



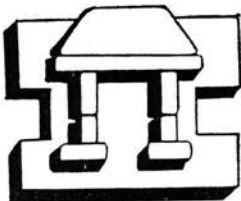
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

CAMPUS IZTACALA

**“EVALUACION DEL PROCESO DE NITRIFICACION
EN SUELO ADICIONADO CON LODO RESIDUAL
Y SEPARACION DE LOS COMPUESTOS
ORGANICOS POR HPLC”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
JOSE CARLOS ROMERO RODRIGUEZ



IZTACALA

MEXICO, D. F.

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



U.N.A.M. CAMPUS

DEDICATORIA.

A Dios por haberme mantenido con salud y fortaleza para concluir este trabajo y salir adelante.

A mi Padre:

Quien desafortunadamente ya no se encuentra más a mi lado y a quien le quedare agradecido por su ejemplo, apoyo incondicional y esfuerzo en la realización de mi desarrollo personal y profesional, de todo cariño "Muchas Gracias".

A mi Madre:

Quien con sus cuidados, manera de ser y su cariño me alentó durante mi formación personal y en momentos difíciles de mi vida y quien es un ejemplo de entrega desinteresada al cuidado de la familia, a quien de todo corazón se lo agradezco.

A mis Hermanos:

Ana María, María de la Luz, Juan Manuel, por su cariño, apoyo y ejemplo que me han brindado siempre, a Mari Chuy, Lupita y Maru, por no dejarme desfallecer en los momentos difíciles y por el enorme esfuerzo que han hecho para que esto se haga realidad, y muy especialmente por ser las personas con quien he aprendido a valor las cosas que se dan de Corazón, a todos ustedes GRACIAS.

A mis Compañeros y Amigos a quienes recuerdo con mucho nostalgia y a los que agradezco el tiempo compartido durante la carrera y fuera de ella y a quienes espero volver a ver.

AGRADECIMIENTOS.

A la M. en C. Marina Olivia Franco Hernández. por la confianza que deposito en mi y el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Al Dr. Rogelio Carrillo González, del Colegio de Posgraduados de Chapingo, por su valiosa colaboración en la búsqueda de información para este trabajo.

Al M. en C. Daniel Muñoz Iniestra, el M. En C. Francisco López Galindo y el M. en C. Cesar Mateo Flores Ortiz, por sus consejos, asesoría y revisión prestados a este trabajo.

A la M en C. Beatriz Hernández Carlos, por hacer más agradable mi estancia en la U. P. B. I. por sus consejos, asesoría y revisión prestados a este trabajo.

Y un agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron a que este trabajo se llevará acabo Gracias.

Contenido.

IZT.

	Página.
Índice de Figuras	i
Índice de Tablas	ii
Resumen	iii
I Introducción	1
1.1 Hipótesis de trabajo	4
1.1.2 Objetivo	4
1.1.3 Objetivos particulares	5
II Revisión Bibliográfica	
2.1 Marco teórico	6
2.1.1 Ciclo del nitrógeno	10
2.1.2 Descomposición de lodos residuales	13
2.1.3 Legislación sobre contaminantes presentes en lodos de desecho	20
III Metodología	
3.1 Localización del área de muestreo	28
3.1.2 Descripción del área de estudio	28
3.2 Muestreo del lodo	29
3.3 Trabajo de laboratorio	29
3.3.1 Acondicionamiento del suelo	29
3.3.2 Preparación del suelo para las dinámicas de nitrógeno	29
3.3.3 Dinámicas de nitrógeno	30
3.3.4 Cuantificación de N amoniacal, nitritos y nitratos	30
3.3.5 Preparación de la fase móvil	30
3.3.6 Procesamiento de los extractos de lodos	31
3.3.7 Evaluación de la degradación de los compuestos orgánicos en el lodo y en el suelo con lodo adicionado	31

3.3.8	Diagrama de flujo de la estrategia experimental	3 3
3.3.9	Diagrama de flujo de la producción de biosólidos en la industria farmacéutica	3 4
IV	Resultados y Discusión	
4.1	Cuantificación de NH_4^+	3 5
4.1.2	Cuantificación de NO_2^-	3 9
4.1.3	Cuantificación de NO_3^-	4 3
4.2	Separación de los compuestos orgánicos presentes en suelo y lodo	4 7
V	Conclusiones	6 6
VI	Bibliografía	6 9
VII	Anexo "A"	7 6

Índice de Figuras.

	Página.
Fig. no. 1 Representación esquemática del ciclo del nitrógeno (tomada de Villeé, 1978)	1 2
Fig. no. 2 Localización del lugar de estudio (tomado de la mapoteca del INEGI)	2 8
Fig. no. 3 Diagrama de flujo de la producción de biosólidos de la industria farmacéutica	3 4
Fig. no. 4 Gráfica de la cuantificación de NH_4^+	3 7
Fig. no. 5 Gráfica de la cuantificación de NO_2^-	4 1
Fig. no. 6 Gráfica de la cuantificación de NO_3^-	4 5
Figs. no. 7 y 8 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de lodo a 0 y 3 días de incubación.....	4 9
Figs. no. 9 y 10 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite a 0 y 14 días de incubación.....	5 1
Figs. no. 11 y 12 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite a 28 y 46 días de incubación.....	5 3
Figs. no. 13 y 14 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite con lodo 1 a 0 y 14 días de incubación.....	5 6
Figs. no. 15 y 16 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite con lodo 1 a 28 y 46 días de incubación.....	5 8
Figs. no. 17 y 18 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite 2 a 0 y 14 días de incubación.	6 0
Fig. no. 19 Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite 2 a 28 a 46 días de incubación.....	6 1
Figs. no. 20 y 21 Cromatogramas de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite con lodo 2 de 0 a 14 días de incubación.....	6 4
Fig. no. 22 Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en suelo de mezquite con lodo 2 de 28 a 46 días de incubación.....	6 5

Índice de Tablas.

	Página.
Tabla no. 1 Lista de contaminantes más comunes en biosólidos.....	2 2
Tabla no. 2 Lista de contaminantes suspendidos por la EPA.....	2 4
Tabla no. 3 Lista de contaminantes inorgánicos en norma mexicana.....	2 6
Tabla no. 4 Lista de contaminantes orgánicos en norma mexicana.....	2 6
Tabla no. 5 Lista de contaminantes orgánico volátil en norma mexicana.....	2 7
Tabla no. 6 Valores de la cuantificación de NH_4^+	3 6
Tabla no. 7 Valores de la cuantificación de NO_2^-	4 0
Tabla no. 8 Valores de la cuantificación de NO_3^-	4 4
Tablas no. 9 y 10 Registros en HPLC en muestra de lodo a 0 y 3 días de incubación	4 8
Tablas no. 11 y 12 Registros en HPLC en suelo de mezquital 1 a 0 y 14 días de incubación	5 0
Tablas no. 13 y 14 Registros en HPLC en suelo de mezquital 1 a 28 y 48 días de incubación	5 2
Tablas no. 15 y 16 Registros en HPLC en suelo de mezquital con lodo 1 a 0 y 14 días de incubación	5 5
Tablas no. 17 y 18 Registros en HPLC en suelo de mezquital con lodo 1 a 28 y 48 días de incubación	5 7
Tablas no. 19 y 20 Registros en HPLC en suelo de mezquital 2 a 0 y 14 días de incubación	5 9
Tabla no. 21 Registros en HPLC en suelo de mezquital 2 a 28 y 48 días de incubación	6 1
Tablas no. 22 y 23 Registros en HPLC en suelo de mezquital con lodo 2 a 0 y 14 días de incubación	6 3
Tabla no. 24 Registros en HPLC en suelo de mezquital con lodo 2 a 28 y 48 días de incubación	6 5

Resumen

Con el objeto de evaluar el proceso de nitrificación en suelos de mezquital de la zona de Dolores Hidalgo en el estado de Guanajuato, acondicionados con lodo residual de la industria farmacéutica, así como identificar cualitativamente la presencia de compuestos orgánicos presentes en el lodo residual utilizando un cromatógrafo (Varian 9010) para HPLC. Se efectuaron los siguientes tratamientos: suelo de mezquital con lodo lavado (SMLL), suelo de mezquital con lodo(SML), lodo lavado(LL), Lodo(L), usando como control suelo de mezquital(SM, L y LL) con un período de incubación de 100 días a 28°C, tanto para el proceso de nitrificación como para la identificación de compuestos orgánicos. El resultado mostró que los tratamientos SML y L fueron los que proporcionaron mayor disponibilidad de nitrógeno, seguidos por SMLL, LL, SM los cuales sucesivamente decrecieron en su disponibilidad de nitrógeno, en cuanto a la identificación de compuestos orgánicos, lo más significativo se observó en la presencia de compuestos que probablemente contengan anillos aromáticos en SML, los cuales permanecieron constantes durante el tiempo de estudio.

I INTRODUCCIÓN.

El nitrógeno es uno de los elementos esenciales en la nutrición de las plantas y uno de los nutrientes que está con mayor frecuencia y en pocas cantidades en los suelos alrededor del mundo. La importancia de la disponibilidad de nitrógeno por las plantas fue establecida en el siglo XIX. Su papel en la nutrición vegetal, ha sido reconocido por la conexión en la producción de vegetales vigorosos y asociados con el color verde oscuro de las hojas. La asociación con la coloración de las plantas es a través del hecho que el nitrógeno es uno de los dos elementos importantes absorbidos desde el suelo que es un constituyente valioso de la molécula de clorofila II. La escasez de nitrógeno produce plantas que son ligeramente verdes en color y con una pequeña cantidad de clorofila. El otro elemento importante para la clorofila es el magnesio. En orden de utilización por las plantas, la mayoría del nitrógeno puede ser liberado en forma de amonio y subsecuentemente experimentar reacciones de nitrificación, las plantas asimilan ambos amonio y nitrato. A pesar de la forma en que nitrógeno es absorbido, es un constituyente primordial de amino ácidos, proteínas, nucleótidos, ácidos nucleicos, aminas y amidas, una característica de todos esos compuestos de nitrógeno, es que el nitrógeno contenido en ellos es en el mismo estado de oxidación -3 .

Muchas de las plantas preferentemente absorben nitrato, el cual es la forma inorgánica más común del nitrógeno en la mayoría de los suelos, esto es importante para considerar como el estado de oxidación del nitrógeno a nitrato (+5) es convertido al (-3) estado de oxidación del nitrógeno a amonio.

La disponibilidad de compuestos que contengan nitrógeno para su uso como fertilizante, incluye guano de pájaro, y de aves de corral; y todas las excretas de animal, y lodos de desecho (Follet, 1981)

Los lodos de desecho contienen muchos nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento de las plantas y materia orgánica que puede mejorar el suelo. La aplicación de lodos de desecho posee pequeños riesgos para el medio ambiente y la salud pública. Los lodos frecuentemente se proveen sin carga, estos pueden usarse además reducen el consumo de fertilizante e incrementan el carácter lucrativo de las cosechas. Pero cuando los lodos son depositados de manera inadecuada, el valor nutrimental que contienen puede no ser recuperado.

En lo que concierne a la aplicación de lodos al suelo incluye la potencia de aplicación de mucho o muy poco de cada uno de los nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, zinc y cobre), así como de constituyentes tóxicos y el problema de olor ó insectos, estas sustancias tóxicas pueden ser reducidas o confinadas a niveles que son considerados seguros para la agricultura, los cultivos forestales y el suelo; por lo tanto, los lodos contienen nutrientes que son beneficiosos para las plantas principalmente el nitrógeno (Rubin, A.R., Safley, L.M., Zublena, J.P. 1994).

Lo anterior nos sirve para dar comienzo a este trabajo, cuya justificación es la siguiente:

Debido a la alta contaminación de algunos ecosistemas por residuos provenientes de las Industrias, en particular los lodos residuales derivados de las plantas de tratamiento de aguas residuales, se han creado una serie de normas ambientales (EPA, 1993) que regulan su utilización como fertilizantes de suelos agrícolas, forestales, de jardinería, etc.

En esta normatividad no se hace mención de los compuestos de origen farmacéutico y debido a que la mayoría de estos compuestos son de naturaleza orgánica, las técnicas de HPLC y RMN son adecuadas para separar, identificar y cuantificar.

Como se analizó en la revisión anterior se puede decir que no solo los compuestos orgánicos tóxicos como los pesticidas se han encontrado en suelos y cuerpos de agua, si no también compuestos farmacéuticos como el Mecoprop que no es fácilmente biodegradado y que por lo tanto se pueden acumular en el medio ambiente afectándolo negativamente.

En virtud de lo anterior es importante realizar la separación de los compuestos orgánicos de estos lodos de desecho de las aguas residuales de la Industria Farmacéutica, para saber cuantos componentes se encuentran presentes en este tipo de desechos y predecir su naturaleza química, así como tener en cuenta también que por cada industria mediana se produce un total de 21 toneladas de lodos de desecho por año, además sabiendo que muchos de estos

compuestos que se encuentran en los lodos, que afectan significativamente los ciclos biogeoquímicos de la naturaleza. Por lo que es muy importante antes de proponer la disposición final de los biosólidos, el realizar un estudio amplio que nos indique el grado de afectación del ecosistema. Uno de estos ciclos importantes es el del Nitrógeno y en este caso en particular es interesante estudiarlo ya que este tipo de lodo podría proporcionar al suelo una buena cantidad de nitrógeno orgánico.

1.1 HIPOTESIS DE TRABAJO:

La adición de lodo residual a un suelo degradado incrementa el contenido de nitrógeno disponible, mejorando las características del mismo.

La caracterización de los compuestos orgánicos en lodos de desecho por HPLC, permitirá tener una mejor visión de las concentraciones de compuestos orgánicos tóxicos, que puedan alterar el medio ambiente, provenientes en muestras de lodos residuales de la industria farmacéutica. Esto ayudará a tener una mejor idea de su utilización y manejo para no afectar los ecosistemas.

1.1.2 Objetivo General:

Evaluar el proceso de nitrificación de un suelo de mezquital acondicionado con lodo residual y caracterizar mediante el HPLC los compuestos orgánicos presentes en dichos lodos provenientes de tratamientos de aguas residuales de la Industria farmacéutica.

1.1.3 Objetivos Particulares:

1. - Cuantificar los componentes principales en la mineralización del nitrógeno en un suelo degradado de mezquital adicionado con lodo residual (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-).

2. - Separar mediante el Técnica de HPLC, los compuestos orgánicos presentes en los lodos.

3.- Proponer si es posible alguna alternativa para el uso de estos lodos residuales de acuerdo a la normatividad de la Environmental Protection Agency (E. P. A.) y al proceso de nitrificación y a los compuestos orgánicos presentes.

II Revisión Bibliográfica.

2.1 Marco teórico.

El problema mundial que enfrentaron las industrias que utilizan en sus procesos lodo de desechos (Sewage Sludges), es la contaminación que generan dichos desechos, ya que sus contenidos pueden causar riesgos para la transmisión de enfermedades para la salud pública así como diversos daños al ambiente. En sus inicios las industrias esparcían libremente estos desechos a tierras, mares, ríos, lagos y estos empezaron a causar estragos tiempo después, ya que las cantidades de metales pesados, patógenos y de compuestos orgánicos tóxicos que contenían fueron las causas de desequilibrios en el medio, así como en la salud pública (Problemas de cáncer y mutaciones a animales y microorganismos importantes en la actividad de los suelos, entre otros). Esto trajo fricciones entre las industrias y las autoridades encargadas de la Salud Pública y del Medio Ambiente. (Pagina web Wysing: //7/http//www.ubavie.gv.at/, 1998)

Los gobiernos principalmente de Estados Unidos (U.S), Canadá, Europa (Rusia, Alemania, Francia, Holanda, Reino Unido, Bélgica, Irlanda, España) y algunos otros países como Japón, India y China, se han dado a la tarea de buscar un medio para ayudar a las industrias a reutilizar dichos desechos y evitar las multas de las autoridades. Para evitar los conflictos entre industria y autoridades, se creó en Estados Unidos un Reglamento Normativo para la utilización de tratamientos de lodos de desecho, así como el reciclaje de estos, considerando un listado de contaminantes orgánicos indeseables en este tipo de lodos de desecho.

el objetivo de este reglamento es disminuir el riesgo para la salud pública y el medio ambiente.

Estas naciones se encuentran asociadas en un organismo rector de este Reglamento llamado EPA (Environmental Protection Agency) por sus siglas en inglés, y se ha convertido en la Agencia líder de legislación Ambiental Mundialmente. Actualmente se revisa una iniciativa para aprobar el uso de incineradores de estos lodos de desecho, sin perder de vista los problemas ambientales que conlleva, así como los beneficios en recuperación de Biogas, además de mantener el monitoreo de los depósitos de estos lodos ya tratados.

El seguimiento de estos tratamientos dará resultados importantes para asegurar la buena calidad y su buen uso o depositación, así como de problemas a corto o largo plazo. Como se sabe estos lodos son buenos enriquecedores de suelos debido a la gran cantidad de nutrientes que contienen y es por eso la importancia de legislar adecuadamente estos desechos, así como la evaluación constante de nuevas técnicas que permitan un mejor conocimiento del tipo y las concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes, y para evitar posibles daños a la Salud Pública y el Medio Ambiente. (Pagina web <http://www.eru.strach.ac.uk>, 1997)

Ahora revisando el panorama que hay México en cuanto al problema de los lodos de desecho se tiene lo siguiente:

En México la industria utiliza materias primas, energía, capital y trabajo humano para generar bienes socialmente deseables, pero también, sus procesos arrojan al ambiente subproductos indeseables para los cuales generalmente no hay precios positivos ni mercados. Entre ellos están las emisiones de contaminantes a la atmósfera, las descargas de aguas, lodos residuales y los residuos peligrosos y no peligrosos.

