



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

Estudio de higienización de fangos de depuradora
mediante digestión anaerobia termófila

*Bacterial inactivation of pathogens from sewage sludges by
applying anaerobic digestion processes*

Autor

Julen Rodríguez Montes

Directora

Dra. Rosa Mosteo Abad

Máster Universitario en Ingeniería Química

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

2024

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a Rosa por haber dirigido este trabajo. Toda experiencia, incluso aquellas que presentan desafíos, aporta aprendizajes valiosos, y en este caso no ha sido la excepción. Esta colaboración ha contribuido a mi crecimiento personal y profesional, y me ha enseñado la importancia de afrontar y superar las dificultades con resiliencia y enfoque.

También quiero expresar mi profunda gratitud a Peña, pues sin su apoyo y orientación, seguramente no habría iniciado mi carrera profesional en el apasionante campo de la depuración de aguas, ni habría descubierto el fascinante mundo de la digestión anaerobia.

Agradezco también al grupo Agua y Salud Ambiental, por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo en su laboratorio y por el apoyo recibido durante este proceso.

A todas las personas que, de un modo u otro, han contribuido a que este trabajo sea posible, les extiendo mi más sincero agradecimiento. Su ayuda, por pequeña que parezca, ha sido fundamental.

Finalmente, a todas las personas que, en el futuro, confiarán en mi trabajo y en mi capacidad. Su confianza será el impulso para continuar creciendo personal y profesionalmente, con el compromiso de estar a la altura de sus expectativas y de contribuir positivamente en los proyectos que emprendamos juntos. Gracias por creer en mí.

“Si el tú de hoy no puede, confía en el tú del futuro, porque el del pasado ya lo logró”

RESUMEN

En este trabajo se analiza el tratamiento y valorización de fangos generados en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). Los fangos, que son el principal residuo generado en estas instalaciones, se separan habitualmente del agua residual tratada en los decantadores primarios y secundarios.

Dentro de las opciones de gestión de fangos, y teniendo en cuenta la normativa vigente en materia de residuos, la valorización mediante procesos biológicos que permitan la estabilización del fango para su posterior aplicación al terreno es una de las más adecuadas. Esta valorización en regiones como Navarra, donde la agricultura es un sector económico importante, es de elevado interés. El fango de EDAR contiene un alto nivel de materia orgánica y nutrientes, útiles para la fertilización del suelo, pero también incluyen microorganismos potencialmente patógenos que podrían presentar un riesgo para la salud pública. Por tanto, los estudios de control microbiológico son interesantes para garantizar una aplicación segura del fango tratado.

Si bien es cierto que en Estados Unidos existen normas específicas para la aplicación segura de estos residuos en la agricultura (US EPA 503), en España la normativa vigente (Orden AAA/1072/2013 y RD 1310/1990) regula principalmente aspectos fisicoquímicos, como es la concentración de metales. Sin embargo, carece de legislación específica sobre la higienización y reducción de patógenos en fangos agrícolas, lo cual dificulta el establecimiento de referencias claras en esta área.

El proyecto “Thermogas” en el que se desarrolla la presente investigación estudia el tratamiento de estos fangos mediante digestión anaerobia en condiciones termófilas, optimizando el proceso desde la microbiología, la ingeniería y la simulación. Este proyecto busca reducir los riesgos microbiológicos y mejorar la viabilidad del uso agrícola de los fangos.

Este estudio proporciona una evaluación exhaustiva de la calidad microbiológica de fangos mediante tratamientos biológicos para su posterior uso agrícola, mejorando la seguridad y aprovechamiento de estos residuos.

Los resultados muestran que los fangos tratados mediante procesos de digestión anaerobia son capaces de reducir los indicadores por debajo del criterio de higienización requerida en la normativa establecida, siempre que se trabaje en las condiciones de operación adecuadas.

Palabras clave: Fango, Estación Depuradora de Agua Residual (EDAR), digestión anaerobia, higienización.

ABSTRACT

The treatment and valorisation of sludges from Wastewater Treatment Plants (WWTP) are analyzed in this work. The sludge, which is the major residue generated at these facilities, is separated from the purified wastewater in the decanters, which can be primary or secondary.

Among the sludge management options and considering current waste regulations, valorisation through biological processes that stabilize sludge for subsequent land application is one of the most suitable approaches. This valorisation is of significant interest in regions like Navarra, where agriculture is an important economic sector. Wastewater treatment plant (WWTP) sludge contains high levels of organic matter and nutrients beneficial for soil fertilization, but it also includes potentially pathogenic microorganisms that could pose a risk to public health. Therefore, microbiological control studies are essential to ensure the safe application of treated sludge.

While the United States has specific regulations for the safe application of such waste in agriculture (US EPA 503), current Spanish regulations (Order AAA/1072/2013 and RD 1310/1990) primarily address physicochemical aspects, such as metal concentrations. However, there is no specific legislation on the sanitation and pathogen reduction in agricultural sludge, making it difficult to establish clear references in this area.

The "Thermogas" project, under which the present research is being developed, studies the treatment of this sludge through thermophilic anaerobic digestion, optimizing the process from the perspectives of microbiology, engineering, and simulation. This project aims to reduce microbiological risks and improve the feasibility of agricultural sludge use.

This work provides an exhaustive assessment of microbiological quality in sludges processed through biological methods for agricultural use, ensuring safety and compliance regarding the waste.

This study shows that treated sludge processed by anaerobic digestion processes can reduce some indicators below the sanitation criteria stabilised in different legislation, only with the proper operating conditions.

Keywords: Sludge, Wastewater Treatment Plant (WWTP), anaerobic digestion, sanitation.

ÍNDICE

1. Antecedentes	1
1.1. Introducción	1
1.2. Objetivos	2
2. Fundamentos teóricos	3
2.1. Fangos de depuradora: Origen y características principales	3
2.1.1. Origen de los fangos de EDAR	3
2.1.2. Características de los fangos de EDAR	4
2.2. Estabilización y valorización de fangos: Digestión anaerobia	5
2.2.1. Estabilización de fangos de EDAR	5
2.2.2. Aplicación en agricultura para la valorización de fangos de EDAR	7
2.2.3. Higienización del fango	7
2.3. Normativa aplicable	7
3. Procedimiento experimental	9
3.1. Planificación experimental	9
3.1.1. Caracterización microbiológica inicial de fangos de EDAR	9
3.1.2. Determinación de las cinéticas de inactivación térmica	9
3.1.3. Estudio de efecto de variables de operación	10
3.2. Procedimientos analíticos	12
3.2.1. Análisis microbiológico	12
3.2.2. Análisis fisicoquímico	13
3.3. Tratamiento estadístico de datos	14
3.3.1. Regresión multivariable	14
3.3.2. Estadística descriptiva básica	15
4. Resultados	17
4.1. Caracterización microbiológica inicial de fangos frescos	17
4.2. Determinación de las cinéticas de inactivación térmica	19
4.3. Estudio de inactivación microbiológica a escala piloto	24

4.3.1. Seguimiento microbiológico de los digestores	24
4.3.2. Efecto de la temperatura en condiciones termófilas.....	30
4.4. Análisis fisicoquímico de los digestores	32
4.4.1. Control fisicoquímico de la planta piloto de digestión	32
4.4.2. Composición del biogás	34
5. Conclusiones	35
6. Bibliografía	37
ANEXO A. EDAR Tudela	39
ANEXO B. Procedimiento de microbiología	40
I. Preparación de material.....	40
II. Siembra e incubación	42
III. Recuento	45
IV. Limpieza de material	45
ANEXO C. Ajuste modelos cinéticos.....	47
I. <i>Escherichia coli</i>	47
II. Enterococcus spp.	51
ANEXO D. Análisis estadístico de los datos fisicoquímicos	55
I. Influyente	55
II. Condiciones mesófilas de operación. 24 horas.....	56
III. Condiciones termófilas de operación. 2 horas.....	60
IV. Condiciones termófilas de operación. 4 horas.....	62
V. Condiciones termófilas de operación. 24 horas.....	64
ANEXO E. Resultados fisico-químicos de los digestores	65
I. Digestor mesófilo	65
II. Digestor termófilo	66

FIGURAS:

Figura 1: Hidrodinámica en la etapa de decantación.	3
Figura 2: Etapas de digestión anaerobia.	5
Figura 3: Estructura de paredes celulares de bacterias.	8
Figura 4: Montaje experimental ensayo escala laboratorio.	9
Figura 5: Planta piloto de digestión anaerobia de fangos (EDAR Tudela).	10
Figura Anexo A: Vista satélite de EDAR Tudela.	39
Figura Anexo B: Esquema de operación de EDAR Tudela.	39
Figura Anexo C: Zona de trabajo en condiciones asépticas.	40
Figura Anexo D: Sirviendo placas en zona aséptica.	41
Figura Anexo E: Pipeta Pasteur (a) convertida en asa de siembra (b).	42
Figura Anexo F: Rampa de filtración para el método de filtración en membrana.	42
Figura Anexo G: Cámara de flujo laminar con radiación UV.	43
Figura Anexo H: Procedimiento de diluciones seriadas.	43
Figura Anexo I: Cámara de recuento de colonias.	45
Figura Anexo J: Autoclaves para material de sucio (a) y limpio (b).	46
Figura Anexo K: Puntos atípicos de Ratio de alcalinidad. Influyente.	55
Figura Anexo L: Puntos atípicos de NH_4^+ . Condiciones mesófilas. 24 h.	56
Figura Anexo M: Puntos atípicos de pH. Condiciones mesófilas. 24 h.	57
Figura Anexo N: Puntos atípicos de temperatura. Condiciones mesófilas. 24 h.	57
Figura Anexo O: Puntos atípicos del TRH. Condiciones mesófilas. 24 h.	58
Figura Anexo P: Puntos atípicos de Ratio de alcalinidad. Condiciones mesófilas. 24 h.	58
Figura Anexo Q: Puntos atípicos de ST. Condiciones mesófilas. 24 h.	59

TABLAS:

Tabla 2-1: Características del fango de EDAR.	4
Tabla 2-2: Criterios de calidad microbiológica para aplicación de fango en agricultura.	7
Tabla 3-1: Condiciones nominales de operación de los digestores.	12
Tabla 3-2: Parámetros fisicoquímicos y métodos de análisis.	13
Tabla 4-1: Identificación de las EDAR analizadas.	17
Tabla 4-2: Evolución de E. coli a diferentes temperaturas.	19
Tabla 4-3: Evolución de Enterococcus spp. a diferentes temperaturas.	20
Tabla 4-4: Ajuste de parámetros cinéticos.	22
Tabla 4-5: Cálculo de parámetros para el ajuste lineal.	23

Tabla 4-6: Parámetros cinéticos del modelo de Weibull completo.....	23
Tabla 4-7: Resumen de cumplimiento de criterios de higienización.	29
Tabla 4-8: Condiciones de operación de los digestores.....	31
Tabla 4-9: Análisis fisicoquímico para las diferentes condiciones de operación.....	33
Tabla 4-10: Rendimientos de eliminación de los digestores.	33
Tabla Anexo A: Agar MacConkey (pH = 7,1 ± 0,2).....	40
Tabla Anexo B: Agar Slanetz & Bartley (pH = 7,2 ± 0,2).	41
Tabla Anexo C: Composición de la solución tampón fosfato (PBS).	44
Tabla Anexo D: Condiciones de incubación de los medios de cultivo.	45
Tabla Anexo E: Cálculo del SRC para el ajuste cinético de inactivación de E. coli.	47
Tabla Anexo F: Cálculo del SRC para el ajuste cinético de inactivación de Enterococcus.	51
Tabla Anexo G: Tabla de valores atípicos. Influyente.....	55
Tabla Anexo H: Prueba de distribución normal. Influyente.....	55
Tabla Anexo I: Prueba de puntos atípicos. Condiciones mesófilas. 24 h.....	56
Tabla Anexo J: Prueba de distribución normal. Condiciones mesófilas. 24 h.....	59
Tabla Anexo K: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 2 h.....	60
Tabla Anexo L: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 2 h.	61
Tabla Anexo M: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 4 h.	62
Tabla Anexo N: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 4 h.	63
Tabla Anexo O: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 24 h.	64
Tabla Anexo P: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 24 h.....	64
Tabla Anexo Q: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión mesófila. 24 h.	65
Tabla Anexo R: Parámetros fisicoquímicos: Digestor mesófilo. 24 h.....	65
Tabla Anexo S: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 2 h.	66
Tabla Anexo T: Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 2 h.....	66
Tabla Anexo U: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 4 h.	67
Tabla Anexo V: Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 4 h.	67
Tabla Anexo W: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 24 h.	68
Tabla Anexo X: Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 24 h.	68

GRÁFICAS:

Gráfica 4-1: Concentración de Escherichia coli [UFC/g] en fangos frescos.	18
Gráfica 4-2: Concentración de Enterococcus spp. [UFC/g] en fangos frescos.....	18
Gráfica 4-3: Enterococcus spp. frente a Escherichia coli.	19

Gráfica 4-4: Evolución de E. coli en ensayos a escala laboratorio.	20
Gráfica 4-5: Evolución de Enterococcus spp. en ensayos a escala laboratorio.	21
Gráfica 4-6: Inactivación bacteriana de E. coli en ensayos a escala laboratorio.	21
Gráfica 4-7: Inactivación bacteriana de Enterococcus en ensayos a escala laboratorio.	22
Gráfica 4-8: Representación de $\ln(\delta)$ frente a VT.	23
Gráfica 4-9: Reducción microbiológica de E. coli. (Mesófilo; 24 h).	25
Gráfica 4-10: Reducción microbiológica de Enterococcus spp. (Mesófilo; 24 h).	25
Gráfica 4-11: Reducción microbiológica de E. coli (Termófilo; 2 h).	26
Gráfica 4-12: Reducción microbiológica de Enterococcus spp. (Termófilo; 2 h).	26
Gráfica 4-13: Reducción microbiológica de E. coli (Termófilo; 4 h).	27
Gráfica 4-14: Reducción microbiológica de Enterococcus spp. (Termófilo; 4 h).	27
Gráfica 4-15: Reducción microbiológica de E. coli (Termófilo; 24 h).	28
Gráfica 4-16: Reducción microbiológica de Enterococcus spp. (Termófilo; 24 h).	28
Gráfica 4-17: Caracterización microbiológica Digestor 1 (Base seca).	31
Gráfica 4-18: Caracterización microbiológica Digestor 2 (Base seca).	32
Gráfica 4-19: Composición biogás. Relación CH_4/CO_2	34
Gráfica Anexo A: Comparación modelo cinético. E. coli. 53 °C. Réplica 1.	48
Gráfica Anexo B: Comparación modelo cinético. E. coli. 53 °C. Réplica 2.	48
Gráfica Anexo C: Comparación modelo cinético. E. coli. 55 °C. Réplica 1.	49
Gráfica Anexo D: Comparación modelo cinético. E. coli. 55 °C. Réplica 2.	49
Gráfica Anexo E: Comparación modelo cinético. E. coli. 57 °C. Réplica 1.	50
Gráfica Anexo F: Comparación modelo cinético. E. coli. 57 °C. Réplica 2.	50
Gráfica Anexo G: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 53 °C. Ensayo 1.	52
Gráfica Anexo H: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 53 °C. Ensayo 2.	52
Gráfica Anexo I: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 55 °C. Ensayo 1.	53
Gráfica Anexo J: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 55 °C. Ensayo 2.	53
Gráfica Anexo K: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 57 °C. Ensayo 1.	54
Gráfica Anexo L: Comparación modelo cinético. Enterococcus spp. 57 °C. Ensayo 2.	54
Gráfica Anexo M: Prueba de valores atípicos de TRH. Condiciones termófilas. 2 h.	60
Gráfica Anexo N: Prueba de valores atípicos de ST. Condiciones termófilas. 2 h.	61
Gráfica Anexo O: Prueba de valores atípicos de NH_4^+ . Condiciones termófilas. 4 h.	62

1. ANTECEDENTES

1.1. Introducción

La actividad realizada en las Estaciones Depuradoras de Agua Residual (EDAR) se basa en la reducción de los contaminantes presentes en los efluentes antes del vertido al río. En el caso de los efluentes urbanos, y asimilables a urbanos, dichos contaminantes son en su mayoría materia orgánica biodegradable y nutrientes.

Durante el proceso de depuración del agua residual urbana (ARU) se generan una serie de residuos, siendo los más importantes los fangos que se separan durante los procesos de decantación primaria y secundaria. El fango tiene un contenido en materia orgánica elevado que es necesario estabilizar para su correcta gestión.

Una de las etapas fundamentales de las EDAR son los decantadores, en los que se decantan reduciéndola del efluente. Como consecuencia, se generan fangos de depuradora, catalogados como residuo no peligroso, cuyo código LER es 19 08 05. Estos pueden ser primarios, donde principalmente decantan sólidos sedimentables, o secundarios, con mayor carga biológica.

En España, el sector de la agricultura es importante, por lo que una salida que puede darse al fango es su aplicación en suelos agrícolas. Debido al alto contenido en materia orgánica y nutrientes, el fango generado en las EDAR se utiliza como enmienda orgánica. No obstante, también tiene presencia de gérmenes potencialmente patógenos, que puede suponer un riesgo para la salud pública.

Teniendo en cuenta la normativa vigente en materia de residuos y suelos contaminados (Ley 7/2022 [1]), la valorización de estos residuos mediante procesos biológicos es una de las alternativas más adecuadas.

Si bien es cierto que existen normas de aplicación de fangos en agricultura en Estados Unidos (US EPA 503), en España las normas existentes (Orden AAA/1072/2013 [2] y RD 1310/1990 [3]) hablan únicamente de tratamientos a realizar al fango y regulan las características fisicoquímicas, especialmente concentraciones de metales presentes tanto en los fangos como en el suelo a aplicar. En lo que respecta a la calidad microbiológica del fango, lo que se indica es la obligación de realizar un seguimiento de indicadores microbiológicos, pero sin la necesidad de reducir la concentración de dichos indicadores hasta un umbral determinado, por lo que encontrar referencias no resulta un trabajo trivial.

Este trabajo se engloba dentro del proyecto “Thermogas: Tratamiento de fangos mediante digestión anaerobia termófila: Estudio y optimización de la tecnología desde la microbiología, la ingeniería y la simulación” (CPP2021-008749), y se realiza en el grupo de investigación “Agua y Salud Ambiental” del Instituto Universitario de Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA) en colaboración con Navarra de Infraestructuras Locales S.A (NILSA), organismo público cuya misión es la depuración de las aguas residuales, la gestión de los residuos urbanos y la colaboración en abastecimiento.

1.2. Objetivos

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la higienización de fangos mediante procesos de digestión anaerobia, realizando el seguimiento de patógenos indicadores microbiológicos (*Escherichia coli* y *Enterococcus* spp.). Este objetivo se desglosa en los siguientes objetivos específicos:

1. Estudio microbiológico de fangos frescos, e influencia de la temperatura de procesos térmicos.
 - a) Caracterización microbiológica inicial de muestras de fangos frescos de EDAR, para conocer la composición microbiológica de partida.
 - b) Ensayos a escala laboratorio para estudio de cinéticas de inactivación por efecto de temperatura.
 - c) Ensayos a escala piloto para estudio del efecto de diferentes variables de operación (temperatura y tiempo de retención hidráulico) en la reducción de patógenos.
2. Efecto de las variables de operación en los parámetros fisicoquímicos y rendimiento del proceso de digestión anaerobia.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Fangos de depuradora: Origen y características principales

En el RD 1310/1990 de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario [1] se define como fango de depuradora al lodo residual extraído de todo tipo de estaciones depuradoras de aguas residuales domésticas, urbanas o de aguas residuales de composición similar a las anteriormente citadas.

2.1.1. Origen de los fangos de EDAR

La generación del fango es una consecuencia de la actividad realizada en las EDAR, donde se elimina la contaminación del agua residual antes de su vertido al medioambiente. En concreto, el fango se genera en las etapas de decantación, donde la materia en suspensión se elimina por acción de la gravedad. En la Figura 1, se muestra el diagrama de flujo en el interior de los decantadores circulares.

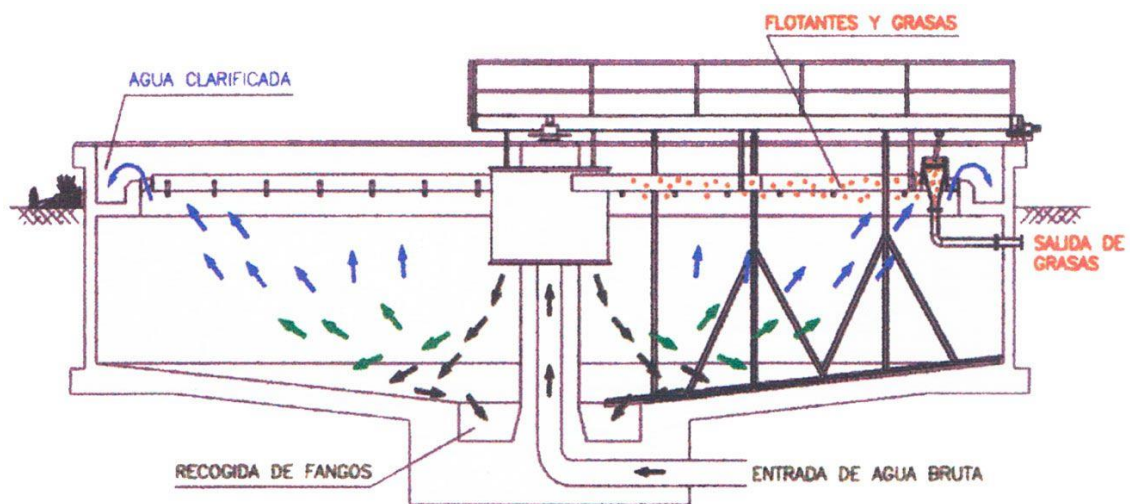


Figura 1: Hidrodinámica en la etapa de decantación.

En los decantadores circulares, el agua residual se bombea desde la parte inferior a la zona central. Si el diseño es el adecuado, la materia particulada se deposita en el inferior del equipo, y el agua clarificada rebosa por la zona superior del equipo. A su vez, un cepillo barre el fondo del decantador facilitando así la recogida de los sedimentos del fango.

Se distinguen decantadores primarios o secundarios, en función de la posición en la que se ubican en la línea de aguas:

- ✚ Decantadores primarios: Los tanques de sedimentación primaria sirven para eliminar sólidos sedimentables, sólidos flotantes (como son los aceites y grasas) y parte de la

carga orgánica del agua residual. Siempre y cuando esté bien dimensionado, en esta etapa se consigue una eliminación de sólidos suspendidos entre el 50–70%, así como entre el 25–40% de la DBO₅. [2]

✚ Decantadores secundarios: Si el decantador se ubica después de una etapa biológica (fangos activos, filtros percoladores, MBBR, etc.) se denomina decantador secundario. En este caso, prácticamente la totalidad de la materia sedimentada son los microorganismos encargados en la degradación de la materia orgánica en la etapa biológica previa. [3]

2.1.2. Características de los fangos de EDAR

Las características del fango dependen del origen de los sólidos, de la edad, así como del tipo de procesos al que han sido sometidos. En la Tabla 2-1 se recogen las principales características de los fangos primarios y secundarios de las EDAR [2].

Tabla 2-1: Características del fango de EDAR.

TIPO DE FANGO	CARACTERÍSTICAS
Primario	Generalmente es grisáceo y grasiento
	Olor extremadamente molesto
	Fácilmente digerible en condiciones adecuadas
Secundario	Apariencia floculenta de color marrón
	Baja tendencia para la sedimentación
	Fangos activos
	En buenas condiciones olor característico a tierra
	Tendencia a convertirse en séptico con rapidez
	Puede digerirse solo
Filtros percoladores	Aspecto pardusco y floculento
	Prácticamente inodoro si está fresco
	La descomposición es más lenta
	Fácilmente digerible

No obstante, es habitual en las EDAR mezclar todo el fango producido, denominándose fango mixto, para su gestión como residuo.

