paso 1 del procedimiento definido anteriormente). Los cuadrados con líneas cruzadas representan los espacios determinados para la toma de muestra en el procedimiento indicado en la Ilustración 2. Las muestras se sacan del centro de cada cuadrado.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
60	61	62	63	64	65	66	67	68	69
70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
80	81	82	83	84	85	86	87	88	89
90	91	92	93	94	95	96	97	98	99

Ilustración 3: Esquema de la laguna con malla de 100 cuadrados uniformes sobre toda la superficie de lodo o biosólido acumulado (cuadro con línea ancha).

El incremento de la frecuencia de monitoreo a la que hace referencia el párrafo 17.5 del artículo 17 del Reglamento para el Reaprovechamiento de Lodos generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales no se considera para la toma de muestras establecidas en el presente numeral.

En caso que la calidad del lodo acumulado no corresponda a las exigencias de un biosólido, el reaprovechamiento no será posible.

#### 6.1.2.3 Consideraciones para la muestra

Para la toma de muestra se debe considerar lo siguiente:

- En caso de no usar para cada toma de muestra un equipo nuevo, debe lavarse intensamente<sup>2</sup> el equipo usado, para prevenir la contaminación de las siguientes muestras.
- En caso del monitoreo de parámetros microbiológicos es importante la desinfección del equipo después de cada toma de muestra.
- El procedimiento de la toma de muestra debe ser adecuadamente documentado.

En caso de toma de muestra de tubos transportadores de lodo, se debe purgar los restos de muestras anteriores del tubo de toma y lodo o biosólido estancado en la



<sup>2</sup> El lavado intenso involucra las siguientes actividades:

1. Remoción de sólidos pegados en el equipo.
2. Lavado del equipo en un balde con detergente y escobilla.
3. Enjuagar el equipo con agua y después con agua destilada.
4. En caso de medición de parámetros microbiológicos esterilizar el equipo.

línea de transporte. El equipo de toma de muestra se enjuaga tres (3) veces cada vez, antes que se tome una muestra, para reducir la contaminación cruzada.

#### **6.1.2.3.1 Volumen de la muestra**

El análisis de los parámetros establecidos en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, requiere un volumen de aproximadamente 2 kg (2 litros aproximadamente) para el total de los parámetros químicos y 0,5 kg (0,5 litros aproximadamente) para los parámetros microbiológicos.

El volumen total de una muestra compuesta debe ser suficiente para realizar hasta un mínimo de dos (2) análisis en paralelo, para el análisis principal y para la posible muestra dirimente.

El volumen o masa necesaria para la muestra depende también de la concentración de los sólidos. El análisis de los parámetros químicos requiere siempre de una masa mínima de sólidos, por lo cual lodos o biosólidos muy líquidos requieren más volumen, para tener la misma cantidad de sólidos que un lodo o biosólido ya deshidratado.

Por lo tanto, en caso de contratación de laboratorios externos se debe consultar antes sobre los volúmenes o masas exactas requeridas para las muestras, generalmente los laboratorios suministran los envases adecuados y preparados para envasar la cantidad necesaria.

#### **6.1.2.3.2 Equipo para la toma de muestra**

El equipo correcto para la toma de muestras del lodo o biosólido depende de su consistencia y del punto de monitoreo. La Tabla 2 indica los equipos de toma de muestra, para el caso que no sea posible obtenerla directamente de una tubería de transporte o la descarga del lodo o biosólido no sea accesible para la toma de muestra.

En caso de muestras puntuales líquidas de un reservorio, tanque o laguna, ésta se toma con un tubo de metal, plástico o vidrio de 1 – 2 pulgadas, con una válvula check en el fondo. El tubo se desliza lentamente y verticalmente por el lodo o biosólido acumulado, entonces la válvula check se abre y el lodo o biosólido ingresa al tubo según el perfil del lodo o biosólido analizado. En el momento de retiro del tubo la válvula check cierra y el lodo o biosólido queda atrapado.

El extractor de muestras de lodos o biosólidos secos es similar a un extractor de muestras de suelo y contiene 2 tubos concéntricos. El tubo exterior tiene una punta con la cual permite la penetración de la muestra. El extractor se cierra rotando el tubo interior.

El barreno de barrilete tubular para lodos o biosólidos semisecos o pastosos es un tubo cortado y abierto a lo largo del eje longitudinal. Este equipo se utiliza también para el monitoreo de suelos. La punta de un lado es puntiaguda, lo que permite la penetración del lodo o biosólido. La muestra queda atrapada en el espacio hueco del tubo cortado una vez que se lo retira del lodo o biosólido.

El barreno manual de tipo espiral permite sacar muestras de lodos o biosólidos compactos, este equipo se utiliza también para el monitoreo de suelos.

En el caso de lodos o biosólidos granulares, una pala de mano permite obtener la muestra.



Tabla 2: Equipos de toma de muestra según consistencia del lodo o biosólido (Brobst, 2017) (Véase también el anexo)

Equipo	Tamaño de muestra	Consistencia del sustrato	Tamaño del equipo
Equipo de toma de lodos o biosólidos líquidos	Corte transversal de toda la columna de lodo o biosólido o solo de una cierta altura de la columna (según equipo)	Sustratos de fluidez libre	1,5 – 15 m
Extractor de muestras	Corte transversal de la columna de lodo o biosólido	Sustratos granulares o en polvo	0.5 – 1.0 m
Barreno de barrilete tubular	Corte transversal de la columna de lodo o biosólido	Sustratos pegajosos	hasta 1.0 m
Barreno manual de tipo espiral	Corte transversal de la columna de lodo biosólido, muestra puntual	Biosólido compacto	variable
Pala manual	Muestra puntual	Sustratos granular, polvorizado o suelto	variable

El material del equipo para tomar y procesar las muestras no debe ser fuente de contaminación para la muestra, por lo cual se debe utilizar dispositivos de vidrio, teflón, acero inoxidable o plástico.

#### 6.1.2.3.3 Preparación de materiales y equipos

El siguiente listado considera los materiales, equipos e implementos de seguridad indispensables para llevar a cabo un monitoreo de forma efectiva. En ese sentido, es importante preparar con anticipación los materiales de trabajo, formatos (registro de datos de campo, etiquetas para las muestras de agua residual y cadena de custodia). Se debe contar, sin carácter limitante, con lo siguiente:

##### 6.1.2.3.3.1 Materiales

- Fichas de registro de campo
- Fichas de cadena de custodia
- Papel secante
- Cinta adhesiva
- Plumón indeleble
- Frascos debidamente preparados y etiquetados
- Cajas térmicas (pequeña y grande)
- Hielo u otro refrigerante
- Bolsas de poliburbujas u otro material de embalaje adecuado
- Piseta
- Agua destilada y/o desionizada
- Reloj
- Cinta métrica
- Papel aluminio
- Plano con los puntos de monitoreo predefinidos (en caso de monitoreo de mayores cuerpos de lodo)

##### 6.1.2.3.3.2 Equipos

- GPS para la identificación de los puntos de monitoreo



- Cámara fotográfica
- Equipamiento para la mezcla y homogenización según condición esperada del sustrato (botellas, batidora, pala, molino, almirez, etc.)
- Equipo de toma de muestra de lodo, según consistencia del biosólidos muestreado.

#### 6.1.2.3.3 Implementos de seguridad

- Botines de seguridad
- Gafas de seguridad
- Guantes de jebes antideslizantes con cubierta de antebrazo
- Guantes de látex descartables
- Casco
- Arnés para profundidades mayores a 1,50 m
- Escalera móvil en caso de toma de muestra de contenedores
- Mascarilla protectora descartable
- Mascarillas con filtros antigases, cuando corresponda
- Mameluco (en caso de muestreo de biosólido en forma de polvo)

#### 6.1.2.3.4 Seguridad de trabajo

Se establecen las siguientes consideraciones para prevenir daños personales, daños de materiales y equipos durante la ejecución del monitoreo de biosólidos:

1. Se debe preferir puntos de toma de muestra seguros, de fácil acceso.
2. Si la muestra se extrae por encima de un buzón, reactor, tanque, laguna u otro recipiente se deben guardar las medidas de seguridad para trabajos en alturas y/o encima de cuerpos de agua (uso de arnés, chalecos flotadores, máscara antigases, etc.)
3. Si el punto de muestreo está confinado es necesario ventilarlo antes de realizar la toma de muestra en un período mínimo de una hora. Es necesario, además, usar un detector de gas y/o usar un equipo de respiración autónoma.
4. Debe utilizarse guantes, zapatos antideslizantes y cascos.
5. Después del monitoreo es necesario cambiar los materiales, equipos e implementos de seguridad utilizados durante el mismo y que estuvieron en contacto con el lodo o biosólido, para prevenir contaminación de terceros.
6. El personal debe demostrar contar con vacunas vigentes a la fecha para Tetanus, Difteria, Polio, Hepatitis A, según correspondan.

En general se debe tener conocimiento de lo siguiente:

1. El peligro de explosión causado por la mezcla de gases explosivos en sistemas de alcantarillado o tanques de lodo insuficientemente estabilizados.
2. El riesgo de envenenamiento por gases tóxicos, por ejemplo, ácido sulfhídrico en lugares poco ventilados y aireados.
3. El riesgo de sofocación por la falta de oxígeno en lugares poco ventilados y aireados.
4. El riesgo de enfermedades causadas por organismos patógenos en biosólidos.
5. El riesgo de heridas físicas debido a caídas y deslizamiento.
6. El riesgo de ahogamiento.
7. El riesgo de impacto por objetos que puedan caer.

#### 6.1.3 Preservación - Conservación y transporte de muestra

Las muestras se transportan en envases de boca ancha de polietileno o teflón, materiales que no reaccionan con las muestras. El uso de envases de vidrio es



posible, sin embargo, requiere precauciones de seguridad especiales, debido a que se pueden formar gases y mayores presiones durante el transporte de la muestra, lo cual genera el riesgo de destrucción del envase implicando riesgos para la salud del personal y la pérdida de la muestra.

Los envases tienen que ser libres de fisuras y resistentes contra fuerzas mecánicas típicas durante el envío de cargas, utilizando en caso de botellas de vidrio, bolsas de poliburbujas, de embalaje o de cualquier otro material. Las tapas de los envases deben asegurar el sello de la muestra contra el aire ambiental.

Es importante, que todos los envases sean lavados y esterilizados antes de llenarlos con la muestra. En caso del análisis por laboratorios acreditados, ellos normalmente entregan los envases adecuados, lavados y de ser el caso esterilizados, por lo tanto, preparados para el uso directo.

Durante todo el proceso de preparación de muestra, el personal debe cumplir con las exigencias mínimas para la prevención de una contaminación cruzada de las muestras.

Para conservar las muestras hay que guardarlas en ambientes oscuros con temperaturas menores a 4 °C. Estas temperaturas previenen procesos de digestión que pueden alterar la calidad de la muestra y conservan las condiciones biológicas<sup>3</sup>. Por tal razón, es importante realizar el enfriamiento en un corto período. Para acelerar el proceso de enfriamiento es recomendable poner las botellas con la muestra en un baño con cubos de hielo y agua o almohadillas refrigerantes. Una vez enfriada, la muestra debe colocarse en una caja de almacenamiento térmica con refrigerante (ice pack), para cumplir con la recomendación de temperatura indicada. En caso de utilizar hielo, se debe colocar éste en bolsas herméticas para evitar fugas de la caja donde se transportan las muestras.