En etapas incipientes del proceso de industrialización, el volumen de generación de residuos es relativamente pequeño y permite que éste sea asimilado dentro de las capacidades de carga de suelos, cuerpos de agua y drenajes urbanos. Sin embargo, al avanzar el proceso, el volumen rebasa las capacidades biofísicas de asimilación y manejo, convirtiéndose en un reto enorme de gestión industrial y de política ambiental.

La sustentabilidad del crecimiento industrial demanda que se respeten las capacidades de carga de los sistemas atmosféricos, hidrológicos y de suelos para transformar y asimilar residuos. En particular se resalta el dinamismo del sector manufacturero y sus diferentes ramas, en especial las de los alimentos, bebidas y tabaco, productos metálicos, maquinaria y equipo, químicos, derivados del petróleo, caucho y plástico.

Como elemento de atención, se describen las repercusiones ambientales y el daño que los residuos industriales peligrosos pueden causar, en particular se remarcan los siguientes aspectos: impactos ecológicos en ecosistemas y recursos hídricos, riesgos de salud ambiental por accidente o contingencias. Los estudios de estos efectos, se enfocan a conocer los procesos naturales más relevantes en el

movimiento de sustancias tóxicas y de residuos peligrosos en el ambiente, como son la lixiviación, adsorción-desorción, volatilización y bioacumulación, y esto se complementa con la inclusión de los efectos inducidos por la contaminación cruzada o multimedios, ya que resultan claros los efectos concomitantes entre los procesos industriales y los diferentes ámbitos o medios aire, agua, y suelo. (Pagina web <http://rds.org.mx>, 1996)

Es un hecho que los esfuerzos normativos y regulatorios no tendrían los efectos deseados, si no se cuenta con los sistemas de vigilancia eficiente para su cumplimiento. Es por ello que se plantea el refuerzo del aparato y mecanismos de inspección y verificación, establecidos por los programas de la EPA (Environmental Protection Agency), que se derivan de los sistemas de información y rastreo de residuos peligrosos, que se orientan a la atención a ramas industriales y corrientes críticas, atendiendo tanto a las empresas generadoras como a las manejadoras de residuos

Entre los residuos mencionados anteriormente se tienen los lodos de desecho, también referidos como biosólidos de aguas residuales. Podemos decir que son el producto de desecho de las plantas de tratamiento de aguas residuales, su composición química y características físicas dependen de la naturaleza del agua de desecho, el tipo de empresa y los procesos utilizados en el tratamiento de los mismos. En general los lodos de desecho están compuestos por materia orgánica conteniendo macro nutrientes como nitrógeno y fósforo y un número de micro nutrientes como el zinc. Cuando el suelo es adicionado con lodos de desecho se consideran que tienen efectos beneficiosos en el resultado de las

características del suelo en términos de campo de cultivo, agua y capacidad de retención de nutrientes. (Página web <http://www.jrc.es>, 1994)

Ahora que se mencionan los componentes de lodos de desecho y observando que el nitrógeno es uno de ellos, a continuación se hablará de la importancia que tiene el nitrógeno en el suelo.

2.1.1 Ciclo del nitrógeno.

El suelo es una parte importante de los ciclos naturales del Carbono, Nitrógeno y Azufre. Estos ciclos rápidos también incluyen la atmósfera. En el ciclo del nitrógeno, por ejemplo, las raíces de las plantas y los microorganismos del suelo absorben los iones nitrato y amonio del agua de las lluvias y los convierten en aminoácidos, en N_2 , o bien en N_2O gaseoso. Los gases se difunden nuevamente a la atmósfera. En condiciones naturales, la pérdida de nitrógeno gaseoso se equilibra aproximadamente cuando los microorganismos simbióticos y de vida libre absorben y liberan otros gases de nitrógeno (NO , NO_2 y NH_3). (Bohn, 1993)

El nitrógeno (N) es un elemento esencial para el crecimiento y reproducción para las plantas, la cantidad de nitrógeno tomada por éstas excede la de cualquier otro elemento derivado del suelo. Hoy en día un promedio del 25% de nitrógeno está disponible para las plantas en el suelo (amonio y nitrato) originados a partir de la descomposición (mineralización) de compuestos de nitrógeno orgánico en el humus, residuos animales, vegetales y fertilizantes orgánicos; un 55% proviene

de la lluvia; y el 70 % proviene de la aplicación de fertilizante con nitrógeno inorgánico.

En el suelo el nitrógeno orgánico es convertido en amonio a través de la descomposición microbiana. El amonio formado en el suelo, adicionado como fertilizante, ó en precipitación es rápidamente oxidado a nitrato en un proceso de nitrificación llevado a cabo por bacterias específicas. La nitrificación resulta en la producción de nitrato, forma disponible de nitrógeno para las plantas el cual fácilmente se pierde en el suelo.

Para entender mejor el proceso de nitrificación debemos entender que el amonio (NH_4^+) adicionado al suelo es formado por la descomposición de compuestos de nitrógeno orgánico y son oxidados a nitritos (NO_2^-) por bacterias del genero *Nitrosomonas*, y el nitrato es más adelante oxidado a nitratos (NO_3^-) por bacterias del genero *Nitrobacter*, proceso con el cual se termina la nitrificación. (Folley, 1981)

(ver figura No.1)

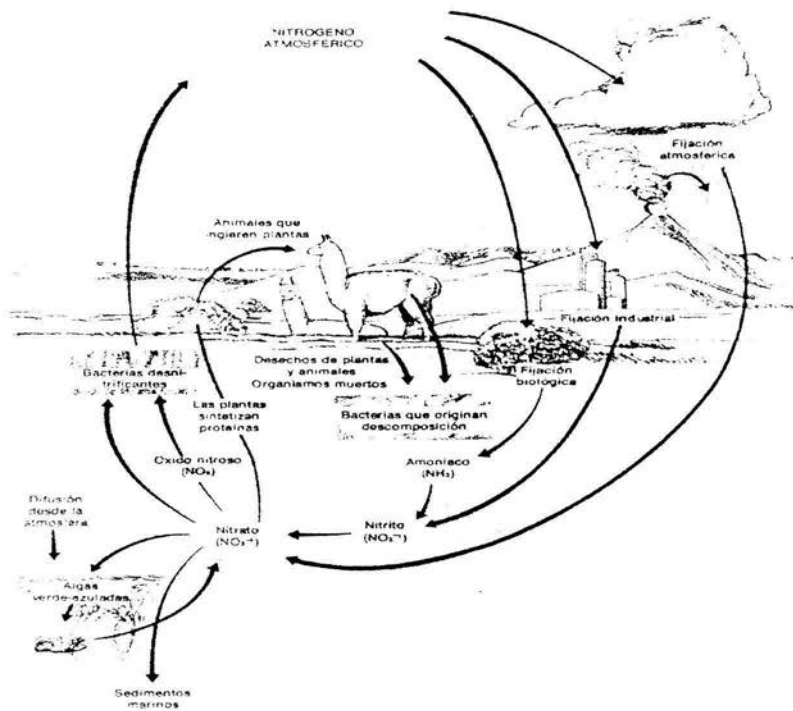


Figura No.1: Ciclo del Nitrógeno, Villeé 1978.

Es importante saber que el nitrato es la forma en la que normalmente la planta puede tomar el nitrógeno; sin embargo muchas de las plantas también pueden asimilar amonio. En la mayoría de los suelos; la nitrificación es rápida de 2 a 3 semanas cuando se aplica amonio, pero los porcentajes son fuertemente reducidos por la temperatura en suelos frescos, con pH de 5.5, en condiciones de saturación de agua. El amonio es un ion con carga positiva que es fijado a la arcilla y a la materia orgánica, por otra parte el nitrato y nitrito tienen carga

negativa, y se encuentran en solución en el suelo y son lixiviados fácilmente. (Pagina web <http://www.agcom.purdue.edu>, 1991)

Después de conocer la importancia del nitrógeno en el suelo y dentro de los ciclos naturales, es necesario saber la problemática que existe con respecto a la descarga de lodos de desecho, así como los avances en cuanto a la identificación de compuestos orgánicos con el uso de HPLC, y también algunos aspectos sobre la legislación de estos lodos de desecho.

2.1.2 Descomposición de lodos residuales y la identificación de sus compuestos orgánicos.

Los lodos de desecho también contienen componentes que son considerados como dañinos para el medio ambiente, y estos se pueden clasificar en tres grupos que son: metales pesados, contaminantes orgánico tóxicos y organismos patógenos. Hasta ahora las principales vías de eliminación de los lodos han sido esparcirlos en la tierra, al mar y la incineración. Actualmente están apareciendo restricciones legislativas sobre las vías de eliminación de lodos. Potencialmente, la opción más atractiva sería esparcir los lodos en terrenos agrícolas y forestales, porque podrían reciclar nutrientes y ser útiles desde el punto de vista agronómico. Sin embargo debido a los procesos físico-químicos que intervienen en el método de lodos activados para el tratamiento de aguas residuales, el lodo tiende a concentrar trazas de metales pesados y compuestos orgánicos poco biodegradables (por ejemplo, plaguicidas, productos químicos domésticos, etc.), esto suscita un problema tanto para el medio ambiente como para la salud humana. (Pagina web <http://www.jrc.es/>, 1994)

Los lodos residuales se deben de tratar para facilitar su manejo y evitar posibles problemas, como el olor, la presencia de químicos no biodegradables y la eliminación de agentes patógenos. Estos tratamientos modifican las propiedades de los lodos, haciéndolos más adecuados para su reutilización o eliminación.

A raíz de estos problemas y con el fin de tener una mejor caracterización de los lodos se han implementado una serie de técnicas para la identificación de compuestos orgánicos en lodos de desecho o residuales, entre ellos sobre sale la Espectrometría de Masas, MS (Mass Spectrometry), la Cromatografía de Gases, GC (Gas Chromatography) y la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, HPLC (High Performance Liquid Chromatography); siendo esta última la de nuestro interés para la identificación de compuestos orgánicos provenientes en lodos de desecho que pueden ser tóxicos para el medio ambiente, la razón de su preferencia sobre otras técnicas es por la poca cantidad de muestra que se necesita, por su alta confiabilidad en los análisis cuantitativos, y por la alta selectividad de compuestos que pueden ser separados por esta técnica.

La cromatografía es un término general aplicado a una amplia gama de técnicas de separación, que esencialmente se basan en la distribución de los componentes a separar entre dos fases, una de ellas es una fase móvil, la cuál puede ser un gas o un líquido, y la otra es una fase estacionaria, la cual a su vez puede ser un líquido o un sólido, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes de la muestra.

El antecedente de la cromatografía es el análisis capilar, es decir, si en un papel filtro se deposita una solución de varios colores, estos impregnan el papel y

se disponen en anillos concéntricos. La cromatografía como técnica de separación fue descubierta por el botánico y químico ruso Mijál S. Tswett en 1903, quien eligió el nombre de las palabras griegas que significan "escritura en color". (Perkin Elmer, 1996)

Para 1938, el bioquímico polaco Tadeus Reichstein obtuvo el cromatograma de flujo a partir de los volúmenes por unidad de tiempo que se requerían para que eluyeran las diferentes sustancias. (Perkin Elmer, 1996)

En 1941, Martín y Synge introducen la cromatografía de reparto y sugirieron la posibilidad de utilizar un gas en la fase móvil del cromatógrafo, más adelante en 1952 Martín y James, desarrollaron la cromatografía de reparto gas-líquido, en ese mismo año Alm efectúa la elusión por gradientes de polaridad del solvente. (Perkin Elmer, 1996)

En 1959, Porath y Flodin desarrollaron la cromatografía de exclusión en geles suaves de povidextrans, también denominada cromatografía de filtración por gel, en 1962 el químico norteamericano Moore efectuó separaciones en geles rígidos de poliestireno, denominando esta técnica cromatografía de permeación por gel. (Perkin Elmer, 1996)

Hasta principios de años sesentas la cromatografía de gases era la más popular que la cromatografía de líquidos, pero a fines de los años setentas y gracias al avance en la instrumentación y en los empaques de las columnas se logró la

cromatografía de líquidos de alta presión, ésta se desarrollo a mediados de los años setentas y rápidamente fue mejorada con el desarrollo de empaques de columnas y con la adición de detectores en línea, a finales de los setentas se incluye la cromatografía de líquidos de fase inversa, la cual mejora la separación entre compuestos muy similares.

Para 1980, el HPLC fue comúnmente usada para la separación de compuestos químicos, nuevas técnicas de separación, identificación, purificación y cuantificación fueron mejoradas sobre las anteriores, comenzaron a emerger equipos de HPLC más rápidos, mejorados con diferentes tipos de columnas (afines y micro columnas), si bien la HPLC es considerada mundialmente como una de las principales técnicas de apoyo para la Biotecnología de alimentos, cosméticos, energía, farmacéutica y ambiental, Biomedicina, Bioquímica y en la investigación.

(C.V. Sawyer, 1967)

Actualmente dentro de los problemas ambientales en los que el HPLC ha sido una herramienta para la determinación de ciertos compuestos orgánicos que tiene algún efecto negativo en el medio ambiente se citan los siguientes:

En 1998, Lau-Cam y Roos la utilizaron en análisis cuantitativo para la detección para la detección de ácido undecilénico proveniente de productos farmacéuticos por medio determinación directa en HPLC y detección espectrofotométrica. (Lau-Cam, 1998)

Dridi y colaboradores en 1998, utilizaron la HPLC para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos junto con un detector para UV, programado a una longitud de onda, estos hidrocarburos son una clase de compuestos orgánicos tóxicos y cancerígenos, además de mutagénicos. (Drid, 1998)

Sanchis –Mallols y colaboradores en 1998, la utilizaron para determinar fenilurea, un herbicida empleado muy comúnmente en la agricultura, esta sustancia es altamente tóxica para los mamíferos. (Sanchis-Mallois, 1998)

Rodríguez y colaboradores en 1998, determinaron el pesticida diflubenzuron y algunos de sus metabolitos, ya que algunos de ellos son agentes mutantes y pueden causar cáncer en los seres humanos, utilizaron HPLC con detector de arreglo de diodos. Este método también se ha reportado para la detección del mismo pesticida en leche, suelo y agua. (Rodríguez, 1998)

Leal C. y colaboradores en 1998, utilizaron la cromatografía de líquidos con detección fluorimétrica para compuestos de Triorganotina en materiales marinos, ya que el compuesto de tributil estaño y trifenil estaño son usados en bases de pinturas y en fungicidas, PVC, y son agentes tóxicos para los organismos marinos. (Leal C., 1998)

C. Hidalgo, y colaboradores en 1998, usaron un método de cromatografía de líquidos para la determinación de herbicidas como el fenilcarbamato. En la determinación usaron fase reversa con un arreglo de diodos. Estos herbicidas son empleados en la agricultura y sus residuos persisten en el subsuelo y pueden causar daño al infiltrarse en aguas profundas o mantos acuíferos, que son destinados para consumo humano. (Hidalgo C., 1998)

M.C. Alonso, y colaboradores en 1998, utilizaron la cromatografía de líquidos a presión atmosférica acoplado a espectrometría de masas para la determinación de compuestos fenólicos en muestras de suelo provenientes de la biodegradación de sustancias húmicas, ligninas y taninos, contenidos en herbicidas y pesticidas; ya que estas sustancias pueden ser retenidas por el suelo o absorbidas y son perjudiciales para organismos propios de la tierra. (Alonso M.C., 1998)

O. Jáuregui y colaboradores en 1998, aplicaron también la cromatografía de líquidos a presión atmosférica acoplado a espectrometría de masas, en un análisis de suelos para detectar fenoles clorados que también son libremente usados en varios procesos industriales y que pueden ser contaminantes peligrosos para el suelo y el agua. (Jáuregui O., 1998)

H-R, Buser, y M.D, Müller utilizaron en 1995 el HPLC, para separar enantiómeros y diasterómeros de algunos pesticidas de acetamida en cultivos de papas, remolacha de azúcar y otros cultivos y posteriormente, en lodos de

desecho y suelos, pero en los dos últimos casos utilizaron cromatografía de gases de alta resolución y espectrometría de masas. (Buser y Müller, 1995)

Tres años más tarde Buser y Müller trabajaron en la detección de una droga farmacéutica presente en lagos de norte de Suiza llamada Mecoprop, que también es utilizada como pesticida de muy alto potencial, ya que contamina las aguas cuando se aplica directamente en el suelo, esto es detectado por cromatografía de gases y espectrometría de masas, e indican que este compuesto puede transformarse en el suelo como tóxico y ser después lixiviado a aguas subterráneas, ríos, lagos y eventualmente al mar. El compuesto fue detectado en agua superficial, agua subterránea y en agua potable de áreas de donde frecuentemente es usada para las granjas. (Müller y Buser, 1997)

Xu-Shine en 1999, determinó la manera cíclica y su degradación en suelo del Metilsiloxano que es un contaminante volátil y poco soluble en agua, utilizando cromatografía de gases y espectrometría de masas, además de cromatografía en gel permeable y HPLC con fase reversa. (Xu-Shine, 1999)

Sánchez-Rosero y colaboradores en 1998, utilizaron también el HPLC para determinar al Mecoprop y al Dicloroprop en soluciones de suelos acuosos, la razón de su investigación fue la alta movilización de estos compuestos en el suelo y su uso como pesticida ya que era utilizado en cultivos y en dosis inadecuadas. (Sánchez-Rosero, 1998)

Cédric G. y colaboradores en 1998, determinaron compuestos de organotina en aguas, sedimentos y lodos de desecho pero utilizando cromatografía de gases y espectrometría de masas, la importancia de estos compuestos es que forman parte de insecticidas, bactericidas, fungicidas etc., y se han encontrado en altas concentraciones en agua, sedimentos, tejidos biológicos y lodos de desecho, y por lo mismo alteran los ecosistemas terrestres y acuáticos. (Cédric G., 1998)

2.1.3 Legislación sobre contaminantes presentes en lodos de desecho.

La U.S. Environmental Protection Agency (EPA), tienen desarrollada una Regla basada en el riesgo para la protección de la Salud Pública y el Medio Ambiente, donde razonablemente anticipa efectos adversos de contaminantes que probablemente estén presentes en Biosólidos (lodos de desecho) que se usan o se despositan. Comúnmente conocida como la Regla Parte 503, la regulación (40 CFR parte 503) fue publicada en el Registro Federal el 19 de Febrero de 1993. La mayoría de las reglas fueron basadas en los resultados de evaluación de riesgos que fueron científicamente conducidos para identificar cualquier riesgo que fuera asociado con el uso o disposición de biosólidos.