Con el objetivo de eliminar parte de la cantidad de agua del fango, este se puede someter a etapas de espesamiento o deshidratación. De este modo, se obtienen fangos con un rango amplio de sólidos totales (3 – 25 %).

2.2. Estabilización y valorización de fangos: Digestión anaerobia

Se conoce como estabilización a la destrucción y/o transformación de la materia orgánica presente en el fango, responsable de su fermentación. Los procesos de estabilización de fangos más comunes son: digestión anaerobia, digestión aerobia, estabilización por cal y compostaje.

Existen diferentes formas de valorización de fangos. Esta puede ser mediante tratamientos térmicos, tales como pirólisis o gasificación; o bien mediante tratamientos biológicos como son el compostaje y la digestión (aerobia o anaerobia).

La digestión anaerobia tiene una ventaja con respecto al resto de valorizaciones, pues además de estabilizar el fango se produce biogás, que puede ser inyectado a red o bien ser consumido en la propia instalación.

2.2.1. Estabilización de fangos de EDAR

2.2.1.1. Proceso de digestión anaerobia

El proceso de digestión anaerobia (Figura 2) se da en 3 fases consecutivas: Hidrólisis, fase ácida (acidogénesis y acetogénesis) y metanogénesis. [4]

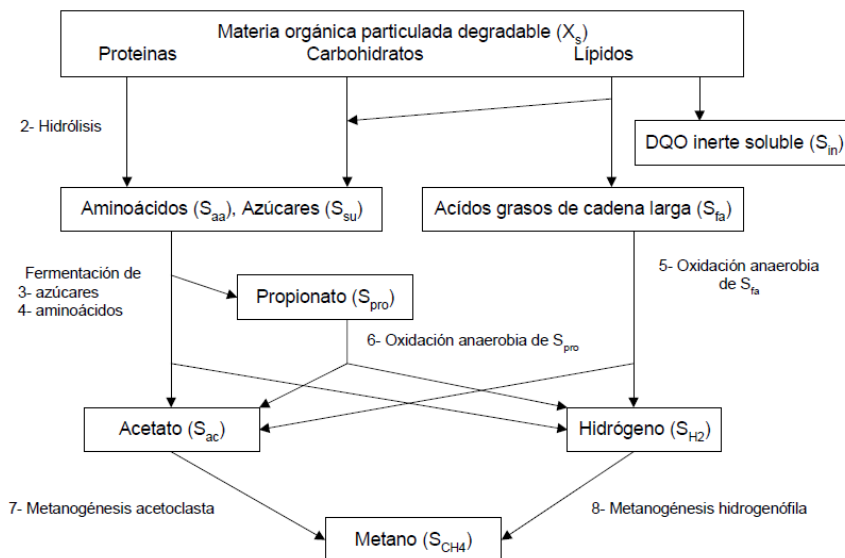
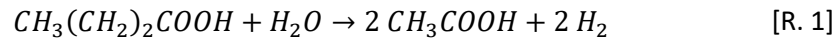


Figura 2: Etapas de digestión anaerobia.

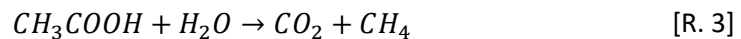
- 1. Hidrólisis:** En primer lugar, durante la hidrólisis se produce la solubilización de la materia orgánica particulada. Las proteínas, carbohidratos y lípidos se rompen en unidades de aminoácidos, azúcares o ácidos grasos de cadena larga. Las enzimas causantes de la hidrólisis son liberadas por los diferentes microorganismos de la digestión anaerobia. Se trata de la etapa controlante.
- 2. Fase ácida:** Esta fase se divide en dos subetapas, estrictamente anaerobios.

- a. Acidogénesis: En esta primera parte, los azúcares y aminoácidos se degradan a compuestos más simples, tales como ácidos grasos volátiles (ácido propiónico, ácido butírico).
- b. Acetogénesis: Los ácidos grasos de cadena corta se oxidan formando ácido acético y liberando hidrógeno gas.

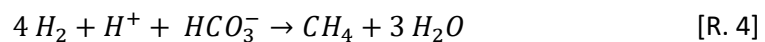


3. Metanogénesis: Finalmente, se produce la metanogénesis por dos vías en paralelo.

- a. Acetoclasta: En este caso, hay microorganismos que producen metano por medio de la descarboxilación del acetato.



- b. Hidrogenófila: La segunda vía, los microorganismos combinan el hidrógeno producido en la acetogénesis con CO₂, para producir metano. De este modo, se mantiene la concentración de hidrógeno en bajas concentraciones, favoreciendo así la fase ácida de la digestión anaerobia.



Cabe destacar que las 4 etapas se dan de manera simultánea, por lo que las poblaciones microbianas encargadas de cada etapa conviven dentro de los digestores. Además, existen efectos inhibitorios, por lo que se requiere de un control periódico para que no se produzcan fallos en los digestores.

2.2.1.2. Productos de la digestión anaerobia

En el caso de que se lleve a cabo la digestión anaerobia completa, como producto se obtiene biogás. Este biogás sirve como fuente de energía renovable, tanto para autoconsumo como para su inyección en red.

La composición mayoritaria es metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂), en una relación 70/30; aunque también se generan trazas de otros gases tales como sulfuro de hidrógeno (H₂S), oxígeno (O₂) o amoníaco (NH₃).

Tras el proceso de digestión anaerobia, el fango fresco pasa a denominarse digestato, o fango digerido. Esta fracción es la que está prevista a aplicarse en agricultura, una vez se instale la planta de digestión anaerobia.

2.2.2. Aplicación en agricultura para la valorización de fangos de EDAR

Debido a que el fango es una fuente de nutrientes y materia orgánica, una buena alternativa para la valorización de este es su uso como enmienda orgánica.

2.2.3. Higienización del fango

El fango es el receptor de todo lo que se retira del efluente, a excepción de los sólidos gruesos, arenas y grasas; incluyendo parte de la contaminación microbiológica, antes del vertido al medio ambiente. Los procesos de digestión anaerobia, en función de las condiciones de operación, pueden llegar a higienizar el fango tratado.

2.3. Normativa aplicable

En la legislación vigente aplicable, RD 1310/1990 [1] a través de la Orden AAA/1072/2013 de 7 de junio, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario [5], únicamente se exige un control microbiológico sin llegar a reducir dicha contaminación. No obstante, en los documentos de trabajo recogidos en la Tabla 2-2 [3] se muestran criterios de calidad para varios indicadores microbiológicos establecidos por diferentes organismos.

Tabla 2-2: Criterios de calidad microbiológica para aplicación de fango en agricultura.

NORMA	INDICADOR	VALOR DE REFERENCIA	
US EPA 503 [7]	<i>E. coli</i>	< 1.000	NMP/g _{MS}
	<i>Salmonella</i> spp.	< 3	NMP/ 4g _{MS}
Documento trabajo de UE 2010 [8]	<i>E. coli</i>	< 5·10 ⁵	UFC/g _{MH}
	<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia en 50 g	
ISO 19698:2020 [9]	Coliformes fecales	< 100	NMP/g
	<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia en 50 g	
	<i>E. coli</i>	< 100	NMP/g

El término Coliformes fecales hace referencia a aquellas bacterias coliformes capaces de fermentar la lactosa a 44 °C. En este grupo está incluida la *Escherichia coli*, que además corresponde con prácticamente la totalidad de los Coliformes fecales.

Como se observa en la Tabla 2-2, los indicadores microbiológicos evaluados son *E. coli*, Coliformes fecales y *Salmonella* spp. Estos indicadores son bacterias gram negativas. En el

presente trabajo de investigación, para estudiar el comportamiento de las bacterias gram positivas, cuya estructura de la pared celular es diferente (Figura 3), se realiza el análisis adicional de *Enterococcus* spp., considerado también como indicador microbiológico. [3]

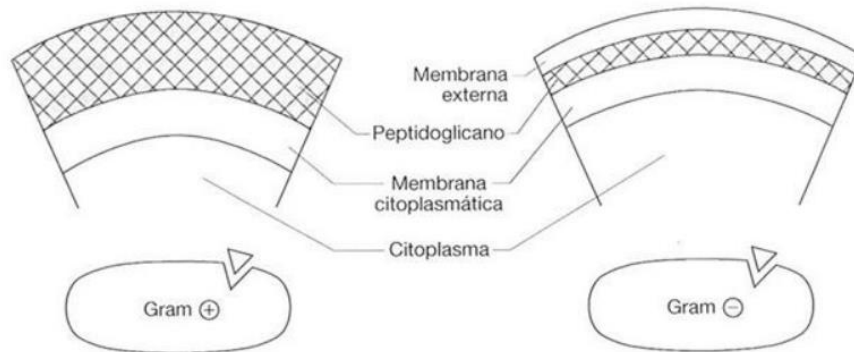


Figura 3: Estructura de paredes celulares de bacterias.

Además, el análisis de *Enterococcus* spp. permiten diferenciar la contaminación fecal antropogénica con respecto a otros animales de sangre caliente. [10]

En lo que respecta a las unidades de los parámetros microbiológicos mostrados en la Tabla 2-2, se distingue el número más probable (NMP) y unidades formadoras de colonias (UFC). Además, las concentraciones se pueden expresar en base seca o húmeda.

Mientras que el método de recuento en placa, como su nombre indica, se basa en el cálculo de la concentración mediante recuento de las UFC, el NMP se basa en el cultivo en tubos con medio de cultivo líquido con el que se estima la densidad bacteriana. En algunos estudios previos indican que hay diferencias significantes entre ambos métodos, recomendando el uso de recuento en placa, debido a su sensibilidad y precisión. [5] [11] [12]

El método de recuento en placa se recomienda cuando la concentración esperada es baja (por ejemplo, en el digestato) por su sensibilidad y precisión. El método NMP, en cambio, se recomienda cuando se espera concentraciones elevadas. Este método, basado en distribución estadística, se calcula una estimación de la densidad de bacterias. [13]

Debido a la falta de un criterio unificado en cuanto a los estándares de higienización, como se observa en la Tabla 2-2, resulta de gran interés llevar a cabo estudios sobre la higienización de fangos mediante digestión anaerobia, tal como se realiza en el presente trabajo. Así mismo, en el presente trabajo de investigación se toma como valor de referencia para asumir que un fango está higienizado cuando la concentración de *E. coli* es inferior a 1.000 UFC/g_{MS}.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En este apartado se describen los experimentos llevados a cabo para la consecución de los objetivos definidos para esta investigación. Además, se indican los métodos analíticos realizados durante el desarrollo de esta.

3.1. Planificación experimental

3.1.1. Caracterización microbiológica inicial de fangos de EDAR

De manera preliminar, se lleva a cabo un estudio para conocer la concentración microbiológica de los fangos de diferentes EDAR ubicadas en Navarra cuyo fango se tratará en una EDAR de tamaño medio (dimensionada para 114.650 habitantes equivalentes) ubicada en Tudela mediante digestión anaerobia. En total se analizan 20 instalaciones urbanas, en hasta 3 campañas, con las que se pretende determinar el intervalo de concentración microbiológica de los fangos generados.

3.1.2. Determinación de las cinéticas de inactivación térmica

Con el fin de obtener las cinéticas de inactivación por efecto de la temperatura, se diseñan ensayos a escala laboratorio.

3.1.2.1. Montaje experimental escala laboratorio

En la Figura 4 se muestra la instalación utilizada para realizar los ensayos de digestión anaerobia a escala piloto.

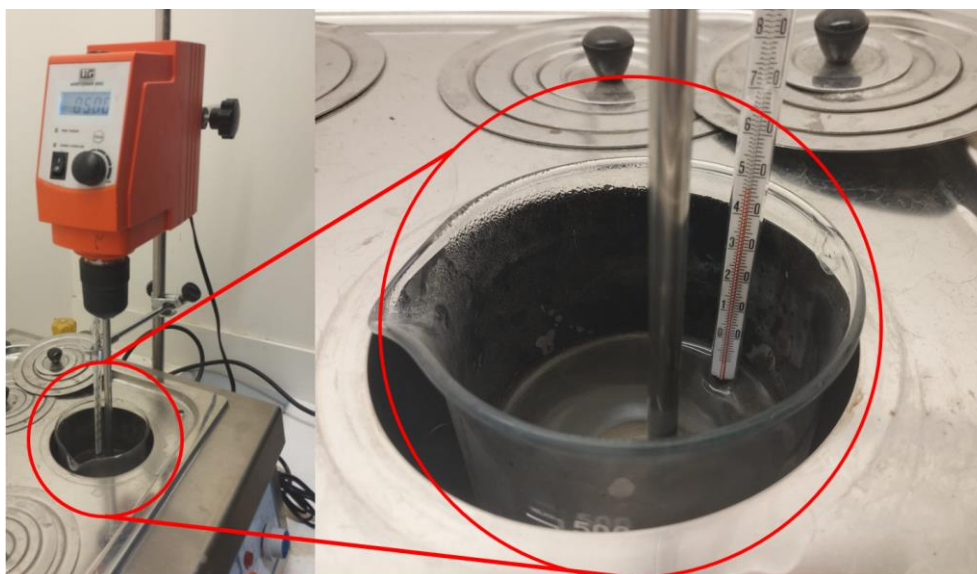


Figura 4: Montaje experimental ensayo escala laboratorio.

El montaje está compuesto por un baño termostático en el que se introduce un vaso de precipitados de 600 mL de capacidad, donde se vierte la muestra de fango a tratar

térmicamente. Se dispone de un agitador mecánico con velocidad regulable con el fin de mantener la mezcla lo más homogénea posible, tanto de los microorganismos analizados como de la temperatura. Para el control de la temperatura, se cuenta con un soporte en el que se coloca un termómetro de alcohol.

Para compensar la posible evaporación del agua durante el tiempo de reacción, se añade suero fisiológico (NaCl 0,9%) precalentado a la temperatura de operación y en condiciones de esterilidad al medio.

3.1.2.2. Procedimiento para la determinación de las cinéticas de inactivación

En el montaje experimental descrito en el apartado 3.1.2.1, una vez alcanzada la temperatura de estudio correspondiente (53 °C, 55 °C y 57 °C), se considera tiempo inicial de ensayo ($t = 0$ h). Una vez iniciado el ensayo, se toma muestra a diferentes tiempos (1 h, 2 h, 3 h, ...) y se analiza *E. coli* y *Enterococcus* spp. en base al análisis microbiológico descrito en el apartado 3.2.1. De este modo, se obtienen las curvas de inactivación térmica tanto de *E. coli* como de *Enterococcus* spp. a diferente temperatura.

3.1.3. Estudio de efecto de variables de operación

Resulta relevante estudiar el efecto que tienen diferentes condiciones de operación sobre la inactivación de microorganismos potencialmente patógenos.

3.1.3.1. Planta piloto de digestión anaerobia

Para este estudio, se utilizan los dos digestores anaerobios a escala piloto ubicados en la EDAR Tudela (Figura 5).



Figura 5: Planta piloto de digestión anaerobia de fangos (EDAR Tudela).

La planta consta de un tanque de carga y de los dos digestores que operan de manera independiente. Se puede trabajar, por tanto, de manera simultánea con diferentes condiciones de operación.

Los digestores operan en régimen semicontinuo, produciéndose la descarga por rebose manteniendo así el volumen constante ($V \approx 3 \text{ m}^3$). La planta está diseñada para que la bomba de carga, que opera a caudal constante, trabaje durante un periodo determinado cada cierto tiempo.

El registro de la temperatura y caudal de biogás se registra con un sistema SCADA, registrándose datos cada minuto. Periódicamente se realizan análisis fisicoquímicos en el laboratorio ubicado en la EDAR Tudela donde se miden sólidos (totales y volátiles), DQO, N-NH_4^+ , alcalinidad y pH.

En cuanto al tiempo de retención hidráulico (TRH) se determina por diferencia de altura del tanque de descarga. Conocidas las dimensiones de este, se obtiene el caudal diario descargado y, por ende, el tiempo de retención hidráulico medio del digestor.

3.1.3.2. Procedimiento para el estudio del efecto de diferentes condiciones de operación

Una vez completados los ciclos de digestión, se coge la muestra de los digestores, así como del tanque de alimentación. En primer lugar, se saca muestra para el análisis fisicoquímico. Posteriormente, en condiciones asépticas, se coge muestra que se traslada en nevera refrigerada al laboratorio del grupo de investigación "Agua y Salud Ambiental" para el análisis microbiológico (apartado 3.2.1).

En este trabajo se evaluará el efecto de diferentes condiciones de operación. En primer lugar, se estudia el efecto de trabajar en condiciones mesófilas (Digestor 2) y termófilas (Digestor 1). Siguiendo la norma US EPA 503 [7], donde se indica que para que un fango pueda estar higienizado debe mantenerse la temperatura a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas, se estudiará la reducción microbiológica de la carga con tiempos entre cargas inferiores, aproximándose así a una operación en régimen continuo.

En segundo lugar, se realiza un estudio relativo al efecto de la temperatura cuando los dos digestores trabajan en condiciones termófilas. Se estudiará la diferencia operando tanto en el rango inferior ($T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$) como en el superior ($T = 55 \text{ }^\circ\text{C}$) de temperatura.

Las condiciones de operación establecidas durante esta investigación son las que se recogen en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1: Condiciones nominales de operación de los digestores.

Digestor	TRH [días]	T [°C]	t _c [h]
Dig. 1	15	50 – 55	2
			4
			24
Dig. 2	20	35 – 37	24
		50 – 55	
	15		

3.2. Procedimientos analíticos

En lo que respecta al procedimiento analítico, se diferencian los ensayos microbiológicos y los fisicoquímicos.

3.2.1. Análisis microbiológico

La concentración de las bacterias se determina mediante recuento heterótrofo en placa, siguiendo el método 9215 de la APHA [7]. En el ANEXO B se detalla el procedimiento del análisis microbiológico desde la preparación del material para realizar el análisis hasta la limpieza tras los ensayos.

La siembra se realiza tanto en placa difusa (Método 9215 C) como por filtración en membrana (Método 9215 D). En cualquier caso, la concentración microbiológica se calcula siguiendo la ecuación [Ec. 1].

$$C \left[\frac{UFC}{mL} \right] = \frac{N \cdot F_d}{V_s} \quad [Ec. 1]$$

Dónde:

- N [UFC] Número de unidades formadoras de colonias.
- F_d [-] Factor de dilución (1, 10, 100, 1.000, ...).
- V_s [mL] Volumen sembrado.

Debido a la escala logarítmica en la que se mueven las concentraciones de bacterias, se le aplica logaritmos decimales, obteniendo así las concentraciones correspondientes en unidades logarítmicas.

En función de la bacteria que se quiera analizar, se emplean unas condiciones de incubación (tiempo y temperatura) diferentes. En concreto, para los microorganismos analizados en este estudio, las condiciones son las siguientes:

- *Escherichia coli* Agar MacConkey 24 h 44 °C
- *Enterococcus spp.* Agar Slanetz & Bartley 48 h 37 °C

Además de la concentración de patógenos, resulta interesante obtener la inactivación bacteriana (IB), pues indica el orden de magnitud en el que se reducen los diferentes microorganismos analizados.

$$IB = \log\left(\frac{C_t}{C_0}\right) \quad [\text{Ec. 2}]$$

Dónde:

- C_0 [UFC/mL] Concentración de bacterias a tiempo inicial.
- C_t [UFC/mL] Concentración de bacterias a tiempo t.

3.2.2. Análisis fisicoquímico

En el laboratorio de la EDAR Tudela se realiza el seguimiento fisicoquímico diario de los digestores. Para este trabajo, los parámetros que se tendrán en cuenta son los recopilados en la Tabla 3-2.

Tabla 3-2: *Parámetros fisicoquímicos y métodos de análisis.*

PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO
DQO	[mg/L]	Kit reactivo Hanna. Reactivo HI93754B-0 [8]
N-NH ₄ ⁺	[mg/L]	Kit reactivo Hanna. Reactivo HI93764B-0 [8]
pH	[-]	Lectura directa con medidor de pH
Alcalinidad	[mg/L]	“Standard methods”. Método 2320 B [7]
Sólidos	[%]	“Standard methods”. Método 2540 G [7]

Todos los parámetros fisicoquímicos, a excepción de los sólidos, se realizan sobre la muestra filtrada. Para ello, se realiza un pretratamiento consistente en centrifugación de la muestra (9.000 rpm, 15 minutos) y posterior filtración con prefiltros de fibra de vidrio.

Además de los resultados de alcalinidad, resulta interesante obtener la ratio de alcalinidad, como indicador de estabilidad de los digestores, calculada siguiendo la ecuación [Ec. 3].

$$Ratio = \frac{Alcalinidad_{Total} - Alcalinidad_{HCO_3^-}}{Alcalinidad_{HCO_3^-}} \quad [Ec. 3]$$

Dónde la alcalinidad de bicarbonatos (HCO_3^-) se obtiene mediante valoración a pH 5,7, y alcalinidad total a pH 4,3.

3.3. Tratamiento estadístico de datos

3.3.1. Regresión multivariable

Para la determinación de las cinéticas de inactivación, se realiza regresión multivariable con la herramienta Solver de Excel. En concreto, la inactivación térmica se ajustará al modelo de Weibull cuya expresión se muestra en la ecuación [Ec. 4]. El modelo se ha seleccionado de estudios previos realizados por Rodríguez-Chueca *et al.* [16], así como de diferentes estudios [17].

$$\log(N) = \log(N_0) - \left(\frac{t}{\delta}\right)^\beta \quad [Ec. 4]$$

Dónde:

- N [UFC/mL] Concentración de bacterias a tiempo t.
- N_0 [UFC/mL] Concentración de bacterias a tiempo inicial.
- t [h] Tiempo de reacción.
- β [-] Parámetro de forma.
- δ [min] Tiempo de primera reducción decimal.

Hay estudios que indican que el tiempo de primera reducción decimal podría describirse con una ecuación del tipo Arrhenius. [18]

$$\delta = \delta_0 \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R \cdot T}\right) \quad [Ec. 5]$$

Siendo:

- δ_0 [min] Factor pre-exponencial.
- E_a [UFC/mL] Energía de activación.
- R [J/mol·K] Constante de los gases ideales (8,314 J/mol·K).
- T [K] Temperatura.

El factor pre-exponencial, al igual que en las ecuaciones de cinética química, representa la velocidad de inactivación, cuando la temperatura es de 0 K. Puesto que en los procesos biológicos carece de sentido físico, se normaliza realizando el siguiente procedimiento:

$$\left. \begin{aligned} \delta_1 &= \delta_0 \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R \cdot T_1}\right) \\ \delta_2 &= \delta_0 \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R \cdot T_2}\right) \end{aligned} \right\} \rightarrow \frac{\delta_1}{\delta_2} = \exp\left(\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)\right) \rightarrow \delta_1 = \delta_2 \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)\right)$$

Considerando que la condición 2 corresponde a la temperatura media (55 °C), siendo además la temperatura de referencia de la digestión anaerobia termófila, la expresión queda como se muestra en la ecuación [Ec. 6].

$$\delta = \delta_m \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m}\right)\right) \quad [\text{Ec. 6}]$$

Dónde δ_m corresponde al tiempo de primera reducción decimal a la temperatura de referencia (55 °C).

3.3.2. Estadística descriptiva básica

Con el fin de comprobar que los conjuntos de datos corresponden a una distribución normal, a todos los se les realiza el test de puntos atípicos y el test de normalidad para tal fin. Ambas comprobaciones se realizan con el software Minitab.

3.3.2.1. *Test de puntos atípicos*

En primer lugar, se realiza el test de puntos atípicos, para descartar aquel dato que más se aleja del conjunto, ya sea por encima o por debajo. Este estudio se basa en el siguiente contraste de hipótesis:

- H_0 : “Todos los valores de datos provienen de una misma población normal”
- H_1 : “El valor más pequeño (o más grande) de los datos es un valor atípico”

Tomando un nivel de confianza del 95%, aquellos p-valor que tengan una significancia inferior al 0,05, se dará por válida la hipótesis alternativa, pudiendo eliminar aquel dato que se aleje más del promedio.