La congelación es una opción para la preservación de muestras de lodos o biosólidos, salvo para aquellas que servirán para el análisis de parámetros microbiológicos establecidos en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. La conservación química de las muestras no es necesaria para el análisis de los mencionados parámetros.

A pesar de las temperaturas bajas, se debe tomar precauciones durante el transporte y la apertura de los envases ante la posible acumulación de gases dentro del envase.

Se permite diferentes tiempos de almacenamiento de la muestra, según el parámetro analizado, para realizar muestras dirimientes posteriormente. En tanto los parámetros microbiológicos deben ser analizados dentro de 24 horas a partir de la toma de muestra, para el análisis de metales pesados se puede guardar la muestra hasta seis (6) meses, véase la Tabla 3.

La muestra y su envase deben estar cerrados y sellados adecuadamente para su transporte. El formato de cadena de custodia debe acompañar a las muestras desde su obtención o toma, transporte hasta su ingreso al laboratorio.



<sup>3</sup> Los parámetros microbiológicos deben ser analizados dentro de las 24 horas después de la toma de muestra.

Tabla 3: Condición de preservación y tiempos de almacenamiento de muestras de biosólidos (US EPA, POW Sludge Sampling And Analysis Guidance Document , 1989), (State of Ohio Environmental Protection Agency, 2009) (New Jersey Department of Environmental Protection, 2012)

Parámetros	Material del envase	Tiempo máximo de almacenamiento
Pérdida por calcinación (sólidos totales, sólidos volátiles)	Plástico, Vidrio	7 días con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Arsénico, Cadmio, Cobre, Plomo, Níquel, Zinc, Cromo	Plástico, Vidrio	6 meses con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Mercurio	Plástico, Vidrio	28 días con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Nitrógeno total		
Nitrógeno total de Kjeldahl	Plástico, Vidrio	28 días con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Nitrato	Plástico, Vidrio	28 días con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Escherichia coli	Plástico, Vidrio	24 horas con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Salmonella Sp.	Plástico, Vidrio	24 horas con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$
Huevos de helmintos viables	Plástico, Vidrio	1 mes con Temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$

#### 6.1.4 Frecuencia de monitoreo

La obligación de monitoreo y de los parámetros monitoreados depende principalmente de la clase (A o B) que se pretende asignar o al biosólido producido, las exigencias normativas, los resultados de los monitoreos anteriores, el estado operativo y la tecnología del tratamiento de agua y lodo aplicada en la PTAR productora.

En caso de producción y calificación del lodo como biosólido, la Tabla 4 del Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales indica las frecuencias mínimas de monitoreo del biosólido dependiendo de la cantidad entregada por año y la Clase (A o B) y los resultados de los monitoreos anteriores.

En caso de producción y entrega del biosólido en períodos intermedios de varios años, por ejemplo, en caso del biosólido de lagunas de estabilización, la frecuencia de monitoreo es de menor importancia. En su caso importa más la cantidad de muestras puntuales a tomar para su análisis directo o el procesamiento de muestras compuestas, según las indicaciones del ítem 6.1.2.2.2.1.

#### 6.1.5 Documentación

##### 6.1.5.1 Etiquetado de la muestra

Los frascos deben ser etiquetados, con letra clara y legible. De preferencia debe usarse plumón de tinta indeleble y cubrir la etiqueta con cinta adhesiva transparente conteniendo la siguiente información:

- Número de identificación de la muestra.
- Nombre de la empresa y unidad del proceso donde se toma la muestra.
- Fecha y hora de la toma de muestra.
- Ubicación del punto de la toma de muestra (georeferenciada).



- Tipo de muestra (compuesta, puntual).
- Nombre de la persona que toma la muestra.
- Tipo y procedimiento de medidas de conservación.
- Parámetros analizados de la muestra.
- Comentarios.

Los envases pueden estar previamente etiquetados o se podrán utilizar adhesivos específicos para registrar o rotular la información indicada.

Un ejemplo para una etiqueta se encuentra en el ítem 8.1. del presente protocolo. Laboratorios acreditados ante INACAL pueden utilizar su propio formato de etiqueta.

#### **6.1.5.2 Protocolo de transporte – Cadena de custodia**

La Cadena de Custodia es el procedimiento documentado de la toma de muestra, su transporte y entrega al laboratorio. El formato de cadena de custodia debe indicar al menos:

- Número de muestra.
- Parámetros a evaluar.
- Tipo de frascos que contienen la muestra.
- Condiciones o características de la muestra de lodo o biosólido: líquido, pastoso o seco.
- Volumen de la muestra.
- Condiciones de conservación.
- Nombres y firmas de cada persona involucrada entre la toma de muestra hasta la recepción en el laboratorio. (Con hora y fecha de entrega en cada paso).
- Observaciones

Un ejemplo de formato se encuentra en el ítem 8.2. del presente protocolo. Laboratorios acreditados ante INACAL pueden utilizar su propio formato de etiqueta.

#### **6.1.5.3 Libro de ocurrencias – Protocolo de la toma de muestra**

El generador del lodo o biosólido debe contar con un libro de ocurrencia y monitoreo en el cual se anota información técnica del muestreo como condiciones del punto o puntos de muestreo y descripción del proceso, así como otros datos referenciales. Es recomendable trabajar con un formato propio.

La información del libro de ocurrencias y monitoreo sirve para aclarar incertidumbres en la interpretación de los resultados, pero también para analizar y eventualmente optimizar las actividades para el siguiente monitoreo. La información relevante para el registro, sin perjuicio de la información que el generador considere oportuna, es:



- Fecha, hora y ubicación de los puntos de la toma de muestra.
- Tipo, cantidad y volumen de las muestras tomadas.
- Personas participantes
- Condiciones climáticas.
- Equipo de toma de muestra.
- Descripción del proceso de la toma.
- Número de identificación de las muestras.
- Método y empresa responsable del transporte de las muestras.

### 6.1.6 Normas y buenas prácticas nacionales e internacionales

Los métodos de ensayo incluyen indicaciones sobre la toma de muestra para los lodos o biosólidos. Sin embargo, estos métodos deben estar acreditados por el INACAL o cualquier Organismo de acreditación firmante de acuerdos de Reconocimiento Multilateral (MLA) de la cooperación Internacional de Acreditación de laboratorios (ILAC).

No obstante, el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales permite en los primeros tres (3) años a partir de la publicación del protocolo de monitoreo, el análisis de los parámetros de los biosólidos previstos en el Reglamento, mediante laboratorios con aplicación de métodos no acreditados por INACAL.

Por tal razón, debido que para la calidad de una muestra es muy relevante la determinación del punto de la toma de muestra y siendo esta responsabilidad del productor y/o comercializador de biosólidos, el presente protocolo proporciona orientaciones respecto a normas internacionales reconocidas, relacionadas a la toma de muestra de lodos y biosólidos. Sin carácter limitante, algunas de estas son:

#### Normas del Deutsches Institut fuer Normung y de la International Standard Organisation - DIN ISO

- DIN EN ISO 5667-13:2011-08:
- DIN 38414-11:1987-08

#### United States Environmental Protection Agency – US EPA (nacional, federal)

- US EPA 833-B-89-100:
- US EPA: Biosolids Reference Sheet (Brobst, 2017)
- EPA New Jersey: New Jersey Sludge Sampling and Analytical Guidance Document
- EPA, Ohio: Manual of Ohio EPA Sludge Program Field Sampling Methods and Quality Assurance Practices

## 6.2 Análisis de muestras en laboratorios

### 6.2.1 Parámetros relevantes

El Reglamento para el Reaprovechamiento de los lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales establece en sus artículos 13 y 14, los parámetros relevantes para el análisis de biosólidos. A continuación, se indican los parámetros químicos y microbiológicos, así como las unidades para su análisis:

Los parámetros químicos relevantes para el análisis de biosólidos según el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales son:

- Pérdida por calcinación (determina el grado de estabilización) en % o  $\text{kg}_{\text{Sólidos totales volátiles}} / \text{kg}_{\text{Sólidos totales}}$ ,
- Nitrógeno total en  $\text{g}_{\text{Nitrógeno}} / \text{kg}_{\text{Sólidos totales}}$ ,
- Metales pesados (arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc) en  $\text{mg}_{\text{Metal}} / \text{kg}_{\text{Sólidos totales}}$ ,

Los parámetros microbiológicos relevantes para el análisis de biosólidos según el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales son:



- Salmonellas sp. en NMP / 10 gSólidos totales,
- Escherichia coli en NMP / 1gSólidos totales
- Huevos viables de Helmintos en 1 / 4 gSólido totales

Los laboratorios deben relacionar la masa o cantidad de la contaminación detectada a la masa de los sólidos totales de la muestra, por lo cual, parte del análisis de la muestra es siempre determinar también la concentración de los sólidos.

### 6.2.2 Número de análisis

Se debe realizar por cada parámetro al menos un análisis. En caso se realice más de un análisis, el resultado válido en caso de parámetros químicos será el promedio aritmético de ambos análisis y en caso de parámetros microbiológicos el promedio geométrico.

#### 6.2.2.1 Muestra dirimente

La muestra dirimente es la muestra que se toma en la misma oportunidad que la muestra original, sea esta puntual o compuesta, la cual es analizada bajo los mismos criterios y es comparable en caso existan eventuales reclamos sobre la validez de los resultados de la muestra original. En este caso, se aplicará la muestra dirimente según lo establecido por el laboratorio de acuerdo al literal k, del numeral 4.6.1.del Reglamento para la Acreditación de Organismos de Evaluación de la Conformidad (OEC).

La muestra dirimente se aplica solo a los parámetros químicos y a la presencia de huevos de helmintos viables, aplicando las medidas de conservación de muestras adecuadas en el laboratorio.

La muestra dirimente se contrata separadamente, por lo cual los laboratorios tienen la obligación de informar a los productores y/o comercializadores de los lodos o biosólidos, previamente a su contratación sobre los alcances y costos de ella.

### 6.2.3 Términos de referencia para el análisis en los primeros 3 años

Los métodos de ensayo para el producto de lodos o biosólidos deberán estar acreditados por el INACAL o cualquier Organismo de acreditación firmante de acuerdos de Reconocimiento Multilateral (MLA) de la Cooperación Internacional de Acreditación de Laboratorios (ILAC).

Si bien el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales permite en un período de tres (3) años de aprobado el protocolo de monitoreo, el análisis de parámetros a través de laboratorios con aplicación de métodos no acreditados por INACAL, debido a la importancia de un buen monitoreo de los lodos o biosólidos para la salud pública y el ambiente, también los laboratorios sin metodología acreditada deben aplicar metodologías según las buenas prácticas y normas internacionales indicadas en la TABLA 4.

A continuación se presentan algunos términos de referencia que contienen normas internacionales de referencia para el monitoreo del lodo o biosólido.