El proceso de identificación de contaminantes de interés comenzó en el año de 1984, cuando la EPA desarrolló para posibles consideraciones una lista de aproximadamente 200 contaminantes basada en los siguientes tipos de información disponibles:

- 1) Exposición humana y efectos de salud.
- 2) Toma de contaminantes en plantas.
- 3) Fitotóxicidad (efectos adversos en plantas)
- 4) Efectos en animales domésticos y silvestres.
- 5) Efectos en organismos acuáticos.
- 6) Frecuencia de contaminantes presentes en biosólidos.

Además la agencia en 1984 sometió dicha lista de 200 Contaminantes para revisión por 4 paneles de expertos cubriendo aplicación en tierra, depositación en superficies, incineración y depositación en océanos de biosólidos, los paneles recomendaron que aproximadamente 50 de los 200 contaminantes listados estan más estudiados, la lista recomendada de contaminantes fue basada en:

- 1) La probabilidad que el contaminante podría ser tóxico por exposición a través del uso ó depositación de biosólidos.
- 2) La probabilidad de exposición humana y del medio ambiente a los Contaminantes podría ocurrir vía aplicación en tierra, depositación en superficies, incineración ó depositación en océanos de biosólidos.
- 3) La disponibilidad de toxicidad y fecha de exposición por los contaminantes.
- 4) Mejor jurado profesional (Conformado por expertos de la NSSS y de EPA)

* NSSS National Sewage Sludge Survey.

A continuación se muestra la lista de los Contaminantes más estudiados según el panel de expertos de la EPA:

Tabla no. 1 Lista de Contaminantes más estudiados por la EPA.

Aladrín / Dieldrín	DDT / DDE / DDD	Molibdeno
Arsénico	Acido 2,4 Dicloro-Fenoxiacético	Nickel
Benzeno	Dioxinas	n-Nitroso-dimetilamina
Antraceno	Fluoruro	Bifenilos Policlorados (PCBs)
Pireno	Furanos	PentaClorofenol
Ftalato	Heptacloro	Fenantreno
Berilio	HexaCloro Benzeno	Fenol
Cadmio	Fierro	Selenio
TetraCloruro de Carbono	Plomo	TetraCloroetileno
Ciclodano	Litio	Toxafeno
Cloroformo	Malation	TriCloroetileno
Cromo	Mercurio	TriCresilfosfato
Cobalto	Metiletilcetona	Cloruro de Vinilo
Cobre	Metileno bis (2Clor) anilina	Zinc
Cianuro	Cloruro de Metilo	

Los biosólidos son conocidos por contener químicos organo-sintéticos (p.e. PBC's e hidrocarburos aromáticos policíclicos PAH's) en la regla parte 503 se recomienda que algunos de los contaminantes orgánicos propuestos para la regulación deben suspenderse o borrarse porqué los contaminantes tampoco son prohibidos ó restringidos para su uso en los Estados Unidos.

En respuesta la EPA, decide reevaluar todos los contaminantes orgánicos propuestos para la regulación en la Regla Parte 503, los resultados de esta evaluación así como numerosos estudios de investigación para la National Sewage Sludge Survey (NSSS), mostraron que los contaminantes orgánicos

presentes en los biosólidos en Estados Unidos están en bajos niveles que no producen riesgos significantes para la salud pública ó el medio ambiente. Además, la EPA decidió suspender ó borrar la regulación de contaminantes orgánicos en la Regla parte 503, porque los contaminantes orgánicos se encuentran en los siguientes tres último criterios:

- 1) Los contaminantes han estado prohibidos ó restringidos para uso en Estados Unidos o no son manufacturados en gran cantidad.
- 2) Los contaminantes no están presentes en biosólidos en frecuencia significativa de detección (e. j. 5 por ciento) basada en información de la Junta en la NSSS en biosólidos de 1995.
- 3) El límite para el contaminante identificado en los biosólidos para la evaluación de riesgo no es lo esperado para ser exceso en biosólidos
- 4) que son usados o depositados, basados en la información proveniente de la NSSS de 1995.

Los límites que pueden haber sido usados basados en la evaluación de riesgo si los contaminantes químico-orgánicos fueron incluidos en la regla son listados en la tabla 11 de la misma. (A Guide to the Biosolids Risk Assessments for the EPA Part 503 Rule), esta es la lista de contaminantes suspendidos ó restringidos por la evaluación del panel de Expertos de la EPA:

Tabla no. 2: Lista de contaminantes suspendidos por la EPA.

Bis (2etilhexil) Ftalato	Fluoruro	Mercurio
Cadmio	Furanos	n- Nitroso- Dimetilamina
Cromo	HeptaCloro	TriCloroetileno
DDT / DDE / DDD	Fierro	
Dioxinas	Litio	

Esta decisión a traído algunos problemas ya que en Estados Unidos estos contaminantes no son de gran significación, pero para otras naciones si, sobre todo en Europa donde ciertos compuestos son parte de la materia prima fundamental para las industrias. Esto ha dejado fuera de la **Normatividad** a compuestos de alto riesgo para las comunidades Europeas y Orientales ya que ellos si los identifican con más frecuencia en sus lodos de desecho pero no tienen ahora la regla o norma para poder clasificarlos. La EPA deberá tomar nuevas consideraciones sobre este aspecto antes de que se convierta en un problema al cual si no se le atiende a tiempo podria acarrear serios trastornos en el ámbito económico para la Agencia de Protección del Medio Ambiente. (Review of Risk Analysis Round Two Biosolids Pollutants, 1999).

En la legislación de México en cuanto a lodos de desecho, no existe un apartado como en otros países, se maneja en conjunto en una norma ecológica, existe actualmente una proposición de norma y es la PROY-NOM-052-ECOL-1999, en la cual se establecen las características, el procedimiento de identificación y el listado de los residuos peligrosos. Esta norma menciona que los

residuos peligrosos en cualquier estado físico, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas, representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente, por lo que es necesario definir cuáles son los residuos identificándolos y ordenándolos por giro industrial, y por proceso, así como establecer los límites máximos que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

El actual proyecto de norma como anteriores normas están basadas principalmente en reglamentos de normas como los de EPA, en los Estados Unidos y la CEPA en Canadá, es de esperar que cualquier tipo de criterio ó modificación realizada por ambas, tenga efectos en nuestras normas. La norma cuenta con 3 tablas que listan los residuos que se consideran peligrosos y las cuales se aplicarán también a los lodos de desecho de todos los giros industriales y entre los cuales están contemplados lodos de desecho de la industria farmacéutica, que a continuación se presentan.

Tabla no.3: constituyentes inorgánicos presentes en la NOM-004-Ecol-1999.

Arsenico	Mercurio
Bario	Plata
Cadmio	Plomo
Cromo Hexavalente	Selenio
Niquel	

Tabla no. 4: constituyentes orgánicos presentes en la NOM-004-Ecol-1999.

Acilonitrilo	Lindano
Clordano	Metoxicloro
o-Cresol	Nitrobenzeno
m-Cresol	Pentaclorofenol
p-Cresol	2,3,4,6-Tetraclorofenol
Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético	Toxafeno
2,4-Dinitrotolueno	2,4,5-Triclorofenol
Edrin	2,4,6-Triclorofenol
Heptacloro(y su epoxido)	Ácido 2,4,5-Tricloro fenoxipropionico (silvex)
Hexacloroetano	

Tabla no. 5: constituyentes orgánico volátiles presentes en la NOM-004-Ecol-1999.

Benceno	1,1-Dicloroetileno	1,1,2,2-Tetracloroetano
Eter bis (2-cloro etilo)	Disulfuro de Carbono	Tetracloruro de carbono
Clorobenceno	Fenol	Tetracloroetileno
Cloroformo	Hexaclorobenceno	Tolueno
Cloruro de metilo	Hexacloro-1,3-Butadieno	1,1,1-Tricloroetano
Cloruro de Vinilo	Isobutanol	1,1,2-Tricloroetano
1,2-Diclorobenceno	Etilmetilcetona	Tricloroetileno
1,4-Diclorobenceno	Piridina	
1,2-Dicloroetano	1,1,1,2-Tetracloroetano	

(Fuente: Instituto Nacional de Ecología-1999)

Como se puede observar al igual que en algunos otros países existen compuestos que son producidos por las industrias farmacéuticas y por algunos otros giros industriales y que no son contemplados por esta norma, como residuos peligrosos, debido a que en los Estados Unidos principalmente, no son producidos

o sus concentraciones no son tan significativas como para decidir que sean tóxicos o dañinos al medio ambiente, o los tratamientos de estos satisfactoriamente reducen la posibilidad de daño al entorno ecológico, es difícil de creer que no existen normas mexicanas que hayan servido de base para la elaboración de la presente norma y por lo tanto se deberá trabajar para poder en unión con otros países que al igual que a México le afectan ciertos criterios internacionales, para ubicar el manejo y disposición final de algunos lodos residuales, sobre todo de la industria farmacéutica que necesitan clasificarse y monitoriarse para evitar problemas tóxicos y de medio ambiente. (pagina web <http://rds.org.mx/>, 1996)

III METODOLOGIA:

3.1 Localización del área de Estudio.

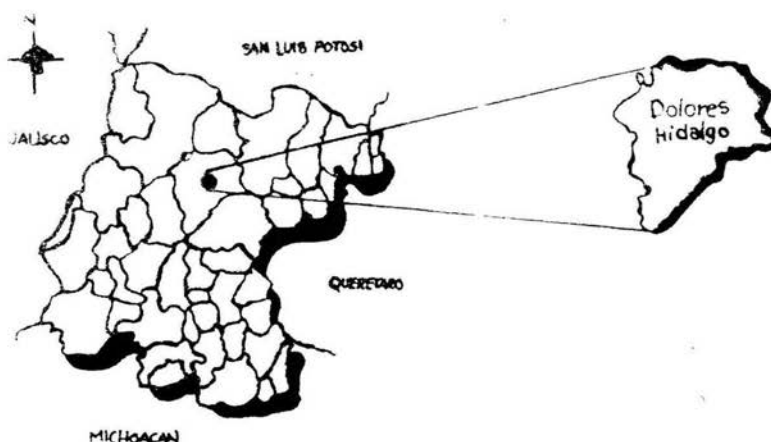


Figura No. 2 Mapa del sitio de muestreo, Dolores Hidalgo Estado de Guanajuato (INEGI-carta edafológica, 1996)

3.1.2 Descripción del Área de Muestreo:

El sitio experimental está localizado a 20 kilómetros al este de Dolores Hidalgo en el estado de Guanajuato, entre la latitud norte de $21^{\circ} 9'$ y la latitud oeste $101^{\circ} 15'$, y a una altitud de 2000 metros sobre nivel del mar (msnm), su panorama fisiográfico, en el que ocurren sistemas tan distintos entre sí como sierras, mesetas, lomeríos, valle y llanuras, la litología igualmente complicada, constituida por varios tipos de roca volcánica con altos contenidos de sílice, basalto y roca ígnea ácida asociada con aluviones antiguos, por pertenecer a la región central de la entidad se depositan aguas de la subcuenca del río Lajas-Peñuelas con acuíferos y una zona de veda de tipo C, veda elástica y esta caracterizado por una clima seco, con una temperatura media anual de 17°C y una precipitación promedio anual de 400 – 500 mm (principalmente entre los meses de Junio a Agosto). El suelo dominante esta región es de Tipo Feozem a una profundidad entre 15 – 40 cm, y el tipo de vegetación predominante es el mezquite *Prosopis laevigata*. (Luna-Suárez, 1998)

3.2 Muestreo de lodo.

El lodo utilizado para la realización de este trabajo fue colectado de una planta de tratamientos de aguas residuales de una industria farmacéutica, el muestreo se realizó después de que el lodo es deshidratado con un filtro prensa, para la recolección de las muestras se tomaron costales de yute de 50 kg y fueron transportadas al laboratorio para su análisis y aplicación en el suelo.

3.3 Trabajo de Laboratorio

3.3.1 Acondicionamiento del suelo

- a) Se acondicionó el suelo de mezquitil a 40% de capacidad de retención de agua y se incubó a temperatura ambiente una semana.

3.3.2 Preparación del suelo para las dinámicas del nitrógeno.

- a) Se tomaron 50 g de muestra de suelo acondicionado y se colocaron en jarras de 1 litro cerrándose completamente. Se incubaron a temperatura ambiente en oscuridad, durante 100 días.
- b) Las muestras fueron analizadas en los siguientes días 0,1,3,7,14,28,46,70,100 por triplicado.
- c) Para evitar condiciones de anaerobiosis las jarras se airearon cada semana.
- d) Para el análisis se tomaron las muestras y se disolvieron en 100 ml de sulfato de potasio 0.5 M, y se agitó durante media hora a 180 rpm.
- e) Posteriormente las muestras se filtraron a través de papel filtro Whatman # 41 de poro grueso. El filtrado se guardó en frascos de 125 ml a 4°C para su posterior análisis.

3.3.3 Dinámicas de nitrógeno de suelo con lodo.

- a) El suelo se acondicionó de la misma manera que en el caso anterior y se adicionó lodo con un peso equivalente al 4% del peso del suelo, para incubarse en las mismas condiciones que el suelo.
- b) Se trato de eliminar algunos compuestos solubles del lodo haciendo lavados con agua. Para lo cual el lodo se lavó diez veces con agua destilada, se filtro y se lavo cada vez.
- c) El residuo final es a lo que se denominó lodo lavado con el fin de que sirviera como control del mismo lodo.
- d) El lodo lavado también se adicionó en una concentración de 4% y posteriormente se incubó de la misma manera que el suelo para las dinámicas de nitrógeno.
- e) Todos los extractos se hicieron con el sulfato de potasio al igual que el suelo para posteriormente realizar los análisis de nitrógeno.
- f) Como control también se llevó a cabo el mismo experimento con lodo solo y con lodo lavado.

3.3.4 Cuantificación de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos.

Las técnicas utilizadas para la cuantificación de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos fueron tomadas de E. Primo Yúfera; J. M. Carrasco Dorrién; 1973 (ver anexo A).

3.3.5 Preparación de soluciones.

La preparación de las soluciones metanol: agua (70:30), metanol: agua: ácido acético (40: 60: 10) así como la medición del pH de esta última, fueron de acuerdo a la técnica en el laboratorio de análisis de instrumental de la UPIBI, del IPN (ver anexo A).

La obtención del Extracto Acuoso del lodo así como su filtrado se realizó de acuerdo a la técnica empleada en el laboratorio de análisis de instrumental de la UPIBI, del IPN (ver anexo A).

3.3.6 Procesamiento de los extractos de lodos.

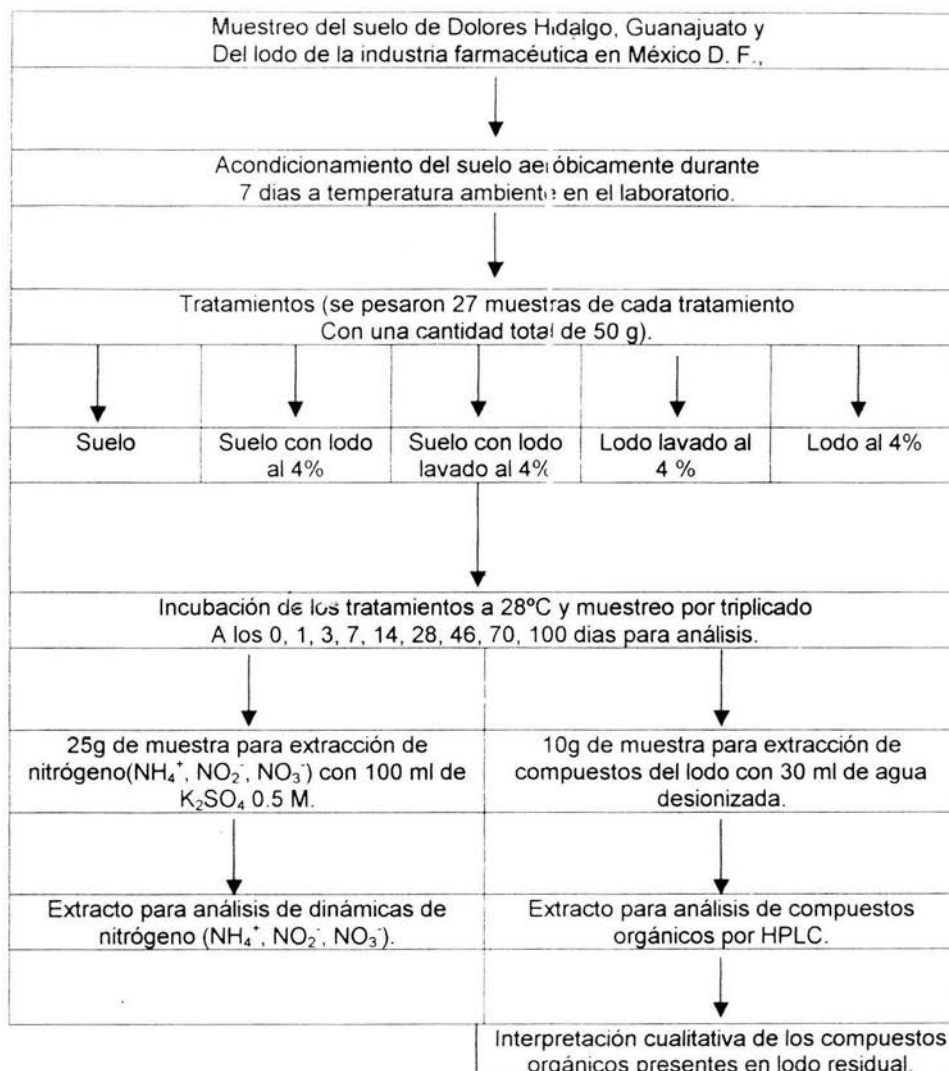
Los extractos de lodos fueron procesados en un cromatógrafo de líquidos Varian 9010, cuya bomba es de tipo terciaria (ver anexo A).