Este estudio se muestra en el ANEXO D. Además de la tabla resumen con los p-valores de cada conjunto de datos. Posteriormente, en el ANEXO E, donde se recogen los valores puntuales de las analíticas, se indican con celdas sombreadas aquellos datos descartados mediante el test.

3.3.2.2. Test de normalidad

Una vez descartados los datos, se realiza el test de normalidad, para comprobar que dicho conjunto pertenece a una distribución normal, por lo que se puede continuar aplicando métodos estadísticos durante el estudio. La prueba seleccionada es la de Anderson-Darling.

En este caso, siguiendo el mismo nivel de confianza, si el p-valor es inferior al nivel de significancia ($\alpha = 0,05$), el conjunto de datos no pertenece a una distribución normal. Las implicaciones en este estudio es que los valores promedios determinados no sean correctos.

3.3.2.3. Cálculo de promedios con intervalo de confianza

En lo que respecta al promedio, se calcula en Excel, siguiendo la expresión descrita en la ecuación [Ec. 7].

$$\mu = m \pm t_{n-1; \alpha/2} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \quad [\text{Ec. 7}]$$

Dónde:

- m Promedio del conjunto de datos.
- s Desviación estándar del conjunto de datos.
- n Número de datos del conjunto.
- $t_{n-1; \alpha/2}$ Valor crítico de la distribución t-student.

El valor crítico se obtiene en función del número de datos, pues determina los grados de libertad ($n-1$), y la significancia (α).

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización microbiológica inicial de fangos frescos

En primer lugar, se llevan a cabo estudios en el grupo de investigación “*Agua y Salud Ambiental*” en los que se realiza una caracterización de fangos frescos procedentes de diferentes EDAR (Tabla 4-1). En la tabla, se ha incluido además información relevante de los caudales de entrada y de diseño, expresados en número de habitantes equivalentes, así como de la posición teniendo en cuenta el tamaño de la depuradora para la comunidad autónoma objeto de estudio según la página web de iAgua [9].

Tabla 4-1: Identificación de las EDAR analizadas.

EDAR	Nº Hab. Eq.		EDAR	Nº Hab. Eq.			
	Q Entrada	Q Diseño		Q Entrada	Q Diseño		
1	(n/d)	n/d	11	(3ª)	55.243	76.033	
2	(11ª)	3.880	25.383	12	(40ª)	3.158	3.633
3	(10ª)	29.930	30.000	13	(4ª)	66.281	70.000
4	(5ª)	31.759	60.000	14	(13ª)	5.102	22.500
5	(6ª)	49.520	58.333	15	(8ª)	11.460	36.666
6	(14ª)	4.166	21.583	16	(37ª)	4.896	4.417
7	(30ª)	5.845	6.533	17	(9ª)	23.251	31.933
8	(16ª)	14.695	18.967	18	(2ª)	96.507	114.650
9	(12ª)	19.681	24.000	19	(7ª)	34.976	40.833
10	(23ª)	6.048	7.500	20	(29ª)	1.982	6.633

n/d: Datos no disponibles.

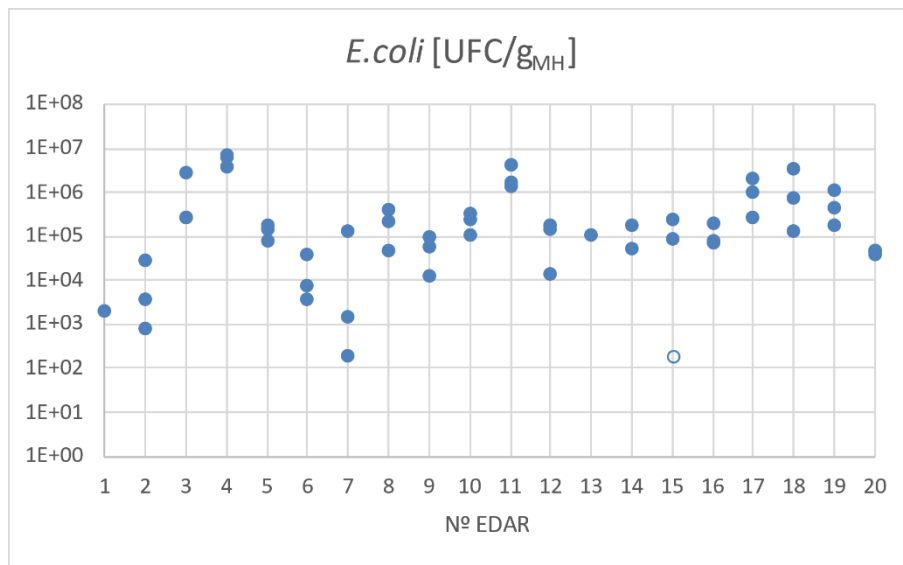
En lo que respecta a la EDAR 1 no hay datos disponibles, pues se trata de una instalación pequeña, no aparece el dato en la página consultada. Así mismo, tampoco existe base de datos en la página de NILSA.

Se realizan hasta 3 campañas de muestreo por cada EDAR, determinándose la concentración de *Escherichia coli* (Gráfica 4-1) así como *Enterococcus* spp. (Gráfica 4-2).

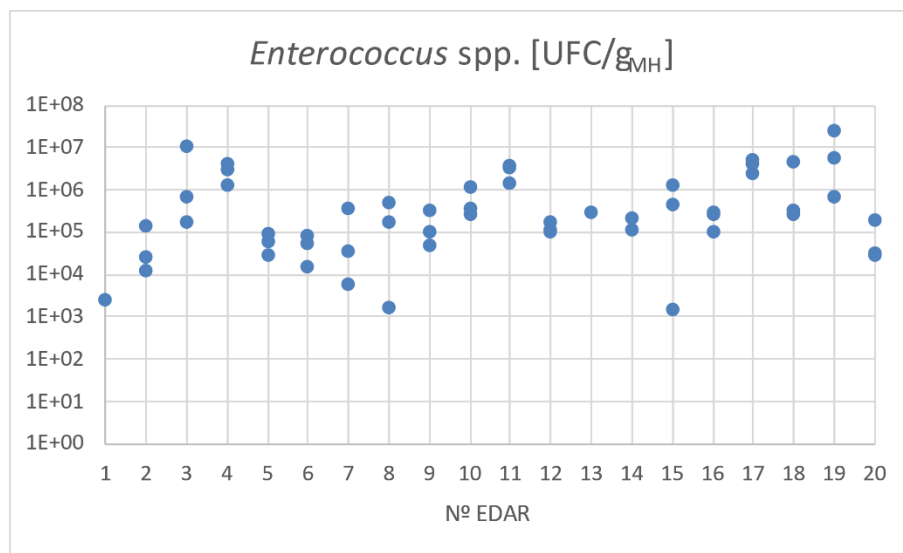
Tal como se puede observar, la concentración de microorganismos se encuentra en el intervalo de $10^2 - 10^7$ UFC/g_{MH} para *E. coli*, y $10^3 - 10^8$ UFC/g_{MH} de *Enterococcus* spp. Tomando como referencia las condiciones de higienización establecidas a partir de las normas de referencia (ver Tabla 2-2), el fango no cumple con la concentración microbiológica para poder ser aplicado en agricultura. Por tanto, se debe llevar a cabo tratamiento para reducir la

concentración de gérmenes potencialmente patógenos, para que la aplicación se realice en condiciones de seguridad.

Cabe destacar que el fango generado en estas instalaciones será tratado mediante digestión anaerobia en la EDAR de Tudela (Nº 18), por eso el interés de la caracterización previa en base a parámetros microbiológicos potencialmente patógenos.

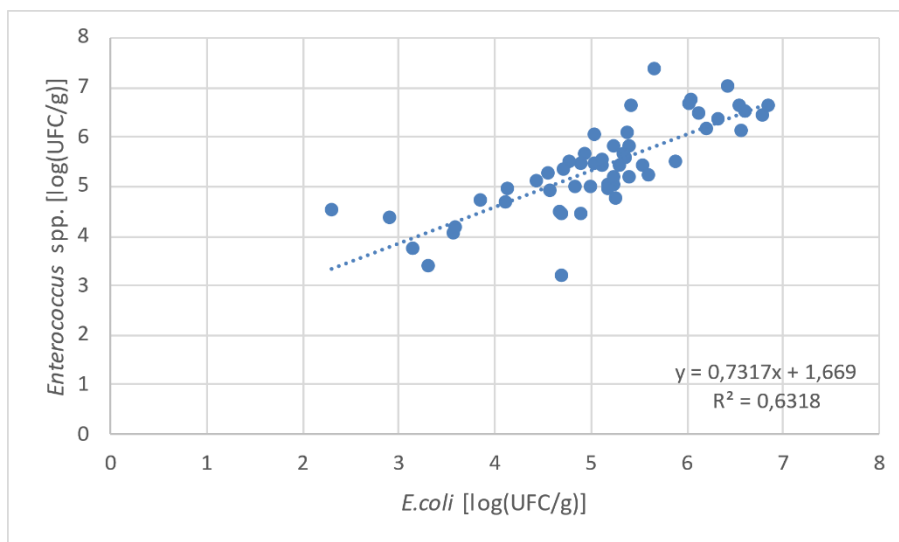


Gráfica 4-1: Concentración de *Escherichia coli* [UFC/g] en fangos frescos.



Gráfica 4-2: Concentración de *Enterococcus* spp. [UFC/g] en fangos frescos.

En la Gráfica 4-3 se muestra en el eje de coordenadas el logaritmo de la concentración de *Enterococcus* spp. y en el eje horizontal el logaritmo de la concentración de *Escherichia coli*.



Gráfica 4-3: *Enterococcus spp. frente a Escherichia coli.*

En líneas generales, y tal como se observa en la Gráfica 4-3, concentraciones elevadas de *Enterococcus spp.* implican altas concentraciones de *E. coli*. El coeficiente de correlación es bajo ($R^2 = 0,6318$), pero se describe correctamente esta relación.

4.2. Determinación de las cinéticas de inactivación térmica

Siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.1.2.2, se toman muestras durante las 4 primeras horas de ensayo. En la Tabla 4-2 se recoge la evolución temporal de la concentración de *E. coli*, y posteriormente, en la Tabla 4-3, la evolución de la concentración de *Enterococcus spp.* Las concentraciones se expresan en UFC/mL, con el fin de que la base de cálculo se mantenga constante.

Tabla 4-2: *Evolución de E. coli a diferentes temperaturas.*

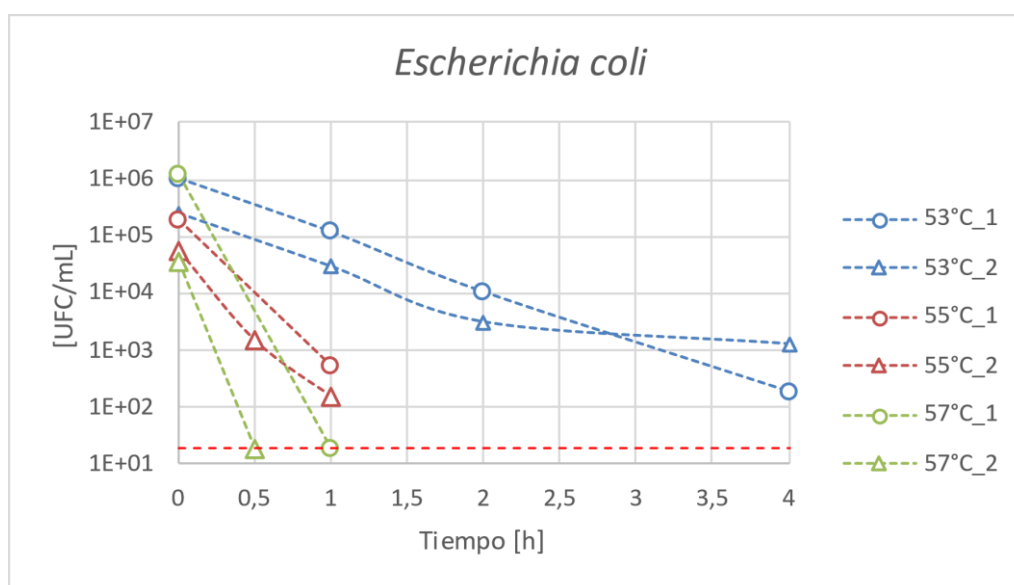
Tiempo [h]	<i>Escherichia coli</i> [UFC/mL]					
	53 °C		55 °C		57 °C	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
0,0	$1,07 \cdot 10^6$	$2,68 \cdot 10^5$	$2,02 \cdot 10^5$	$5,83 \cdot 10^4$	$1,20 \cdot 10^6$	$3,76 \cdot 10^4$
0,5	-	-	-	$1,53 \cdot 10^3$	-	< LD
1,0	$1,23 \cdot 10^5$	$3,05 \cdot 10^4$	$5,50 \cdot 10^2$	$1,60 \cdot 10^2$	< LD	< LD
1,5	-	-	-	-	< LD	< LD
2,0	$1,07 \cdot 10^4$	$3,18 \cdot 10^3$	< LD	< LD	< LD	< LD
4,0	$1,90 \cdot 10^2$	$1,30 \cdot 10^3$	< LD	-	< LD	< LD

Tabla 4-3: Evolución de *Enterococcus spp.* a diferentes temperaturas.

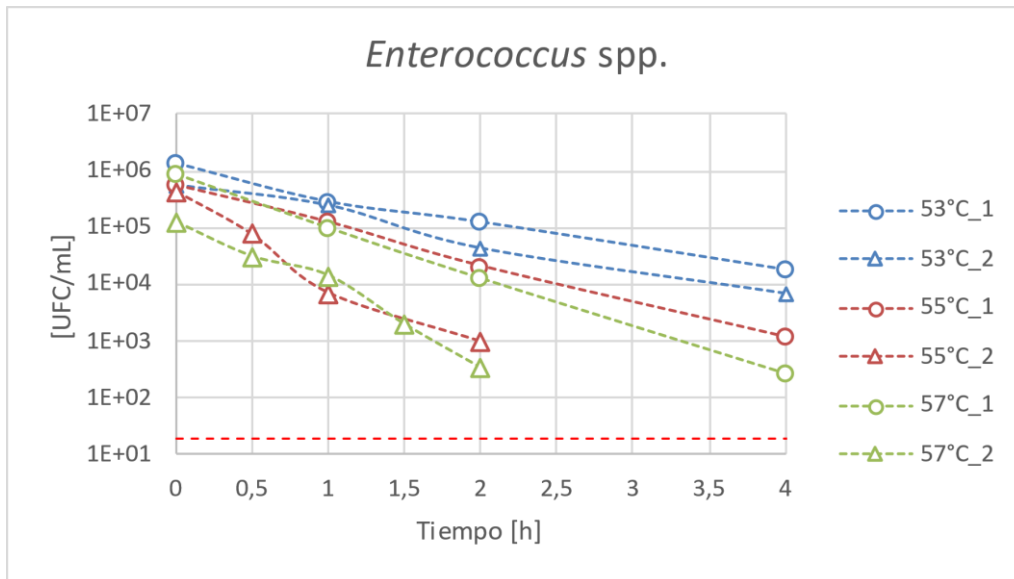
Tiempo [h]	<i>Enterococcus spp.</i> [UFC/mL]					
	53 °C		55 °C		57 °C	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
0,0	$1,41 \cdot 10^6$	$2,69 \cdot 10^5$	$5,65 \cdot 10^5$	$4,54 \cdot 10^5$	$8,83 \cdot 10^5$	$1,28 \cdot 10^5$
0,5	-	-	-	$7,88 \cdot 10^4$	-	$3,17 \cdot 10^4$
1,0	$2,90 \cdot 10^5$	$2,52 \cdot 10^5$	$1,25 \cdot 10^5$	$7,27 \cdot 10^3$	$9,96 \cdot 10^4$	$1,46 \cdot 10^4$
1,5	-	-	-	-	-	$2,00 \cdot 10^3$
2,0	$1,25 \cdot 10^5$	$4,49 \cdot 10^4$	$2,09 \cdot 10^4$	$1,00 \cdot 10^3$	$1,29 \cdot 10^4$	$3,40 \cdot 10^2$
4,0	$1,76 \cdot 10^4$	$7,25 \cdot 10^3$	$1,15 \cdot 10^3$	-	$2,70 \cdot 10^2$	-

Los resultados indican que, trabajando a la temperatura de 57 °C, la inactivación de *E. coli* por debajo del límite de detección del método (LD = 20 UFC/mL) se alcanza en la primera media hora.

Se representa gráficamente la evolución de la concentración a lo largo del ensayo tanto para *E. coli* (Gráfica 4-4) como de *Enterococcus spp.* (Gráfica 4-5). En estas representaciones se incluye una línea horizontal discontinua mostrando el límite de detección del método.

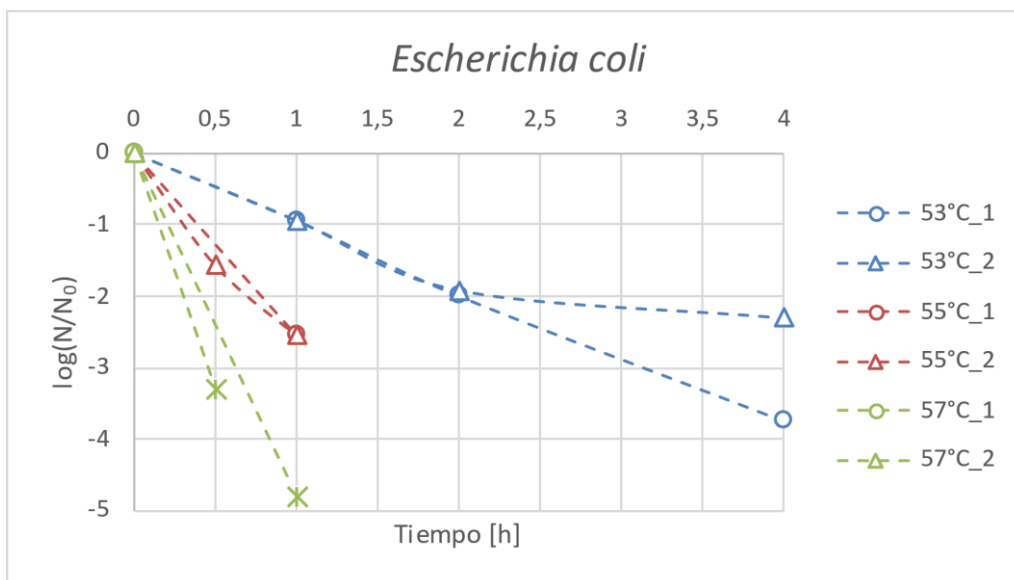


Gráfica 4-4: Evolución de *E. coli* en ensayos a escala laboratorio.

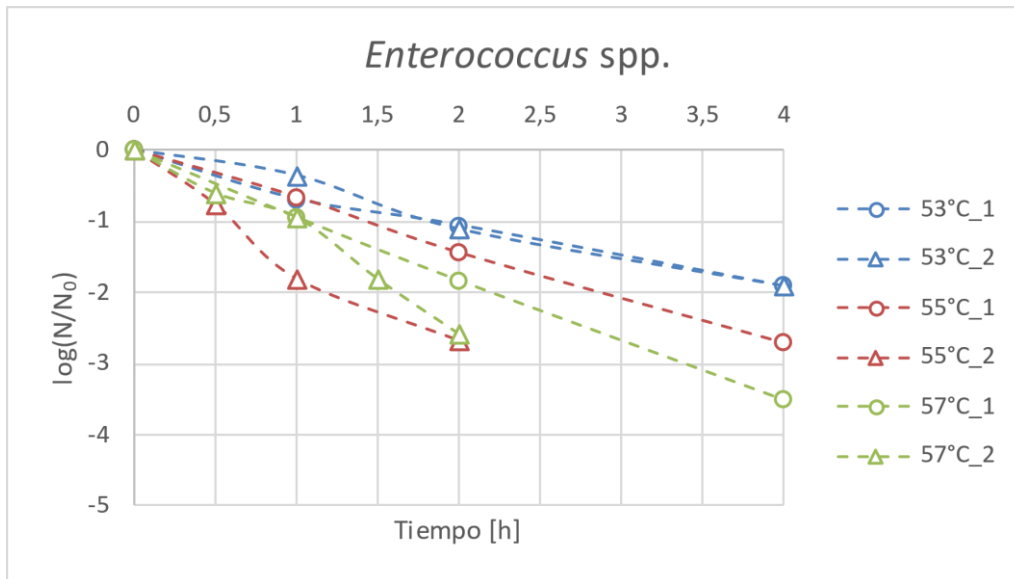


Gráfica 4-5: Evolución de *Enterococcus* spp. en ensayos a escala laboratorio.

Se observa cierta variabilidad en la concentración de partida de cada ensayo. Con el fin de comparar la tendencia a diferentes temperaturas, se realiza el cálculo de la inactivación bacteriana. Representando en la Gráfica 4-6 inactivación bacteriana térmica de *E. coli*, y posteriormente, en la Gráfica 4-7, la inactivación bacteriana de *Enterococcus* spp. Los asteriscos en la representación de la inactivación indican que se ha alcanzado el límite de detección (20 UFC/mL).



Gráfica 4-6: Inactivación bacteriana de *E. coli* en ensayos a escala laboratorio.



Gráfica 4-7: Inactivación bacteriana de *Enterococcus* en ensayos a escala laboratorio.

A diferencia del efecto de la temperatura en la inactivación térmica *E. coli* (Gráfica 4-6), donde se observa que a mayor temperatura más rápida es la inactivación; la inactivación de *Enterococcus* spp. (Gráfica 4-7) parece que no se ve tan influida por la temperatura.

En lo que respecta al modelo cinético, los resultados se ajustan al modelo de tipo Weibull, donde uno de los parámetros es el orden de inactivación (β), y el segundo parámetro el tiempo de primera reducción decimal (δ).

En el ANEXO C se recogen las tablas donde se obtiene el error de ajuste. No obstante, en las utilizadas para calcular el error del ajuste. Los parámetros de ajuste obtenidos se recogen en la Tabla 4-4.

Tabla 4-4: Ajuste de parámetros cinéticos.

	β [-]	δ [min]		
		δ_{53}	δ_{55}	δ_{57}
<i>Escherichia coli</i>	0,86	56,9	19,7	5,94
<i>Enterococcus</i> spp.	0,74	115	54,6	45,1

Con el fin de obtener el factor pre-exponencial a la temperatura de trabajo (δ_m), así como la energía de activación, se linealiza la expresión que relaciona el tiempo de primera reducción decimal (δ) con la temperatura, deducida en la ecuación [Ec. 6], donde VT es la variable temperatura.

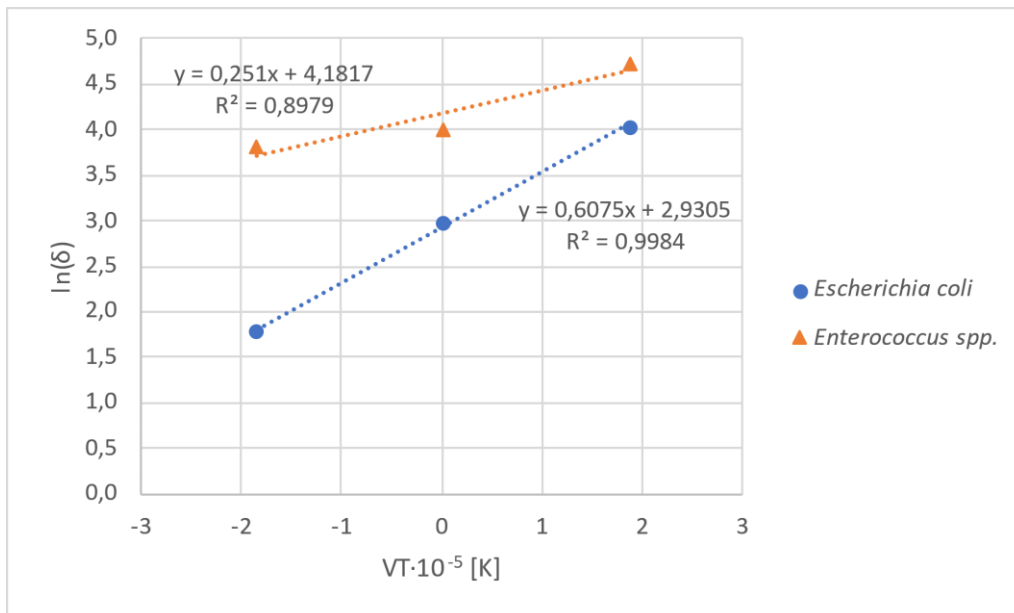
$$\ln(\delta) = \ln(\delta_m) + \frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right) \rightarrow \ln(\delta) = \ln(\delta_m) + \frac{E_a}{R} \cdot VT$$

En la Tabla 4-5 se calculan los parámetros necesarios para el cálculo de los parámetros cinéticos.