#### 6.2.3.1 Parámetros químicos

##### 6.2.3.1.1 Pérdida por calcinación

Para determinar la pérdida por calcinación se debe medir primero los sólidos totales, después se queman los sólidos, quedando la ceniza. La diferencia de masa entre los sólidos totales y la ceniza corresponde a la pérdida por calcinación o también a los



sólidos volátiles. La relación de la pérdida de calcinación y la masa de los sólidos totales en porcentaje (%) corresponde al indicador del grado de la estabilización del sustrato.

La información sobre los sólidos totales de la muestra es también base para el análisis de la presencia de metales pesados, nitrógeno y parámetros microbiológicos en el sustrato.

Normas y recomendaciones internacionales para la medición de sólidos totales y sólidos totales volátiles se encuentran en la TABLA 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

#### 6.2.3.1.2 Metales pesados

Hay diferentes tecnologías para la detección de metales pesados.

1. Una tecnología normalizada internacionalmente para el análisis de lodos o biosólidos es la espectroscopia de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ISP), la cual sirve para detectar una gran parte de los metales pesados, menos el mercurio.

Al inicio de la medición hay que preparar una dilución de la muestra del lodo o biosólido que contiene todos los metales, esto se puede hacer por la extracción mediante agua regia. Dicho líquido alimenta el equipo analizador en el cual será transformado en un aerosol mediante el gas Argón para su ionización en un plasma generado por un campo magnético oscilante. Las temperaturas hasta 8000 K dentro del plasma aseguran que todos átomos serán ionizados.

Dependiendo del tipo de medición por ISP:

- a. Los iones serán acelerados por un campo eléctrico hacia un espectrómetro de masas, el cual detecta la presencia y concentración (masa) de presencia del elemento (p. e. metal pesado). En este caso se habla del ISP-MS.
- b. Sensores ópticos miden las radiaciones emitidas de los iones, las cuales tienen longitudes de ondas específicas por cada elemento y la intensidad de la radiación. De esta manera se identifica el elemento (p. e. metal pesado) presente y su concentración. En este caso se habla del ISP-OES

La tecnología tiene su debilidad en caso de dominancia de presencia de un elemento particular. Sin embargo, normalmente este punto no es relevante en los lodos o biosólidos dentro del marco del presente protocolo.

2. Otra tecnología normalizada internacionalmente para el análisis de presencia y concentraciones de metales pesados en lodos o biosólidos es la espectrometría de absorción atómica (AA). Se atomiza y activa los elementos (metales pesados) de una dilución de la muestra del lodo o biosólido, por ejemplo, en temperaturas elevadas, y manda luz de cierta longitud de onda por la nube de átomos. Dependiendo del tipo del átomo y la concentración de su presencia en la nube parte de la luz será adsorbida. La diferencia entre la luz emitida y adsorbida identifica el elemento y la concentración de su presencia en la muestra.

Dependiendo del tipo de atomización de la muestra del lodo o biosólido se diferencia los sistemas de análisis de la espectrometría de absorción atómica de mayor aplicación entre:



- a. El sistema de calentamiento en tubos de grafito (AA-ET) hasta temperaturas de 2500 °C,
- b. El sistema de reducción primero los elementos (metales pesados) presentes a sus hidruros gaseosos, tras reacción química y calentarlos después hasta temperaturas cerca de 1000 °C. En este caso se habla de la (AA-HG o AA Hidruro). Esta tecnología detecta solamente aquellos elementos que reaccionan a hidruros gaseosos.

En caso de la detección de mercurio se trabaja con otros químicos para su reducción y además con menores temperaturas. Por esto se habla en su caso con detección en vapor frío (AA-CV).

Normas y recomendaciones internacionales para la medición de metales pesados se encuentran en la TABLA 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

#### **6.2.3.1.3 Nitrógeno total**

El nitrógeno total se mide quemando la muestra en condiciones especiales, las cuales aseguran que todas las formas químicas de nitrógeno se conviertan en nitrógeno elemental, presente en el gas de incineración. El nitrógeno del gas se separa para la determinación de su concentración.

La concentración de nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal se determina mediante el método de Kjeldahl, donde se separa primero ambas fracciones del nitrógeno de la muestra del lodo o biosólido por digestión en condiciones ácidas y extracción en condiciones básicas. La cantidad del nitrógeno extraído se determina posteriormente.

El nitrato se mide en la solución de la muestra por ejemplo por fotometría.

Normas y recomendaciones internacionales para la medición de nitrógeno total se encuentran en la TABLA 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

#### **6.2.3.2 Parámetros microbiológicos**

##### **6.2.3.2.1 Escherichia Coli**

El primer paso para su análisis consiste en lavar la muestra del sustrato en agua destilada por cierto tiempo y diluir esta solución varias veces. De la dilución se realiza el monitoreo de Escherichia Coli según el procedimiento para la determinación del NMP en aguas vía tubos de incubación con sustrato de incubación de Escherichia Coli.

Normas y recomendaciones internacionales para la medición de Escherichia Coli se muestran en la Tabla 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

##### **6.2.3.2.2 Salmonellas sp.**

El procedimiento es similar al procedimiento para Escherichia Coli, pero se utiliza el medio de incubación correspondiente para Salmonellas sp.

Normas y recomendaciones internacionales para la medición de Salmonellas sp se detallan en la TABLA 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

##### **6.2.3.2.3 Huevos de helmintos**

En un proceso de lavado (con surfactantes), colado y centrifugado (con ciertos químicos) de la muestra en varias etapas, se separa los huevos de helmintos del resto de la sustancia particular de la muestra. En una segunda etapa se incuban los huevos separados para determinar su viabilidad.



Normas y recomendaciones internacionales para la medición de Huevos de Helmintos se detallan en la TABLA 4 del presente Protocolo de Monitoreo de Biosólidos.

*TABLA 4: Normas y recomendaciones internacionales para la medición de los parámetros de biosólidos relevantes según el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (Moodley, Archer, Hawksworth, & Leibach, 2008) (New Jersey Department of Environmental Protection, 2012) (State of Ohio Environmental Protection Agency, 2009) (US EPA, Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge, 2003)*

Parámetro	Norma y/o método normalizada <sup>1)</sup>
Pérdida por calcinación (sólidos totales)	SM 2540 G-1997 DIN EN 12880:2001-02
Pérdida por calcinación (sólidos totales volátiles)	SM 2540 G-1997 DIN EN 15935:2012-11
Arsénico	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7061 (AA Hidruro) SW-846 Method 7060*, SW-846 Method 7010 (AA ET) DIN 38405-35:2004-09 (AA) DIN EN ISO 15586:2004-02 (AA) ISO 17378-2:2014-02 (AA Hidruro) DIN EN ISO 17294-2: 2005-02 (ICP-MS) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES)
Cadmio	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7130*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7131*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS) DIN 38406-16:1990-03 (Voltimetría)
Cromo	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7190*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7191*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS)
Cobre	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7210*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7211*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS) DIN 38406-7:1991-09 DIN 38406-16:1990-03 (Voltimetría)



Parámetro	Norma y/o método normalizada <sup>1)</sup>
Plomo	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7420*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7421*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS) DIN 38406-6:1998-07 DIN 38406-16:1990-03 (Voltametría)
Mercurio	SW-846 Method 7471 (Cold Vapor (manual)) DIN EN ISO 17294-2 DIN EN ISO 12846:2012-08
Níquel	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7520*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7521*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS) DIN 38406-11:1991-09 DIN 38406-16:1990-03 (Voltametría)
Zinc	SW-846 Method 6010 (ICP) SW-846 Method 6020 (ICP/MS) SW-846 Method 7950*, SW-846 Method 7000 (AA Direct Aspiration) SW-846 Method 7951*, SW 846 Method 7010 (AA Graphite Furnace) DIN EN 13346:2001-04 (Extracción con agua regia) DIN ISO 11047:2003-05 (AA ET) DIN EN ISO 11885:2009-09 (ICP-OES) DIN EN ISO 17294-2 (ICP-MS) DIN 38406-8:2004-10 DIN 38406-16:1990-03 (Voltametría)
Nitrógeno total	ISO 13878:1998-03
Nitrógeno total de Kjeldahl	SM 4500-Norg B or C-1997 EPA Method 351.1 (TKN) EPA Method 351.2 (TKN) SM 4500-Norg D-1997 DIN EN 13342:2001-01
Nitrógeno del nitrato	SW-846 Method 9056
Salmonellas Sp.	DIN 38414-13:1992-03 SM 9260 D EPA Method 1682 Note 11,12 "Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge", Appendix G (Kenner and Clark), EPA/625/R-92/013, July 2003 (Método de análisis) "Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge", Appendix F, EPA/625/R-92/013, July 2003



Parámetro	Norma y/o método normalizada <sup>1)</sup>
	(Método de preparación de muestra)
Escherichia Coli	SM-9221 C E-2006 EPA Method 1680 Note 15,12 EPA Method 1681 Note 16,12 (Método de análisis) "Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge", Appendix F, EPA/625/R-92/013, July 2003 (Método de preparación de muestra)
Huevos de helmintos viables	Yanko (1987) and "Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge", Appendix I, EPA/625/R-92/013, July 2003 Standard Methods for the Recovery and Enumeration of Moodley et al: Helminth Ova in Wastewater, Sludge, Compost and Urine–Diversion Waste in South Africa (Moodley, Archer, Hawksworth, & Leibach, 2008)

- 1) SM significa Método estandarizado para la examinación de aguas y aguas residuales, American Public Health Association, 1015 15th Street, NW., Washington, DC 20005  
SW-846 significa Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods, EPA Publication SW-846, incluyendo todas modificaciones y actualizaciones.
- 2) ISP, ISP-OES, ISP-MS, AA, AA-ET, AA-Hidruro véase el ítem 6.2.3.1.2.

#### 6.2.4 Términos referencia para el análisis luego de los 3 años

Según el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales se reconoce después de un plazo de tres (3) años de adecuación solo resultados de mediciones en base de la aplicación de métodos de análisis acreditados por INACAL.

#### 6.2.5 Manejo de los resultados de monitoreo

##### 6.2.5.1 Registro y reportes internos

Los resultados de los análisis son almacenados y registrados colocando toda la información en orden cronológico (señalando la fecha de monitoreo) en una hoja de cálculo o una base de datos computarizada. La información es comparada con los límites de calidad para biosólidos establecidos en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales.

El registro cronológico de los datos es necesario para determinar tendencias a largo plazo respecto a la calidad del lodo o biosólido, permitiendo obtener conclusiones sobre el funcionamiento de su producción e ingreso de contaminantes (metales pesados) no controlados en el proceso de producción.

Esta información, conjuntamente con la información del protocolo de monitoreo, la cadena de Custodia y los documentos conteniendo los reportes de los análisis realizados en los laboratorios correspondientes, deberá ser almacenada por un periodo mínimo de cinco años, debiendo estar, el archivo, a disposición del MVCS.

##### 6.2.5.2 Registro y reportes externos

Los resultados del monitoreo son reportados al Registro Nacional de Producción y Reaprovechamiento de Biosólidos, que administra el MVCS y entregados a los adquirentes y/o usuarios finales de biosólidos, según las indicaciones del Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales .



ANEXO 2

Método EPA/625/R-92/013 preparación de muestras para análisis de coliformes fecales y salmonella sp.