3.3.7 Evaluación de la degradación de los compuestos orgánicos en el lodo y suelo con lodo.

1. - Se tomaron muestras de 1 kilogramo de suelo en la localidad de Dolores Hidalgo en el estado de Guanajuato.
2. - Cada muestra fue tamizada a través de un tamiz con diámetro de 0.5 mm y posteriormente se acondicionó a 40 % de su capacidad de retención de agua durante 8 días.
4. - Posteriormente se tomaron por separado muestras de 10 gramos del suelo 1 y 2 así como del lodo, las cuales se incubaron en una jarra de 1 litro, dándoles los siguientes tratamientos:
 - a) Suelo 1
 - b) Suelo 2
 - c) Suelo 1 con lodo
 - d) Suelo 2 con lodo
 - e) Lodo
5. - Cada tratamiento se incubó a temperatura ambiente en una jarra de 1 litro, aireando cada semana para evitar condiciones anaeróbicas.
6. - Se tomaron muestras de cada uno de los tratamientos en los siguientes días: 0, 3, 7, 14, 28, 48, 70, 100 por triplicado.
7. - Cada muestra se extrajo con 100 ml de agua desionizada y se procedió a agitar a 200 rpm durante media hora.
8. - Enseguida se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y después se filtraron a través de papel filtro, con el fin de eliminar las partículas gruesas.
9. - El filtrado se pasó a través de un filtro de 0.45 μ de diámetro.
10. - Por último a los componentes orgánicos de cada solución fueron separados por la técnica de HPLC establecida para los componentes orgánicos de los lodos.

11. - La técnica de HPLC empleada fue tomada de Lorenz, L. J. 1980, la cual se modificó de acuerdo al tipo de compuestos orgánicos que se identificaron.
12. - El manejo de los datos para las cuantificaciones de amonio, nitritos y nitratos, fue mediante la utilización del programa estadístico denominado Statistical Analysis System (S.A.S)

3.3.8 Diagrama de Flujo de la estrategia experimental utilizada en el laboratorio.



- Los tratamientos fueron aereados cada semana para evitar condiciones de anaerobiosis.

3.3.9 Producción de Biosólidos de la Industria Farmacéutica.

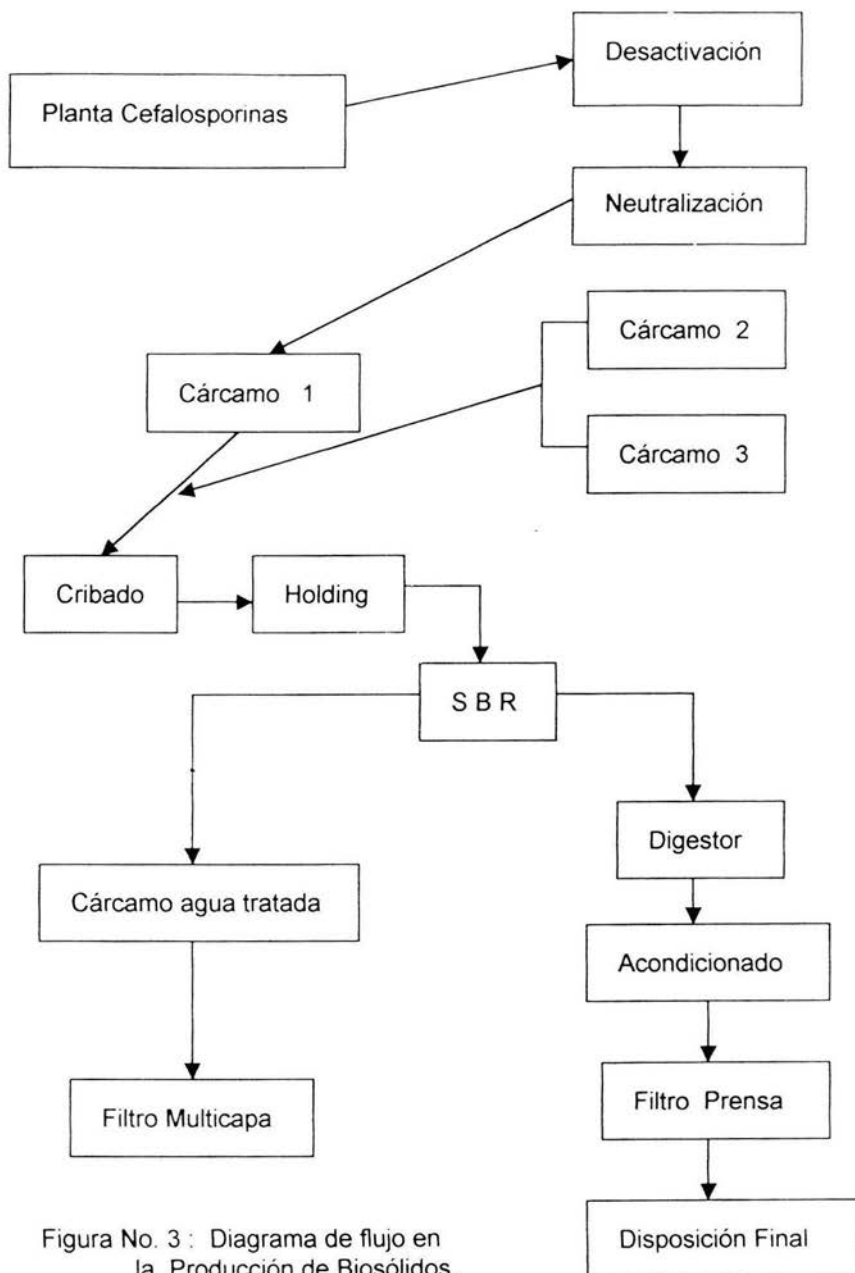


Figura No. 3 : Diagrama de flujo en la Producción de Biosólidos.

IV Resultados y Discusión.

4.1 Cuantificación de NH_4^+

En cuanto al suelo solo (SM) la cuantificación de amonio al día 0 es de 69.7 mg de N/ kg de masa seca, decae a el día 7 con un valor de 16.2 mg de N/kg de masa seca, estabilizándose entre los días 14 a 46 con un valor promedio de 22 mg de N/ kg de masa seca, decae al día 70 y se mantiene constante apartir de los 100 días con un valor promedio de 9.2 mg de N/ kg de masa seca.

Para el tratamiento suelo de mezquital con lodo lavado (SMLL) la cuantificación de amonio comienza al día 0 con un valor de 95.7 mg de N/kg de masa seca, observándose después una tendencia a disminuir estabilizándose apartir del día 28 a los 100 días con un valor promedio de 20.9 mg de N/kg de masa seca.

El siguiente tratamiento suelo de mezquital con lodo (SML) inicia con un valor de 133.8 mg N/kg de masa seca, aumentando al día 1 con un valor de 241.7 mg de N/kg de masa seca, decae y se estabiliza a partir del día 28 a los 100 días con un valor promedio de 26 mg de N/kg de masa seca.

En cuanto a el tratamiento lodo lavado (LL) inicia al día 0 con un valor de 66 mg de N/ kg de masa seca, aumentando al día 14 con un valor de 116.2 mg de N/kg de masa seca, estabilizándose apartir del día 28 a los 100 días con un valor promedio de 43.7 mg de N/ kg de masa seca.

Por último para el tratamiento de lodo (L) inicia con un valor superior al de las anteriores que es de 444.43 mg de N/ kg de masa seca, y decae gradualmente

apartir de día 14 y se estabiliza a los 100 con un valor promedio de 66 mg de N/ kg de masa seca

Tabla no. 6 : Cuantificación de NH_4^+ en suelo de mezquital y suelo de mezquital adicionado con lodo residual de la industria farmacéutica incubado a 28°C durante 100 días, \pm desviación estándar.

	S M	D. S.	SMLL	D. S.	SML	D. S.	LL	D. S.	L	D. S.
Días	mg de N / Kg de Lodo Seco									
0	69.7	8.3	95.7	1.6	133.8	24.7	66	11.6	444.4	19.3
1	66.9	2.2	102.3	4.2	241.7	18.5	56.7	4.2	324.4	21.3
3	30.6	0	49.2	6.4	127.2	11.6	39.9	8.9	134.8	55.3
7	16.2	4.4	72.5	21.1	143.1	21.1	50.2	9.6	184.1	16.7
14	22.3	5.5	24.1	2.1	58.5	2.7	116.2	15.3	156.2	14.4
28	25.1	7.3	20.9	13.3	26	14.3	35.3	4.2	184.1	51.6
46	23.2	3.2	21.3	1.6	23.2	1.6	43.7	15.8	156.2	34.2
70	9.2	1.6	11.1	5.5	28.8	13.7	51.1	4.2	66	37.9
100	9.2	1.6	11.1	5.5	28.8	13.7	51.1	4.2	66	37.9

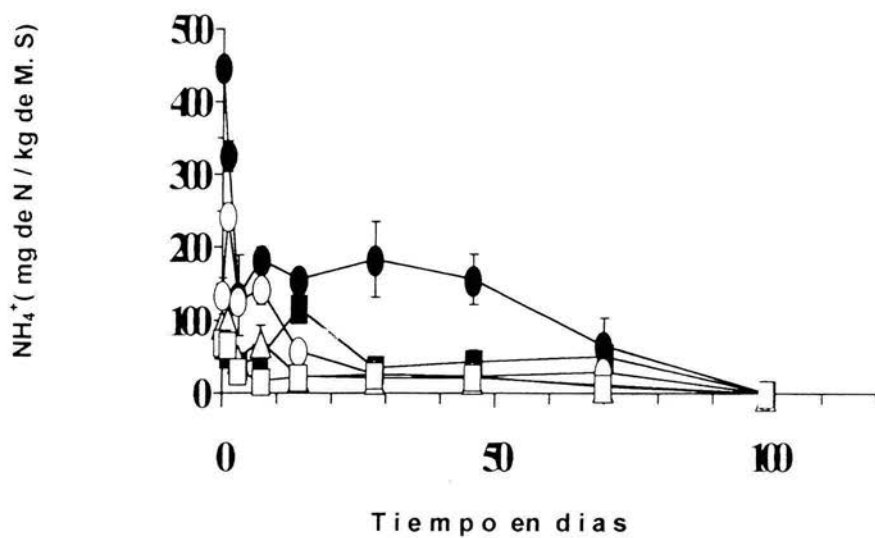


Figura No. 4: Gráfica que muestra el comportamiento en la cuantificación de NH_4^+ en suelo de mezquital (SM- □), suelo de mezquital adicionado con lodo lavado (SMLL -▲), suelo de mezquital adicionado con lodo (SML -○), lodo lavado (LL ■), y lodo (L -●), incubados a 28 °C durante 100 días, todos con \pm desviación estándar.

De acuerdo con los registros de la tabla no.6 y lo observado en la gráfica no.4, los tratamientos SML y L son los que presentan una mayor cuantificación de amonio inicial, con valores de 133.8 y 444.43 mg N/kg masa seca, respectivamente y decreciendo apartir de día 3 hasta estabilizarse al día 28, y manteniéndose así hasta los 100 días, lo cual concuerda con lo reportado por Epstein et al.1978, Smith. 1980, Sommers et al. 1983, Stanford. 1974, Magdoff et al. 1980, Ryan et al. 1973, Lindenman.1984. Los cuales mencionan un incremento inicial importante de amonio dentro de las dos primeras semana, cual indica que la adición de lodo residual a suelos del mezquital, proporciona una cantidad de nitrógeno importante para activar los procesos de mineralización del nitrógeno y de esta manera favorecer en el mejoramiento del suelo.



4.1.2 Cuantificación de NO_2^-

Pasando a la cuantificación de nitritos tenemos que el suelo solo (SM) inicia con un valor de 0.07 mg de N/ kg de masa seca, incrementando los días 1 y 28 con un valor de 0.7 y 1 mg de N/ kg de masa seca respectivamente, estabilizándose a partir de día 28 a los 100 días con un valor promedio de 0.4 mg de N/kg de masa seca. **IZT.**

Para el caso de tratamiento suelo adicionado con lodo lavado (SMLL), la cuantificación inicia al día cero con un valor de 0.5 mg de N/ kg de masa seca, incrementando al día 3 con un valor de 1.7 mg de N/ kg de masa seca, estabilizándose a partir del día 7 a los 100 días con un valor promedio de 0.5 mg de N/ kg de masa seca.

Ahora con el tratamiento de suelo adicionado con lodo (SML), cuya cuantificación inicia al día 0 con un valor de 0.6 mg de N/ kg de masa seca, aumentando al día 7 con un valor de 1.3 mg de N/ kg de masa seca, manteniéndose constante a partir de los días 14 a 46 con un valor promedio de 0.7 mg de N/ kg de masa seca, decae hacia el día 70 estabilizándose hacia los 100 días con un valor promedio de 0.5 mg de N/ kg de masa seca.

Siguiendo con la el tratamiento de lodo lavado (LL), inicia con un valor de 2.4 mg de N/ kg de masa seca, notando dos aumentos los días 1 y 28 con un valor promedio de 3 mg de N/ kg de masa seca, decae paulatinamente a partir del día

46 hasta estabilizarse a los 100 días con un valor de 1.3 mg de N/ kg de masa seca.

Por último el tratamiento de lodo (L), que inicia con un valor de 4.32 mg de N/ kg de masa seca, y decae hacia el día 7 con un valor de 2.3 mg de N/ kg de masa seca, manteniéndose constante apartir del día 14 a 46 con un valor promedio de 4.6 mg de N/ kg de masa seca, hasta estabilizarse a los 100 días con un valor promedio de 1.7 mg de N/ kg de masa seca.

Tabla No. 7 : Cuantificación de NO_2^- en suelo de mezquital y suelo de mezquital adicionado con lodo residual de la industria farmacéutica incubado a 28 °C durante 100 días, \pm desviación estándar.

	SM	D.S.	SMLL	D.S.	SML	D.S.	LL	D.S.	L	D.S.
Días	mg de N / kg de Lodo Seco									
0	0.07	0.1	0.5	0.5	0.6	0.1	24	0.7	4.3	0
1	0.7	0.3	0.2	0.07	1	0.4	3	0.8	3.5	0.4
3	0.2	0.1	1.7	0.2	0.6	0.1	24	0.2	3	0.8
7	0.2	0.2	0.6	0.2	1.3	0.1	1.7	0.3	2.3	0.3
14	0.2	0.07	0.4	0.1	0.7	0.07	2	0.4	4.3	0.5
28	1	0.1	0.7	0.1	1	0.2	3	0.6	4.6	0.3
46	0.2	0.07	0.5	0	0.7	0.07	2.3	0.3	4.9	0.4
70	0.4	0.07	0.5	0.2	0.2	0	1.3	0.3	2.6	0.03
100	0.3	0	0.5	0.2	0.5	0.2	1.3	0	1.7	0.6

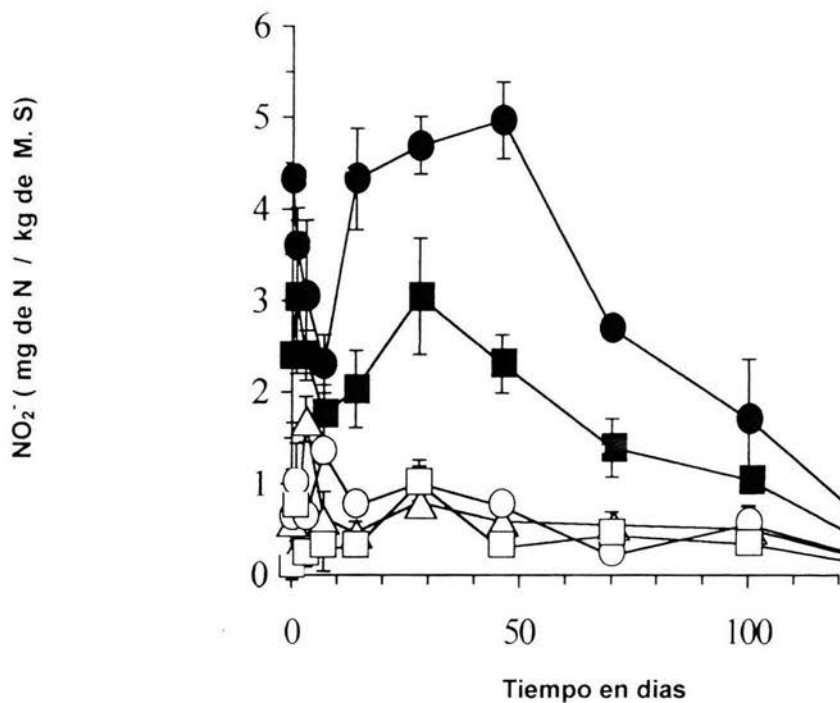


Figura No. 5: Gráfica que muestra el comportamiento en la cuantificación de NO_2^- en suelo de mezquite (SM -□-), suelo de mezquite adicionado con lodo lavado (SMLL -▲-), suelo de mezquite adicionado con lodo (SML -○-), lodo lavado (LL -■-), y lodo (L -●-), incubados a 28°C durante 100 días, \pm desviación estándar.