Tabla 4-5: Cálculo de parámetros para el ajuste lineal.

T [°C]	VT·10 ⁻⁵ [K ⁻¹]	<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterococcus spp.</i>	
		δ [min]	ln(δ) [-]	δ [min]	ln(δ) [-]
53	1,87	56,9	4,04	115	4,74
55	0,00	19,7	2,98	54,6	4,00
57	-1,85	5,94	1,78	45,1	3,81

Representando ln(δ) frente a VT (Gráfica 4-8), y realizando ajuste lineal, se obtiene el factor pre-exponencial a la temperatura de referencia (δ_m), así como la energía de activación (E_a).



Gráfica 4-8: Representación de ln(δ) frente a VT.

Tal como se puede observar, se obtienen coeficientes de regresión elevados, por lo que se pueden deducir los parámetros buscados. En la Tabla 4-6 se recogen los parámetros cinéticos del modelo completo.

Tabla 4-6: Parámetros cinéticos del modelo de Weibull completo.

	β [-]	δ [min]	
		δ _m [min]	E _a [J/mol]
<i>Escherichia coli</i>	0,86	18,7	5,1
<i>Enterococcus spp.</i>	0,74	65,5	0,8

En primer lugar, se destaca que ambos ordenes de inactivación son inferiores a la unidad, por lo que se explica la concavidad de las gráficas de inactivación. Según avanza el tiempo, la velocidad de inactivación disminuye.

En lo que respecta al parámetro de primera reducción decimal a la temperatura media de operación (δ_m), en el caso de la *E. coli* es de 19 minutos, mientras que para los *Enterococcus* spp. asciende a 66 minutos. Puesto que la inactivación térmica es consecuencia de la rotura de las paredes celulares de las bacterias, la diferencia puede ser debida a la composición celular de ambas bacterias.

Finalmente, la energía de activación de la inactivación térmica de *E. coli* es mayor que la correspondiente a *Enterococcus* spp. Lo que significa que la temperatura tiene mayor efecto en la velocidad de inactivación del indicador. Traduciéndose así en que en las gráficas de inactivación bacteriana se aprecien diferencias a diferentes temperaturas de ensayo.

4.3. Estudio de inactivación microbiológica a escala piloto

Para cada condición de operación objeto de estudio (en base a la Tabla 3-1) se realizan 10 muestreos aleatorios. El muestreo se considera válido una vez alcanzado el estado estacionario, gracias al seguimiento fisicoquímico semanal de los mismos.

En las gráficas correspondientes a los ensayos en escala piloto, se muestran las concentraciones de los indicadores microbiológicos analizados del influente, así como de la salida del digestor, denominado digestato. Esta concentración se expresa en unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de materia seca [UFC/g_{MS}]. Además, se representa en el eje secundario la temperatura medida *in situ* en el momento de la recogida de la muestra.

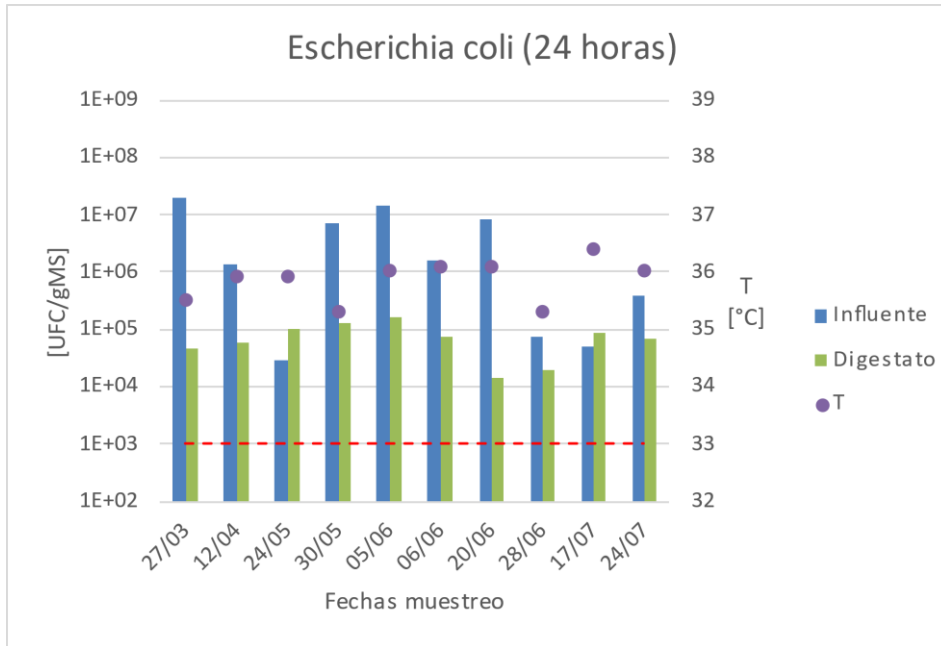
Para aquellos análisis en los que la concentración se encuentra por debajo del límite de detección (LD = 20 UFC/mL), la columna correspondiente se muestra con el fondo difuminado.

Además, se muestra una barra discontinua horizontal indicando el criterio de higienización establecido en este estudio (1.000 UFC/g_{MS}).

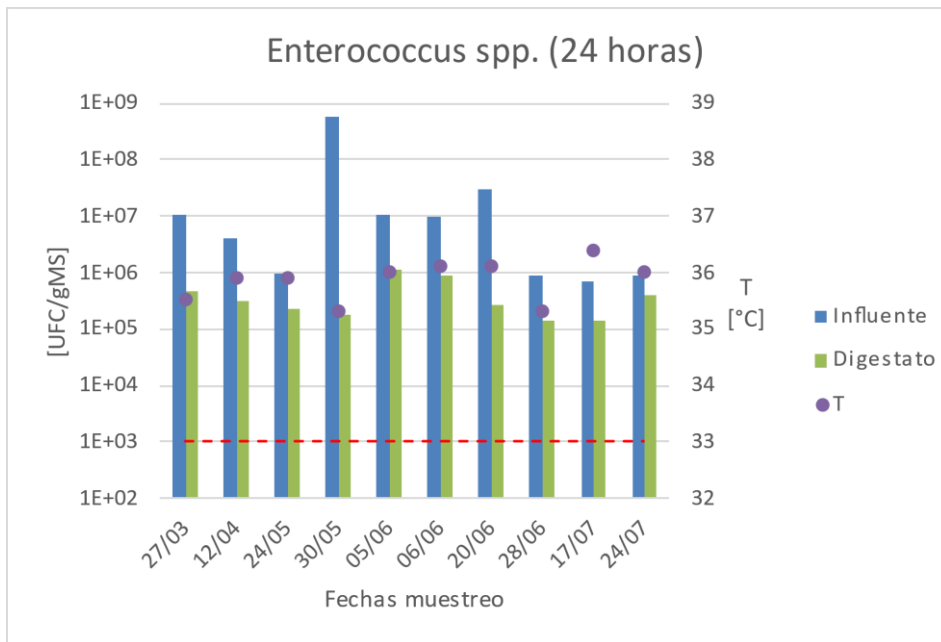
4.3.1. Seguimiento microbiológico de los digestores

4.3.1.1. Condiciones mesófilas de digestión

El digestor 2, trabajando en condiciones mesófilas (33 °C – 37 °C) se estudian tiempos de ciclo de 24 horas, manteniendo el mismo tiempo de retención hidráulico nominal (TRH = 20 días).



Gráfica 4-9: Reducción microbiológica de *E. coli*. (Mesófilo; 24 h).



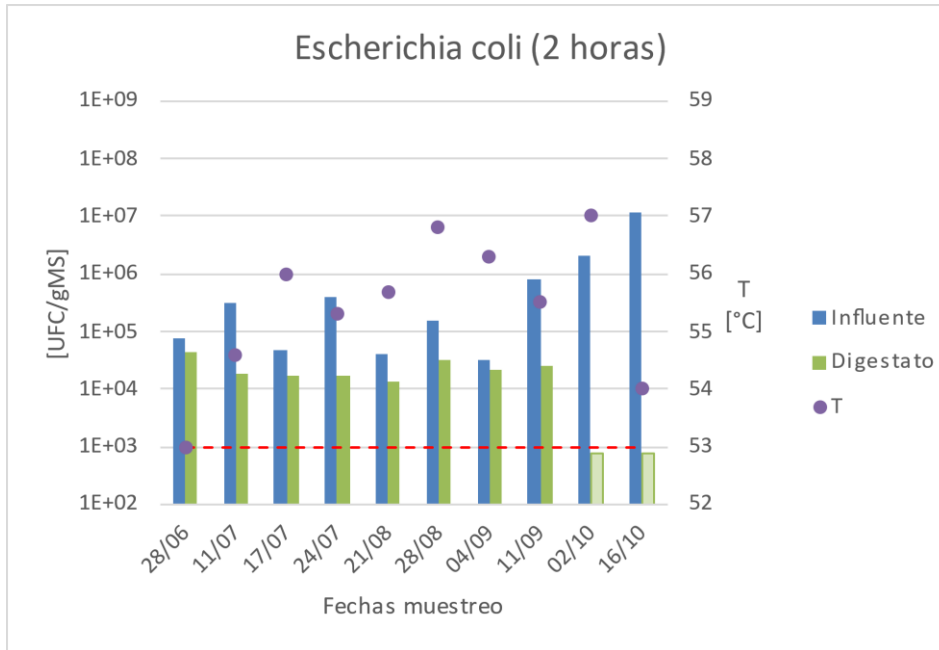
Gráfica 4-10: Reducción microbiológica de *Enterococcus spp.* (Mesófilo; 24 h).

Tal como se puede observar, en ninguno de los muestreos se cumple el criterio de higienización establecido para este trabajo (1.000 UFC/g_{MS}). Además, no solo no se cumplen los requisitos, sino que en varios casos se detecta incremento de la concentración de *E. coli* en el digestato.

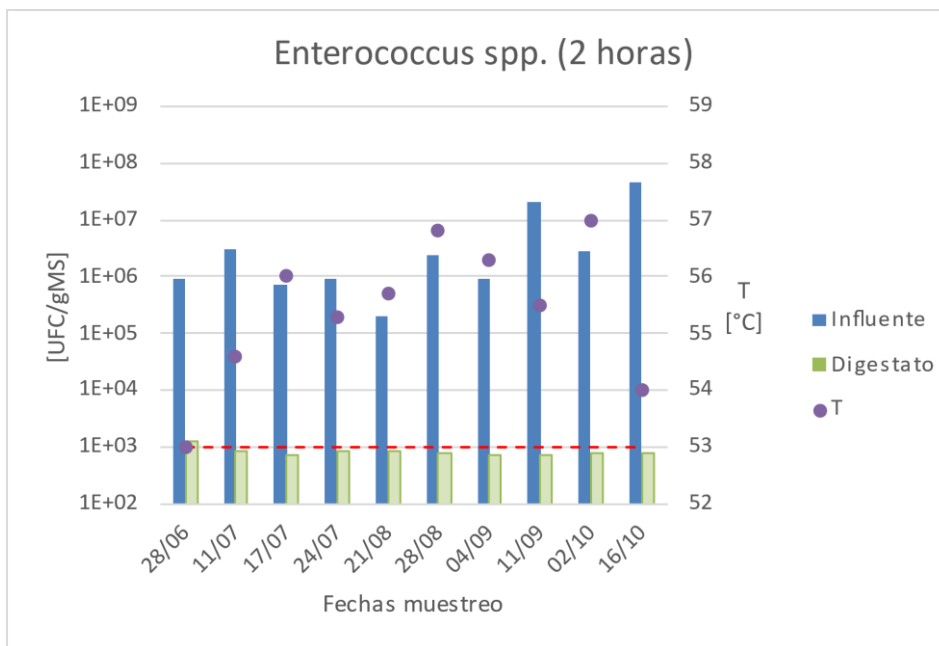
4.3.1.2. Condiciones termófilas de digestión

En lo que respecta a la digestión anaerobia termófila (53 °C – 57 °C) se analizan diferentes tiempos de ciclo (2 h, 4 h y 24 h), manteniendo el tiempo de retención hidráulico (TRH = 15 días).

El primer estado estacionario estudiado en condiciones termófilas corresponde a un tiempo entre cargas de 2 horas. Los resultados de la disminución microbiológica de *E. coli* aparecen en la Gráfica 4-11, mientras que los relativos a *Enterococcus* spp. se encuentran en la Gráfica 4-12.



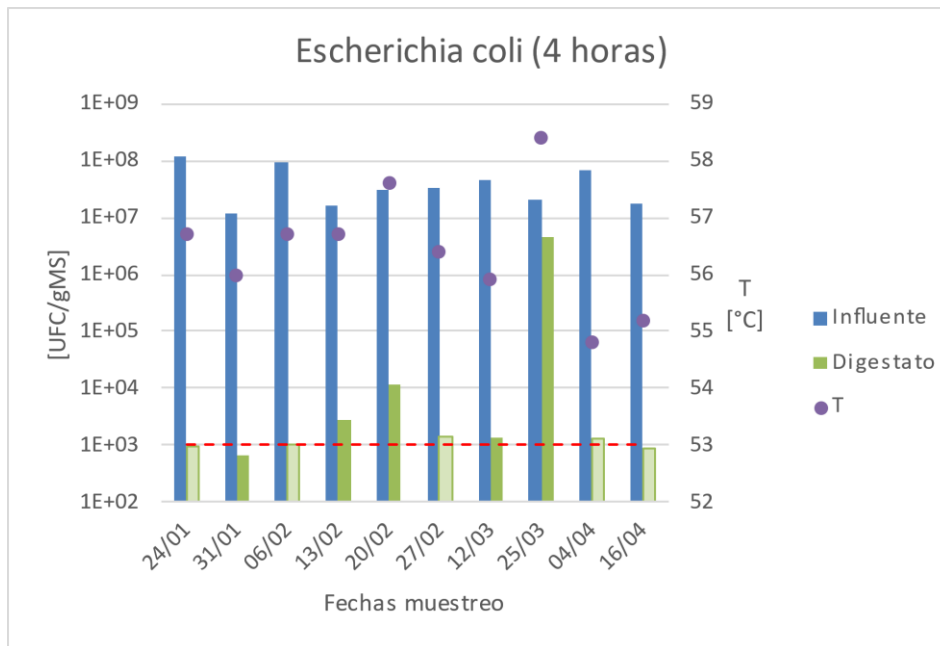
Gráfica 4-11: Reducción microbiológica de *E. coli* (Termófilo; 2 h).



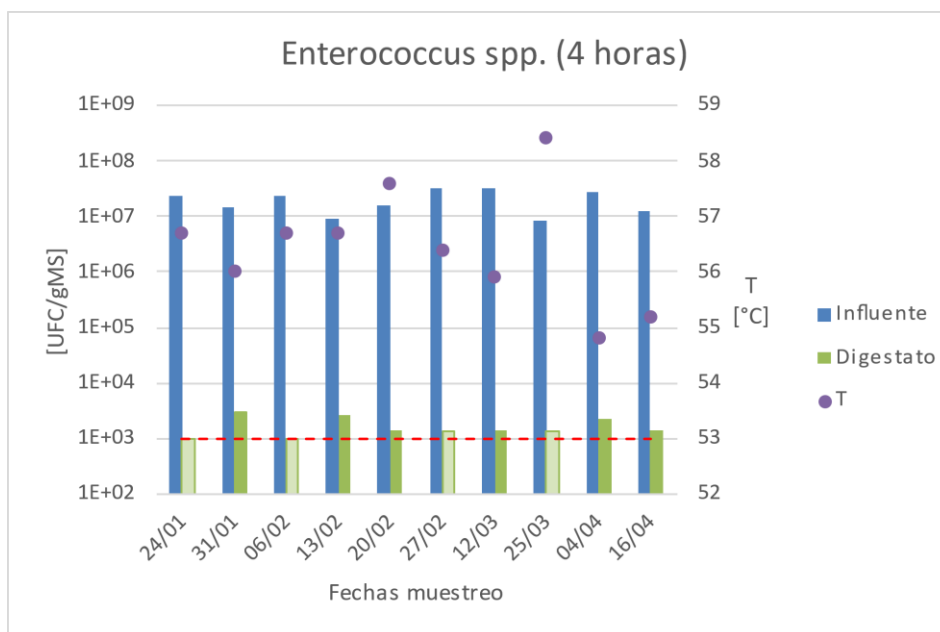
Gráfica 4-12: Reducción microbiológica de *Enterococcus* spp. (Termófilo; 2 h).

Si bien es cierto que no se detecta *Enterococcus* spp. en las muestras analizadas, la concentración de *E. coli* supera los criterios de higienización establecidos en 8 de las 10 muestras analizadas.

Debido al incumplimiento, se amplía dicho tiempo entre cargas a 4 horas, manteniendo el TRH de operación. Mostrándose los resultados en la Gráfica 4-13 la reducción microbiológica de *E. coli* y en la Gráfica 4-14, la correspondiente a *Enterococcus* spp.



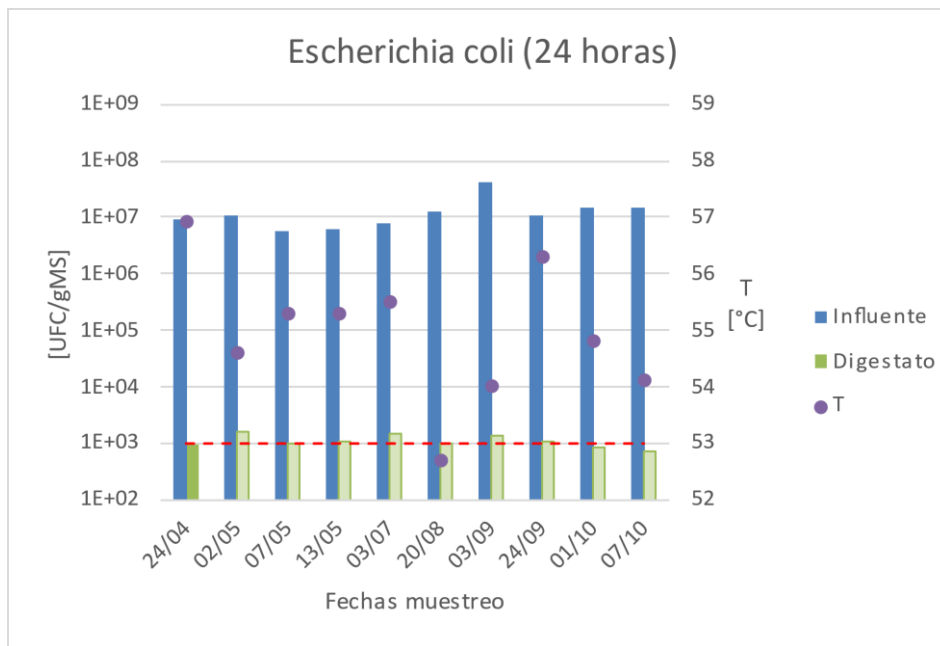
Gráfica 4-13: Reducción microbiológica de *E. coli* (Termófilo; 4 h).



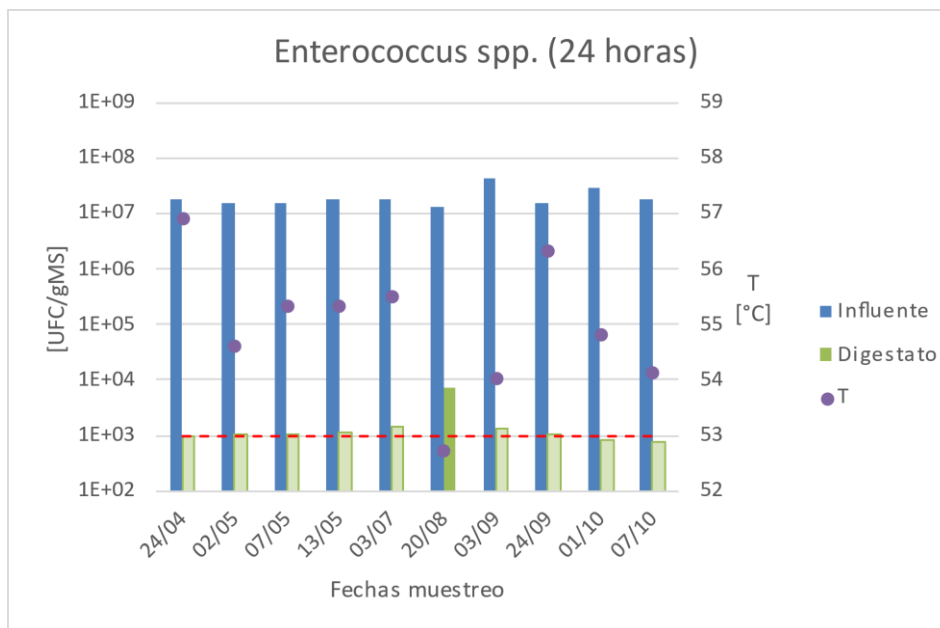
Gráfica 4-14: Reducción microbiológica de *Enterococcus* spp. (Termófilo; 4 h).

Se concluye que 4 horas tampoco es suficiente para llevar a cabo la higienización del fango. En 4 de 10 muestras tomadas, la concentración de *E. coli* es superior al criterio de higienización establecido, por lo que supone un riesgo emplear dicho fango para fines agrícolas.

Finalmente, El último estado estacionario que se estudia en condiciones termófilas, con un tiempo de ciclo de 24 horas. En la Gráfica 4-15 se presentan los resultados de la reducción microbiológica de *E. coli*, mientras que en la Gráfica 4-16 se muestran los correspondientes a *Enterococcus spp.*



Gráfica 4-15: Reducción microbiológica de *E. coli* (Termófilo; 24 h).



Gráfica 4-16: Reducción microbiológica de *Enterococcus spp.* (Termófilo; 24 h).

Seguendo el criterio establecido para considerar que un fango se encuentra higienizado, se concluye que, con tiempos de ciclo de 24 horas, sí que se cumplen los criterios de higienización establecidos (1.000 UFC/g_{MH}).

Se observa como en uno de los muestreos, la concentración de *Enterococcus* spp. supera el valor de referencia establecido. En concreto, en dicho muestreo la temperatura tomada *in situ* indica que el digestor se encuentra a una temperatura más baja de lo habitual (tal como se puede ver en la Tabla Anexo X del ANEXO D), pudiendo ser esta la razón por la que no se termina de reducir dicho patógeno.

4.3.1.3. Cumplimiento de condición de higienización

Como resumen, en la Tabla 4-7 se recoge el valor porcentual de las muestras analizadas que cumplen con los criterios de higienización.

Tabla 4-7: Resumen de cumplimiento de criterios de higienización.

Condiciones		<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus</i> spp.
Mesófilo	24 h	0%	0%
	2 h	20%	100%
Termófilo	4 h	50%	40%
	24 h	100%	90%

En primer lugar, se podría decir que con una digestión anaerobia en condiciones mesófilas no es suficiente para higienizar el fango. Por lo que, si el uso va a ser para aplicación en suelo, no estaría permitido su uso.

En lo que respecta a la digestión termófila, cuanto más espaciadas están las cargas, mayor es el cumplimiento del criterio de higienización. Es destacable que esto ocurre para *E. coli*, pero no para *Enterococcus* spp.

Los resultados concuerdan con lo que podría esperarse tras el ensayo a escala laboratorio. Los *Enterococcus* spp. tienen una mayor resistencia a la inactivación debido a la estructura de la pared celular. No obstante, es destacable como operando con tiempos entre cargas de 2 horas, mientras que se consigue eliminar la presencia de *Enterococcus* spp. en el digestato, la *E. coli* sigue superando el criterio de higienización en 8 de los 10 muestreos realizados.