**Appendix F**  
**Sample Preparation for Fecal Coliform Tests and *Salmonella* sp. Analysis**

**1. Sample Preparation for Fecal Coliform Tests**

**1.1 Class B Alternative 1**

To demonstrate that a given domestic sludge sample meets Class B Pathogen requirements under alternative 1, the density of fecal coliform from at least seven samples of treated sewage sludge must be determined and the geometric mean of the fecal coliform density must not exceed 2 million Colony Forming Units (CFU) or Most Probable Number (MPN) per gram of total solids (dry weight basis). The solids content of treated domestic sludge can be highly variable. Therefore, an aliquot of each sample must be dried and the solids content determined in accordance with procedure 2540 G. of the 18th edition of Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SM).

Sludge samples to be analyzed in accordance with SM 9221 E. Fecal Coliform MPN Procedure and 9222 D. Fecal Coliform Membrane Filter Procedure may require dilution prior to analysis. An ideal sample volume will yield results which accurately estimate the fecal coliform density of the sludge. Detection of fecal coliform in undiluted samples could easily exceed the detection limits of these procedures. Therefore, it is recommended that the following procedures be used (experienced analysts may substitute other dilution schemes as appropriate).

For Liquid Samples:

1. Use a sterile graduated cylinder to transfer 30.0 mL of well mixed sample to a sterile blender jar. Use 270 mL of sterile buffered dilution water (see Section 9050C) to rinse any remaining sample from the cylinder into the blender. Cover and blend for two minutes on high speed. 1.0 mL of this mixture is 0.1 mL of the original sample or  $1.0 \times 10^{-1}$ .
2. Use a sterile pipette to transfer 11.0 mL of the blended sample mixture to 99 mL of sterile buffered dilution in a sterile screw cap bottle and mix by vigorously shaking the bottle a minimum of 25 times. This is dilution "A." 1.0 mL of this mixture is 0.010 mL of the original sample or  $1.0 \times 10^{-2}$ .
3. Use a sterile pipette to transfer 1.0 mL of dilution "A" to a second screw cap bottle containing 99 mL of sterile buffered dilution water, and mix as before.

This is dilution "B." 1.0 mL of this mixture is 0.00010 mL of the original sample or  $1.0 \times 10^{-4}$ .

4. Use a sterile pipette to transfer 1.0 mL of dilution "B" to a sterile screw cap bottle containing 99 mL of sterile buffered dilution water, and mix as before. This is dilution "C." Go to step 5 for MPN analysis (preferred) or 7 for MF analysis.
5. For MPN analysis, follow procedure 9221 E. in SM. Four series of 5 tubes will be used for the analysis. Inoculate the first series of 5 tubes each with 10.0 mL of dilution "B." This is a 0.0010 mL of the original sample. The second series of tubes should be inoculated with 1.0 mL of dilution "B" (0.00010). The third series of tubes should receive 10.0 mL of "C" (0.000010). Inoculate a fourth series of 5 tubes each with 1.0 mL of dilution "C" (0.0000010). Continue the procedure as described in SM.
6. Refer to Table 9221.IV. in SM to estimate the MPN index/100 mL. Only three of the four series of five tubes will be used for estimating the MPN. Choose the highest dilution that gives positive results in all five tubes, and the next two higher dilutions for your estimate. Compute the MPN/g according to the following equation:

$$\text{MPN Fecal Coliform/g} = \frac{10 \times \text{MPN Index/100 mL}}{\text{largest volume} \times \% \text{ dry solids}}$$

Examples:

In the examples given below, the dilutions used to determine the MPN are underlined. The number in the numerator represents positive tubes; that in the denominator, the total number of tubes planted; the combination of positives simply represents the total number of positive tubes per dilution.

Example	0.0010 mL	0.00010 mL	0.000010 mL	0.0000010 mL	Combination of positives
a	5/5	<u>5/5</u>	<u>3/5</u>	<u>0/5</u>	5-3-0
b	5/5	<u>3/5</u>	<u>1/5</u>	0/5	5-3-1
c	<u>0/5</u>	<u>1/5</u>	<u>0/5</u>	0/5	0-1-0

For each example we will assume that the total solids content is 4.0%.

For example a:

The MPN index/100 mL from Table 9221.4 is 80. Therefore:

$$\text{MPN/g} = \frac{10 \times 80}{0.00010 \times 4.0} = 2.0 \times 10^6$$

For example b:

The MPN index/100 mL from Table 9221.4 is 110. Therefore:

$$\text{MPN/g} = \frac{10 \times 110}{0.0010 \times 4.0} = 2.8 \times 10^5$$

For example c:

The MPN index/100 mL from Table 9221.4 is 2. Therefore:

$$\text{MPN/g} = \frac{10 \times 2}{0.0010 \times 4.0} = 5.0 \times 10^3$$

5. Alternately the membrane filter procedure may be used to determine fecal coliform density. This method should only be used if comparability with the MPN procedure has been established for the specific sample medium. Three individual filtrations should be conducted in accordance with SM 9222 D. using 10.0 mL of dilution "C," and 1.0 mL and 10.0 mL of dilution "B." These represent 0.000010, 0.00010, and 0.0010 mL of the original sample. Incubate samples, and count colonies as directed. Experienced analysts are encouraged to modify this dilution scheme (e.g. half log dilutions) in order to obtain filters which yield between 20 and 60 CFU.

6. Compute the density of CFU from membrane filters which yield counts within the desired range of 20 to 60 fecal coliform colonies:

$$\text{coliform colonies/g} = \frac{\text{coliform colonies counted} \times 100}{\text{mL sample} \times \% \text{ dry solids}}$$

For Solid Samples:

1. In a sterile dish weigh out 30.0 grams of well mixed sample. Whenever possible, the sample tested should contain all materials which will be included in the sludge. For example, if wood chips are part of a sludge compost, some mixing or grinding means may be needed to achieve homogeneity before testing. One exception would be large pieces of wood which are not easily ground and may be discarded before blending. Transfer the sample to a sterile blender. Use 270 mL of sterile buffered dilution water to rinse any remaining sample into the blender.

Cover and blend on high speed for two minutes. One milliliter of this sample contains 0.10 g of the original sample.

2. Use a sterile pipette to transfer 11.0 mL of the blender contents to a screw cap bottle containing 99 mL of sterile buffered dilution water and shake vigorously a minimum of 25 times. One milliliter of this sample contains 0.010 g of the original sample. This is dilution "A."
3. Follow the procedures for "Liquid Samples" starting at Step 3.

Examples:

Seven samples of a treated sludge were obtained prior to land spreading. The solids concentration of each sample was determined according to SM. These were found to be:

Sample No.	Solids Concentration (%)
1	3.8
2	4.3
3	4.0
4	4.2
5	4.1
6	3.7
7	3.9

The samples were liquid with some solids. Therefore the procedure for liquid sample preparation was used. Furthermore, the membrane filter technique was used to determine if the fecal coliform concentration of the sludge would meet the criteria for Class B alternative 1. Samples were prepared in accordance with the procedure outlined above. This yielded 21 individual membrane filters (MF) plus controls. The results from these tests are shown in Table 1

Table 1. Number of Fecal Coliform Colonies on MF Plates

Sample No.	0.000010 mL Filtration	0.00010 mL Filtration	0.0010 mL Filtration
1	0	1	23
2	2	18	TNTC
3	0	8	65
4	0	5	58
5	0	1	17
6	0	1	39
7	0	1	20

The coliform density is calculated using only those MF plates which have between 20 and 60 blue colonies whenever possible. However, there may be occasions when the total number of colonies on a plate will be above or below the ideal range. If the colonies are not discrete and appear to be growing together results should be reported as "too numerous to count" (TNTC). If no filter has a coliform count falling in the ideal range (20 - 60), total the coliform counts on all countable filters and report as coliform colonies/g. For sample number 2 the fecal coliform density is:

$$\text{coliform colonies/g} = \frac{(2+18) \times 100}{(0.000010 + 0.00010) \times 4.3} = 4.2 \times 10^6$$

Sample number 3 has two filters which have colony counts outside the ideal range also. In this case both countable plates should be used to calculate the coliform density/g. For sample number 3, the fecal coliform density is:

$$\text{coliform colonies/g} = \frac{(8 + 65) \times 100}{(0.00010 + 0.0010) \times 4.0} = 1.6 \times 10^6$$

Except for sample number 5, all of the remaining samples have at least one membrane filter within the ideal range. For these samples, use the number of colonies formed on that filter to calculate the coliform density. For sample number 1, the fecal coliform density is:

$$\text{coliform colonies/g} = \frac{23 \times 100}{0.0010 \times 3.8} = 6.0 \times 10^5$$

Coliform densities of all the samples were calculated and converted to log<sub>10</sub> values to compute a geometric mean. These calculated values are presented in Table 2.

**Table 2.** Coliform Density of Sludge Samples

Sample No.	Coliform Density	log <sub>10</sub>
1	6.0 x 10 <sup>5</sup>	5.78
2	4.2 x 10 <sup>6</sup>	6.63
3	1.6 x 10 <sup>6</sup>	6.22
4	1.4 x 10 <sup>6</sup>	6.14
5	4.0 x 10 <sup>5</sup>	5.60
6	1.0 x 10 <sup>6</sup>	6.02
7	5.1 x 10 <sup>5</sup>	5.71

The geometric mean for the seven samples is determined by averaging the log<sub>10</sub> values of the coliform density and taking the antilog of that value.

$$(5.78 + 6.63 + 6.22 + 6.14 + 5.60 + 6.02 + 5.71)/7 = 6.01$$

$$\text{The antilog of } 6.01 = 1.03 \times 10^6$$

Therefore, the geometric mean fecal coliform density is below 2 million and the sludge meets Class B Pathogen requirements under alternative 1.

### 1.2 Class A Alternative 1

Part 503 requires that, to qualify as a Class A sludge, treated sewage sludge must be monitored for fecal coliform (or *Salmonella* sp. and have a density of less than 1,000 MPN fecal coliform per gram of total solids (dry weight basis). The regulation does not specify total number of samples. However, it is suggested that a sampling event extend over two weeks and that at least seven samples be collected and analyzed. The membrane filter procedure may not be used for this determination. This is because the high concentration of solids in such sludges may plug the filter or, render the filter uncountable. The total solids content for each sample must be determined in accordance with procedure 2540 G. of SM.

For Liquid Samples:

1. Follow procedure 9221 E. in SM. Inoculate at least four series of five tubes using ten fold serial dilutions. Prepare the sample as described for "Class B Alternative 1, Liquid Samples," except inoculate each of the first series of tubes with 10.0 mL of the blender contents (the concentration of the enrichment broth must be adjusted to compensate for the volume of added sample). This is equivalent to adding 1.0 mL of sludge to the first series of tubes. Inoculate the remaining tubes and complete the analysis in accordance with SM.
2. Calculate the MPN as directed in Step 4 above.