Pasando a la información que nos proporcionan los registros de la tabla no.7, y a lo observado en gráfica no.5, tenemos en cuanto a la cuantificación de nitritos, se observa que los tratamientos LL y L, son los que muestran los valores más altos ya que por lógica el contenido de materia orgánica en estos es mucho mayor, tendiendo a estabilizarse a partir del día 46, sin embargo los tratamientos de SML y SMLL, muestran valores iniciales de 0.6 y 0.5 mg de N /kg de masa seca, lo cual indica que la actividad de las bacterias nitrificantes se ve favorecida a partir del día inicial al día 70, concordando esta información con lo reportado por Epstein et al. 1978, Smith. 1980, Sommers et al.1983, Stanford. 1974, Magdoff. 1980, Ryan et al. 1973, Lindenmann,1984.

4.1.3 Cuantificación de NO_3^-

Observando la gráfica de cuantificación de nitratos tenemos que en suelo solo (SM), inicio al día 0 con un valor de 6.7 mg de N/ kg de masa seca, aumentando al día 14 con un valor de 251 mg de n/ kg de masa seca, disminuyendo hasta estabilizarse a partir del día 28 a los 100 días con un valor promedio de 80 mg de N/ kg de masa seca.

Para el tratamiento de suelo adicionado con lodo lavado (SMLL), la cuantificación de nitratos inicia al día 0 con un valor de 8.6 mg de N/ kg de masa seca, notándose enseguida el aumento progresivo a partir del día 1 al 46, estabilizándose a los 100 días con un valor de 224.3 mg de N/ kg de masa seca.

Siguiendo con el tratamiento de suelo adicionado con lodo (SML), este inicia con una cuantificación de nitratos al día 0 con un valor de 12.9 mg de N/ kg de masa seca, observando un aumento gradual del día 3 al día 70, estabilizándose a los 100 días con un valor de 258.2 mg de N/ kg de masa seca.

Entonces para el tratamiento de lodo lavado (LL) que inicia al día 0 con un valor de 16.1 mg de N/ kg de masa seca, decae al día 3 con un valor de 7.8 mg de N/ kg de masa seca, e inicia un incremento gradual hacia el día 70, y se estabiliza a los 100 días con un valor 23.9 mg de N/ kg de masa seca.

Y en caso del tratamiento de Lodo solo (L), la cuantificación de nitratos inicia al día 0 con un valor de 71 mg de N/ kg de masa seca, decae al día 3 con un valor de 16.4 mg de N/ kg de masa seca, aumentando de manera gradual hasta

el día 70 y estabilizándose a los 100 días con un valor de 42.9 mg de N/ kg de masa seca.

Tabla No. 8 : Cuantificación de NO_3^- en suelo de mezquital y suelo de mezquital adicionado con lodo residual de la industria farmacéutica incubado a 28°C durante 100 días, \pm desviación estándar.

	SM	D. S.	SMLL	D. S.	SML	D. S.	LL	D. S.	L	D. S.
Días	mg de N / Kg de Lodo Seco									
0	67	0	86	18	129	132	161	7	71	132
1	48	1.7	17.2	0	129	06	17.2	1.1	31.7	5.8
3	23.7	0	16.4	0	7.1	1.3	7.8	3	16.4	1.8
7	41.3	2.4	49.5	2.4	49.8	2.3	17.4	2.5	32	7.5
14	251	1.3	143.2	10.2	86	5.1	26.4	1.2	33.3	7.4
28	93.9	19.4	177.6	27.5	301.5	23.5	22.9	4.1	42.4	11
46	72.8	31.4	272.5	55.8	326.1	16.6	23.8	3.4	63.2	15.8
70	94.9	7	263.5	8.26	379.7	53.2	34.2	2.2	74.8	4.1
100	125	31.5	224.3	57.9	258.2	26.1	23.9	2.4	42.9	8.2

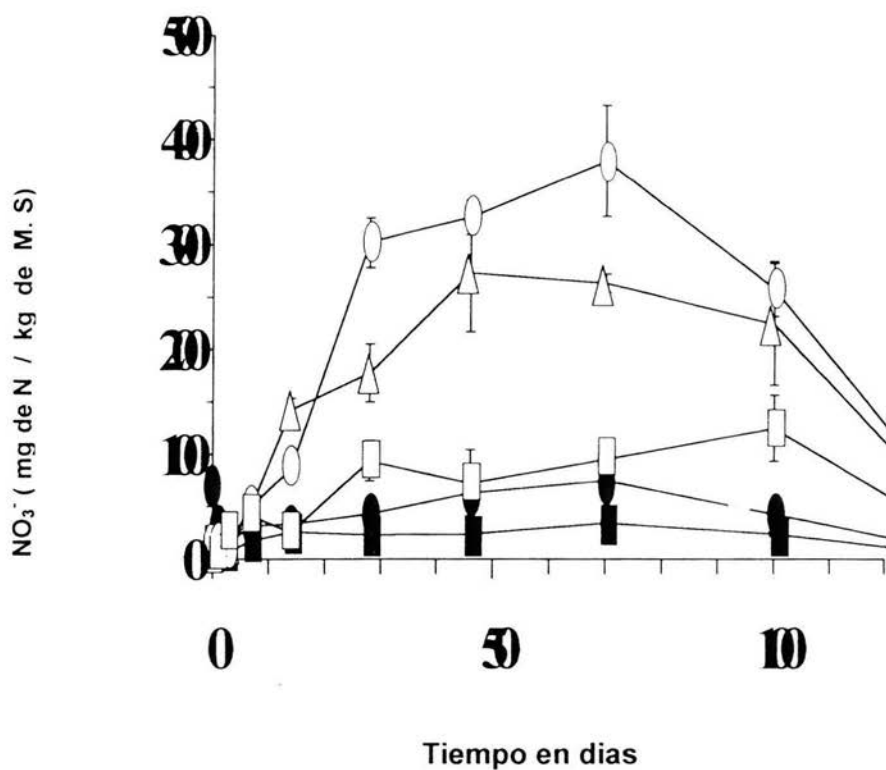


Figura No. 6: Gráfica que muestra el comportamiento en la cuantificación de NO_3^- en suelo de mezquital (SM -□-), suelo de mezquital adicionado con lodo lavado (SMLL -▲-), suelo de mezquital adicionado con lodo (SML -O-), lodo lavado (LL -■-), y lodo (L -●-), incubados a 28°C durante 100 días, \pm desviación estándar.

Por último, la información proporcionada por la tabla no.8 y la gráfica no 6, en lo correspondiente a la cuantificación de nitratos, se observa en los tratamientos SML y L, inician con un valor de 12.9 y 71 mg de N/kg de masa seca respectivamente, posteriormente se presenta una mineralización de nitrógeno que tiende a incrementar con respecto al tiempo, esto indica que la adición de adición de lodo a suelo del mezquital, no afecta a los microorganismos encargados de este proceso y como ya se ha comentado en el marco teórico es importante para la absorción de nitrógeno en las plantas. Lo anterior concuerda con los trabajos de Sommers et al. 1983, Ryan et al. 1973, Magdoff et al. 1980, Stanford. 1974, Smith. 1980, Lindenmman. 1984, Serna y Pomares, 1992.

4.2 Separación de los compuestos orgánicos presentes en suelo y lodos.

Analizando en primer termino los cromatogramas de los lodos, no se encuentran diferencias aparentemente significativas entre los compuestos orgánicos que se presentan en los lodos, es por eso que para representarlos se eligieron los cromatogramas de los días 0 y 3 (figuras 7 y 8) para mostrarlos. Es posible una actividad microbiana muy baja la cual se pudo haber dado por el pH de 12 que tenia en un inicio el lodo. Pero a mayor tiempo de incubación el pH cambia y puede provocar alguna diferencia en la concentración de los componentes, pero basándonos en la cuantificación y en los TR podemos decir que no hay diferencia significativa.

De acuerdo con la comparación de las gráficas de suelo 1 se observan diferencias significativas en el compuesto representado por el pico número 6, el cual aumenta en un 20% del día 0 al día 14, disminuyendo posteriormente en 1.86% del día 14 al día 28, así mismo, del día 28 al 46 en un 39.4%. Lo anterior puede ser indicio de la actividad microbiana en suelo, al incrementar la producción del compuesto representado por el pico número 6 (figuras 9 a 12). Posteriormente la concentración de este compuesto disminuye hasta permanecer constante después del día 28; esto posiblemente pueda deberse a que en el suelo los microorganismos incrementaron su actividad al estar en condiciones adecuadas de humedad y temperatura, además por la agitación mecánica del suelo los nutrientes de éste se encontraban en mayor disponibilidad para los microorganismos, por lo tanto la actividad microbiana se incrementa y posteriormente como sucede normalmente en el suelo los microorganismos tienden a estabilizarse.

Tabla no.9: Valores del registro en HPLC de compuestos orgánicos
presentes en lodo a 0 días de incubación (Fig. no. 7)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresado en mm ²
1	1.4	2520702
2	1.58	2816502
3	1.76	7407402
4	2.38	85605
5	2.58	915606
6	2.85	1010006
7	3.46	4055106
8	3.92	656906

Tabla no. 10 : Valores del registro en HPLC de compuestos orgánicos
presentes en lodo a 3 días de incubación (Fig. no. 8)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.36	14345502
2	1.63	12153102
3	1.85	60320202
4	2.42	8454402
5	2.61	22787402
6	2.89	9765802
7	3.32	33209302
8	3.93	68843602

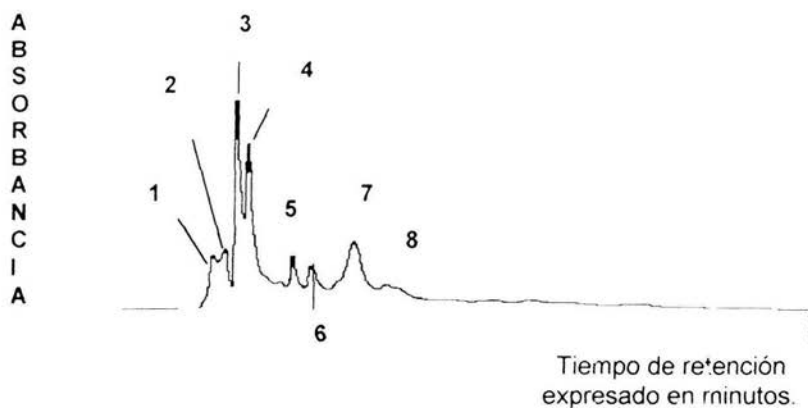


Figura no. 7 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de lodo a 0 días de incubación a temperatura de 28°C.

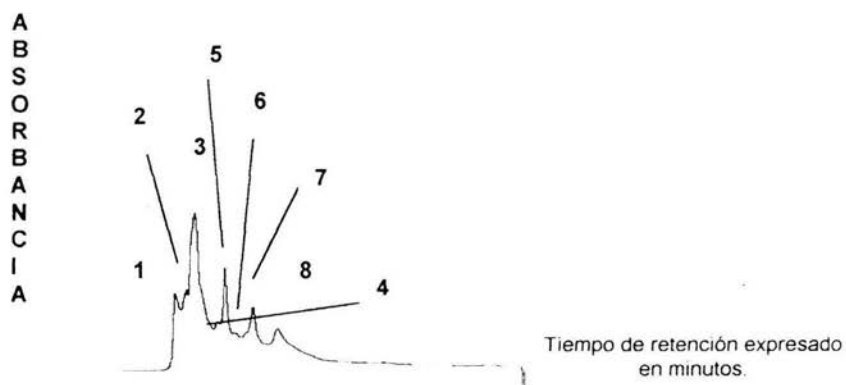


Figura no. 8 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de lodo a 3 días de incubación a temperatura de 28°C.

Tabla no. 11 : Valores del registro en HPLC de compuestos orgánicos presentes en suelo 1, a 0 días de incubación (Fig. no.9)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.22	589002
2	1.51	1527002
3	1.76	4187202
4	2.5	560502
5	2.71	443302
6	2.99	102202
7	3.06	1285903

Tabla no. 12 : Valores del registro en HPLC de compuestos orgánicos presentes en suelo 1 a 14 días de incubación. (Fig. no. 10)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.51	2401002
2	1.72	4238002
3	2.18	2262002
4	2.57	321302
5	2.68	155202
6	3.51	5581402
7	5.14	387201

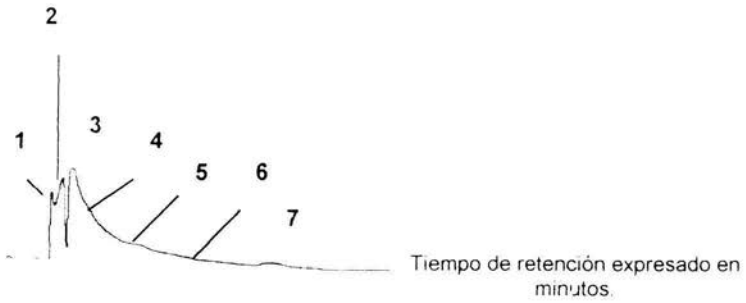
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 9 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 1, a 0 días de incubación a una temperatura de 28°C.

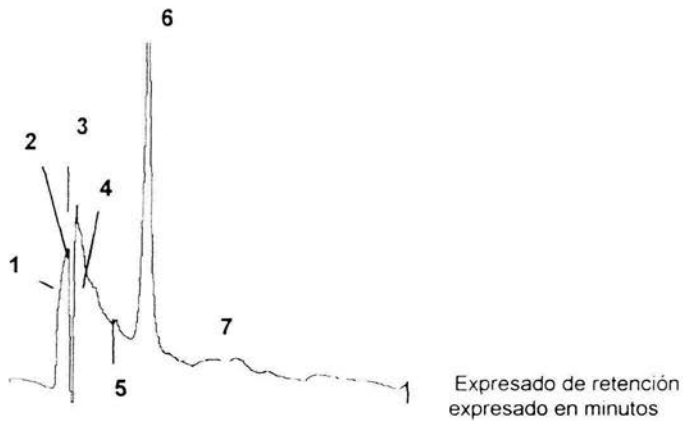
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 10 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 1, a 14 días de incubación a temperatura de 28°C.

Tabla no. 13 : Valores de registro en HPLC de compuestos orgánicos presentes en suelo 1, a 28 días de incubación (Fig. no. 11)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresado en mm ²
1	1.26	601702
2	1.5	2275702
3	1.74	3261302
4	2	1183202
5	2.18	1897702
6	2.69	1353003
7	3.49	104201

Tabla no. 14 : Valores de registro en HPLC de compuestos orgánicos presentes en suelo 1, a 46 días de incubación (Fig. no. 12)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.27	528202
2	1.48	2729202
3	1.76	1266902
4	1.83	3582302
5	2.19	4853602
6	2.98	928202
7	3.5	2199302

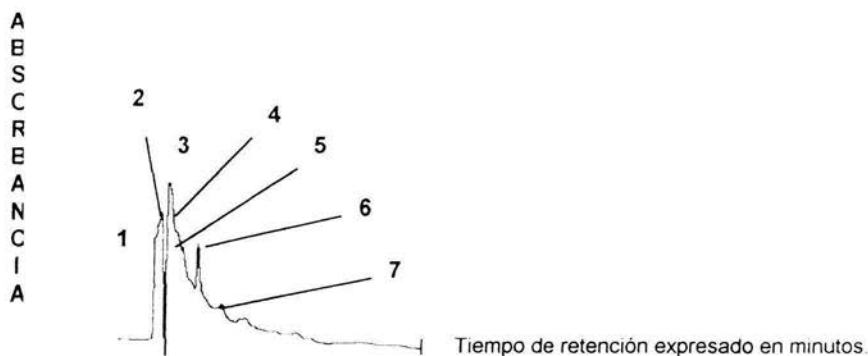


Figura no. 11 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo de 1, a 28 días de incubación a temperatura de 28°C.

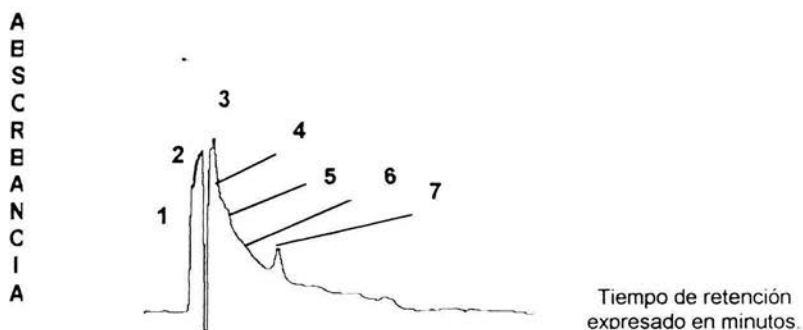


Figura no. 12 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 1, a 46 días de incubación a temperatura de 28°C.

Observando ahora las gráficas de suelo 1 con lodo se puede observar también diferencias significativas en el compuesto representado por el pico número 1, el cual aumenta un 30.46% del día 0 al día 14, y disminuye un 68% del día 14 al día 28, de la misma manera lo hace del día 28 al 48 en un 53.75%. Lo anterior posiblemente por la incorporación de los compuestos presentes en el lodo, ya que al adicionar lodo a éste suelo 1, se observa la aparición del mismo componente que en suelo 1 anterior al día 28. La adición de lodo esta proporcionando una mayor concentración de nutrientes y de microorganismos lo cual da como resultado la aparición de un componente que corresponde a un TR promedio de 1.29 minutos. La producción de este componente se atribuye a la actividad microbiana del lodo adicionado, ya que este componente no se observa en el suelo solo (figuras 10 a 13 y 14 a 17).

Con respecto a las gráficas suelo 2 se observaron diferencias significativas a partir del compuesto representado por el pico número 6, al día 14, el cual con respecto a la gráfica de los días 28 a 48 se observa un decremento del 69.08%, lo cual se explica igual que en el caso del suelo 1, a la producción del mismo componente que se presenta el mismo TR (figuras 10 a 13 y 18 a 20). Este compuesto también se incrementa al día 14 como sucede en los casos anteriores del suelo 1.

Tabla no. 15 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 1, a 0 días de incubación (Fig. no. 13).