Seguendo la norma US EPA 503 [10] se establece el tiempo que se tiene que mantener el fango a una temperatura determinada para poder ser aplicado en agricultura. Para el caso en el que el fango tiene menos de un 7% de sólidos totales, el tiempo viene dado por la [Ec. 8].

$$D = \frac{50.070.000}{10^{0,14 \cdot T}} \quad [\text{Ec. 8}]$$

Dónde:

- D [días] Tiempo que se debe mantener el fango a una temperatura.
- T [°C] Temperatura de tratamiento.

Sustituyendo los valores de las condiciones mesófilas (35 °C) se debe mantener el fango durante 15 meses para asegurar dicha higienización. Este periodo de tiempo es elevado para instalaciones en las que se produce fango de manera continua. En cambio, si el tratamiento se realiza en condiciones termófilas, el tiempo requerido para cumplir dicha condición, es de 1 día.

En ambos casos, deben diseñarse tanques de almacenamiento, tanto de fango fresco como digerido, puesto que los digestores anaerobios no pueden operar en continuo. Considerando que operar en continuo es tener cargas cada hora, se necesitaría una temperatura de 65 °C durante el tratamiento, aumentando por consiguiente los costes de operación.

Por lo tanto, si además de la estabilización del fango se pretende llevar a cabo un proceso de higienización para aplicarlo en suelo en condiciones de seguridad, se debe llevar a cabo un proceso de digestión anaerobia en condiciones de operación termófilas y con cargas espaciadas cada 24 horas.

4.3.2. Efecto de la temperatura en condiciones termófilas

Con el fin de analizar el efecto en la higienización trabajando tanto en el límite inferior de las condiciones termófilas (50 °C) como en el superior (55 °C) de las condiciones termófilas, se lleva a cabo el siguiente estudio.

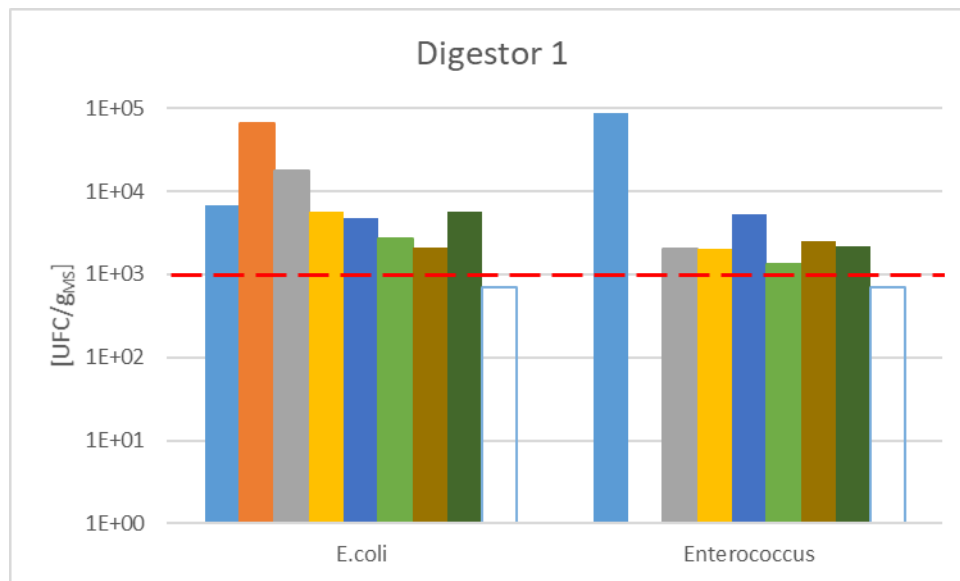
Durante este periodo, ambos digestores trabajan de manera paralela y con las cargas espaciadas cada 24 horas. Además, se alimentan con el mismo fango fresco.

En la Tabla 4-8 se recogen las condiciones de operación de los digestores los días que se realiza el muestreo.

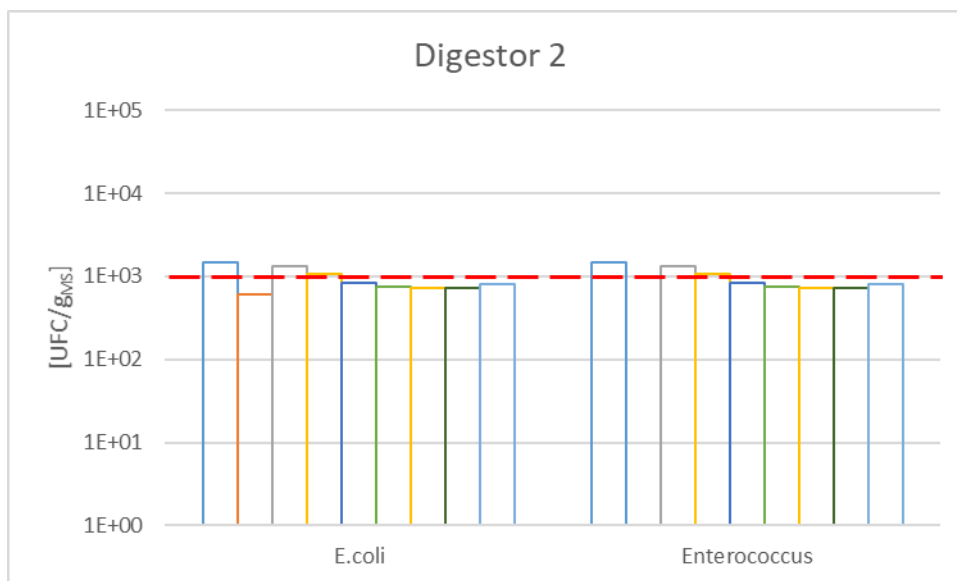
Tabla 4-8: Condiciones de operación de los digestores.

Fecha	Digestor 1		Digestor 2	
	T [°C]	TRH [d]	T [°C]	TRH [d]
03/07/2024	50,8	13	55,5	23
28/08/2024	51,0	14	56,6	13
03/09/2024	50,9	12	54,0	16
24/09/2024	52,1	17	56,3	4
01/10/2024	48,6	35	54,8	5
07/10/2024	50,4	12	54,1	10
15/10/2024	49,3	9	54,4	13
21/10/2024	50,3	12	53,9	11
22/10/2024	51,6	12	56,6	10
29/10/2024	52,9	14	56,1	15
Promedio	50,8 ± 1,3	15 ± 7	55,2 ± 1,1	12 ± 6

En la Gráfica 4-17 se muestra la concentración de *E. coli* y *Enterococcus* spp. detectado en el Digestor 1, mientras que en la Gráfica 4-18, se realiza lo propio del Digestor 2.



Gráfica 4-17: Caracterización microbiológica Digestor 1 (Base seca).



Gráfica 4-18: Caracterización microbiológica Digestor 2 (Base seca).

El digestor con temperatura más baja ($T_{\text{Dig.1}} = 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$) la concentración tanto de *E. coli* como de *Enterococcus* spp. es, en líneas generales, superior al del digestor con mayor temperatura ($T_{\text{Dig.2}} = 55 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

Si bien es cierto que la última muestra (29/10/2024) se produce higienización, esta puede ser debido a que es la muestra en la que se registra la máxima temperatura *in situ* (52,9 °C).

4.4. Análisis fisicoquímico de los digestores

Para finalizar con el estudio a escala piloto, se realiza seguimiento fisicoquímico en los laboratorios de la EDAR de Tudela con el fin de detectar cuando los digestores

Para cada periodo en el que se considera que el digestor opera en estado estacionario, se realiza el promedio de las diferentes variables fisicoquímicas. Para cada estado estacionario se toman en total 10 analíticas puntuales, con el fin de disponer datos representativos de cada periodo.

Los valores puntuales de los análisis realizados se muestran en el ANEXO E.

4.4.1. Control fisicoquímico de la planta piloto de digestión

En la Tabla 4-9 se recogen los resultados del análisis fisicoquímico del digestor operando en condiciones mesófilas con un tiempo entre cargas de 24 horas.

Tabla 4-9: Análisis fisicoquímico para las diferentes condiciones de operación.

PARÁMETRO	INFLUENTE	DIGESTATO			
		Mesófilo	Termófilo		
		24 h	2h	4h	24 h
DQO _f [mg/L]	4.653 ± 585	577 ± 16	2.589 ± 365	2.289 ± 272	1.865 ± 271
NH ₄ ⁺ [mg/L]	372 ± 55	597 ± 52	840 ± 48	639 ± 44	905 ± 84
pH	7,0 ± 0,2	7,6 ± 0,1	7,9 ± 0,1	8,0 ± 0,2	8,0 ± 0,1
T [°C]	N/A	35,8 ± 0,3	55,4 ± 0,9	56,4 ± 0,8	54,8 ± 1,0
TRH [d]	N/A	23 ± 3	20 ± 1	16 ± 5	13 ± 5
HCO ₃ ⁻ [mg/L]	628 ± 356	2.938 ± 203	2.700 ± 92	2.780 ± 145	2.678 ± 217
Ratio alc. [-]	2,3 ± 0,7	0,20 ± 0,04	0,26 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,04
ST [%]	2,5 ± 0,3	1,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,5 ± 0,5
SV [%]	1,8 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,3

Estos resultados han sido previamente analizados empleando análisis estadístico, analizando posibles puntos atípicos, así como si siguen una distribución normal. La información recopilada de este análisis se encuentra en el ANEXO D.

Cabe destacar como en el fango fresco (influyente), la ratio de alcalinidad es más variable, que en los diferentes digestato. Es resaltable, puesto que la ratio de alcalinidad es de los parámetros más importantes para el seguimiento del proceso de digestión anaerobia.

En la Tabla 4-10 se recoge la comparación del rendimiento de eliminación de los parámetros que resultan más interesantes de un proceso biológico.

Tabla 4-10: Rendimientos de eliminación de los digestores.

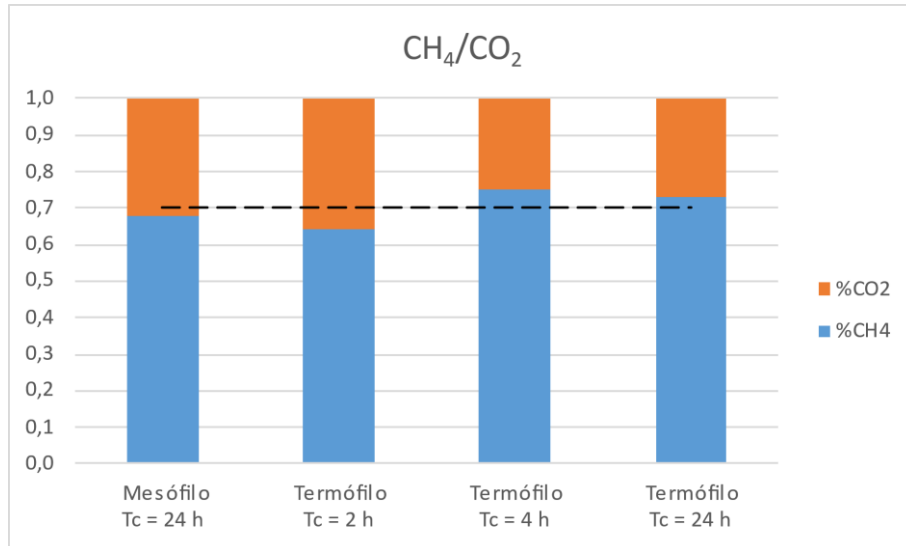
	Mesófilo	Termófilo		
	24 h	2 h	4 h	24 h
DQO	85 ± 4	15 ± 44	52 ± 14	46 ± 31
% _{ST}	33 ± 16	39 ± 10	36 ± 13	42 ± 18
% _{SV}	45 ± 9	45 ± 7	48 ± 9	51 ± 17

Tal como se puede observar, en todos los estados estacionarios analizados el rendimiento de reducción de sólidos torales ronda el 39% en el caso de la digestión termófila, frente al 33% en el digestor en condiciones mesófilas. Lo que concuerda con resultados previos realizados con antelación [4].

Un mayor rendimiento de sólidos volátiles se traduce en una mayor producción de biogás.

4.4.2. Composición del biogás

En lo que respecta a la composición del biogás producido en las diferentes condiciones de operación estudiadas, en la Gráfica 4-19 se muestra la relación CH_4/CO_2 del biogás producido.



Gráfica 4-19: Composición biogás. Relación CH_4/CO_2 .

Tal como se puede observar en la relación CH_4/CO_2 se mantiene prácticamente constante e igual al valor teórico (mostrado con la línea discontinua horizontal). Esta relación podría considerarse como una prueba de que los digestores operan de manera correcta, corroborando así los resultados obtenidos a lo largo del estudio en las plantas piloto.

5. CONCLUSIONES

La aplicación de fango en agricultura es una salida al residuo producido en las EDAR de manera continua. No obstante, el fango fresco contiene una concentración elevada de microorganismos potencialmente patógenos que pueden suponer un riesgo para la salud humana. En concreto, las concentraciones de los fangos están en el intervalo de $10^2 - 10^7$ UFC/g_{MH} para *E. coli*, y de $10^3 - 10^8$ UFC/g_{MH} para *Enterococcus* spp.

Debido a la alta concentración, es necesario estabilizar estos residuos teniendo en cuenta, además, criterios de higienización establecidos por diferentes organismos. Tomando como referencia de calidad microbiológica las norma US EPA 503, donde se habla que la concentración de patógenos debe estar por debajo de 1.000 NMP/g_{MS} de Coliformes totales. Asumiendo que el número más probable (NMP) es equivalente a unidades formadoras de colonias (UFC), y que Coliformes fecales es *E. coli*, el criterio establecido en este trabajo para considerar que el fango se encuentra higienizado ha sido reducir la concentración por debajo de 1.000 UFC/g_{MH} de *E. coli*.

El indicador *E. coli* requiere menos tiempo para alcanzar la primera reducción decimal que *Enterococcus* spp. para una misma temperatura de referencia (55 °C). Eso puede ser debido a la estructura de las paredes celulares de las bacterias empleadas. La pared celular de la *E. coli* tiene una única capa, mientras que *Enterococcus* spp. cuenta con diferentes capas de peptidoglicano.

El comportamiento de inactivación frente a la temperatura tiene un orden inferior a la unidad en ambos casos. Siendo *E. coli* más sensible a cambios de temperatura con respecto a los *Enterococcus* spp.

En cuanto al estudio realizado en la planta piloto, se observa que para poder cumplir con este requisito y en base a las condiciones de operación evaluados a lo largo de este estudio, no solo es necesario trabajar en condiciones termófilas (50 °C – 55 °C), sino que el tiempo entre cargas debe estar espaciado en 24 horas, avalando así la normativa utilizada como referencia, US EPA 503. Además, aunque se trabaje en rango termófilo, la temperatura tiene que alcanzar los 55 °C, para que la higienización no quede comprometida.

En lo que respecta a la temperatura, es imprescindible llevar a cabo un buen control de esta. En el caso de que se produzcan fluctuaciones de temperatura en 5 °C podría comprometer la higienización del fango, por lo que si se emplea en agricultura podría suponer un problema para la salud pública.

La digestión anaerobia termófila, no solo permite llevar a cabo la higienización del digestato, sino que además tienen mayores rendimientos de eliminación de sólidos, tanto totales como volátiles, teniendo así mayores producciones de biogás. Esto hace que resulte interesante instalar una planta de digestión anaerobia para tratar los fangos de EDAR cercanas.

En lo que respecta a la composición del biogás, no se observaron composiciones diferentes, lo que avala el funcionamiento estable y eficiente de los digestores. En todas las condiciones de operación analizadas, la relación CH_4/CO_2 del biogás producido se mantuvo en la ratio 70/30.

Para asegurar el correcto funcionamiento de los digestores, se deben analizar dos grandes parámetros para el seguimiento: La ratio de alcalinidad y temperatura.

Finalmente, si la temperatura de los digestores se mantiene a 55 °C, no es posible realizar una operación en continuo. El fango se debe mantener al menos 24 h para poder llevar a cabo una correcta higienización. Por tanto, para instalar una planta de digestión anaerobia, se deben diseñar tanques de almacenamientos donde se recogerá el fango generado en la EDAR a lo largo del día, antes de la alimentación al digestor.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] *Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular.*
- [2] Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, *Orden AAA/1072/2013, de 7 de junio, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario..*
- [3] *RD 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario.*
- [4] Metcalf & Eddy, *Ingeniería de las aguas residuales (3ª Ed)*, Madrid: MacGraw-Hill, 2000.
- [5] A. López Martín, *Evaluación de tecnologías en el tratamiento de aguas y fangos en EDARs, para reducción de microorganismos con riesgo sanitario y ambiental*, Zaragoza: Prensas de la Universidad de Zaragoza, 2018.
- [6] CEDEX , *Estudio de distintos procesos de estabilización de fangos generados en un proceso de filtros percoladores y su influencia en la higienización de los mismos*, 2008.
- [7] United States - Environmental Protection Agency, *Part 503 - Standards for the use or disposal of sewage sludge*, 2023.
- [8] Unión Europea, «Documento de trabajo: Sludge and Biowaste,» 2010.
- [9] *ISO 19698:2020 - Sludge recovery, recycling, treatment and disposal - Beneficial use of biosolids - Land application*, 2020.
- [10] A. Al-Gheethi, A. Efaq, J. Bala, I. Noril, M. Abdel-Monem y M. Kadir, «Removal of pathogenic bacteria from sewage-treated effluent and biosolids for agricultural purposes,» *Applied Water Science*, pp. 8-74, 2017.
- [11] K. H. Cho, Y. Park, S. W. Lee, S. M. Cha, J.-H. Kangh y J. H. kim, «Evaluation of the relationship between two different methods for enumerating fecal indicator bacteria: Colony-forming unit and most probable number,» *Journal of environmental sciences*, vol. 6, nº 22, pp. 846-850, 2010.

- [12] J. W. Schmidt, A. Carlson, J. M. Bosilevac, D. Harhay, T. M. Arthur, T. Brown, T. L. Wheeler y J. L. Vipham, «Evaluation of Methods for Identifying Poultry Wing Rinses With Salmonella Concentrations Greater Than or Equal to 10 CFU/mL,» *Journal of Food Protection*, nº 87, p. 100362, 2024.
- [13] A. López, B. Baguer, P. Goñi, E. Rubio, J. Gómez, R. Mosteo y M. Ormad, «Assesment of the methodologies used in microbiological control of sewage sludge,» *Waste Management*, vol. 96, pp. 168-174, 2019.
- [14] APHA; AWWA; WEA, "Standard methods for the examination of water and wastewater", Maryland (USA), 2005.
- [15] Hanna Instruments, «MAN83399 05/18-1: "Manual de instrucciones. Fotómetros multiparamétricos. Serie HI833XX",» [En línea].
- [16] J. Rodríguez-Chueca, M. P. Ormad, R. Mosteo y J. L. Ovelleiro, «Kinetic modeling of Escherichia coli and Enterococcus sp. inactivation in wastewater treatment by photo-Fenton and H₂O₂/UV-vis processes,» *Chemical Engineering Science*, nº 138, pp. 730-740, 2015.
- [17] Y. Jiang, S. Xie, C. Dennehy, P. Lawlor, Z. Hu, G. Wu, X. Zhan y G. Gardiner, «Inactivation of pathogens in anaerobic digestion systems for converting biowaste to bioenergy: A review,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, nº 120, 2020.
- [18] R. M. Dahlquist-Willard, M. N. Marshall, S. L. Betts, C. C. Tuell-Todd, J. S. VanderGheynst y J. J. Stapleton, «Development and validation of a Weibull-Arrhenius model to predict inactivation of black mustard (*Brassica nigra*) seeds under fluctuating temperature regimens,» *Biosystems engineering*, nº 151, pp. 350-360, 2016.
- [19] iAguá, «Infraestructuras - Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales,» [En línea]. Available: <https://www.iagua.es/data/infraestructuras/edar/comunidad/navarra-123>.

ANEXO A. EDAR TUDELA

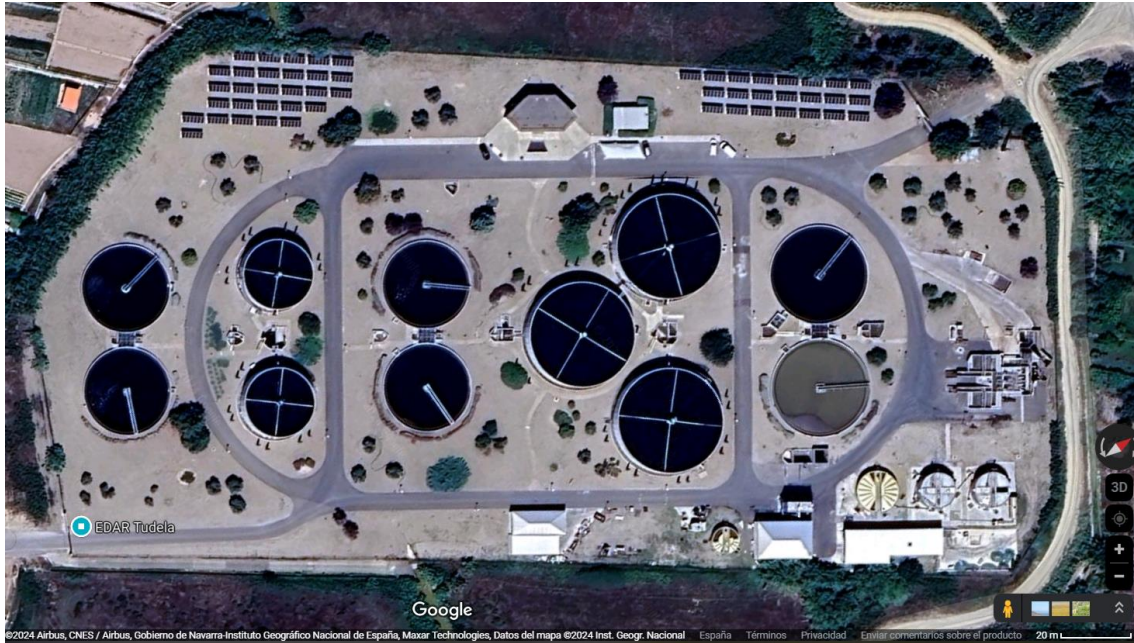


Figura Anexo A: Vista satélite de EDAR Tudela.

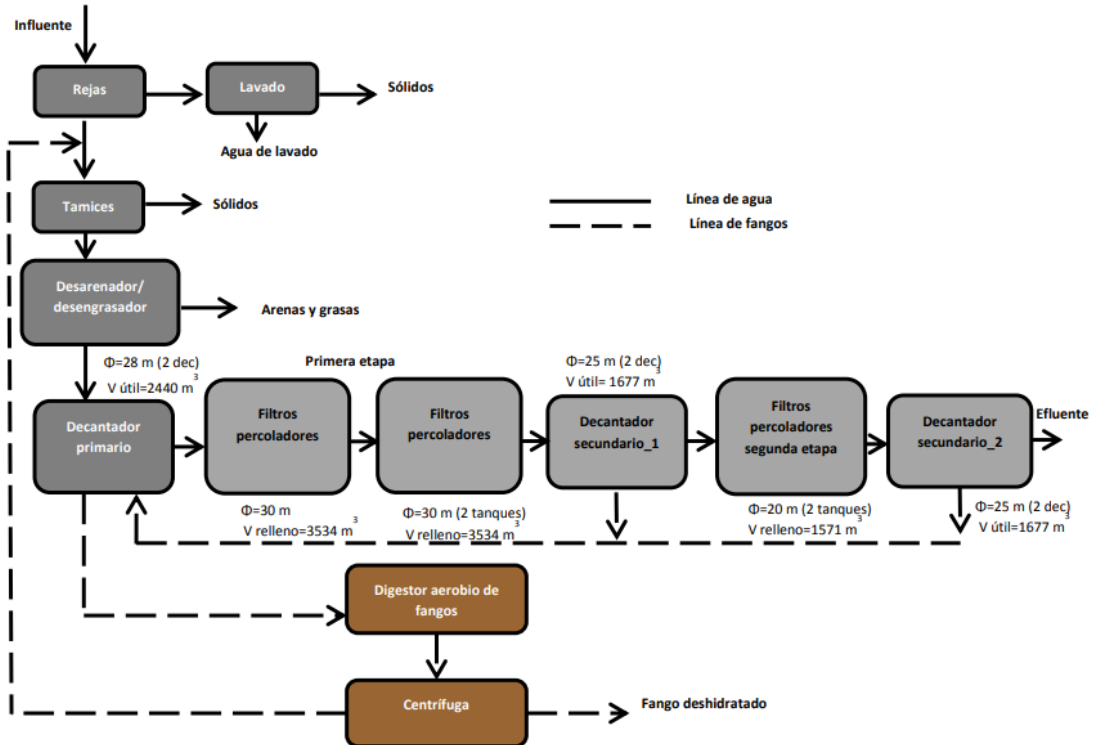


Figura Anexo B: Esquema de operación de EDAR Tudela.