For Solid Samples:

1. Follow procedure 9221 E. in SM. Inoculate at least four series of five tubes using ten fold serial dilutions. Prepare the sample as described for "Class B Alternative 1, Solid Samples," except inoculate each of the first series of tubes with 10.0 mL of the blender contents (the concentration of the enrichment broth must be adjusted to compensate for the volume of added sample). This is equivalent to adding 1.0 g of sludge (wet weight) to the first series of tubes. Inoculate the remaining tubes and complete the analysis in accordance with SM.
2. Calculate the MPN as directed in step 4 above.

### 2. Sample Preparation for *Salmonella* sp. Analysis

*Salmonella* sp. quantification may be used to demonstrate that a sludge meets Class A criteria, instead of analyzing for fecal coliforms. Sludges with *Salmonella* sp. densities below 3 MPN/4 g total solids (dry weight basis) meet Class A criteria. The analytical method described in Appendix F of this document describes the procedure used to identify *Salmonella* sp. in a water sample. Similarly, the procedures for analysis of *Salmonella* sp. in SM (Section 9260 D) do not address procedures for sludges, the sample preparation step described here should be used, and the total solids content of each sample must be determined according to method 2540 G in SM.

For Liquid Samples:

1. Follow the same procedure used for liquid sample preparation for fecal coliform analysis described under "Class A Alternative 1." However, the enrichment medium used for this analysis should be dulcitol selenite broth (DSE) as described in Appendix G of this document or dulcitol selenite or tetrathionate broth as described in SM. Only three series of five tubes should be used for this MPN procedure. Use a sterile open tip pipette to transfer 10.0 mL of well mixed sample to each tube in the first series. These tubes should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. Each tube in the second series should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. These tubes should each receive 10.0

mL of the blended mixture. The final series of tubes should contain 10.0 mL of single strength enrichment broth. These tubes should each receive 1.0 mL of the blended mixture. Complete the MPN procedure as described in Appendix G or SM as appropriate.

2. Refer to Table 9221.IV. in SM to estimate the MPN index/100 mL. Calculate the MPN/4 g according to the following equation:

$$\text{Salmonella sp. MPN/4 g} = \frac{\text{MPN Index/100 mL} \times 4}{\% \text{ dry solids}}$$

For example:

If one tube in the first series was identified as being positive for *Salmonella* sp. and no other tubes were found to be positive, from Table 9221.IV one finds that a 1-0-0 combination of positives has an MPN index/100 mL of 2. If the percent of dry solids for the sample was 4.0, then:

$$\text{Salmonella sp. MPN/4g} = \frac{2 \times 4}{4.0} = 2$$

For Solid Samples:

1. Follow the procedure for solid sample preparation for fecal coliform analysis described under Class A Alternative 1 above. However, the enrichment medium used for this analysis should be dulcitol selenite broth (DSE) as described in Appendix G or dulcitol selenite or tetrathionate broth as described in SM, and only three series of five tubes should be used for this MPN procedure. Use aseptic technique to weigh out and transfer 10.0 g of well mixed sample to each screw cap tube in the first series, shake vigorously to mix. These tubes should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. Likewise, each tube in the second series should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. These tubes should receive 10.0 mL of the blended mixture. The final series of tubes should contain 10.0 mL of single strength enrichment broth. These tubes should receive 1.0 mL of the blended mixture. Alternately, because the calculated detection limit is dependent upon the total solids content of the sample, samples with total solids contents >28% can be blended as described above and the blender contents can be used for inoculating the initial series of tubes. When this option is chosen, the final series of tubes will contain 0.1 mL of the blender contents. Complete the MPN procedure as described in Appendix G or SM as appropriate.

ite broth (DSE) as described in Appendix G or dulcitol selenite or tetrathionate broth as described in SM, and only three series of five tubes should be used for this MPN procedure. Use aseptic technique to weigh out and transfer 10.0 g of well mixed sample to each screw cap tube in the first series, shake vigorously to mix. These tubes should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. Likewise, each tube in the second series should contain 10.0 mL of double strength enrichment broth. These tubes should receive 10.0 mL of the blended mixture. The final series of tubes should contain 10.0 mL of single strength enrichment broth. These tubes should receive 1.0 mL of the blended mixture. Alternately, because the calculated detection limit is dependent upon the total solids content of the sample, samples with total solids contents >28% can be blended as described above and the blender contents can be used for inoculating the initial series of tubes. When this option is chosen, the final series of tubes will contain 0.1 mL of the blender contents. Complete the MPN procedure as described in Appendix G or SM as appropriate.

2. Refer to Table 9221.IV. in SM to estimate the MPN index/100 mL. Calculate the MPN/4 g according to the following equation:

$$\text{Salmonella sp. MPN/4g} = \frac{\text{MPN Index/1 00mL} \times 4}{\% \text{ dry solids}}$$

---

## Appendix I Test Method for Detecting, Enumerating, and Determining the Viability of *Ascaris* Ova in Sludge

### 1.0 Scope

1.1 This test method describes the detection, enumeration, and determination of viability of *Ascaris* ova in water, wastewater, sludge, and compost. These pathogenic intestinal helminths occur in domestic animals and humans. The environment may become contaminated through direct deposit of human or animal feces or through sewage and wastewater discharges to receiving waters. Ingestion of water containing infective *Ascaris* ova may cause disease.

1.2 This test method is for wastewater, sludge, and compost. It is the user's responsibility to ensure the validity of this test method for untested matrices.

1.3 This standard does not purport to address all of the safety problems, if any, associated with its use. It is the responsibility of the user of this standard to establish appropriate safety and health practices and determine the applicability of regulatory limitations prior to use. For specific hazard statements, see section 9.

### 2.0 Referenced Documents

#### 2.1 ASTM Standards:

- ° D 1129 Terminology Relating to Water<sup>1</sup>
- ° D 1193 Specification for Reagent Water<sup>2</sup>
- ° D 2777 Practice for Determination of Precision and Bias of Applicable Methods of committee D-19 on Water<sup>3</sup>

### 3.0 Terminology

(Definitions and Descriptions of Terms must be approved by the Definitions Advisor.)

3.1 **Definitions** - For definitions of terms used in this test method, refer to Terminology D 1129.

### 3.2 Descriptions of Terms Specific to This Standard:

3.2.1 The normal nematode life cycle consists of the egg, 4 larval stages and an adult. The larvae are similar in appearance to the adults; that is, they are typically worm-like in appearance.

3.2.2 Molting (*ecdysis*) of the outer layer (*cuticle*) takes place after each larval stage. Molting consists of 2 distinct processes, the deposition of the new cuticle and the shedding of the old one or exsheathment. The cuticle appears to be produced continuously, even throughout adult life.

3.2.3 A molted cuticle that still encapsulates a larva is called a *sheath*.

3.2.4 Ascarid egg shells are commonly comprised of layers. The outer tanned, bumpy layer is referred to as the *mammillated* layer and is useful in identifying *Ascaris* eggs. The mammillated layer is sometimes absent. Eggs that do not possess the mammillated layer are referred to as *decorticated* eggs.

3.2.5 A potentially infective *Ascaris* egg contains a third stage larva<sup>4</sup> encased in the sheaths of the first and second larval stages.

### 4.0 Summary of Test Method

4.1 This method is used to concentrate pathogenic *Ascaris* ova from wastewater, sludge, and compost. Samples are processed by blending with buffered water containing a surfactant. The blend is screened to remove large particulates. The solids in the screened portion are allowed to settle out and the supernatant is decanted. The sediment is subjected to density gradient centrifugation using magnesium sulfate (specific gravity 1.20). This flotation procedure yields a layer likely

---

<sup>1</sup>Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.01.

<sup>2</sup>Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.01.

<sup>3</sup>Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.01.

<sup>4</sup>P.L. Geenen, J. Bresciani, J. Boes, A. Pedersen, L. Eriksen, H.P. Fagerholm, and P. Nansen (1999) The morphogenesis of *Ascaris suum* to the infective third-stage larvae within the egg, J. Parasitology 85(4):616-622.

to contain *Ascaris* and some other parasitic ova, if present, in the sample. Small particulates are removed by a second screening on a small mesh size screen.<sup>5</sup> The resulting concentrate is incubated at 26°C until control *Ascaris* eggs are fully embryonated. The concentrate is then microscopically examined for the categories of *Ascaris* ova on a Sedgwick-Rafter counting chamber.

## 5.0 Significance and Use

**5.1** This test method is useful for providing a quantitative indication of the level of *Ascaris* ova contamination of wastewater, sludge, and compost.

**5.2** This test method will not identify the species of *Ascaris* detected nor the host of origin.

**5.3** This method may be useful in evaluating the effectiveness of treatment.

## 6.0 Interferences

**6.1** Freezing of samples will interfere with the buoyant density of *Ascaris* ova and decrease the recovery of ova.

## 7.0 Apparatus

**7.1** A good light microscope equipped with brightfield, and preferably with phase contrast and/or differential contrast optics including objectives ranging in power from 10X to 45X.

**7.2** Sedgwick-Rafter cell.

**7.3** Pyrex beakers, 2 L. Coat with organosilane.

**7.4** Erlenmeyer flask, 500 mL. Coat with organosilane.

**7.4** A centrifuge that can sustain forces of at least 660 X G with the rotors listed below.

**7.4.1** A swinging bucket rotor to hold 100 or 250 ml centrifuge glass or plastic conical bottles.

**7.4.2** A swinging bucket rotor to hold 15 ml conical glass or plastic centrifuge tubes.

**7.5** Tyler sieves.

**7.5.1** 20 or 50 mesh.

**7.5.2** 400 mesh, stainless steel, 5 inch in diameter.

**7.5.3** A large plastic funnel to support the sieve. Coat with organosilane.

**7.6** Teflon spatula.

**7.7** Incubator set at 26°C.

**7.8** Large test tube rack to accommodate 100 or 250 mL centrifuge bottles.

**7.9** Small test tube rack to accommodate 15 mL conical centrifuge tubes.

**7.10** Centrifuge bottles, 100 or 250 mL. Coat with organosilane.

**7.11** Conical centrifuge tubes, 15 mL. Coat with organosilane.

**7.12** Pasteur pipettes. Coat with organosilane.

**7.13** Vacuum aspiration apparatus.

**7.13.1** Vacuum source.

**7.13.2** Vacuum flask, 2 L or larger.

**7.13.3** Stopper to fit vacuum flask, fitted with a glass or metal tubing as a connector for 1/4 inch tygon tubing.

**7.14** Spray bottles (16 fl oz.) (2).

**7.14.1** Label one "Water".

**7.14.2** Label one "1% 7X".

## 8.0 Reagents and Materials

**8.1 Purity of Reagents** — Reagent grade chemicals shall be used in all tests. Unless otherwise indicated, it is intended that all reagents shall conform to the specifications of the Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society<sup>6</sup>. Other grades may be used, provided it is first ascertained that the reagent is of sufficiently high purity to permit its use without lessening the accuracy of the determination.

<sup>5</sup>This method is based on a protocol published by Bowman, D.D., M.D. Little, and R.S. Reimers (2003) Precision and accuracy of an assay for detecting *Ascaris* eggs in various biosolid matrices. *Water Research* 37(9):2063-2072.

<sup>6</sup>Reagent Chemicals, American Chemical Specifications, American Chemical Society, Washington, D.C. For suggestions on testing of Reagents not listed by the American Chemical Society, see *Analar Standards for Laboratory Chemicals*, BHD Ltd., Poole, Dorset, U.K. and the *United States Pharmacopeia and National Formulary*, U.S. Pharmaceutical Convention, Inc. (USPC).