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos.	Área bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.25	1510902
2	1.52	1123802
3	1.75	3111102
4	2.2	1063002
5	2.5	610802
6	2.71	516902
7	3	679902
8	3.55	972303

Tabla no. 16 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 1, a 14 días de incubación(Fig. no. 14)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos.	Área bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.29	4959102
2	1.77	1237102
3	1.84	3200702
4	2.21	4055402
5	2.98	3231302
6	3.52	1463002
7	4.02	1490702
8	4.38	2218302

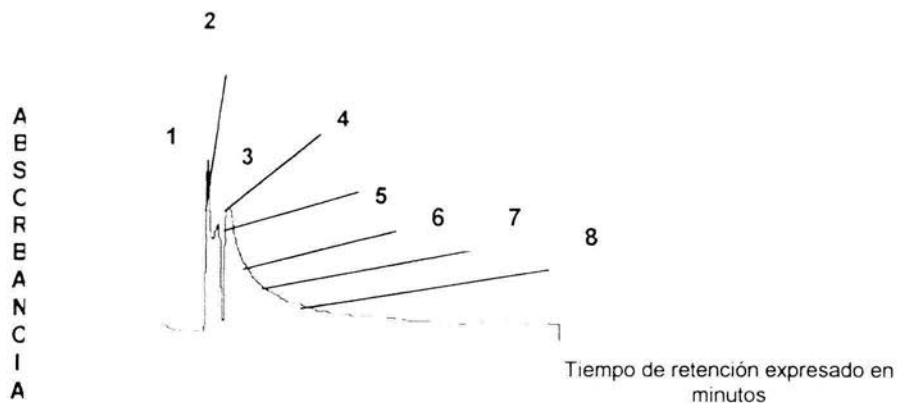


Figura no. 13: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 1, a 0 días de incubación a temperatura de 28°C.

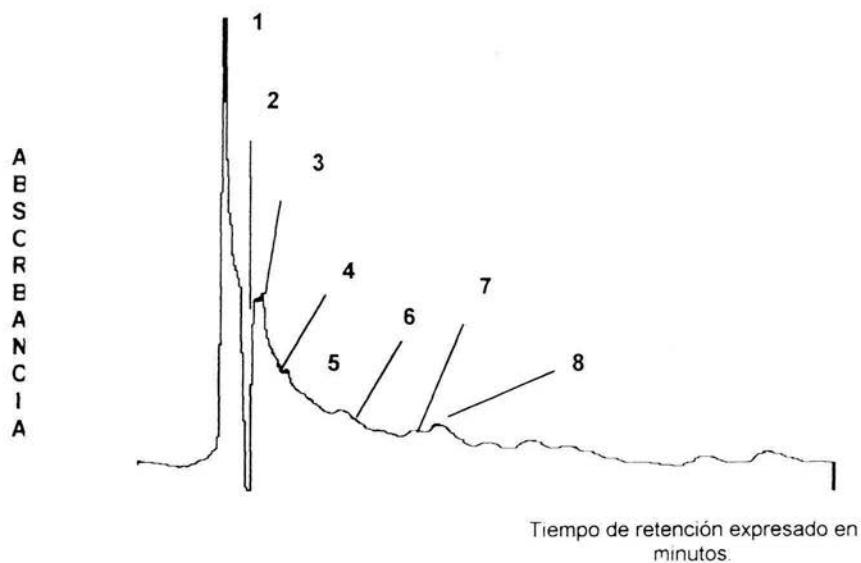


Figura no. 14 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 1, a 14 días de incubación a temperatura de 28°C.

Tabla no. 17 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 1, a 28 días de incubación (Fig. no. 15)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.29	3372402
2	1.79	1216502
3	1.83	2799702
4	2.21	1770002
5	2.25	408102
6	2.63	1149602
7	2.94	782002
8	3.57	3546102

Tabla no. 18 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 1, a 46 días de incubación (Fig. no. 16)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.3	2665902
2	1.57	2278702
3	1.87	5234502
4	2.2	4537702
5	2.54	1517602
6	2.73	686202
7	2.83	1020602
8	3	567902

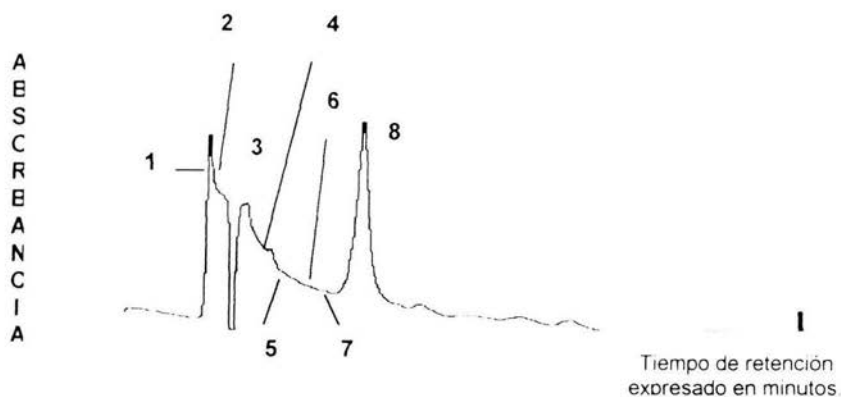


Figura no. 15: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 1, a 28 días de incubación a temperatura de 28°C.

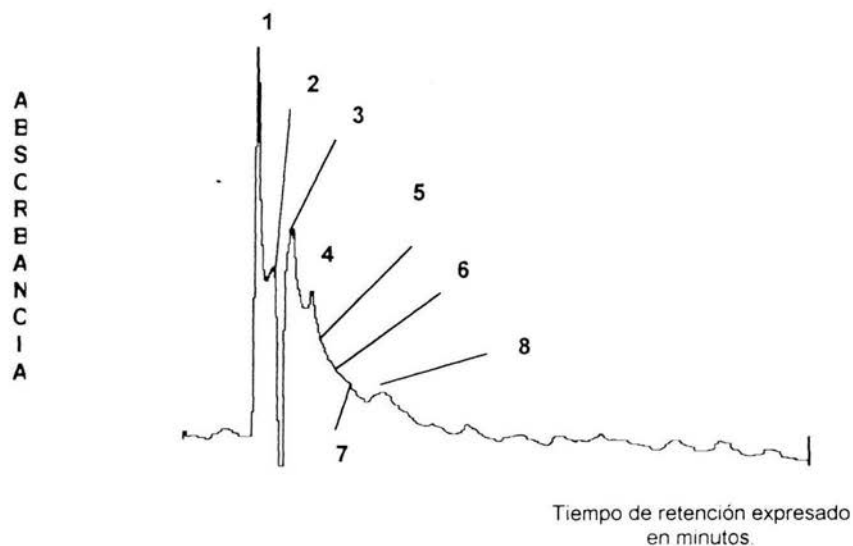


Figura no. 16: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 1, a 46 días de incubación a temperatura de 28°C.

Tabla no. 19 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos
presente en suelo 2, a 0 días de incubación (Fig. no. 17)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos.	Área bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.21	483002
2	1.51	1340402
3	1.82	2758002
4	2.16	686002
5	2.35	16611902

Tabla no. 20 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos
presentes en suelo 2, a 14 días de incubación (Fig. no.18)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos.	Área bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.3	384402
2	1.47	2275402
3	1.82	3957402
4	2.07	599702
5	2.19	5603102
6	3.5	6313708

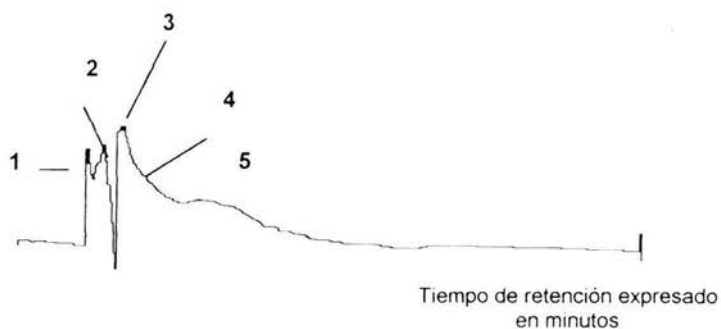
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 17: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 2, a 0 días de incubación a temperatura de 28°C.

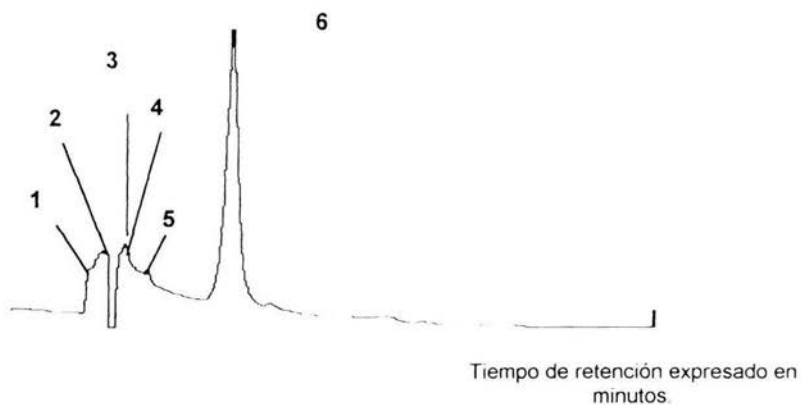
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 18: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 2, a 14 días de incubación a temperatura de 28°C.

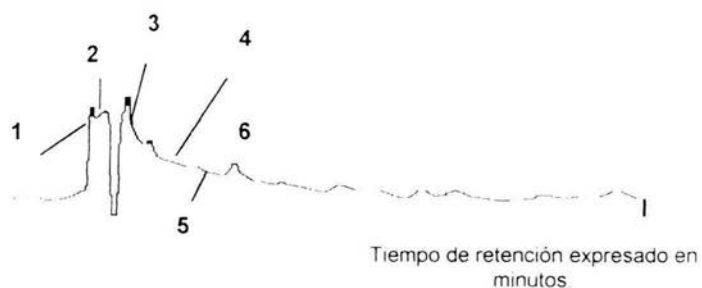


Figura no. 19: Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo 2, de 28 a 46 días de incubación a temperatura de 28°C.

Tabla no. 21 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo 2, de 28 a 46 días de incubación (Fig. no. 19)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos.	Área bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.26	2319102
2	1.48	2361702
3	1.84	4746302
4	2.18	5170102
5	2.88	3505902
6	3.57	4499702

Enfocados ahora en las últimas gráficas del suelo 2 con lodo podemos observar aquí dos cosas interesantes, la primera es la diferencia significativa de la aparición retardada del compuesto representado por el pico número 6, que aparece tanto en suelo 1 solo como en este adicionado con lodo, pero a diferencia del suelo 1, en este caso no hay producción del componente 8 (con TR igual a 3.50), que el suelo produce sin la adición de lodo. Lo anterior puede deberse a que los componentes del lodo inducen a la producción de dicho componente el cual tiene una diferencia de concentración con respecto a los componentes del día 14 del suelo 1, solo de 63.53% (figuras 20 a 22), y la segunda es que en este suelo 2 adicionado con lodo, también se observa una diferencia significativa en el compuesto representado por el pico número 1, igual que en el caso del suelo 1 con lodo el cual aumenta en un 61.65% del día 0 al día 14 y decrece en un 86.79% hacia los días 28 a 48, presentándose en el promedio de TR de 1.26, este comportamiento fue igual al suelo 1 con lodo, lo cual era de esperarse debido a que los dos suelos son de la misma zona de mezquital y no hay diferencias significativas.

Tabla no. 22 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 2, a 0 días de incubación (Fig. no.20)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.24	2351402
2	1.48	1005602
3	1.76	4855002
4	2.94	1143302

Tabla no. 23 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 2, a 14 días de incubación (Fig. no.21)

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.29	3813702
2	1.83	1669302
3	1.85	2042502
4	2.07	706102
5	2.21	10317502

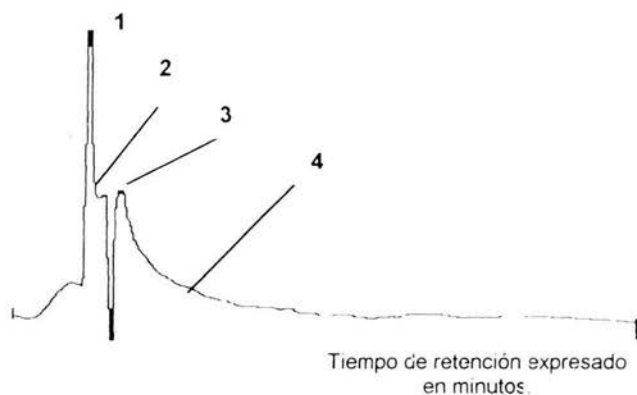
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 20 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 2, a 0 días de incubación a temperatura de 28°C.

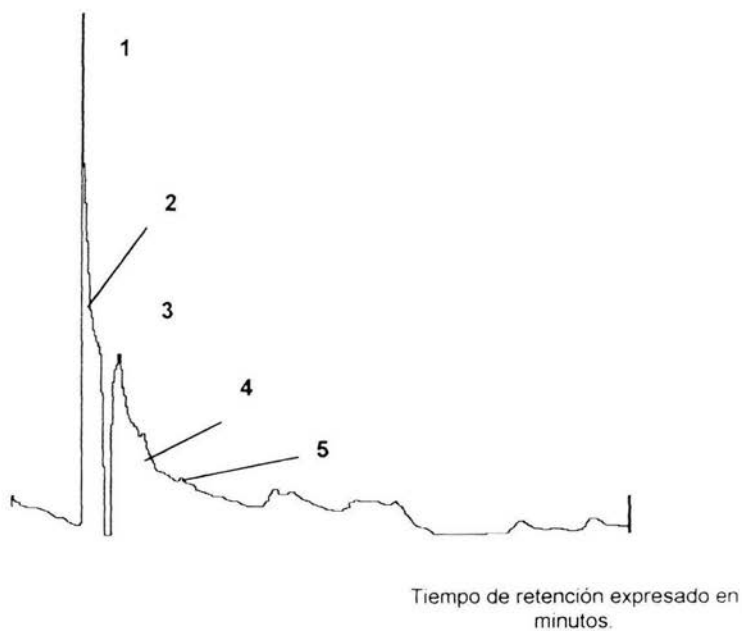
A
E
S
C
R
E
A
N
C
I
A

Figura no. 21 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 2, a 14 días de incubación a temperatura de 28°C.

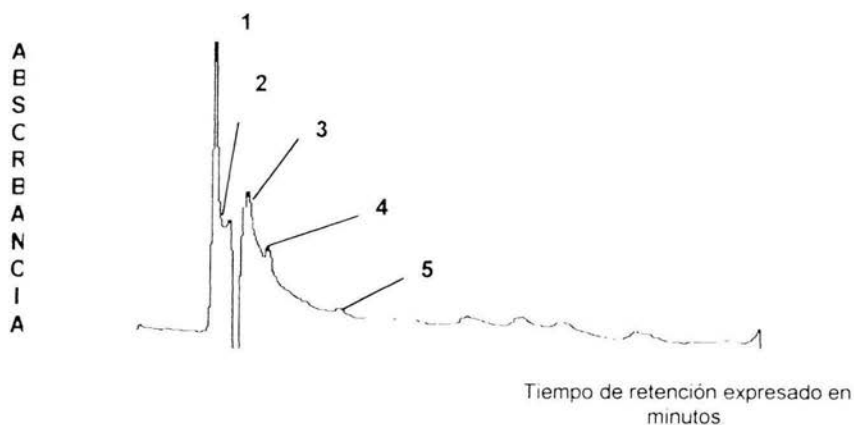


Figura no. 22 : Cromatograma de los compuestos orgánicos presentes en una muestra de suelo con lodo 2, de 28 a 46 días de incubación a temperatura de 28 °C.

Tabla no. 24 : Valores de registro en HPLC de los compuestos orgánicos presentes en suelo con lodo 2, de 28 a 46 de incubación (Fig. no. 22).

Pico	Tiempo de retención expresado en minutos	Area bajo la Curva expresada en mm ²
1	1.26	3081402
2	1.52	1853302
3	1.81	5559902
4	2.13	4148002
5	2.47	1382002

V Conclusiones:

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos puntualizar que la nitrificación en suelo de mezquital adicionado con lodo residual al 4%, llego a su estabilización a los 28 días.

Por otra parte la adición de lodo residual a suelo de mezquital proporciona una cantidad de nitrógeno del orden de 64 mg de N/kg MS. Lo cual es indicio del mejoramiento del suelo por incremento de nutrientes como el nitrógeno.

También la mineralización del nitrógeno no se ve afectada por la adición de lodo residual a suelo de mezquital, es decir que los componentes orgánicos e inorgánicos presentes en el lodo no afectan a los microorganismos que llevan a cabo las reacciones en el ciclo del nitrógeno en estos suelos de mezquital.

En cuanto a la separación de compuestos orgánicos presentes en el lodo residual se concluye que el número de compuestos separados por HPLC es de 5 a una longitud de onda de 254 nm, la cual nos permite establecer que la naturaleza de estos compuestos es orgánica y probablemente contengan anillos aromáticos en su estructura, además de que estos compuestos permanecieron constantes durante el tiempo del estudio(figuras 7 a 8).

Para el suelo de mezquital la separación de compuestos por HPLC fue de 7 compuestos separados, siendo 3 los más abundantes, es decir, fueron en los que se observó un incremento en la concentración del compuesto 6 al día 14 en un 20 %, y en suelo de mezquital 2 se pudieron separar

6 compuestos y siendo 4 los más representativos, con mayor concentración, observándose también un incremento del 6to compuesto.

Se puede sugerir en el caso de los extractos para suelo de mezquital 1 y 2 que el compuesto número 6 es el mismo componente ya que la actividad microbiana se ve favorecida hacia el día 14 en ambos casos y estos se nota en el incremento de estos con respecto al tiempo. (figuras 9 a 12 y 17 a 19).