ANEXO B. PROCEDIMIENTO DE MICROBIOLOGÍA

I. Preparación de material

Antes de la realización de los análisis se debe preparar material en condiciones de esterilidad, para lo cual, se trabajará siempre alrededor de una llama, tal como se muestra en la Figura Anexo C. De este modo, las corrientes de convección aseguran la zona aseptica en la cercanía de la llama.

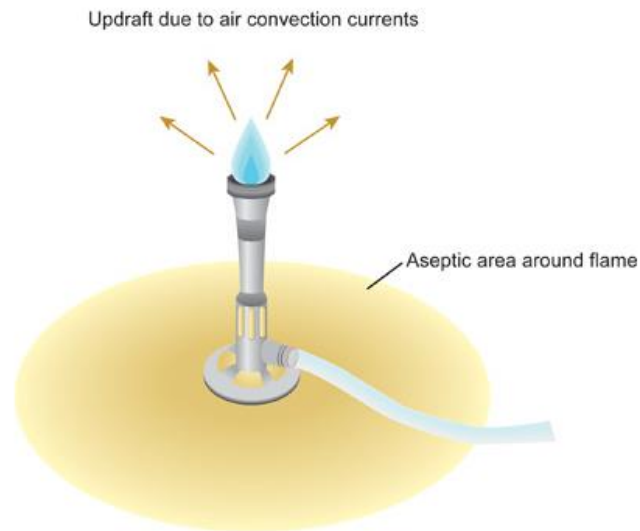


Figura Anexo C: Zona de trabajo en condiciones asepticas.

✚ Placas de medio

Para la determinación de *Escherichia coli* se preparan placas de Agar MacConkey de la marca Scharlau, cuya composición es la recogida en la Tabla Anexo A.

Tabla Anexo A: Agar MacConkey ($pH = 7,1 \pm 0,2$).

Composición	[g/L]
Peptona de gelatina	17,0
Agar	13,5
Lactosa	10,0
Cloruro sódico	5,0
Peptonas (carne y caseína)	3,0
Sales biliares	1,5
Rojo neutro	0,03
Cristal violeta	0,001

En lo que respecta a la determinación de *Enterococcus* spp. el agar que se emplea es Slanetz & Bartley, de la casa comercial Liofilchem, cuya composición se recoge en la Tabla Anexo B.

Tabla Anexo B: Agar Slanetz & Bartley (pH = 7,2 ± 0,2).

Composición	[g/L]
Triptosa	20,0
Agar	13,0
Extracto de levadura	5,0
Fosfato dipotásico	4,0
Glucosa	2,0
Azida de sodio	0,4

Una vez preparados la suspensión de los medios, llevando a ebullición con agitación en placa calefactora, se esterilizan en autoclave (121 °C, 15 min) y tras el enfriamiento sin llegar a su solidificación se sirven en placas Petri, mostrado en la Figura Anexo D.



Figura Anexo D: Sirviendo placas en zona aséptica.

Antes de servir el Agar Slanetz & Bartley, se debe añadir el suplemento 10 mL por cada litro de medio de disolución estéril TTC (2,3,5-Trifeniltetrazolio cloruro) al 1%. De este modo, las colonias de *Enterococcus* spp. tornan a color rojo durante su incubación.

✚ Asas de siembra

Para la siembra se deben preparar asas de siembra a partir de pipetas Pasteur de vidrio previamente esterilizados en autoclave (121 °C, 15 min). Las asas deben quedar

como se muestra en la Figura Anexo E, para poder extender la muestra de manera uniforme por las placas de agar.



Figura Anexo E: Pipeta Pasteur (a) convertida en asa de siembra (b).

Rampa de filtración

Para el método de siembra por filtración en membrana, se emplea la rampa de filtración con bomba de filtrado Rocker WaterVac 100 (Figura Anexo F).



Figura Anexo F: Rampa de filtración para el método de filtración en membrana.

II. Siembra e incubación

Antes de realizar la siembra de las muestras, se debe preparar el material que se va a emplear en el ensayo. Para ello, se les aplica dos ciclos de 15 minutos de radiación UV en la cámara de flujo laminar (Figura Anexo G).



Figura Anexo G: Cámara de flujo laminar con radiación UV.

✚ Diluciones seriadas

Para sembrar la muestra en las placas, es necesario realizar una dilución de la muestra. De cara a la minimización del error, el análisis se realiza por triplicado. Este procedimiento se muestra en la Figura Anexo H.

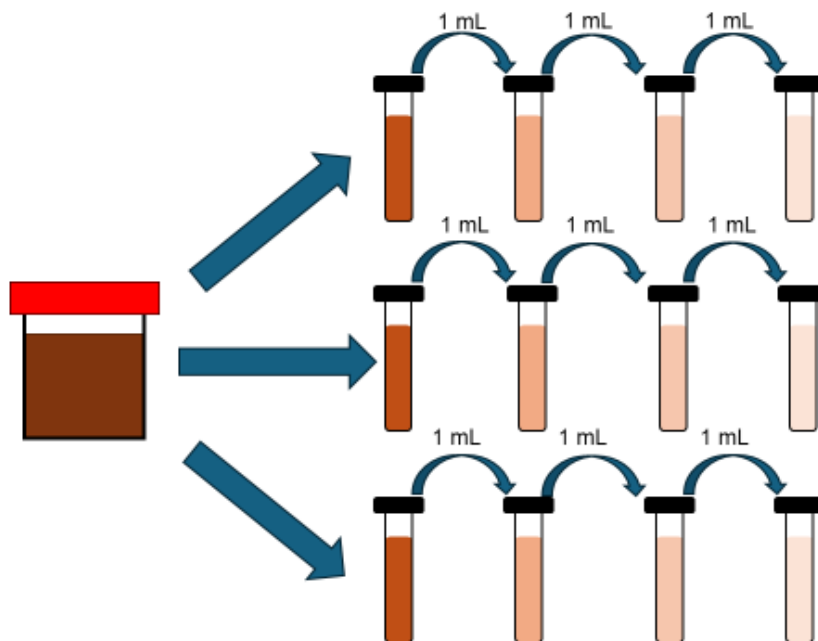


Figura Anexo H: Procedimiento de diluciones seriadas.

En tubos de ensayos con tapón de rosca se añade 9 mL de tampón fosfato (*Phosphate Buffer Solution*) estéril, cuya composición se muestra en la Tabla Anexo C. Se toma 1 mL de la muestra a analizar (D-0) y se añade al primero de los tubos (D-1), y así sucesivamente.

Tabla Anexo C: *Composición de la solución tampón fosfato (PBS).*

Compuesto	[g/L]
NaCl	8
Na ₂ HPO ₄	1,44
KH ₂ PO ₄	0,24
KCl	0,2

El grado de dilución a realizar depende de la concentración estimada de contaminación microbiológica en la muestra. De manera general, para el influente se realiza hasta la dilución D-4, mientras que los fangos digeridos, hasta la D-2.

Los tubos resultantes, son las disoluciones que se sembrarán en las placas, siguiendo la metodología correspondiente.

Siembra de muestras

- Placa difusa

El método 9215 C del “*Standard Methods*” [7] es adecuado para concentraciones microbiológicas elevadas. Por ello, se emplea en aquellas muestras de fangos que no ha sido tratado térmicamente.

- Filtración en membrana

El método 9215 D del “*Standard Methods*” [1] permite reducir el límite de detección, puesto que se es posible sembrar más volumen de muestra. Por tanto, se emplea para fangos en los que la concentración es inferior, como es el caso de los fangos tratados.

Incubación de las placas

La incubación de las placas con las muestras sembradas se realiza en estufa con las condiciones recogidas en la Tabla Anexo D.

Tabla Anexo D: Condiciones de incubación de los medios de cultivo.

Agar	Bacteria	Temperatura [°C]	Tiempo [h]
MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	44 ± 1	24 ± 2
	Coliformes totales	37 ± 1	24 ± 2
Slanetz & Bartley	<i>Enterococcus</i> spp.	37 ± 1	44 ± 4

El Agar MacConkey puede ser empleado también para determinar bacterias coliformes totales, en el caso de que la incubación de las placas se realice a una temperatura de 37 °C. En este caso, la *Escherichia coli* se diferenciaría del resto de coliformes debido al color más oscuro del precipitado biliar generado.

III. Recuento

Tras la incubación de las placas, se realiza el recuento de colonias de las placas. Se emplea como material auxiliar la cámara de recuento de colonias automatizado, Figura Anexo I.



Figura Anexo I: Cámara de recuento de colonias.

IV. Limpieza de material

Todo el material que haya estado en contacto con las muestras, ya sean tratadas o no, se debe esterilizar. Para ello, se introduce en el Autoclave a una temperatura de 121 °C durante 60 minutos.



Figura Anexo J: Autoclaves para material de sucio (a) y limpio (b).

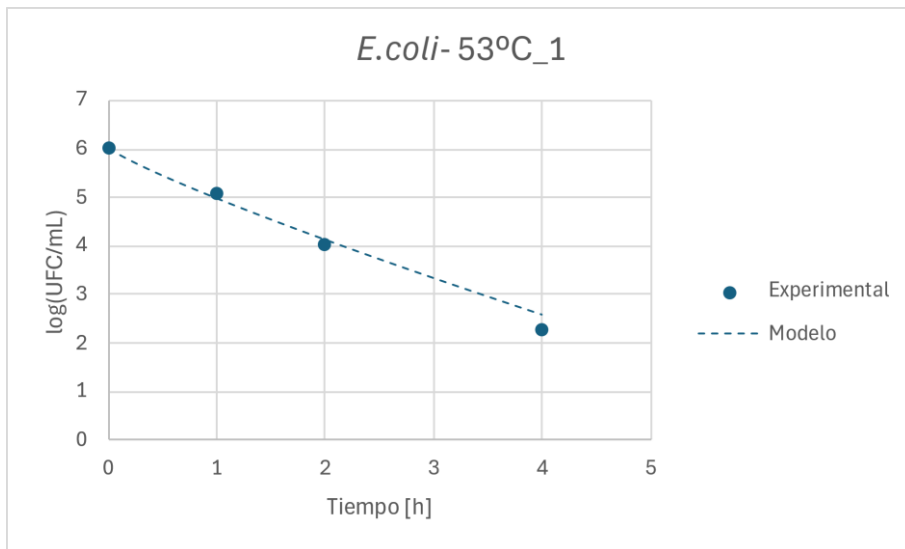
Una vez terminado el ciclo de autoclave, se limpia el material empleado con agua y jabón, como se haría habitualmente, con su posterior aclarado con agua destilada. Tras el secado, se vuelve a realizar un ciclo de autoclave (15 minutos, 121 °C), tal como se indica en el apartado I de este mismo anexo.

ANEXO C. AJUSTE MODELOS CINÉTICOS

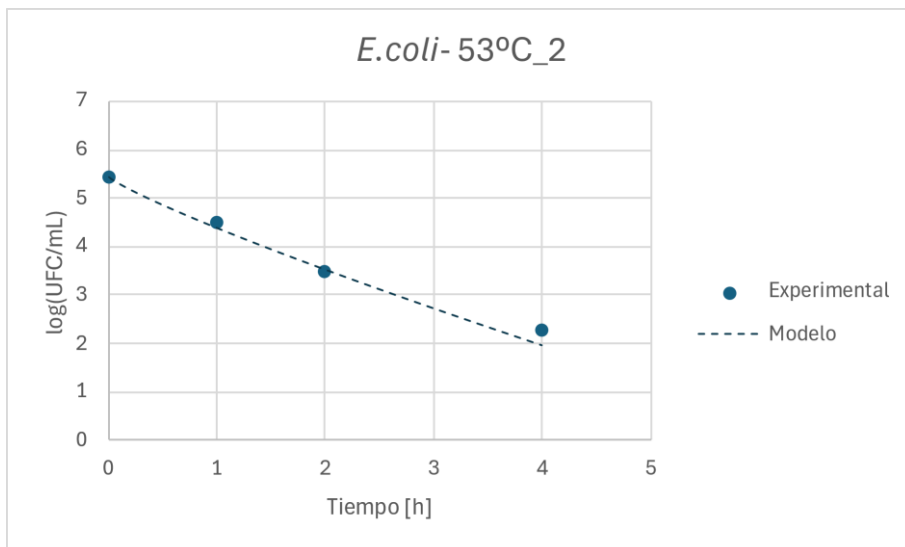
I. *Escherichia coli*

Tabla Anexo E: Cálculo del SRC para el ajuste cinético de inactivación de *E. coli*.

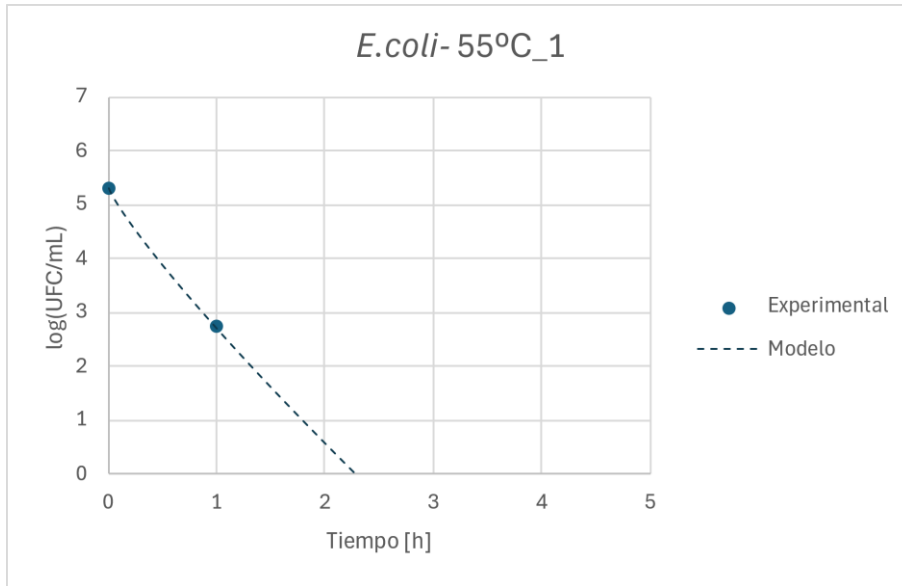
	Tiempo [h]	Experimental [log(UFC/mL)]	Modelo [log(UFC/mL)]	Error ² [-]
53°C_1	0	6,03	6,03	0,000
	1	5,09	4,32	0,011
	2	4,03	3,67	0,010
	4	2,28	2,76	0,090
53°C_2	0	5,43	5,43	0,000
	1	4,48	3,72	0,011
	2	3,50	3,06	0,001
	4	2,28	2,15	0,092
55°C_1	0	5,30	5,30	0,000
	1	2,74	3,60	0,001
55°C_2	0	4,77	4,77	0,000
	0,5	3,19	3,53	0,021
	1	2,20	3,06	0,002
57°C_1	0	6,08	6,08	0,000
	1	1,30	2,05	0,566
57°C_2	0	4,57	4,57	0,000
	0,5	1,30	0,55	0,566
			Σ	1,371



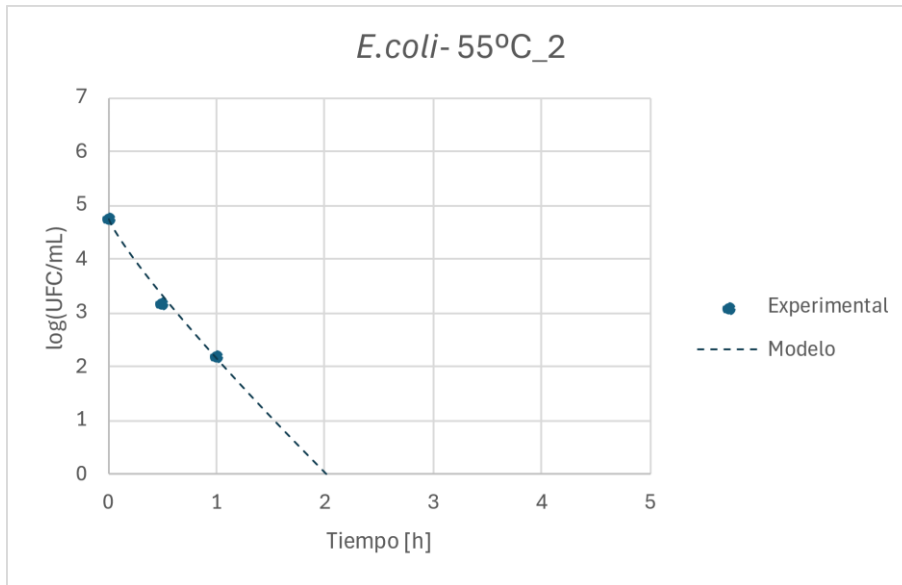
Gráfica Anexo A: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 53 °C. Réplica 1.



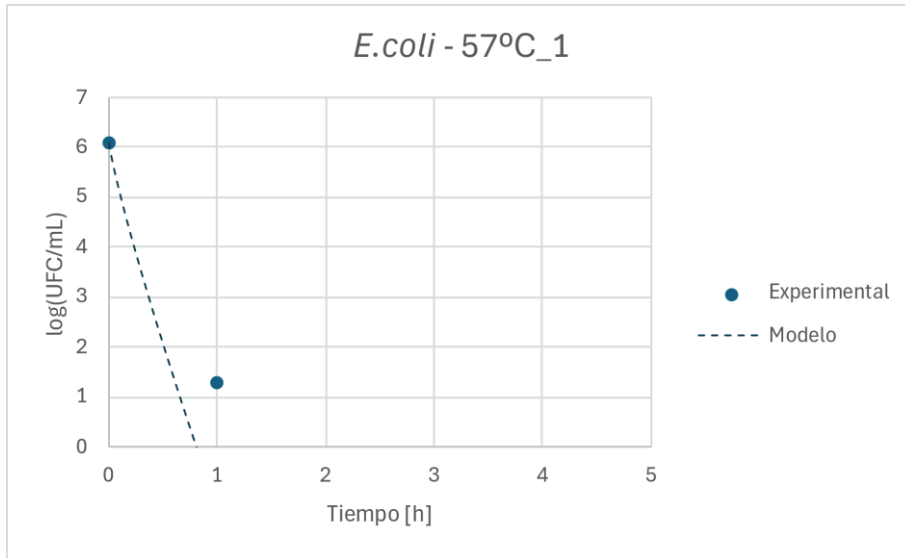
Gráfica Anexo B: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 53 °C. Réplica 2.



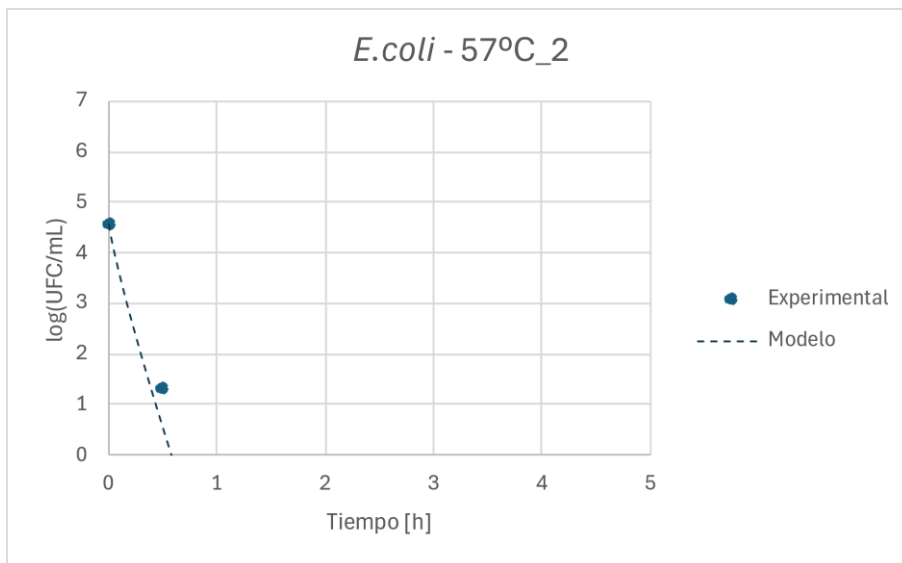
Gráfica Anexo C: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 55 °C. Réplica 1.



Gráfica Anexo D: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 55 °C. Réplica 2.



Gráfica Anexo E: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 57 °C. Réplica 1.

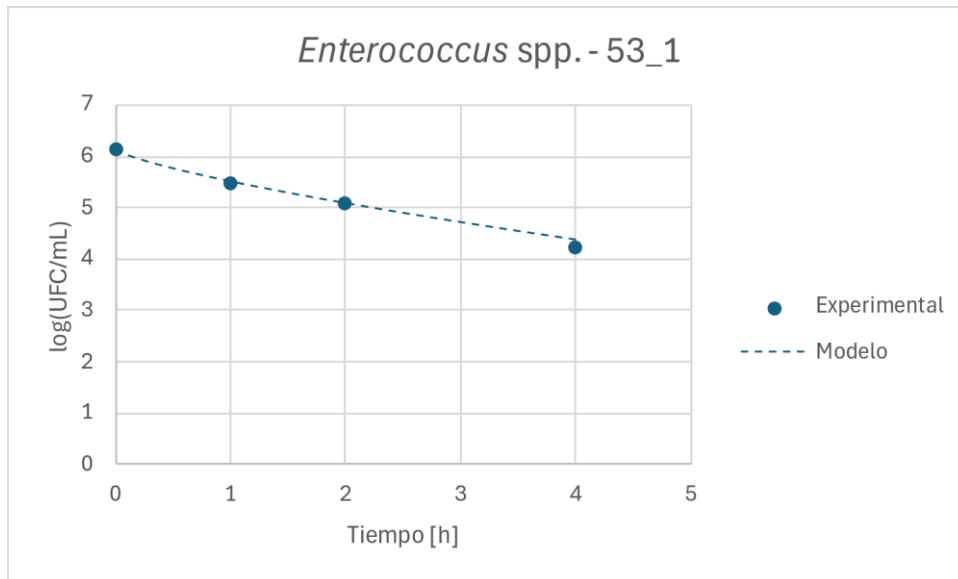


Gráfica Anexo F: Comparación modelo cinético. *E. coli*. 57 °C. Réplica 2.