**8.2 Purity of Water** — Unless otherwise indicated, references to water shall be understood to mean reagent water conforming to Specification D 1193, Type I.

**8.3 Preparation of Reagents** — Prepare reagents in accordance with Practice E200.

**8.3.1** Phosphate-buffered water (1 L = 34.0 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH adjusted to  $7.2 \pm 0.5$  with 1 N NaOH).

**8.3.2** 1% (v/v) 7X ("ICN" laboratory detergent) (1 L = 999 mL phosphate-buffered water, 1 mL 7X "ICN", Adjust pH to  $7.2 \pm 0.1$  with 1N NaOH).

**8.3.3** Magnesium sulfate, sp. gr. 1.20. (1 L = 215.2 g  $\text{MgSO}_4$ , check specific gravity with a hydrometer; adjust as necessary to reach 1.20).

**8.3.4** Organosilane. For coating glassware. Coat all glassware according to manufacturer's instructions.

**8.3.5** Fresh *Ascaris ova* for positive control, purified from *Ascaris* infected pig fecal material.

## 9.0 Precautions

**9.1** When handling *Ascaris ova* and biosolids, personal protective measures must be employed to prevent infection. Prevention of infection in humans is a matter of good personal hygiene. Wear a laboratory coat at all times in the laboratory. In addition, latex or nitrile gloves and splash protection safety glasses should always be worn in the laboratory. Mouth pipetting is strictly forbidden. Contaminated pipettes are never laid down on the bench top but are immediately placed in a pipette discard container which has disinfectant in it. Contaminated equipment is separated as it is used into containers for disposable materials and containers for re-cycling. After these containers which are always autoclave pans, are full, they are autoclaved for 30 minutes at 121EC and 15 pounds/in<sup>2</sup>. Contaminated glassware is never washed until after it has been autoclaved. Eating, drinking, and smoking in the laboratory is not permitted. Likewise, refrigerators are not to be used for storing lunches or other items for human consumption. If infective *Ascaris ova* are ingested they may cause disease.

## 10.0 Sampling

**10.1** Collect 1 liter of compost, wastewater, or sludge in accordance with Practice D 1066, Specification D 1192, and Practices D 3370, as applicable.

**10.2** Place the sample container(s) on wet ice or around chemical ice and ship back to the laboratory for analysis within 24 hours of collection.

**10.3** Store the samples in the laboratory refrigerated at 2 to 5EC. Do not freeze the samples during transport or storage.

## 11.0 Preparation of Apparatus

**11.1** Test the centrifuge with a tachometer to make sure the revolution's per minute correlate with the speed gauge.

**11.2** Calibrate the incubator temperature with a NIST traceable thermometer.

**11.3** Microscope.

**11.3.1** Clean the microscope optics.

**11.3.2** Adjust the condenser on the microscope, so Köhler illumination is established.

## 12.0 Procedure

**12.1** The percentage moisture of the sample is determined by analyzing a separate portion of the sample, so the final calculation of ova per gram dry weight can be determined. The concentration of ova in liquid sludge samples may be expressed as ova per unit volume.

**12.2** Initial preparation:

**12.2.1** Dry or thick samples: Weigh about 300 g (estimated dry weight) and place in about 500 ml water in a beaker and let soak overnight at 4 - 10EC. Transfer to blender and blend at high for one minute. Divide sample into four beakers.

**12.2.2** Liquid samples: Measure 1,000 ml or more (estimated to contain at least 50 g dry solids) of liquid sample. Place one half of sample in blender. Add about 200 mL water. Blend at high speed for one minute transfer to a beaker. Repeat for other half of sample.

**12.3** Pour the homogenized sample into a 1000 mL tall form beaker and using a wash bottle, thoroughly rinse blender container into beaker. Add 1% 7X to reach 900 ml final volume.

**12.4** Allow sample to settle four hours or overnight at 4 - 10EC. Stir occasionally with a wooden applicator, as needed to ensure that material floating on the surface settles. Additional 1% 7X may be added, and the mixture stirred if necessary.

**12.5** After settling, vacuum aspirate supernatant to just above the layer of solids. Transfer sediment to blender and add water to 500 ml, blend again for one minute at high speed.

**12.6** Transfer to beaker, rinsing blender and add 1% 7X to reach 900 ml. Allow to settle for two hours at 4 - 10EC, vacuum aspirate supernatant to just above the layer of solids.

**12.7** Add 300 ml 1% 7X and stir for five minutes on a magnetic stirrer.

**12.8** Strain homogenized sample through a 20 or 50 mesh sieve placed in a funnel over a tall beaker. Wash sample through sieve with a spray of 1% 7X from a spray bottle.

**12.9** Add 1% 7X to 900 mL final volume and allow to settle for two hours at 4 - 10EC.

**12.10** Vacuum aspirate supernatant to just above layer of solids. Mix sediment and distribute equally to 50 mL graduated conical centrifuge tubes. Thoroughly wash any sediment from beaker into tubes using water from a wash bottle. Bring volume in tubes up to 50 ml with water.

**12.11** Centrifuge for 10 minutes at 1000 X G. Vacuum aspirate supernatant from each tube down to just above the level of sediment. (The packed sediment in each tube should not exceed 5 mL. If it exceeds this volume, add water and distribute the sediment evenly among additional tubes, repeat centrifugation, and vacuum aspirate supernatant.)

**12.12** Add 10 to 15 mL of MgSO<sub>4</sub> solution (specific gravity 1.20) to each tube and mix for 15 to 20 seconds on a vortex mixer. (Use capped tubes to avoid splashing of mixture from the tube.)

**12.13** Add additional MgSO<sub>4</sub> solution (specific gravity 1.20) to each tube to bring volume to 50 mL. Centrifuge for five to ten minutes at 800 to 1000 X g. DO NOT USE BRAKE.

**12.14** Allow the centrifuge to coast to a stop without the brake. Pour the top 25 to 35 mL of supernatant from each tube through a 400 mesh sieve supported in a funnel over a tall beaker.

**12.15** Using a water spray bottle, wash excessive flotation fluid and fine particles through sieve.

**12.16** Rinse sediment collected on the sieve into a 100 mL beaker by directing the stream of water from the wash bottle onto the upper surface of the sieve.

**12.17** After thoroughly washing the sediment from the sieve, transfer the suspension to the required number of 15 mL centrifuge tubes, taking care to rinse the beaker into the tubes. Usually one beaker makes one tube.

**12.18** Centrifuge the tubes for three minutes at 800 X G, then discard the supernatant.

**12.19** If more than one tube has been used for the sample, transfer the sediment to a single tube, fill with water, and repeat centrifugation.

**12.20** Aspirate the supernatant above the solids.

**12.21** Resuspend the solids in 4 mL 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and pour into a 20-mL polyethylene scintillation vial or equivalent with loose caps.

**12.22** Before incubating the vials, mark the liquid level in each vial with a felt tip pen. Incubate the vials, along with control vials containing *Ascaris ova* mixed with 4 mL 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, at 26EC for three to four weeks. Every day or so, check the liquid level in each vial. Add reagent grade water up to the initial liquid level line as needed to compensate for evaporation. After 18 days, suspend, by inversion and sample small aliquots of the control cultures once every 2 - 3 days. When the majority of the control *Ascaris ova* are fully embryonated, samples are ready to be examined.

**12.23** Examine the concentrates microscopically using a Sedgwick-Rafter cell to enumerate the detected ova. Classify the ova as either unembryonated, embryonated to the first, second, or third larval stage. In some embryonated *Ascaris ova* the larva may be observed to move. See Figure 1 for examples of various *Ascaris* egg categories.

### 13.0 Calculation

**13.1** Calculate % total solids using the % moisture result:

$$\% \text{ Total solids} = 100\% - \% \text{ moisture}$$

**13.2** Calculate categories of ova/g dry weight in the following manner:

$$\text{Ova/g dry wt} = \frac{(\text{NO}) \times (\text{CV}) \times (\text{FV})}{(\text{SP}) \times (\text{TS})}$$

Where:

NO = no. ova  
CV = chamber volume(= 1 mL)  
FV = final volume in mL  
SP = sample processed in mL or g  
TS = % total solids

### 14.0 Report

**14.1** Report the results as the total number of *Ascaris* ova, number of unembryonated *Ascaris* ova, number of 1st, 2nd, or 3rd stage larva; reported as number of *Ascaris* ova and number of various larval *Ascaris* ova per g dry weight.

### 15.0 Keywords

*Ascaris*, ova, embryonation, viability assay, helminth.

ANEXO 4

Resultados iniciales de parámetros químicos en el lodo de las lagunas de estabilización de Juliaca



**NSF Inassa**

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO  
POR EL ORGANISMO PERUANO DE  
ACREDITACION INACAL-DA CON  
REGISTRO N° LE-001

**INFORME FINAL**

**Dirección de Entrega:**

Yuly Apaza  
YULY MERCEDES APAZA GOMEZ  
Crucero, Carabaya  
Crucero, Carabaya  
Puno, Peru

**Solicitante: C0462840**

YULY MERCEDES APAZA GOMEZ  
Crucero, Carabaya  
Crucero, Carabaya  
Puno, Peru

Resultado	Complete	Fecha de Informe	2018-12-26
Procedencia	Lagunas de Estabilización Juliaca		
Producto	Lodo		
Tipo de Servicio	Análisis		
Informe de Ensayo N°	J-00323999		
Coordinador de Proyecto	Julio Manuel Zarate Vargas		

Gracias por utilizar los servicios de NSF Inassa. Por favor, póngase en contacto con el Coordinador de Proyecto, si desea información adicional o cualquier aclaración que pertenecen a este informe.

Informe Autorizado por

Fecha de Emisión 2018-12-26

Enrique Quevedo Bacigalupo  
Jefe de Laboratorio

Ing. Victor Suárez Pérez  
Asistente de Jefe de Laboratorio.  
C.I.P N° 158244

Av. La Marina 3035-3059 San Miguel - Lima 32 PERÚ  
Tel: (511) 616-5200 Email: inassa@nsf.org Web: www.nsfinaassa.pe

FI20181226104545

J-00323999

pág 1 de 3

El presente informe no podrá ser reproducido parcial o totalmente excepto con la aprobación por escrito de NSF Inassa. Solamente los documentos originales son válidos y NSF Inassa no se responsabiliza por la validez de las copias. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto ni la autorización de uso de la Marca NSF. Los resultados se refieren únicamente a los elementos analizados, en la condición de muestra recibida por el laboratorio.