Para el caso de suelo de mezquital adicionado con lodo residual 1 se observa la separación de 8 componentes de los cuales los compuestos 1 y 8 incrementan su concentración en un 30.46% y 27.44% respectivamente, comparando este último con los de suelo de mezquital 1 y 2 podemos sugerir que se trata del mismo componente de acuerdo al tiempo de retención que presentan. (figuras 13 a 16).

Así para el caso de suelo de mezquital adicionado con lodo residual 2, se observa la separación de 5 compuestos siendo 4 los de mayor concentración, notándose el incremento en la concentración del compuesto 1 en 61.65% al día 14 y en el componente número 5 también incrementa su concentración en 11.08% a los 14 días de incubación. (figuras 20 a 22).

Lo anterior nos permite establecer que la adición de lodo residual a suelo de mezquital beneficia de manera considerable a los microorganismos presentes en el suelo dotándolo de nutrientes que permiten el incremento de componentes sobre el día 14. Todo esto nos impulsa a sugerir trabajos posteriores en el monitoreo de las posibles alteraciones en otros ciclos naturales tan importantes como son el del carbono, azufre y fósforo al adicionarles lodo residual, además de

llevar a cabo la identificación de los compuestos orgánicos separados para conocer el grado de toxicidad que pudieran ocasionar o tener, para que de esta manera se pueda tener una mejor perspectiva en cuanto a la utilización de estos lodos residuales provenientes de la industria farmacéutica y mejorar el manejo de estos y asegurar su control y uso como fertilizantes.

VI BIBLIOGRAFIA.

Alonso M. C., D. Puig., I. Silgoner., M. Grasserbauer., D. Barceló.,1998. Determination of Priority Phenolic Compounds in Soil Samples by Various Extraction Methods Followed by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemicals Ionisation Mass Spectrometry. *J. Chrom. A.* **823** : 231-239.

R. I. Beltrán-Hernández., E. Coss-Muñoz., M. L. Guido., F. Mercado-García., C. Siebe., & L. Dendooven., 1999. Carbon and nitrogen dynamics in alkaline saline soil of the former Lake Texcoco (Mexico) as affected by application of sewage sludge. *European Journal of Soil Science.* **50** : 601 – 608.

Bohn L. H., Mcneal L. B., O'connor A. G.,1993. " Química del Suelo", Editorial Limusa, 2da Edición, México. 371 Págs.

Buser H. R., and M. D. Müller.,1995. Environmental Behavior of Acetamide Pesticide Stereoisomers. 1. Stereo- and Enantioselective Determination Using Chiral High-Resolution Gas Chromatography and Chiral High-Performance Liquid Chromatography. *Environ. Sci. Technol.* **29** : 2023-2030.

Buser H. R., and M. D. Müller.,1998. Occurrence of the Pharmaceutical Drug Clofibric Acid and the Herbicide Mecoprop in Various Swiss lakes and in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* **32** : 188-192.

Capri A., and S. E. Lindberg.,1995. Sunlight-Mediated Emission of Elemental Mercury from Soil Amended with Municipal Sewage Sludge. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 2085-2091.

Carrillo G. Rogelio., Cajuste J. Lenom., 1995. Behavior of Trace Metals in Soil of Hidalgo, Mexico. *J. Environ. Sci. Health.* **A30 (1)** : 143-155.

Casal S., M. B. Oliveira., M. A. Ferreira., 1998. Development of an HPLC/Diode-Array Detector Method for Simultaneous Determination of Trigonelline, Nicotinic Acid, and Caffeine in Coffee. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21 (20)** : 3187-3195.

Cédric G. A., M. Berg., S. R. Müller., U. Dommann., and R. P. Schwarzenbach., 1998. Determination of Organotin Compounds in Water, Sediments, and Sewage Sludge Using Perdeuterated International Standards, Accelerated Solvent Extraction, and Large-Volume-Injection GC/MS. *Anal. Chem.* **70** : 3094-3101.

Y. M. Chae., M. A. Tabatabai., 1986. Mineralization of Nitrogen in Soil Amended with Organic Waste. *J. Environ. Qual.* **15 (2)** : 193 – 198.

A. C. Chang., T. C. Granato., A. L. Page.,1992. A Methodology for Establishing Phytotoxicity Criterial for Chromium, Copper, Nickel, and Zinc in Agricultural Land Application of Municipal Sewage Sludges. *J. Environ. Qual.* **21** (4) : 521 – 536.

Denis Curtin., Guang Wen.,1999. Organic Matter Fractions Contributing to Soil Nitrogen Mineralization Potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63** (2) : 410 – 415.

Dridi S., M. R. Driss., S. Sabbah., M. L. Bouguerra.,1998. Determination of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Airborne Diesel Exhaust Particulates by HPLC with UV Detection and Wavelength Programming. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21** (4) : 457-489.

Epstein E., Keane D. B., and Meinsinger J.J.,1978. Mineralization of nitrogen from sewage sludge and sludge compost. *J. Environ. Qual.* **7**: 217-221.

Fichtner S., F. Th. Lange., W. Schmidt., H.J. Brauch.,1995. Determination of Aromatic Sulfonates in the river Elbe by on-line Ion-pair Extraction and Ion-pair Chromatography. *Fresenius J. Anal. Chem.* **353** : 57-63.

Follet. R. H., Larry S. Murphy., Roy L. Donahue.,1981. Fertilizers and Soil Amendments. Prentice – Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey. 553 pags.

Alejandro Fierro., Denis A. Angers., Chantal J. Beauchamp.,1999 Dynamics of Physical Organic Matter Fractions During De-inking Sludge Decomposition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63** (4) : 1013 – 1018.

M. A. Garau. , M. T. Felipó. , M. C. Ruiz de Villa. , 1986. Nitrogen Mineralization of Sewage Sludge in Soils. *J. Environ. Qual.* **15** (3) : 225 – 228

Guang Wen., R. Paul Voroney., Julien P. Winter., Thomas E. Bates.,1997. Effects of Irradiation on Sludge Organic Carbon and Nitrogen Mineralization. *Soil Biol. Biochem.* **29** (9/10) : 1363 – 1370.

Guang Wen., Thomas E. Bates., R. Paul Voroney.,1995. Evaluation of Nitrogen Availability in Irradiated Sewage Sludge, Sludge Compost and Manure Compost. *J. Environ. Qual.* **24** (3) : 527 – 534.

Gallo M. L., P. Campíns-Falcó. , A. Sevillano-Cabeza. , R. Herráez-Hernández. , 1998. Improved Solid Phase For Assay of Cephalosporins in Human Urine Samples. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21** (14) : 2191-2203.

S. A. Harding ., C. E. Clapp., W. E. Larson.,1985. Nitrogen Availability and Uptake from Field Soils Five Years after Addition of Sewage Sludge. *J. Environ. Qual.* **14** (1) : 95 – 100.

Hidalgo C., J. V. Sancho., F. J. López., F. Hernández., 1998. Automated Determination of Phenylcarbamate Herbicides in Environmental Waters by on-line Trace Enrichment and Reversed-Phase Liquid Chromatography-Diode Array Detection. *J. Chrom. A.* **823** : 121-128.

Y. P. Hsieh., Lowell A. Douglas., Harry L. Motto., 1981. Modeling Sewage Sludge Decomposition in Soil : II. Nitrogen Transformation. *J. Environ. Qual.* **10** (1) : 59 – 64.

Jáuregui O., E. Moyano., M.T. Galceran., 1998. Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry for Chlorinated Phenolic Compounds Application to the Analysis of Polluted Soils. *J. Chrom. A.* **823**: 241- 248.

Joergensen R. G., P.C. Brookes., 1999. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. *Soil Biol. BioChem.* **22** (8) : 1023-1027.

Johansson M., B. Stenberg., L. Torstensson., 1999. Microbiological and Chemical Changes in two Arable Soil after Long-term Sludge Amendments. *Biol. Fertil Soil.* **30** : 160- 167.

Jung Jing., Terry J. Logan., 1992. Effects of Sewage Sludge Cadmium Concentration on Chemical Extractability and Plant Uptake. *J. Environ. Qual.* **21** (1) : 73 – 81.

Larry D. King., 1984. Availability of Nitrogen in Municipal Industrial, and Animal Waste. *J. Environ. Qual.* **13** (4) : 609 – 612.

Lau-Cam C. A., R. W. Roos., 1998. High Performance Liquid Chromatographic Method for the Assay of Undecylenic Acid and Undecylenates in Pharmaceutical Products After conversion to 4'-Nitrophenacyl esters. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21** (4), 519- 533.

Leal C., M. Granados., R. Compañó., M.D. Prat., 1998. Liquid Chromatography with Fluorimetric Detection of Triorganotin compounds in Marine Biological Materials. *J. Chrom. A.* **809** : 39-46.

W. C. Lindenmann., M. Cardenas., 1984. Nitrogen Mineralization Potential and Transformation of Sludge-Amended Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **48** : 1072 – 1077.

Lorenz. L. J., 1980. "Flo Analytical Profiles of Drugs Substances", Volúmen 9, Editorial Klaus Florey, Inglaterra.

S. Luna-Suárez., J. T. Frias-Hernández., V. Olalde-Portugal., L. Dendooven., 2000. Catclaw (*Mimosa buincifera*): a pest or means to restore soil fertility in heavily eroded soil from the central highlands of Mexico. *Biol. Fertil Soils*. 2000. **32** : 109 – 113.

S. Luna-Suárez. , M. L. Luna-Guido. , J. T. Frias-Hernández. , V. Olalde-Portugal. , L. Dendooven. , 1999. Soil processes as affected by replacement of natural mesquite ecosystem with maize crop. *Biol. Fertil Soils*. **27** : 274 – 278.

Magdoff F. R., and Amadon F. F., 1980. Nitrogen availability from sewage sludges. *J. Environ. Qual.* **9**: 451 – 455.

McClung G., Wolf D.C., Foss J. E., 1983. Nitrification Inhibition by Nitrapryrin and Etridiazol in Soils Amended with Sewage Sludge Compost. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **47** : 75 – 80.

G.B. Morgan., J. B. Lackey., F. W. Gilcreas., 1957. Quantitative Determination of Organic Nitrogen in Water, Sewage an Industrial Waste, *Anal. Chem.*. **11** : 833

Müller M. D., and H. R. Buser., 1995. Environmental Behavior of Acetamide Pesticide Stereoisomers. 2. Stero- and Enantioselective Degradation in Sewage Sludge and Soil. *Environ. Sci. Technol.* **29** : 2031- 2037.

Müller M. D., and H. R. Buser., 1997. Conversion Reactions of Various Phenoxyalkanoic Acid Herbicides in Soil. 1. Enantiomerization and Enantioselective Degradation of the Chiral 2-Phenoxypropionic Acid Herbicides. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 1953- 1959.

Chris F. Parker., Lee E. Sommers., 1983. Mineralization of Nitrogen in Sewage Sludges. *J. Environ. Qual.* **12** (1), 150 –156.

Perkin-Elmer. , 1992 "Manuel de Cromatografía de líquidos", Editorial Limusa, 2da edición, México. 100 Págs.

E. B. Phelps., The Determination of Organic Nitrogen in Sewage by the Kjeldahl Process. *Journal Infection Diseases, Suppl.* 1905. I : 225 .

Ramachandran V., T. J. D' Souza., 1998. Plant Uptake of Cadmium, Zinc, and Manganese in Soils Amended with Sewage Sludge and City Compost. *Bull. Environ. Toxicol.* **61** : 347- 354.

Ryan, J. A., D. R. Keeney, and L. M. Walsh., 1973. Nitrogen transformation and availability of anaerobically digested sewage sludge in soil. *J. Environ. Qual.* **2**: 489 – 492.

Rodríguez E., Z. Gómez de Balugera, M. A. Goicolea, R. J. Barrio, 1998. HPLC/Diode –array Method for the Determination of the Pesticide Diflubenuron and its Major Metabolites 2,6-Difluorobenzamide, 4-Chlorophenylurea, and 4-Chloroaniline in Forestry Matrices. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21 (12)**, 1857-1870.

Rubín A. R., Safley L. M., Zublena J. P., 1994. Land Application of Municipal Sludge – Advantages and Concerns. *Soil Facts*. North Carolina State University College of Agriculture & Science. 1-4 pp.

Sanchis-Mallols J. M., S. Sagrado, M. J. Medina-Hernández, R. M. Villanueva Camañas, E. Bonet-Domingo, 1998. Determination of Phenylurea Herbicides in Drinking waters by HPLC and Solid Phase Extraction. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21 (6)**, 869.

Sánchez-Rasero F., M. B. Matallo, E. Romero, G. Dios, A. Peña, 1998. Determination of Mecoprop and Dichlorprop in Aqueous Soil Solutions by HPLC with DAD. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* **21 (14)**, 2211- 2218.

Saviozzi A., A. Biasci, R. Riffaldi, R. Levi-Minzi, 1999. Long-Term Effect of Farmyard Manure and Sewage Sludge on Some Soil Biochemical Characteristics. *Biol. Fertil Soil.* **30** : 100-106.

M. D. Serna, F. Pomares, 1992. Indexes of Assessing N Availability in Sewage Sludge. *Plant and Soil* . **139 (1)** : 15 – 21.

M. D. Serna, F. Pomares, 1992. Nitrogen Mineralization of Sludge-Amended Soil. *Bioresource Technology*. **39** : 285 – 290.

Siebe Christina, 1995. Heavy Metal Availability to Plants in Soils Irrigated with Wastewater from Mexico City. *Wat. Sci. Tech.* **32 (12)**, 29 –34.

Sommers, L. E., and Parker F. Chris., 1983. Mineralization of Nitrogen in sewage sludges. *J. Environ. Qual.* **12 (1)**: 150 – 156.

Sommers, L. E., 1977. Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers. *J. Environ. Qual.* **6**: 225 – 232.

- Smith J. L., R. R. Schnabel., B. L. Mcneal., and G. S. Campell., 1980. Potential errors in the first-order model for estimating soil nitrogen mineralization potentials. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* **44**: 996 –1000.
- Stanford, G. and E. Epstein., 1974. Nitrogen mineralization water reactions in soils. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.* **38**: 99 – 102.
- Stanford G., and S. J. Smith., 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.* **36**: 465 – 472.
- Smith S. J., L. B. Young, and G. E. Miller., 1977. Evaluation of soil nitrogen mineralization potentials under modified field conditions. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* **41**: 74 – 76.
- S.D. Sujatha , S. Sathyanarayanan. , P. N. Satish. , D. Nagaraju. , 2001. A sewage and sludge treated lake and its impact on the environment, Mysore, India. *Environ. Geology.* **40** , 1209 – 1213.
- S. R. Smith.,1991. Effects of Sewage Sludge Application on Soil Microbial Processes and Soil Fertility. *Advances in Soil Sci.* **16**: 191 – 212.
- Strachan S. D., Nelson D. W., Sommers L. E., 1983. Sewage Sludge Components Extractable with Nonaqueous Solvents. *J. Environ. Qual.* **12 (1)**, 69 – 74.
- Tenenbaum D., 1997. The Beauty of Biosolids. *Focus.* **105 (1)**, 105-112.
- Villeé Claudia A., 1978. " Biología", Nueva Editorial Interamericana, 7ma Edición, México. Pág. 114.
- Voos Gerard., Sabey B. R.,1987. Nitrogen Mineralization in Sewage Sludge-Amended Coal Mine Spoil and Topsoils. *J. Environ. Qual.* **16 (3)**, 231 – 237.
- Wei Shi., Norton Jeanette M.,2000. Microbial Control of Nitrate Concentrations in an Agricultural Soil Treated with Dairy Waste Compost or Ammonium Fertilizer. *Soil Biol. & Biochem.* **32** : 1453 – 1457.
- S. R. Wild., K. C. Jones.,1992. Polynuclear Aromatic Hydrocarbon Uptake by Carrots Grown in Sludge-Amended Soil. *J. Environ. Qual.* **21 (2)** : 217 – 225.
- Wong J. W. C., K. M. Lai.,1996. Effect of an Artificial Soil Mix from Coal Fly ash Sewage Sludge on Soil Microbial Activity. *Biol. Fertil Soil.* **23** : 420- 424.
- Xu Shine., 1999. Fate of Cyclic Methylsiloxanes in Soils. 1. The Degradation Pathway. *Environ. Sci. Technol.* **23**: 603-608.
- Primo Yúfera E., J.M. Carrasco Dorrién. , 1973. " Química Agrícola", Editorial Alhambra, 1era Edición, Madrid, Págs. 279-305.

Información Requisitada Vía Internet:

"A Guide to the Biosolids Risk Assessments for The EPA Part 503 Rule" 1995,
158 pag.

<http://www.CLARITweb Image : 832 B93005 Guide to the Bioso...>

"Energy from Waste" 1997. 15 pag.

http://www.eru.strath.ac.uk./project/EandE/97-8/energy_from_waste/pag3.htm.

"El sector Industrial y la generación de residuos" 1996. 23 Pág.

<http://rds.org.mx/INEPub/pmmir/cap1.htm>

"Influences on Soil Nitrogen Mineralization Implications for Soil Restoration and Revegetation" Karen Purdy, Geology of Soils.1996 3 pag.

<http://www.acad.carleton.edu/curricula...classes/geo258/studentwork/Purdy.html>

"Nitrification Inhibitors for Corn Production" 1991

National Corn Handbook Rev.2/1991.

11 pag.

<http://www.agcom.purdue.edu/AgCom/Pubs/NCH/NCH-55.html>

"Review of the Risk Analysis for the Round Two Biosolids Pollutants (Dioxins, Furans and Co-planar PBC's), dated December 14, 1999" 17 pag.

<http://www.cfe.cornell.edu/wm/.../page/review.html>.

"Sewage Sludge Amended Soils and Heavy Metals" 1997. 7 Pág.

http://weber.u.washington.edu_rob...ESC311_1997/Birgitte.birgitte

"Tratamiento de las Aguas Residual Urbanas en Europa: El Problema Lodos".
1994. 10 Pág.