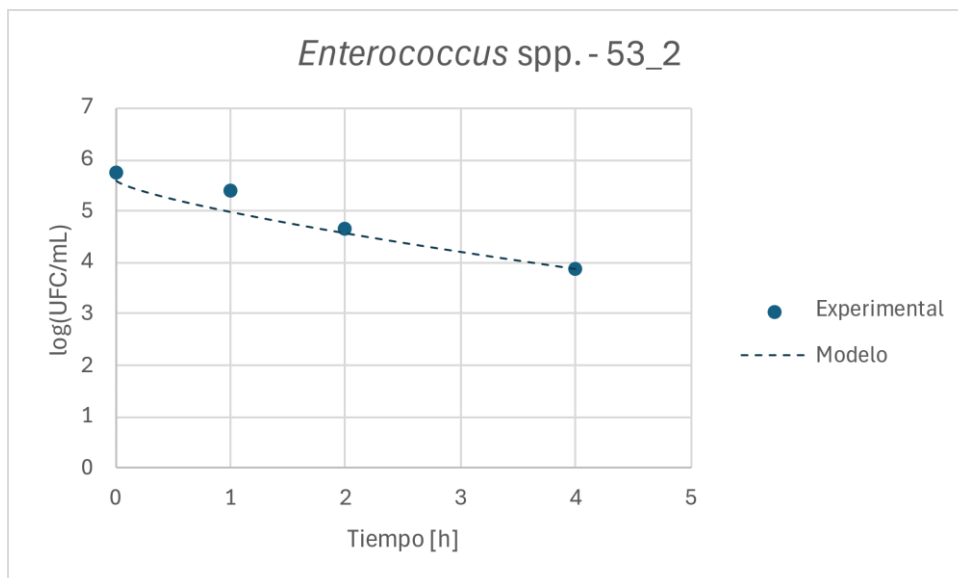
II. Enterococcus spp.

Tabla Anexo F: Cálculo del SRC para el ajuste cinético de inactivación de Enterococcus.

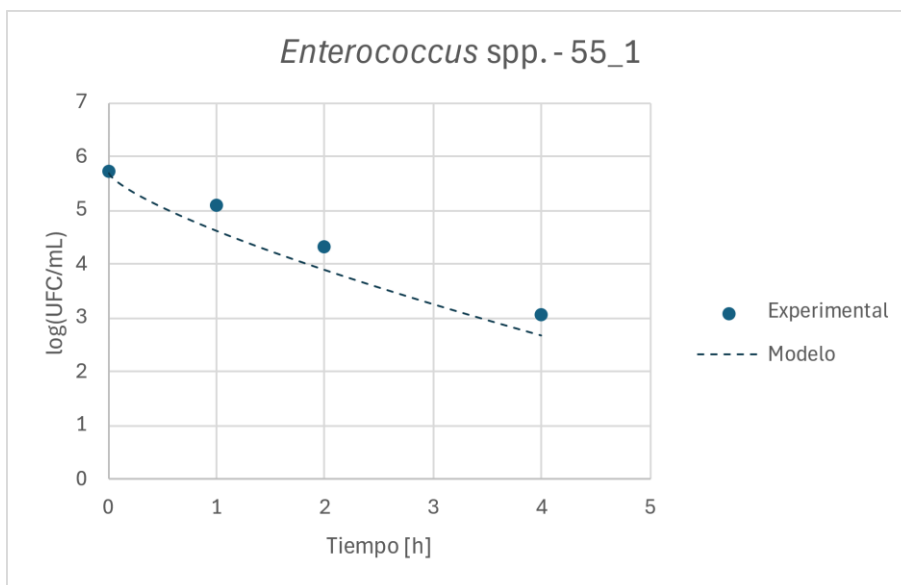
	Tiempo [h]	Experimental [log(UFC/mL)]	Modelo [log(UFC/mL)]	Error ² [-]
53°C _1	0	6,15	6,13	0,000
	1	5,46	5,52	0,003
	2	5,10	5,10	0,000
	4	4,24	4,40	0,024
53°C _2	0	5,75	5,61	0,020
	1	5,40	4,99	0,166
	2	4,65	4,58	0,006
	4	3,86	3,88	0,000
55°C _1	0	5,75	5,70	0,003
	1	5,10	4,63	0,222
	2	4,32	3,90	0,174
	4	3,06	2,69	0,137
55°C _2	0	5,66	5,65	0,000
	0,5	4,90	5,01	0,013
	1	3,86	4,58	0,511
	2	3,00	3,85	0,726
57°C _1	0	5,95	5,94	0,000
	1	5,00	4,70	0,088
	2	4,11	3,87	0,059
	4	2,43	2,47	0,001
57°C _2	0	5,11	5,09	0,000
	0,5	4,50	4,36	0,021
	1	4,16	3,86	0,094
	1,5	3,30	3,42	0,015
	2	2,53	3,02	0,242
			Σ	2,523



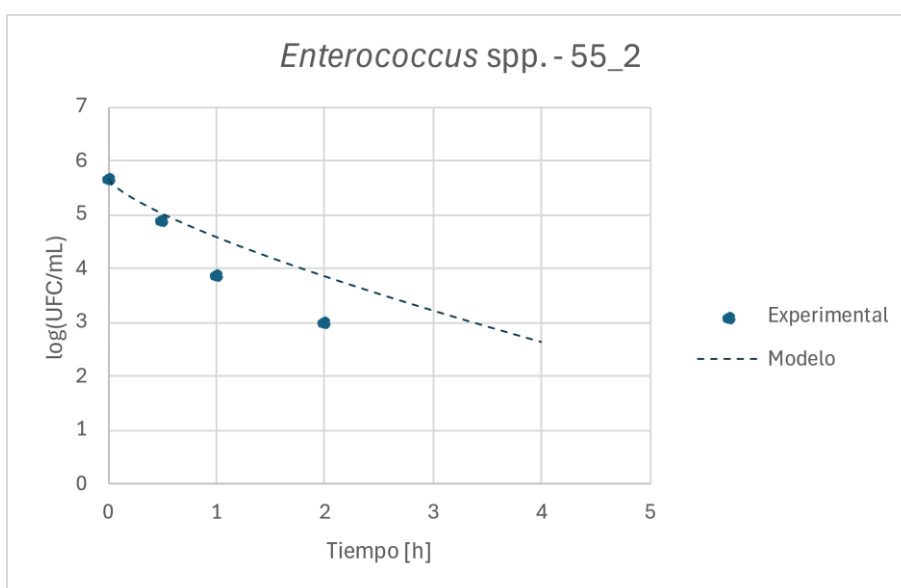
Gráfica Anexo G: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 53 °C. Ensayo 1.



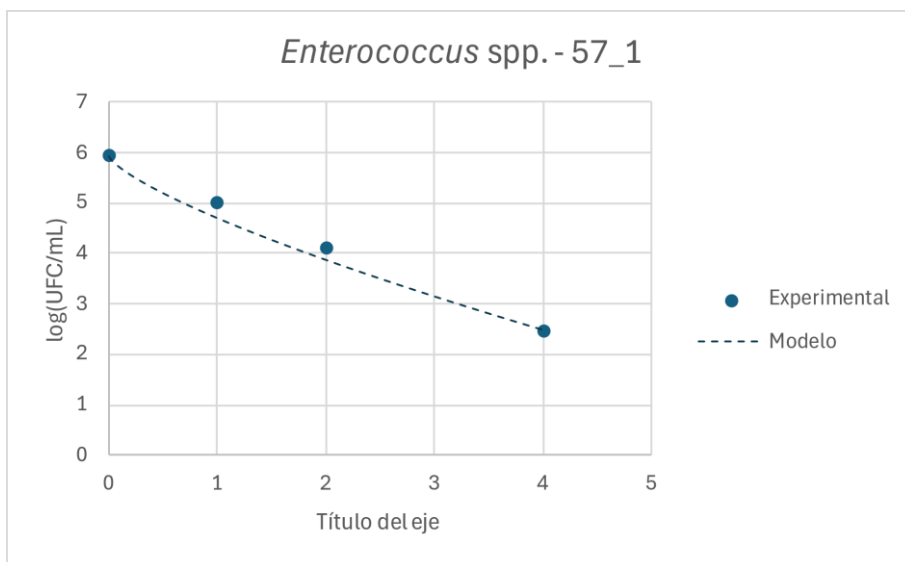
Gráfica Anexo H: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 53 °C. Ensayo 2.



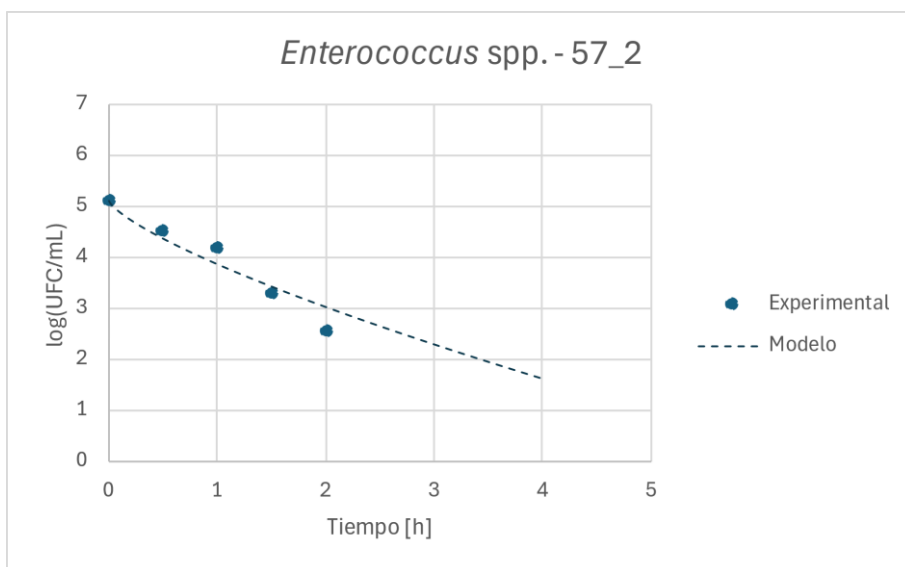
Gráfica Anexo I: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 55 °C. Ensayo 1.



Gráfica Anexo J: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 55 °C. Ensayo 2.



Gráfica Anexo K: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 57 °C. Ensayo 1.



Gráfica Anexo L: Comparación modelo cinético. *Enterococcus spp.* 57 °C. Ensayo 2.

ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS FÍSICOQUÍMICOS

I. Influyente

Tabla Anexo G: Tabla de valores atípicos. Influyente.

Variable	N	Media	Desv. Est.	Mín.	Máx.	G	p-valor
DQO	32	4.653	1624	1.840	7.480	1,74	1,000
NH4	32	297,4	152,4	80,0	620,0	2,12	0,927
pH	34	6,9165	0,5668	5,6000	7,8800	2,32	0,541
HCO3-	34	1.144	1019	50	3.600	2,41	0,411
Ratio	34	3,264	4,149	0,303	24,000	5,00	0,000
ST	39	3,075	0,889	1,570	4,848	1,99	1,000
SV	35	2,0376	0,4462	1,0700	2,8800	2,17	0,890

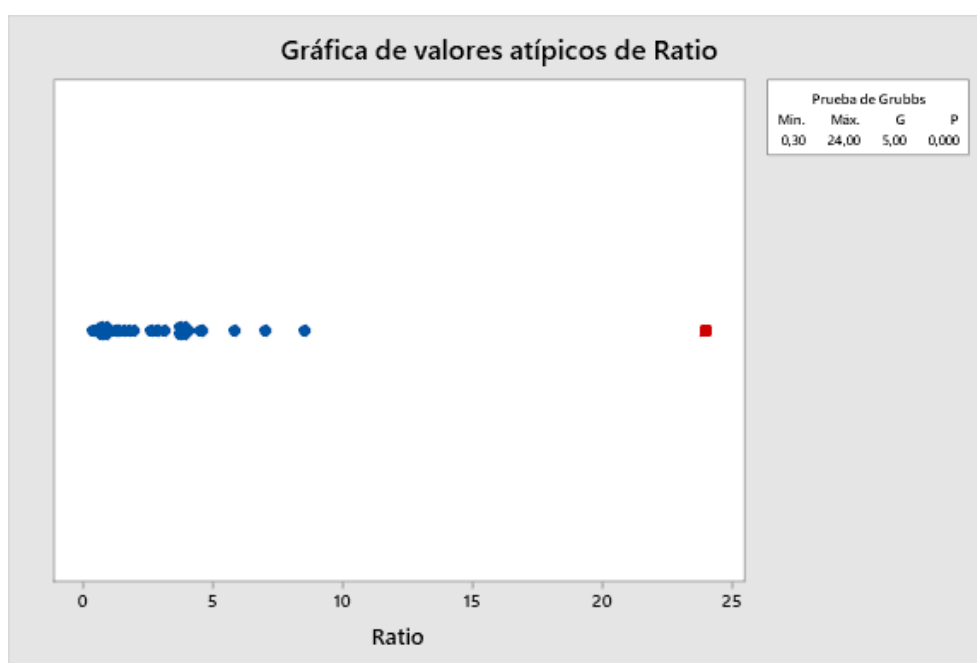


Figura Anexo K: Puntos atípicos de Ratio de alcalinidad. Influyente.

Tabla Anexo H: Prueba de distribución normal. Influyente.

Variable	N	Media	Desv. Est.	AD	p-valor
DQO	32	4.653	1.624	0,413	0,319
NH4	32	297,4	152,4	0,477	0,222
pH	34	6,9165	0,5668	0,539	0,155
HCO3-	34	1.144	1.019	2,339	< 0,005
Ratio	33	2,636	1,977	1,019	0,010
ST	39	3,075	0,889	0,824	0,030
SV	35	2,0376	0,4462	0,270	0,657

II. Condiciones mesófilas de operación. 24 horas.

Tabla Anexo I: Prueba de puntos atípicos. Condiciones mesófilas. 24 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	Mín.	Máx.	G	p-valor
DQO	8	814,4	219,6	555,0	1.165,0	1,60	0,673
NH4	7	597,1	55,9	560,0	720,0	2,20	0,002
pH	8	7,5213	0,2041	7,0300	7,6800	2,41	0,000
T	9	35,344	1,492	31,500	36,400	2,58	0,000
TRH	9	26,60	11,36	17,70	55,89	2,58	0,000
HCO3-	8	2.937,5	243,1	2.700,0	3.300,0	1,49	0,912
Ratio	8	0,2257	0,0722	0,1364	0,3810	2,15	0,041
ST	10	1,8311	0,3109	1,3700	2,5811	2,41	0,020
SV	8	1,1251	0,1495	0,8825	1,3955	1,81	0,315

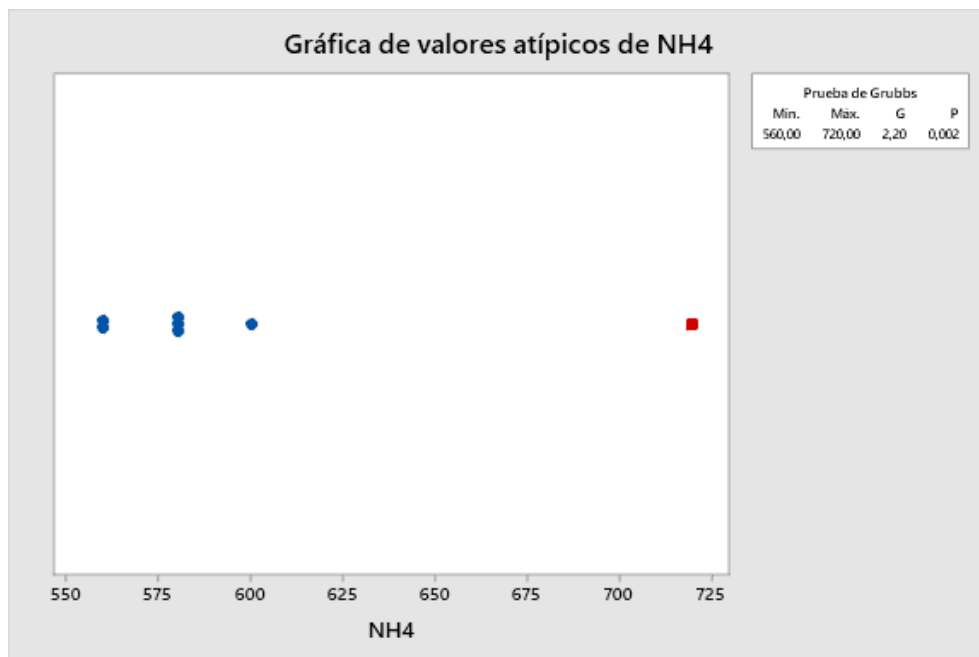


Figura Anexo L: Puntos atípicos de NH_4^+ . Condiciones mesófilas. 24 h.

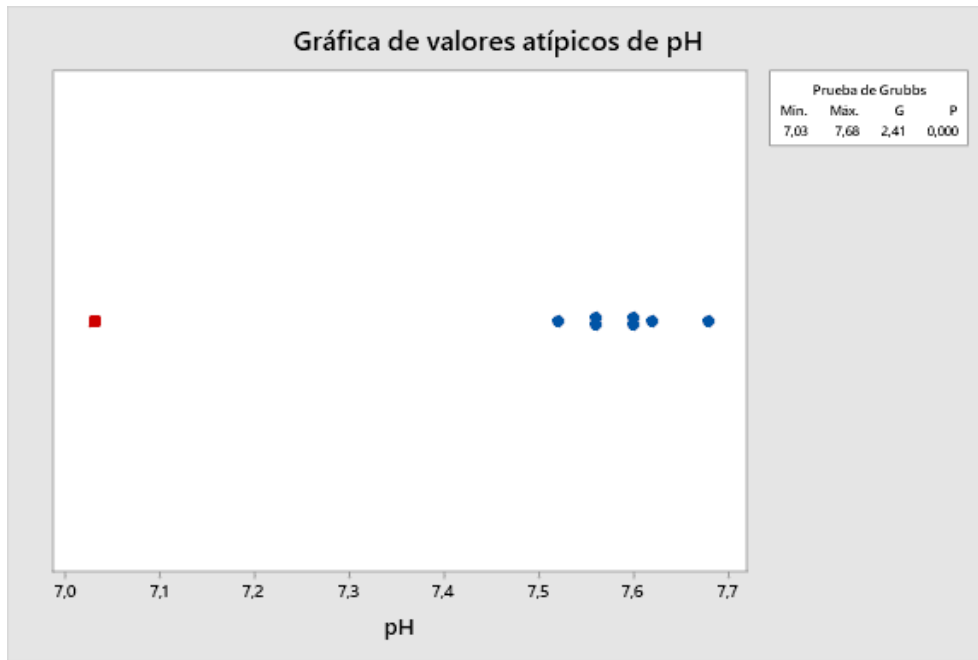


Figura Anexo M: Puntos atípicos de pH. Condiciones mesófilas. 24 h.

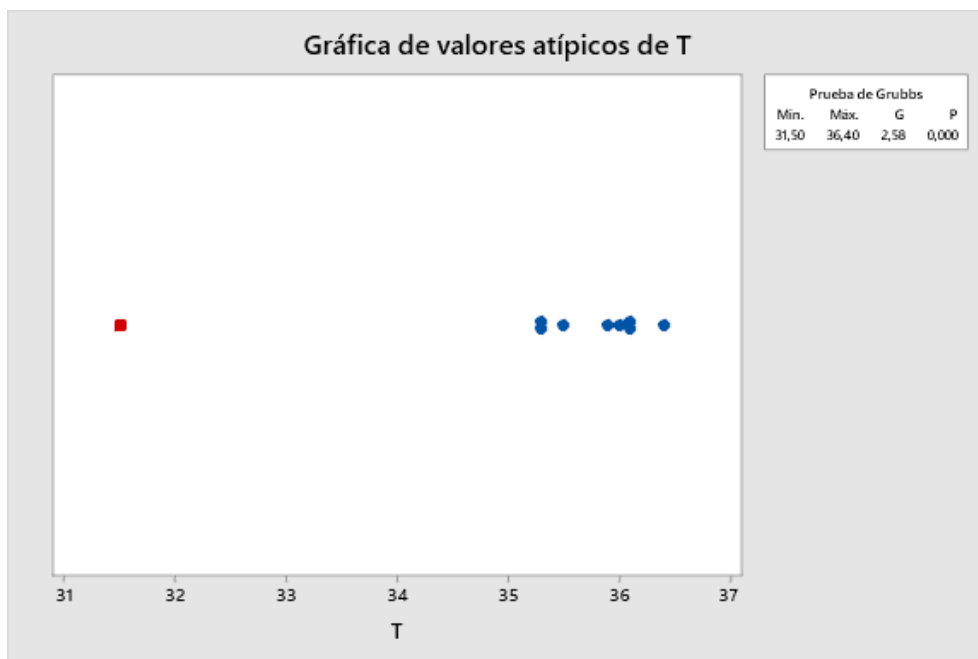


Figura Anexo N: Puntos atípicos de temperatura. Condiciones mesófilas. 24 h.

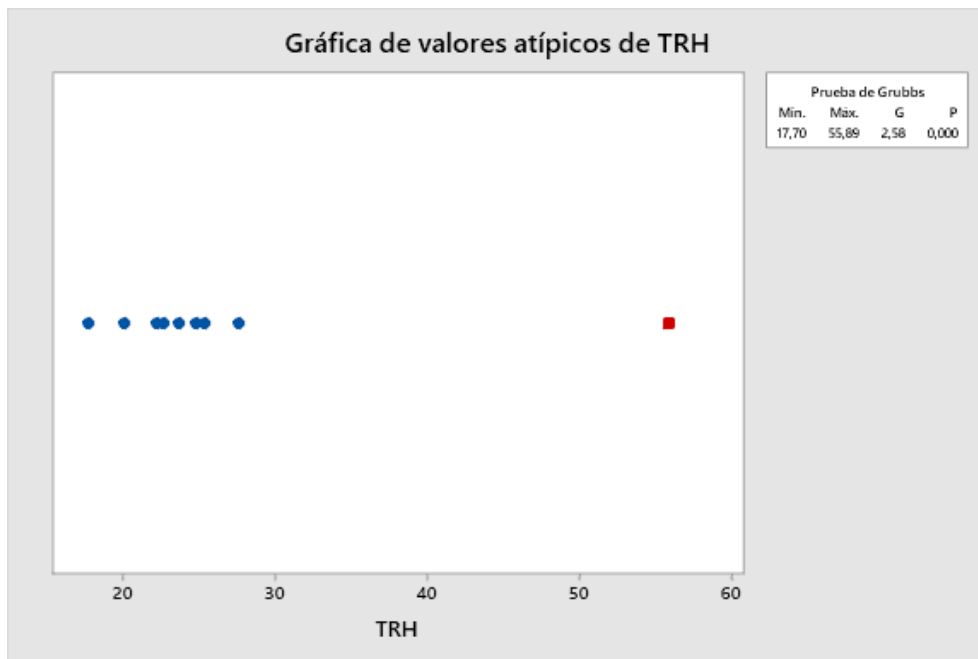


Figura Anexo O: Puntos atípicos del TRH. Condiciones mesófilas. 24 h.

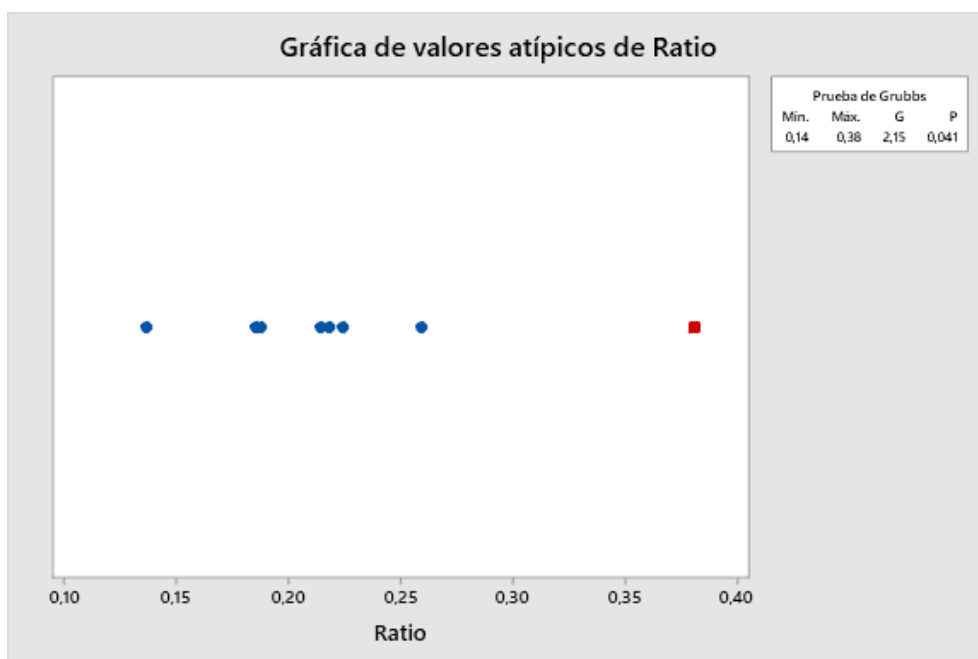


Figura Anexo P: Puntos atípicos de Ratio de alcalinidad. Condiciones mesófilas. 24 h.