**Información General**

Matriz: Lodo  
 Solicitud de Análisis: Cotización N° 38782 (Dic-559)  
 Muestreado por: Cliente  
 Procedencia: Lagunas de Estabilización Juliaca  
 Referencia: PTAR Juliaca

Identificación de Laboratorio: S-0001556099  
 Tipo de Muestra: Lodo  
 Identificación de Muestra: M1-Lodo  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2018-09-23 11:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2018-12-19  
 Fecha de Inicio de análisis: 2018-12-24

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
*Mercurio. Suelo, Sedimento y Lodo. EPA Method 7474 (Validado), Revised 2007. Mercury in Sediment and Tissue Samples by Atomic Fluorescence Spectrometry		
Mercurio	11,9	mg/Kg
*Metales. Suelo, Sedimento y Lodo. EPA Method 6010 D, Revised 4, 2014. Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry		
Arsénico	21	mg/Kg
Cadmio	1,3	mg/Kg
Cobre	97,4	mg/Kg
Cromo	26,2	mg/Kg
Niquel	10	mg/Kg
Plomo	45	mg/Kg
Zinc	570	mg/Kg

**Nota(s) del Informe Final:**

Mercurio: Resultado referencia\* por tiempo de vida vencido. El ensayo queda fuera del alcance de Acreditación.

Metales: Resultados Expresados en Peso Seco.



**Ensayos realizados por:**

	<u>Id</u>	<u>Dirección</u>
Ensayos realizados por: →	NSF_LIMA_E	NSF Inassa, Lima, Peru Avenida La Marina 3059 San Miguel Lima, Perú

**Referencias a los Procedimientos de Ensayo:**

**Referencia Técnica**

IQ0717	*Metales. Suelo, Sedimento y Lodo. EPA Method 6010 D, Revised 4, 2014. Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry
IQ1684	*Mercurio. Suelo, Sedimento y Lodo. EPA Method 7474 (Validado), Revised 2007. Mercury in Sediment and Tissue Samples by Atomic Fluorescence Spectrometry

Descripciones de ensayos precedidos por un "\*" indican que los métodos no han sido acreditados por el INACAL-DA y la prueba se ha realizado según los requisitos de NSF. De no contar con el "\*" indica los parámetros asociados a esta(s) muestra(s) se encuentran dentro del alcance de la acreditación.

## ANEXO 5

### *Biomasa y número de lombrices en el proceso de vermicompostaje.*

tratamiento	B. inicial	B. mes 1	B. mes 2	mes 3	Ganancia de biomasa	N° L inicial	N° L mes 1	N° L mes 2	N° L mes 3	Número de lombrices
T1. LODO+E+LOMBRIZ	75	127	131	163	88	100	154	175	205	105
T1. LODO+E+LOMBRIZ	75	130	135	161	86	100	151	171	213	113
T1. LODO+E+LOMBRIZ	75	152	135	158	83	100	171	185	209	109
T2. LODO + LOMBRIZ	75	82	82	88	13	100	101	105	130	30
T2. LODO + LOMBRIZ	75	90	87	93	18	100	96	103	128	28
T2. LODO + LOMBRIZ	75	80	77	89	14	100	98	103	132	32

ANEXO 6

Concentraciones de parámetros microbiológicos después del proceso de vermicompostaje.

Tratamiento	<i>Echerichia coli</i>				<i>Salmonella sp</i>				huevos viables de helminto			
	Inicial (NMP/ 1g ST)	Final (NMP/ 1g ST)	% remoción	limite (NMP/ 1g ST)	Inicial (NMP/ 10g ST)	Final (NMP/ 10g ST)	% remoción	limite (NMP/ 10g ST)	Inicial (Nº/ 4g ST)	Final (Nº/ 4g ST)	% remoción	limite (Nº/ 4g ST)
T1	4299.754	415.599	90.334	< 1000	4.300	0.831	80.669	< 1	4.914	0.831	83.085	< 1
T1	4299.754	424.058	90.138	< 1000	4.300	0.848	80.275	< 1	4.914	0.848	82.741	< 1
T1	4299.754	430.293	89.993	< 1000	4.300	0.861	79.985	< 1	4.914	1.721	64.974	< 1
T2	4299.754	600.661	86.030	< 1000	4.300	1.802	58.091	< 1	4.914	2.403	51.106	< 1
T2	4299.754	635.122	85.229	< 1000	4.300	1.905	55.687	< 1	4.914	1.270	74.151	< 1
T2	4299.754	558.815	87.004	< 1000	4.300	1.956	54.512	< 1	4.914	2.235	54.512	< 1
T3	4299.754	1439.194	66.528	< 1000	4.300	3.238	24.689	< 1	4.914	2.878	41.425	< 1
T3	4299.754	2066.590	51.937	< 1000	4.300	3.789	11.885	< 1	4.914	4.133	15.890	< 1
T3	4299.754	2028.398	52.825	< 1000	4.300	3.719	13.513	< 1	4.914	4.057	17.444	< 1

ANEXO 7

Concentración de macronutrientes.

tratamientos	N ppm	S ppm	P ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm
T1. LODO+ESTIERCOL+LOMBRIZ	16.710	9900.000	5956.000	9505.000	24954.000	4608.000
T1. LODO+ESTIERCOL+LOMBRIZ	14.000	10950.000	6192.000	8544.000	24042.000	4511.000
T1. LODO+ESTIERCOL+LOMBRIZ	13.850	9170.000	5791.000	8349.000	22469.000	4653.000
Promedio	14.853	10006.667	5979.667	8799.333	23821.667	4590.667
T2. LODO + LOMBRIZ	13.700	10270.000	5924.000	7509.000	17925.000	4116.000
T2. LODO + LOMBRIZ	12.570	10210.000	6073.000	6883.000	19563.000	4161.000
T2. LODO + LOMBRIZ	14.150	12070.000	6259.000	6568.000	20465.000	4190.000
Promedio	13.473	10850.000	6085.333	6986.667	19317.667	4155.667
T3. LODO	11.140	9900.000	5720.000	5779.000	18220.000	3671.000
T3. LODO	11.290	11060.000	5453.000	5780.000	18624.000	3791.000
T3. LODO	12.500	11340.000	5427.000	5645.000	18671.000	3924.000
Promedio	11.643	10766.667	5533.333	5734.667	18505.000	3795.333

## ANEXO 8

## Resultados del análisis de macronutrientes.



## Laboratorios Analíticos del Sur

Parque Industrial Río Seco C-1 Cerro Colorado  
Arequipa Perú

Telf: (054) 443294 Fax: (054) 444582

www.laboratoriosanaliticosdelsur.com

### INFORME DE ENSAYO LAS01-SD-19-00041

Pág: 12

#### Hoja de datos

Señores: YULY MERCEDES APAZA GOMEZ  
Dirección: AV. HUANCANE Mz.D Lt.15  
Atención: YULY MERCEDES APAZA GOMEZ  
Proyecto: CALIDAD DE ABONO ORGÁNICO OBTENIDO EMPLEANDO VERMICOMPOSTAJE CON LOMBRIZ Eisenia foetida Sav. EN LODOS PROVENIENTES DE LAS LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE JULIACA

Producto(s) Declarado(s): Lodo  
Nro de muestras: 9  
Muestreo a cargo de(l): YULY MERCEDES APAZA GOMEZ  
Registro de muestreo: 018-19  
Fecha de recepción: 15/07/2019  
Fecha de ensayo: 15/07/2019  
Fecha de emisión: 24/07/2019  
Condiciones de recepción de la muestra:  
Observaciones : ----

#### Metodo de ensayo aplicado

\*7102 Determinación de macronutrientes (N, S, P, K, Ca, Mg)

Cod Int. #	Nombre de muestra	Lugar de muestreo	Punto de muestreo y/o coordenadas Coordenadas UTM Este / Norte	Fecha de muestreo	Hora de muestreo
SD19000047	T1-R1 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:00 a. m.
SD19000048	T1-R2 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:00 a. m.
SD19000049	T1-R3 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:00 a. m.
SD19000050	T2-R1 (LODO + LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:30 a. m.
SD19000051	T2-R2 (LODO + LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:30 a. m.
SD19000052	T2-R3 (LODO + LOMBRIZ)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	9:30 a. m.
SD19000053	T3-R1 ( LODO)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	10:00 a. m.
SD19000054	T3-R2 ( LODO)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	10:00 a. m.
SD19000055	T3-R3 ( LODO)	CHILLA / JULIACA / SAN ROMAN / PUNO	CHILLA -15.496220° - 70.107536°	14/07/19	10:00 a. m.

*[Firma]*  
Laboratorios Analíticos del Sur E.I.R.L.  
Svito Acosta Juárez Neira  
Calle 19 de Julio 1919  
Arequipa - Perú

"<Valor numérico" = Límite de detección del método, "Valor Numérico" = Valor Numérico de conformidad del método.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con ningún producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Los resultados presentados solo están relacionados a la muestra ensayada.

Está terminantemente prohibida la reproducción parcial o total de este documento sin la autorización escrita de LAS. Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente documento lo anula.

Nº 13857



# Laboratorios Analíticos del Sur

Parque Industrial Río Seco C-1 Cerro Colorado  
Arequipa Perú

Telf: (054) 443294 Fax: (054) 444582

www.laboratoriosanaliticosdelsur.com

## INFORME DE ENSAYO LAS01-SD-19-00041

Hoja de resultados

24/07/2019

Pág.: 2/2

Código Interno #	Nombre de Muestra	7102					
		N ppm	S %	P ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm
SD19000047	T1-R1 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	16,71	0,990	5956	9505	24954	4608
SD19000048	T1-R2 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	14,00	1,095	6192	8544	24042	4511
SD19000049	T1-R3 ( LODO + ESTIERCOL+ LOMBRIZ)	13,85	0,917	5791	8349	22469	4653
SD19000050	T2-R1 (LODO + LOMBRIZ)	13,70	1,027	5924	7509	17925	4116
SD19000051	T2-R2 (LODO + LOMBRIZ)	12,57	1,021	6073	6883	19563	4161
SD19000052	T2-R3 (LODO + LOMBRIZ)	14,15	1,207	6259	6568	20465	4190
SD19000053	T3-R1 ( LODO)	11,14	0,990	5720	5779	18220	3671
SD19000054	T3-R2 ( LODO)	11,29	1,106	5453	5780	18624	3791
SD19000055	T3-R3 ( LODO)	12,50	1,134	5427	5645	18671	3924

Laboratorios Analíticos del Sur E.I.R.L.  
Sixto Vicente Juárez Neira  
Gerente General  
Ing. Químico C.I.P. 19474

<sup>a</sup><Valor numérico> = Límite de detección del método, <sup>b</sup><Valor Numérico> = Límite de cuantificación del método.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Los resultados presentados solo están relacionados a la muestra ensayada.

Está terminantemente prohibida la reproducción parcial o total de este documento sin la autorización escrita de LAS. Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente documento lo anula.

Nº 13858

ANEXO 9

Prueba de normalidad de los datos.