<http://www.jrc.es/iptreport/vol23/spanish/ENV2S36.htm>

"Views on the use of organic recycling Derivates in forests. 1998" 19 pag.

[Wysiyg://7/http://www.ubavie.gv.at/publicationen/mono/M100s.HTM](http://www.ubavie.gv.at/publicationen/mono/M100s.HTM).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1971. APHA, AWWA, WPCF, 13th. Ed.

C.V. Sawyer, P. L. McCarty, Chemistry for Sanitary Engineers, MacGraw Hill Book Co. 1967.

VII A n e x o “ A ”

7.1 Técnica de Cuantificación de Nitrógeno Amoniacal.

Reactivos:

Indicador de Fenolftaleina al 0.5% en solución acuosa de etanol al 50%.

Indicador Mixto (a) 200 mg de rojo de metilo en 100 ml de etanol al 95%, b) 100 mg de azul de metileno en 50 ml de etanol al 95%)

Mezclar a y b.

Prepárese mensualmente.

Solución de ácido bórico con indicador.

(Disuelva 20 mg de H_3BO_3 en agua destilada exenta de amoniaco, agregue 10 ml del indicador mixto y diluya a 1 L).

Prepárese mensualmente

Solución de H_2SO_4 0.02 N.

MgO R. A.

Destilación:

a) Tome una alícuota de la solución problema. El volumen de la alícuota dependerá del contenido de N amoniacal de la muestra.

b) Adicione a la muestra de 250 a 300 ml de agua destilada exenta de amoniaco en un matraz para destilación.

c) Agregue con una espátula un poco de MgO, no es necesario cuantificar esta cantidad ya que se adicionará en exceso; inmediatamente colocar el matraz en el destilador y recibir el destilado en un matraz erlenmeyer con un volumen de solución de ácido bórico con indicador (p. Ej. 20 ml).

d) Cuidar que la salida del destilado sea por una manguera ó tubo de vidrio y sumergida en la solución de ácido bórico.

e) Destilar de 150 a 200 ml (o hasta ausencia de alcalinidad en el destilado).

f) Titular por retroceso con la solución de H_2SO_4 0.02 N.

7.1.2 Nitrógeno Reactivo a Ninhidrina.

Reactivo de Ninhidrina:

Ninhidrina	2 g
Hidridantina	0.3 g
DMSO (dimetilsulfóxido)	75 ml.
Buffer acetato de Lito	25 ml.
4.0 M, pH 5.2	

Pasar un flujo de N_2 durante media hora, dejar reposar en oscuridad por 1 día.

Buffer de ácido cítrico:

Ácido cítrico	42 g.
NaOH	16 g.
H ₂ O	900 g.

Ajustar pH 5 con NaOH 10 M y aforar a 1 litro.

Etanol-agua al 50 %.

a) Adicionar:

- 1) 0.75 ml de muestra
- 2) 1.75 ml de buffer de citratos
- 3) 1.25 ml del reactivo de ninhidrina.

b) Calentar en baño de agua en ebullición por 25 min.

c) Enfriar y adicionar 4.5 ml de etanol-agua.

d) Mezclar vigorosamente en vortex, cada tubo.

e) Leer a 570 nm.

Curva tipo:

- 1) De 0 a 10 μ g de Nitrógeno totales.
- 2) Con $(NH_4)_2SO_4$ o con algún aminoácido (no Lis, His ó Arg).

7.1.3 Determinación de Nitritos.

Método Colorimétrico de la naftil-amina : ácido sulfanílico.

Reactivos:

Solución de EDTA (disolver 0.5 g, de EDTA disódico en agua exenta de nitritos y diluya a 100ml).

Solución de Ácido Sulfanílico (disuelva completamente 0.60 g de ácido sulfanílico en 70 ml de HCl concentrado y diluya a 100 ml de agua destilada y mezclar cuidadosamente).

Solución de Clorhidrato de α -naftilamina (disolver 0.60 g de clorhidrato de α -naftilamina y 1 ml de HCl concentrado en agua destilada y diluya a 100 ml).

Guardar en refrigeración para prolongar la vida del reactivo.

Precaución. Manejar este reactivo con extremo cuidado. Utilizar pipeta automática. Evitar la inhalación y la exposición a la piel.

Solución amortiguadora de Acetato de Sodio 2 M. (disolver 16.4 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ o 27.2 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada exenta de nitritos, diluya a 100 ml, y filtre si la solución no esta clara).

Soluciones estandar de nitritos (Preparar soluciones de 0 a 20 μg de Nitrógeno totales, contenidos en una alícuota no mayor de 50 ml).

Procedimiento:

- 1) Si es necesario eliminar turbidez y color con la suspensión de $\text{Al}(\text{OH})_3$.
- 2) Agregar, en este orden, 1 ml de EDTA y 1 ml de ácido sulfanílico, mezclando en cada adición. Dejar reposar 10 minutos
- 3) Agregar 1ml de naftilamina y 1 ml de Acetato de Sodio. Mezcle perfectamente y deje reposar 30 minutos.
- 4) Medir la absorbancia a una longitud de onda de 520 nm.



7.1.4 Técnica de Cuantificación de Nitratos.

Reactivos:

Ácido fenildisulfónico (disolver 25 mg de fenol puro en 150 ml de H_2SO_4 conc. R. A.; agitar bien y calentar en baño maría por 2 horas).

Solución 12 N de KOH.

$NaHCO_3$ R. A.

IZT.

Pretratamiento de la Muestra:

Se analizarán extractos de Suelo con K_2SO_4 0.5 N.

Clarificación (si acaso es necesario en caso de color o turbidez excesiva, a 20 ó 25 ml del extracto se le adicionan 3 ml de suspensión de $Al(OH)_3$, se somete a agitación por 10 minutos).

Filtrar en papel filtro Whatman 42, lavado con un poco de agua destilada exenta de nitratos.

Eliminación de Cloruros (en este caso de que estos esten presentes, precipitar con solución de Sulfato de Plata en una relación estequiométrica, habiendo determinado previamente la cantidad de cloruros en la muestra).

Evaporación (neutralizar la muestra adicionando un poco de $NaHCO_3$. Se evapora a sequedad en baño maría o en horno a $90^\circ C$.)

Reacción y Desarrollo de Color:

Mezclar el residuo perfectamente con 2.0 ml de ácido fenildisulfónico y diluir con 20 ml de agua destilada y agregar 7 ml de solución de KOH 12 N (o hasta máximo desarrollo de color). Filtrar ó decantar para eliminar cualquier hidróxido floculento. Aforar a 50 ml. La linealidad se observa hasta aproximadamente 50 microgramos totales; posteriormente se observa una curva donde la proporción de incremento en la absorbancia es cada vez menor.

7.2 Extracción y Separación de los Compuestos Orgánicos presentes en lodos de desecho.

Extracción:

a) Equipo Milli Pore:

- 1.- Embudo de vidrio de 250 ml de capacidad.
- 2.- Filtro de membrana (apertura de malla de $0.22\ \mu\text{m}$)
- 3.- Pinzas de Aluminio.
- 4.- Matríz Kitazato de 1lt de capacidad.
- 5.- Tapón Horadado.
 - a) Sonicador Bronson mod. 2210.
 - b) Pinzas de punta roma.
 - c) Bomba de vacío GAST.
 - d) Manguera para vacío.
 - e) Probeta de Plástico de 1lt de capacidad.
 - f) Frasco de vidrio con tapón rosca de 1lt de capacidad.
 - g) Agua Desionizada.
 - h) Frasco ambar con metanol (grado de pureza HPLC).
 - i) Frasco ambar con ácido acético (grado de pureza HPLC).
 - j) Frascos ambar vacíos de 1lt de capacidad.
 - k) Jeringa de vidrio Hamilton de $10\ \mu\text{l}$ de capacidad.
 - l) Jeringa de plástico de 10 ml de capacidad.
 - m) Filtro de teflón de apertura de malla de $0.5\ \mu\text{m}$.
 - n) Papel filtro Whatman No. 41.
 - o) Papel Filtro GFA (de lana de Vidrio).
 - p) Frascos viales con tapón de goma.
 - q) Pipeta de Vidrio de 10 ml de capacidad.
 - r) Probeta de vidrio de 100 ml de capacidad.
 - s) Frasco vial con muestra de extracto acuoso de lodos.
 - t) Vasos de precipitado de 50 ml de capacidad.
 - u) Balanza analítica.
 - v) Centrífuga.
 - w) Cromatógrafo de líquidos en columna VARIAN modelos 9010 y 9050.
 - x) Integrador VARIAN modelo 4400.
 - y) Fracos de vidrio con tapón rosca de 250 ml de capacidad.
 - z) Frasco de vidrio ambar con tapón rosca de 250 ml de capacidad.
 - aa) Calibrador Fisher Scientific.
 - bb) Fracos de plástico con solución Buffer a pH de 7 y 4.
 - dd) Papel absorbente
 - ee) Vasos de precipitado de 250 ml de capacidad.

7.2.1 Preparación de Solución Metanol: Agua (70:30)

- 1.- Conectar un extremo de la manguera a la bomba de vacío y el otro extremo a la entrada del matríz Kitazato.
- 2.- Colocar el tapón horadado al matraz.
- 3.- Colocar con pinzas de punta roma el filtro de membrana (0.22 μ m).
- 4.- Colocar el embudo con cuidado.
- 5.- Sujetar con las pinzas de aluminio el embudo y el tapón.
- 6.- Preparar la Solución de Metanol –Agua (70:30)de la siguiente manera:
Medir con probeta 70 ml de metanol y agregar 30 ml de agua desionizada.
b) Mezclar para homogenizar.
- 7.- Agregar un poco de la solución preparada al embudo para humedecer la membrana.
- 8.- Encender la bomba de vacío y filtra el resto de la solución
- 9.- Vaciar a un frasco ó matraz limpio.
- 10.- Observar a contra luz si existe alguna impureza, en caso de ser así filtrar nuevamente, si no se observan guardar la solución.
- 11.- Sonicar la solución antes de usarla durante 20 minutos.

7.2.2 Preparación de Solución de Extracción: metanol : agua : ácido acético (40 : 60 : 10).

- 1.- Colocar un extremo de la manguera a la bomba de vacío y el otro extremo a la entrada del matríz Kitazato.
- 2.- Colocar el tapón horadado.
- 3.- Colocar con pinzas de punta roma el filtro de membrana (0.22 μ m).
- 4.- Sujetar con las pinzas de aluminio el embudo y el tapón horadado.
- 5.- Medir en la probeta de 1lt, primero 40 ml de metanol y vaciar a un vaso de precipitado , enseguida medir 60 ml de agua desionizada y agregarla en el mismo vaso de precipitados.
- 6.- Tomar con la pipeta 10 ml de ácido acético y agregar al vaso de precipitado.
- 7.- Mezclar todo cuidadosamente para homogenizar.
- 8.- Vaciar un poco de la solución a el embudo para humedecer la membrana.
- 9.- Encender la bomba y filtrar poco a poco el resto de la solución.
- 10.- Observar a contra luz si no existen impurezas, si es así volver a filtrar, si no vaciar a un frasco ambar y tapanlo hasta su utilización.
- 11.- Sonicar la solución por 20 minutos antes de usarla.

7.2.3 Obtención del Extracto Acuoso del Lodo.

- 1.- Pesar 10 gramos de lodo y vaciar al vaso de precipitado.
- 2.- Agregar con la probeta 20 ml de agua desionizada y agitar por 10 minutos.
- 3.- Agregar 10 ml de los lodos a tubos de centrifuga.
- 4.- Centrifugar a 4000 r.p.m. durante 5 minutos.
- 5.- Filtrar atraves de papel filtro Whatman no. 41.
- 6.- Filtrar nuevamente atraves de papel filtro GFA.
- 7.- Filtrar con una jeringa de 10 ml atraves de un filtro de teflon de 0.5 μ m.
- 8.- Recolectar el filtrado en un frasco vial y taparlo.
- 9.- Guardarlo en refrigeración hasta que sea usado.

7.2.4 Filtrado del Extracto Acuoso de Lodos.

- 1.- Colocar un extremo de la manguera a la bomba de vacío y el otro extremo a la entrada del matríz Kitazato.
- 2.- Colocar el tapón horadado.
- 3.- Colocar con pinzas de punta roma el filtro de membrana (0.22 μ m).
- 4.- Sujetar con las pinzas de aluminio el embudo y el tapón horadado.
- 5.- Medir en la probeta 20 ml del extracto acuoso de lodos.
- 6.- Agregar un poco de agua desionizada para humeder la membrana, filtrarla y retirarla antes de realizar la filtración.
- 7.- Encender la bomba y filtrar el extracto acuoso poco a poco.
- 8.- Depositar el extracto en un vaso de precipitado.
- 9.- Revisar que el extracto este libre de partículas suspendidas.
- 10.- Vaciar el extracto a una jeringa de 10 ml, quitando el embolo de esta y sellandola cuidadosamente después con el mismo embolo.
- 11.- Colocar a la jeringa el filtro de teflón de 0.5 μ m en la punta de la misma.
- 12.- Filtrar el extracto acuoso de lodos presionando el embolo de la jeringa poco a poco.
- 13.- Almacenar el filtrado del Extracto en frasco vial limpio y taparlo hasta su uso.

7.2.5 Medición del pH de la Fase móvil metanol : agua : ácido acético (40:60:10)

- 1.- Calibrar el Potenciómetro con los buffers pH 7 y 4 de la siguiente manera:
 - a) Colocar 50 ml del buffer pH 7 en un vaso de precipitado.
 - b) Acercar el electrodo y sumergirlo dentro del buffer, encender la perilla de TEMPERATURE.

- c) Encender el potenciómetro con la perilla de FUNCTION y llevarla hasta STAND BY.
- d) Ajustar con la perilla de STANDARIZE el pH hasta lograr que la aguja de la pantalla llegue a 7.0 y no se mueva.
- e) Limpiar el electrodo cada que se someta a una muestra o a los buffers con agua destilada y limpiarlo con un pedazo de papel secante.
- f) Regresar la perilla a STAND BY y después volverla a girar a pH.
- g) Ajustar el pH con buffer 4(utilizar la misma cantidad de muestra que el pH 7) utilizando ahora la perilla de SLOPE hasta lograr que la aguja se mantenga en 4.
- h) Realizar los pasos de d a g tanta veces sea necesario para ajustar correctamente los pH de los buffers.
- i) Medir el pH de la muestra girando la perilla la perilla de FUNCTION de STAND BY a pH.
- j) Anotar la lectura del potenciómetro después de haber sumergido el electrodo.
- k) Por último limpiar el electrodo como se indica en el paso e y apagar el potenciómetro.
- l) No olvides dejar el electrodo con su tapón ó sumergido en una solución estándar.

7.2.6 Procesamiento del Extracto de Lodos en Cromatógrafo de Líquidos VARIAN 9010.

- 1.- Colocar los frascos de 1lt en el cromatógrafo con: agua desionizada , Metanol, Solución Diluyente, previamente filtrados, en los canales de flujo escogidos (A,B,C), colocar la manguera con tapa correspondiente a cada uno y checar que la manguera de desague se encuentre dentro del recipiente correcto.
- 2.- Encender los aparatos en el siguiente orden:
 - 1) regulador. (parte delantera)
 - 2) cromatógrafo. (parte trasera)
 - 3) Integrador. (parte trasera)
- 3.- Iniciar oprimiendo el botón de RESET .
- 4.- Para purgar la Solución Diluyente, colocar un vaso de precipitado bajo la salida de la valvula de purga y abrir la valvula.
- 5.- Oprimir el botón de PURGE y dejar aproximadamente 5 minutos de purga o hasta que las burbujas hayan desaparecido de las mangueras.
- 6.- Una vez purgado apagar con el botón de STOP, y cerrar la llave de purga.
- 7.- Para continuar colocar un vaso de precipitado en la salida de la muestra.
- 8.- Para continuar oprimir el botón de PUMP, y comenzar a incrementar el flujo con el botón de ABC% FLOW, mirar en la pantalla y con el botón de CURSOR, posicionarse en Flow.

9.- Oprimir el botón de SHIFT e incrementar el flujo, empezando por .10 ml/min y oprimiendo enseguida el botón de STATUS y esperando el minuto reglamentario, se dejara el flujo a .50 ml/min por un espacio de 15 a 25 minutos para equilibrar la columna.

10.- Los incrementos se harán como en los pasos 9 y 10 al llegar a un flujo de 1ml/min, se cancela el botón de SHIFT, y se sigue incrementando el flujo hasta 1.5 ml/min.

11.- Al llegar a 1.5 ml/min verificar en la pantalla que la presión PRESS se mantenga entre 280 a 300 atms/ minuto.

12.- Encender la lámpara del detector y esperar a que se ajuste automáticamente por 5 minutos, con el cromatografo (aquí los dos aparatos estarán en NO READY y cuando esten listos para una corrida cambiarán a READY).

13.- Tomar con la jeringa de vidrio 10 μ l del extracto acuoso e introducirlos en el inyector que deberá estar en la posición de carga LOAD.

14.- Inyectar 3 veces antes de cambiar la manija a posición de INYECTION (verificar que no lleve burbujas al inyectar la muestra).

15.- Encender el integrador.

16.- Iniciar la corrida desplazando la palanca de LOAD a INYECTION y registrar los tiempos de retención de cada muestra.

17.- Recolectar las fracciones en frascos viales.

18.- Después de las 2 primeras inyecciones, se tomará el registro de la 3 era inyección así como el de la 8va ó 9na inyección para comparar.

19.- Terminadas las corridas, se cambiará la manguera del frasco de la fase móvil a la solución de metanol -agua 70:30.

20.- Se bajará la presión y el flujo de manera inversa como en los pasos 9 y 10 insertando SHIFT cuando se baje a 1ml/min.

21.- Por último se apagaran los aparatos de manera inversa .