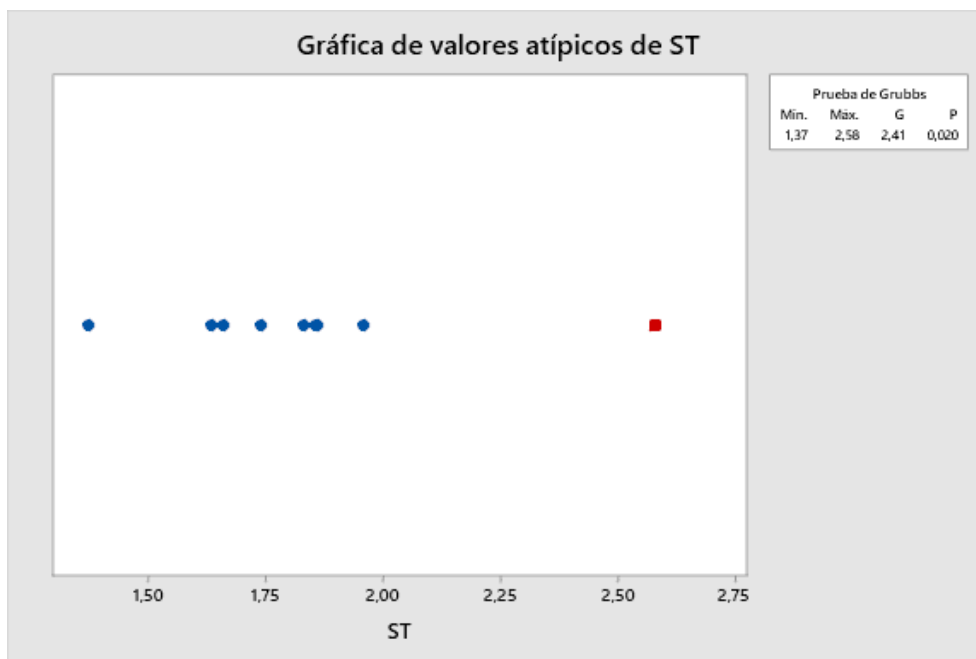


Figura Anexo Q: Puntos atípicos de ST. Condiciones mesófilas. 24 h.

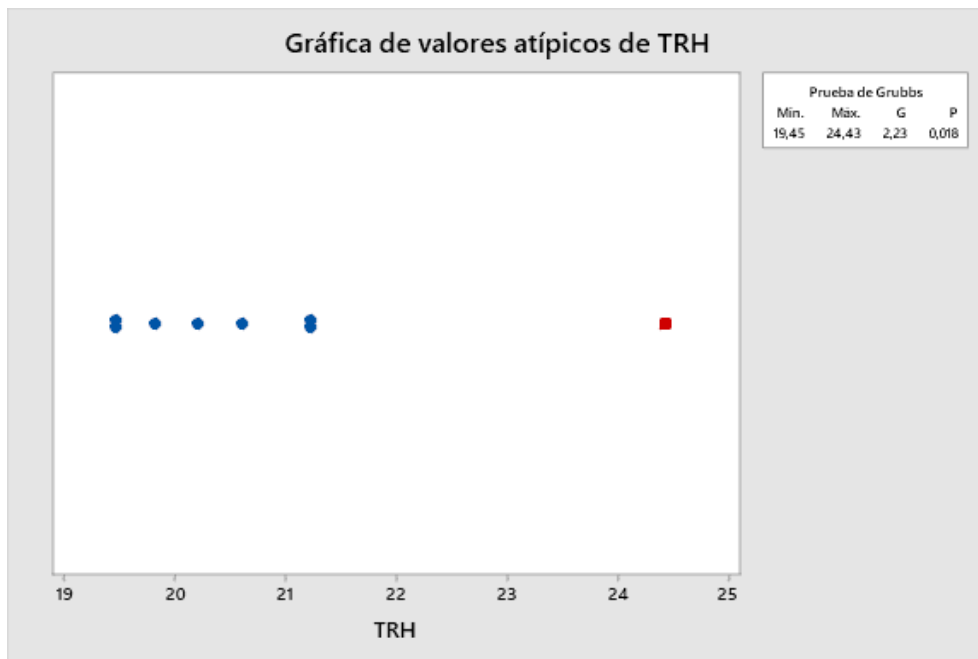
Tabla Anexo J: Prueba de distribución normal. Condiciones mesófilas. 24 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	AD	p-valor
DQO	8	814,4	219,6	0,291	0,517
NH4	6	575,7	15,06	0,477	0,143
pH	7	7,591	0,05146	0,243	0,642
T	8	35,82	0,4097	0,397	0,279
TRH	8	22,98	3,12	0,155	0,924
HCO3-	8	2.938	243,1	0,502	0,142
Ratio	7	0,2036	0,03866	0,259	0,588
ST	9	1,748	0,1749	0,481	0,172
SV	8	1,125	0,1495	0,320	0,446

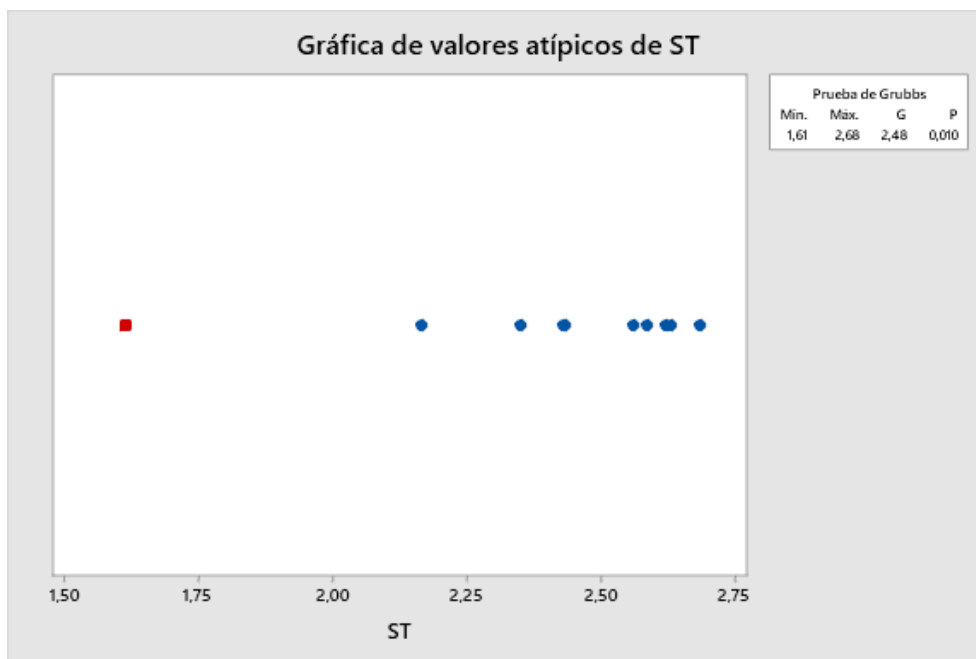
III. Condiciones termófilas de operación. 2 horas.

Tabla Anexo K: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 2 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	Mín.	Máx.	G	p-valor
DQO	7	2.589	394	2.105	3.055	1,23	1,000
NH4	6	840,0	45,6	760,0	880,0	1,75	0,170
pH	7	7,9257	0,0913	7,8000	8,0300	1,38	1,000
T	10	55,410	1,262	53,000	57,000	1,91	0,336
TRH	8	20,799	1,626	19,453	24,429	2,23	0,018
HCO3-	7	2.700,0	100,0	2.550,0	2.850,0	1,50	0,740
Ratio	7	0,25688	0,02614	0,22222	0,29630	1,51	0,722
ST	10	2,407	0,320	1,613	2,684	2,48	0,010
SV	7	1,2811	0,1434	1,0550	1,4459	1,58	0,580



Gráfica Anexo M: Prueba de valores atípicos de TRH. Condiciones termófilas. 2 h.



Gráfica Anexo N: Prueba de valores atípicos de ST. Condiciones termófilas. 2 h.

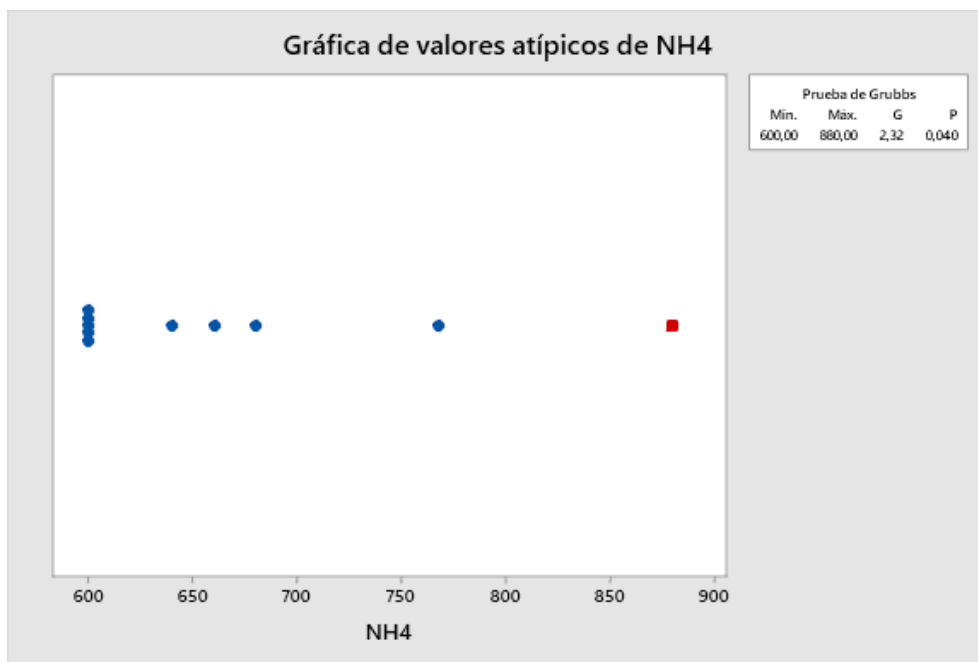
Tabla Anexo L: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 2 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	AD	p-valor
DQO	7	2.589	394,1	0,395	0,267
NH4	6	840	45,61	0,354	0,324
pH	7	7,926	0,09126	0,285	0,517
T	10	55,41	1,262	0,225	0,755
TRH	7	20,28	0,7593	0,342	0,375
HCO3-	7	2.700	100	0,261	0,580
Ratio	7	0,2569	0,02614	0,261	0,579
ST	9	2,495	0,1658	0,366	0,349
SV	7	1,281	0,1434	0,319	0,429

IV. Condiciones termófilas de operación. 4 horas.

Tabla Anexo M: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 4 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	Mín.	Máx.	G	p-valor
DQO	10	2.289	380	1.696	2.736	1,56	1,000
NH4	10	662,8	93,6	600,0	880,0	2,32	0,040
pH	10	8,0310	0,2680	7,6800	8,5100	1,79	0,518
T	10	56,440	1,060	54,800	58,400	1,85	0,419
TRH	6	16,17	4,88	10,00	22,00	1,26	1,000
HCO3-	10	2.780,0	203,0	2.500,0	3.000,0	1,38	1,000
Ratio	10	0,1890	0,0404	0,1000	0,2400	2,20	0,086
ST	10	1,768	0,335	1,390	2,350	1,74	0,605
SV	10	1,0330	0,1533	0,8100	1,2800	1,61	0,879



Gráfica Anexo O: Prueba de valores atípicos de NH_4^+ . Condiciones termófilas. 4 h.

Tabla Anexo N: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 4 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	AD	p-valor
DQO	10	2.289	380,3	0,424	0,253
NH4	9	638,7	57,41	0,958	0,009
pH	10	8,031	0,2680	0,293	0,530
T	10	56,44	1,060	0,241	0,695
TRH	6	16,17	4,88	0,317	0,410
HCO3-	10	2780	203,0	0,462	0,200
Ratio	10	0,189	0,04040	0,571	0,103
ST	10	1,768	0,3346	0,472	0,189
SV	10	1,033	0,1533	0,338	0,425

V. Condiciones termófilas de operación. 24 horas.

Tabla Anexo O: Prueba de puntos atípicos. Condiciones termófilas. 24 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	Mín.	Máx.	G	p-valor
DQO	8	1.865	324	1.436	2.364	1,54	0,788
NH4	9	903,6	109,6	716,0	1.122,0	1,99	0,186
pH	9	8,0311	0,1643	7,8100	8,3300	1,82	0,386
T	10	54,800	1,456	52,300	56,900	1,72	0,648
TRH	8	13,13	5,62	4,00	23,00	1,76	0,387
HCO3-	9	2.677,8	281,9	2.250,0	3.050,0	1,52	0,988
Ratio	9	0,2533	0,0464	0,1600	0,3300	2,01	0,168
ST	9	1,544	0,651	0,460	2,110	1,66	0,651
SV	9	0,931	0,444	0,270	1,720	1,78	0,449

Tabla Anexo P: Prueba de distribución normal. Condiciones termófilas. 24 h.

Variable	N	Media	Desv. Est.	AD	p-valor
DQO	8	1865	323,6	0,246	0,653
NH4	9	903,6	109,6	0,336	0,418
pH	9	8,0311	0,1643	0,235	0,707
T	10	54,8	1,456	0,320	0,469
TRH	8	13,13	5,617	0,251	0,632
HCO3-	9	2.678	281,9	0,414	0,261
Ratio	9	0,2533	0,04637	0,351	0,384
ST	9	1,544	0,6514	0,795	0,024
SV	9	0,931	0,4438	0,527	0,128

ANEXO E. RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LOS DIGESTORES

I. Digestor mesófilo

Tabla Anexo Q: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión mesófila. 24 h.

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
27/03/2023	6.030	160	5,94	400	8,50	2,76	2,16
17/04/2023	7.740	320	7,32	1.500	2,20	2,90	2,11
24/05/2023	7.480	300	6,87	1.200	2,83	3,18	2,29
30/05/2023	-	-	-	-	-	1,69	1,25
05/06/2023	4.640	280	6,71	1.000	1,90	2,19	1,63
06/06/2023	4.570	280	6,76	800	3,13	2,17	1,60
20/06/2023	2.620	240	7,16	1.800	1,00	3,16	2,28
28/06/2023	6.350	-	7,77	2.200	0,86	2,81	1,98
17/07/2023	4.640	620	7,64	3.200	0,69	4,85	2,72
24/07/2023	-	-	-	-	-	3,09	-
Media	5.509	314	7,0	1.513	2,64	2,9	2,0
Desv. Est.	1.715	145	0,6	887	2,54	0,9	0,4
CV	31%	46%	8,4%	59%	96%	30%	22%
IC (@95%)	1.433	134	0,5	742	2,12	0,6	0,3

Tabla Anexo R: Parámetros fisicoquímicos: Digestor mesófilo. 24 h.

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	T °C	TRH días	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
27/03/2023	820	600	7,60	35,5	25	3.150	(0,38)	1,85	1,16
17/04/2023	1.165	580	7,52	35,9	20	3.300	0,14	1,86	1,16
24/05/2023	995	580	7,56	(31,5)	23	3.200	0,19	1,96	1,19
30/05/2023	-	-	-	35,3	18	-	-	1,66	-
05/06/2023	635	580	7,60	36,0	28	2.800	0,21	1,63	1,02
06/06/2023	555	560	7,68	36,1	(56)	2.700	0,19	1,83	1,15
20/06/2023	610	560	7,62	36,1	22	2.750	0,22	1,37	0,88
28/06/2023	735	-	(7,03)	35,3	25	2.700	0,26	1,74	1,05
17/07/2023	1.000	(720)	7,56	36,4	24	2.900	0,22	(2,58)	1,40
24/07/2023	-	-	-	-	-	-	-	1,83	-
Media	814	577	7,59	35,8	22,9	2.938	0,20	1,7	1,1
Desv. Est.	220	15	0,05	0,4	3,1	243	0,04	0,2	0,1
CV	27%	2,6%	0,7%	1,1%	13,5%	8,3%	19%	10,0%	13,3%
IC (@95%)	184	16	0,05	0,3	2,6	203	0,04	0,1	0,1

II. Digestor termófilo

 Tiempo de ciclo 2 horas

Tabla Anexo S: Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 2 h.

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
28/06/2023	6.350	-	7,77	2.200	0,86	2,81	1,98
11/07/2023	-	-	-	-	-	4,72	-
17/07/2023	4.640	620	7,64	3.200	0,69	4,85	2,72
24/07/2023	-	-	-	-	-	3,09	-
21/08/2023	2.030	460	7,88	3.300	0,30	4,27	2,62
28/08/2023	4.270	480	7,51	2.200	0,95	4,34	2,66
04/09/2023	1.990	440	7,61	3.600	0,31	4,48	2,70
11/09/2023	3.870	360	7,00	1.400	1,50	3,75	2,04
02/10/2023	2.630	340	7,53	2.200	0,86	3,42	1,88
16/10/2023	-	-	-	-	-	4,08	-
Media	3.683	450	7,6	2.586	0,78	4,0	2,4
Desv. Est.	1.587	100	0,3	793	0,41	0,7	0,4
CV	43%	22%	3,7%	31%	53%	17%	16%
IC (@95%)	1.468	105	0,3	733	0,38	0,5	0,4

Tabla Anexo T: Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 2 h.

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	T °C	TRH días	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
28/06/2023	2.200	-	8,03	53,0	19	2.600	0,27	(1,61)	1,05
11/07/2023	-	-	-	54,5	(24)	-	-	2,35	-
17/07/2023	2.260	820	7,98	56,0	20	2.750	0,24	2,63	1,42
24/07/2023	-	-	-	55,3	-	-	-	2,43	-
21/08/2023	2.790	840	7,92	55,7	-	2.750	0,24	2,17	1,19
28/08/2023	2.995	860	8,02	56,8	21	2.550	0,27	2,58	1,39
04/09/2023	3.055	880	7,80	56,3	21	2.850	0,26	2,68	1,45
11/09/2023	2.715	880	7,82	55,5	20	2.700	0,30	2,43	1,23
02/10/2023	2.105	760	7,91	57,0	21	2.700	0,22	2,56	1,24
16/10/2023	-	-	-	54,0	19	-	-	2,62	-
Media	2.589	840	7,9	55,4	20,3	2.700	0,26	2,5	1,3
Desv. Est.	394	46	0,1	1,3	0,8	100	0,03	0,2	0,1
CV	15%	5,4%	1,2%	2,3%	3,7%	3,7%	10%	6,6%	11,2%
IC (@95%)	365	48	0,1	0,9	0,7	92	0,02	0,1	0,1

 **Tiempo de ciclo 4 horas**

Tabla Anexo U: *Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 4 h.*

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
24/01/2024	3.410	80	6,69	300	3,67	3,32	2,45
31/01/2024	5.770	120	6,38	450	3,67	3,23	2,31
06/02/2024	5.200	140	6,88	850	1,71	2,94	2,20
13/02/2024	5.190	120	6,40	350	4,57	2,14	1,57
20/02/2024	5.550	140	6,67	400	3,75	2,11	1,52
27/02/2024	4.410	120	6,50	300	4,00	2,38	1,81
12/03/2024	4.920	140	6,42	300	4,50	2,48	1,89
25/03/2024	3.620	80	5,60	50	(24,0)	2,29	1,79
04/04/2024	5.500	140	6,35	200	7,00	4,51	2,88
16/04/2024	6.110	214	6,06	250	5,8	3,01	2,09
Media	4.968	129	6,4	345	4,3	2,8	2,1
Desv. Est.	896	38	0,4	209	1,5	0,7	0,4
CV	18%	29%	5,6%	61%	34%	26%	21%
IC (@95%)	641	27	0,3	149	1,1	0,5	0,3

Tabla Anexo V: *Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 4 h.*

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	T °C	TRH días	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
24/01/2024	2.596	640	8,19	56,7	13	2.800	0,18	2,10	1,16
31/01/2024	2.736	660	7,68	56,0	-	3.000	0,18	2,04	1,16
06/02/2024	2.652	680	8,51	56,7	21	3.000	0,17	1,95	1,15
13/02/2024	2.460	600	8,39	56,7	18	3.000	0,10	1,86	1,08
20/02/2024	1.768	600	8,08	57,6	-	2.850	0,18	1,39	0,81
27/02/2024	1.696	600	7,98	56,4	22	2.600	0,19	1,47	0,88
12/03/2024	1.940	600	7,92	55,9	10	2.500	0,24	1,46	0,91
25/03/2024	2.380	600	7,90	58,4	13	2.500	0,24	1,49	0,94
04/04/2024	2.120	768	7,72	54,8	-	2.650	0,19	1,57	0,96
16/04/2024	2.544	(880)	7,94	55,2	-	2.900	0,22	2,35	1,28
Media	2.289	639	8,0	56,4	16	2.780	0,19	1,8	1,0
Desv. Est.	380	57	0,3	1,1	5	203	0,04	0,3	0,2
CV	17%	9,0%	3,3%	1,9%	30,2%	7,3%	21%	18,9%	14,8%
IC (@95%)	272	44	0,2	0,8	5	145	0,03	0,2	0,1

 **Tiempo de ciclo 24 horas**

Tabla Anexo W: *Parámetros fisicoquímicos: Influyente digestión termófila. 24 h.*

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
24/04/2024	6.420	326	6,81	500	2,80	2,65	1,90
02/05/2024	6.600	368	6,80	450	3,11	2,53	1,87
07/05/2024	-	476	6,60	450	3,89	3,00	2,28
13/05/2024	-	-	-	-	-	-	-
03/07/2024	4.020	382	6,69	500	2,60	2,43	1,77
09/07/2024	1.840	368	7,40	900	0,78	1,57	1,07
15/07/2024	2.380	250	7,56	650	1,31	1,65	1,16
20/08/2024	6.040	490	7,17	450	3,89	2,92	2,15
03/09/2024	2.410	256	6,73	800	1,19	3,14	2,00
24/09/2024	-	428	7,00	950	1,26	3,01	1,95
Media	4.244	372	7,0	628	2,31	2,5	1,8
Desv. Est.	2.089	85	0,3	205	1,21	0,6	0,4
CV	49%	23%	4,8%	33%	52%	23%	23%
IC (@95%)	1.932	66	0,3	157	0,93	0,4	0,3

Tabla Anexo X: *Parámetros fisicoquímicos: Digestor termófilo. 24 h.*

FECHA	DQO mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	pH -	T °C	TRH días	HCO ₃ ⁻ mg/L	Ratio -	ST %	SV %
24/04/2024	2.240	852	8,07	56,9	13	3.050	0,16	2,11	1,09
02/05/2024	1.800	894	8,16	54,6	8	2.750	0,22	1,90	1,03
07/05/2024	-	974	8,33	55,3	12	2.950	0,24	1,99	1,10
13/05/2024	-	-	-	55,3	-	-	-	-	-
03/07/2024	1.692	938	8,1	55,5	23	2.750	0,25	1,38	0,86
20/08/2024	2.048	882	7,85	52,3	15	2.450	0,33	0,46	0,27
03/09/2024	1.752	716	8,09	55,1	14	2.250	0,27	0,51	0,29
24/09/2024	1.584	912	7,81	52,7	-	2.750	0,27	2,00	1,72
01/10/2024	1.436	842	7,93	54,0	16	2.300	0,26	1,49	0,90
07/10/2024	2.364	1.122	7,94	56,3	4	2.850	0,28	2,06	1,12
Media	1.865	904	8,0	54,8	13	2.678	0,25	1,5	0,9
Desv. Est.	324	110	0,2	1,5	6	282	0,05	0,7	0,4
CV	17%	12,1%	2,0%	2,7%	43%	10,5%	18%	42,2%	47,7%
IC (@95%)	271	84	0,1	1,0	5	217	0,04	0,5	0,3