	Parámetro	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
			Estadístico	gl	Sig.
Biomasa de lombrices	Biomasa (g)	T1	0.839	3	0.210
	mes 1	T2	0.893	3	0.363
	Biomasa (g)	T1	0.750	3	0.000
	mes 2	T2	1.000	3	1.000
	Biomasa (g)	T1	0.987	3	0.780
	mes 3	T2	0.893	3	0.363
	Biomasa (g)	T1	0.987	3	0.780
	total	T2	0.893	3	0.363
Cantidad de lombrices	Nº de lombrices	T1	0.860	3	0.266
	mes 1	T2	0.987	3	0.780
	Nº de lombrices	T1	0.942	3	0.537
	mes 2	T2	0.750	3	0.000
	Nº de lombrices	T1	1.000	3	1.000
	mes 3	T2	1.000	3	1.000
	Nº total de lombrices	T1	1.000	3	1.000
		T2	1.000	3	1.000
Remoción de agentes patógenos		T1	0.992	3	0.829
	<i>Echerichia coli</i>	T2	0.996	3	0.879
		T3	0.795	3	0.102
		T1	0.992	3	0.830
	<i>Salmonella sp</i>	T2	0.962	3	0.624
		T3	0.857	3	0.258
	Huevos viables de helminto	T1	0.766	3	0.037
		T2	0.854	3	0.251
		T3	0.804	3	0.124

	Parámetro	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
			Estadístico	gl	Sig.
Concentración de macronutrientes	Nitrógeno	T1	0.789	3	0.089
		T2	0.942	3	0.535
		T3	0.832	3	0.192
	Azufre	T1	0.989	3	0.802
		T2	0.774	3	0.054
		T3	0.889	3	0.352
	Fosforo	T1	0.990	3	0.805
		T2	0.996	3	0.878
		T3	0.816	3	0.153
	Potasio	T1	0.872	3	0.302
		T2	0.965	3	0.640
		T3	0.756	3	0.012
	Calcio	T1	0.977	3	0.709
		T2	0.973	3	0.683
		T3	0.827	3	0.181
	Magnesio	T1	0.957	3	0.602
		T2	0.985	3	0.763
		T3	0.999	3	0.943

ANEXO 10

Prueba de homogeneidad de varianzas.

Prueba de homogeneidad de varianza			
Variable dependiente	Levene	Grados de libertad	Significancia
Biomasa de lombriz mes 1	0.47	3	0.531
Biomasa de lombriz mes 2	0.88	3	0.402
Biomasa de lombriz mes 3	0.00	3	1.000
Ganancia de biomasa	0.000	3	1.000
Numero de lombrices mes 1	089	3	0.400
Numero de lombrices mes 2	1.80	3	0.251
Numero de lombrices mes 3	0.80	3	0.422
Ganancia en número de lombriz	0.80	3	0.422
<i>Echerichia coli</i>	0.97	3	0.432
<i>Salmonella sp.</i>	1.20	3	0.364
Huevos viables de helminto	0.03	3	0.967
Nitrógeno	0.21	3	0.814
Azufre	0.03	3	0.971
Fosforo	0.06	3	0.938
Potasio	0.80	3	0.492
Calcio	1.05	3	0.405
Magnesio	0.99	3	0.425

ANEXO 11

*Análisis de varianza paramétrica en el efecto de la lombriz para la obtención de abono orgánico.*

Fuente de variación	SC	gl	CM	F cal	p-valor
Biomasa de lombriz en el mes 01	4108.200	1	4108.200	38.330	0.003
Error	428.700	4	107.200		
Total	4536.800	5			
Biomasa de lombriz en el mes 02	4004.170	1	4004.170	264.010	0.000
Error	60.670	4	15.170		
Total	4064.830	5			
Biomasa de lombriz en el mes 03	7490.670	1	7490.670	1123.600	0.000
Error	26.670	4	6.670		
Total	7517.330	5			
Ganancia de biomasa	7490.670	1	7490.670	1123.600	0.000
Error	26.670	4	6.670		
Total	7517.33	5			
N° de lombrices en el mes 01	5460.200	1	5460.170	89.0200	0.001
Error	245.300	4	61.330		
Total	5705.500	5			
N° de lombrices en el mes 02	8066.700	1	8066.670	302.500	0.000
Error	160.700	4	26.670		
Total	8173.300	5			

Fuente de variación	SC	gl	CM	F cal	p-valor
Nº. de lombrices en el mes 03	9361.500	1	9361.500	936.150	0.000
Error	40.000	4	10.000		
Total	9401.500	5			
Guanacia de Numero de lombrices	9361.500	1	9361.500	936.150	0.000
Error	40.000	4	10.000		
Total	9401.500	5			

### Hipótesis estadística

$H_0$  = No existe diferencia significativa en la biomasa y numero de lombrices en el lodo sometido a diferentes tratamientos.

$H_1$  = Existe diferencia significativa en la biomasa y numero de lombrices en el lodo sometido a diferentes tratamientos.

Nivel de significancia Alfa= 5% = 0.05

La prueba de significancia de p-valor para biomasa en el mes 1 es de 0.003, mes 2 es 0.000, mes 3 es 0.000, ganancia en biomasa después del proceso de vermicompostaje es 0.000, numero de lombrices en el mes 1 es 0.001, numero de lombrices mes 2 es 0.000, numero de lombrices en el mes 3 es 0.000 y ganancia en número de lombrices después del proceso de vermicompostaje es 0.000, todos son menores a p-valor ( $p < 0.05$ ); por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, si existe diferencia significativa entre los tratamientos; indicando que el tipo de tratamiento aplicado en el lodo influye la biomasa y numero de lombrices.

## ANEXO 12

### Análisis de varianza paramétrica en la remoción de agentes patógenos

Fuente de variación	SC	gl	CM	F cal	p-valor
<i>Echerichia coli</i>	883.380	2	441.692	56.320	0.000
Error	47.050	6	7.842		
Total	930.430	8			
<i>Salmonella sp</i>	2423.100	2	1211.550	128.760	0.000
Error	56.450	6	9.410		
Total	2479.550	8			
Huevos viables de helminto	1614.200	2	807.080	12.860	0.007
Error	376.400	6	62.740		
Total	1990.600	8			

#### Hipótesis estadística

$H_0$  = No existe diferencia significativa en remoción de agentes patógenos después de la aplicación de los tratamientos sobre el lodo.

$H_1$  = Existe diferencia significativa en la remoción de agentes patógenos después de la aplicación de los tratamientos sobre el lodo.

Nivel de significancia Alfa= 5% = 0.05

La prueba de significancia de p-valor para *Echerichia coli* es de 0.000, *Salmonella sp* 0.000 y huevos viables de helminto 0.007, todos son menores a p-valor ( $p < 0.05$ ); por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, si existe diferencia significativa entre los tratamientos; indicando que el tipo de tratamiento aplicado en el lodo influye remoción de agentes patógenos.

## ANEXO 13

### *Análisis de varianza paramétrica en la concentración de macronutrientes.*

Fuente de variación	SC	gl	CM	F cal	p-valor
Nitrógeno	15.557	2	7.779	6.130	0.036
Error	7.619	6	1.270		
Total	23.177	8			
Fósforo	515083.000	2	257541.000	8.120	0.020
Error	190186.000	6	31698.000		
Total	705269.000	8			
Potasio	14245446.000	2	71227223.000	34.550	0.001
Error	1236882.000	6	206147.000		
Total	15482328.000	8			
Calcio	49213388.000	2	24606694.000	22.370	0.002
Error	6599457.000	6	1099910.000		
Total	55812845.000	8			
Magnesio	951620.000	2	47810.000	62.960	0.000
Error	45346.000	6	7558.000		
Total	996966.000	8			

### **Hipótesis estadística**

$H_0$  = No existe diferencia significativa en la concentración de macronutrientes presentes en el abono orgánico obtenido.

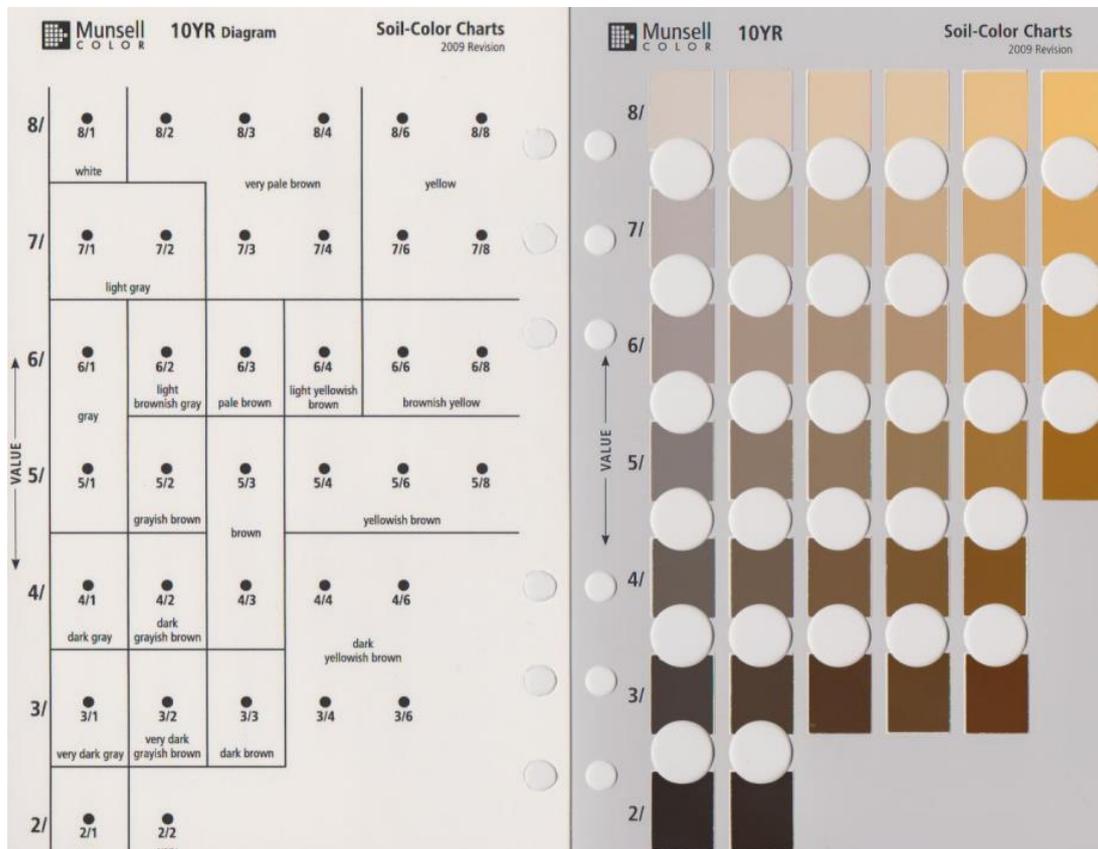
$H_1$  = Existe diferencia significativa en la concentración de macronutrientes presentes en el abono orgánico obtenido.

Nivel de significancia Alfa= 5% = 0.05

La prueba de significancia de p-valor para el nitrógeno es de 0.036, fósforo 0.020, potasio 0.001, calcio 0.002 y magnesio 0.000, todos son menores a p-valor ( $p < 0.05$ ); por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, si existe diferencia significativa entre los tratamientos; indicando que el tipo de tratamiento aplicado en el lodo influye en la concentración de macronutrientes presentes en el producto final (abono orgánico).

ANEXO 14

Tabla de Munsell empleada con la tonalidad 10YR 2/1.



ANEXO 15

Panel fotográfico.



Figura 12. Extracción de lodos en las lagunas de estabilización de Juliaca.



Figura 13. Deshidratación del lodo.



Figura 14. Preparación de camas de alimentación.



Figura 15. Proceso de vermicompostaje.



Figura 16. Monitoreo de parámetros físicos químicos.



Figura 17. Análisis de parámetros microbiológicos.



