



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

INSTITUTO DE INGENIERÍA

“Adsorción de *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides* en
suelos del Valle de Tula”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN INGENIERÍA

AMBIENTAL – SUELO Y AGUAS SUBTERRÁNEAS

PRESENTA:

I.A. ORIANA LANDA CANSIGNO

TUTORA

DRA. BLANCA E. JIMÉNEZ CISNEROS

2009

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DRA. CHRISTINA SIEBE GRABACH

SECRETARIA: DRA. JAVIERA CERVINI SILVA

VOCAL: DRA. BLANCA E. JIMÉNEZ CISNEROS

1^{er}. SUPLENTE: M.I. ANA ELISA SILVA MARTÍNEZ

2^{do}. SUPLENTE: M.C. CATALINA MAYA RENDÓN

LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

TUTORA DE TESIS

DRA. BLANCA ELENA JIMÉNEZ CISNEROS

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and strokes, positioned above a horizontal line.

FIRMA

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.

A la Dra. Blanca E. Jiménez Cisneros, mi tutora, por su orientación y consejos en el ámbito profesional y personal, así como por las oportunidades laborales otorgadas.

A los miembros de mi comité tutorial, Dra. Christina Siebe Grabach y Dra. Javiera Cervini Silva, por su orientación, tiempo, paciencia y conocimientos transmitidos durante estos dos años.

A la M. en C. Catalina Maya Rendón, por todo el apoyo recibido para realizar este trabajo, también por su dedicación, conocimientos y experiencia, sin los cuales esta tesis no sería posible.

Al Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al M. en C. Benjamín Leal Acevedo, técnico Académico de la Unidad de Irradiación y Seguridad Radiológica, por la esterilización de las muestras de suelo y por su amplia disposición para el trabajo en conjunto.

A la Biol. Yolanda Hornelas, Jefa de la Unidad de Microscopía Electrónica de Barrido, del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, de la Universidad Nacional Autónoma de México. Agradezco toda su colaboración, enseñanzas y dedicación mostrada para la obtención de las imágenes, pero especialmente por su lección de paciencia y de perseverancia para alcanzar las metas.

A la Dra. Lucy Mora, técnica Académica del Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por todos sus conocimientos y asistencia durante las labores de campo. Por su disposición, tolerancia y por todo el ánimo transmitido en todo este tiempo. Gracias por su amistad y por el entusiasmo con el cual trabaja.

A la Mtra. Patricia Mares, del IIMAS, por toda su orientación para el análisis estadístico de los datos, gracias por todo su tiempo.

A la familia Cornejo, por las facilidades y permisos para trabajar en su parcela.

A mis compañeras: la M en C. Blanca González, por la información y datos aportados y a la M. en C. Claudia Chávez por su incondicional ayuda en el laboratorio. Asimismo, a los Ingenieros Víctor García Luna y Fabián Neira Cruz, por su apoyo para realizar los trabajos en campo.

A mi familia por todo

Al Ing. Juan Carlos Durán, por su asesoría y ayuda durante estos dos años. A la M. en C. Ericka Landa y al M. en C. David Camarena por sus recomendaciones.

A mis amigos y amigas, Adrian, Alberto, Alejandro, Andrés, Anemir, Arturo G, Arturo Z., Arlette, Diana, Edna, Edson, Erika, Fabian, Fitz, Hermes, Laura, Licea, Lizet, Huguito, Juan Carlos, Paulina, Karla, Karina, Olivia, Marce, Roberto, Rosy, Sisiyi, Tanya, Tonan, Victor y Ulises (y a cualquiera que por error haya sido omitido) por los buenos momentos.

A mi familia que tanto quiero

Mamá, Papá, Ericka, Luis y Cristina, por todo su amor, unión y comprensión.

Índice

i.	Resumen.....	12
ii.	Introducción	13
iii.	Hipótesis, objetivos y alcances.....	16
	<i>Hipótesis</i>	16
	<i>Objetivo general</i>	16
	<i>Objetivos específicos</i>	16
	<i>Alcances</i>	16
	CAPÍTULO I	18
1.	Antecedentes	19
	CAPÍTULO II	23
2.	Marco teórico	24
2.1.	Patógenos e indicadores	24
2.1.1.	Virus	25
2.1.2.	Bacterias	26
2.1.3.	Protozoarios.....	27
2.1.4.	Huevos de helmintos	28
2.2.	Transporte y remoción de patógenos a través del suelo	30
2.2.1.	Filtración	30
2.2.2.	Decaimiento natural	31
2.2.3.	Adsorción	31
	CAPÍTULO III	38
3.	Materiales y métodos	39
3.1.	Selección de los microorganismos indicadores y patógenos a estudiar	39
3.2.	Obtención y caracterización del suelo.....	40
3.2.1	Localización de los sitios de muestreo	41
3.2.2	Caracterización del suelo	42
3.3	Preparación de las suspensiones sintéticas.....	43
3.3.1	<i>Escherichia coli</i>	43
3.3.2	<i>Giardia lamblia</i>	43
3.3.3	<i>Ascaris lumbricoides</i>	44
3.4	Pruebas de adsorción.....	44

3.4.1	Tiempo de equilibrio de adsorción.....	44
3.4.2	Isotermas de adsorción	46
3.4.3	Prueba de desorción	46
3.4.4	Diseño del experimento y análisis estadístico	47
3.4.5	Imágenes de microscopía electrónica de barrido.....	48
CAPÍTULO IV		50
4.	Resultados y discusión	51
4.1.	Caracterización del suelo	51
4.2.	Pruebas de adsorción.....	52
4.2.1.	Tiempo de equilibrio de adsorción.....	52
4.2.2.	Isotermas de adsorción	60
4.2.3.	Pruebas de desorción.....	69
CAPÍTULO V		72
5.	Conclusiones	73
BIBLIOGRAFÍA		75
ANEXOS		82
Anexo I. Aislamiento y preparación de viales de <i>Escherichia coli</i>		83
Anexo II. Determinación de la velocidad de centrifugación del cultivo de <i>Escherichia coli</i>		84
Anexo III. Concentración de la suspensión sintética de <i>Escherichia coli</i>		85
Anexo IV. Concentración de la suspensión sintética de <i>Giardia lamblia</i>		86
Anexo V. Concentración de la suspensión sintética de <i>Ascaris lumbricoides</i>		87
Anexo VI. Determinación de la velocidad y el tiempo de centrifugación del suelo		88
Anexo VII. Resultados y análisis estadístico del tiempo de equilibrio para <i>Escherichia coli</i>		91
Anexo VIII. Resultados y análisis estadístico del tiempo de equilibrio para <i>Giardia lamblia</i>		95
Anexo IX. Resultados de tiempo de equilibrio para <i>Ascaris lumbricoides</i>		98
Anexo X. Ajustes lineales de las isotermas para <i>Escherichia coli</i>		101
Anexo XI. Ajustes lineales de las isotermas para <i>Giardia lamblia</i>		107
Anexo XII. Ajustes lineales de las isotermas para <i>Ascaris lumbricoides</i>		113

Índice de Tablas

Tabla 1. Carbono orgánico y arcilla en horizontes superficiales de suelos del Valle de Tula	22
Tabla 2. Factores que favorecen o perjudican la supervivencia de microorganismos en el suelo	31
Tabla 3. Matriz para la selección de los organismos por estudiar	39
Tabla 4. Composición de las muestras de suelo empleadas	41
Tabla 5. Diseño experimental para los factores suelo vs tiempo	47
Tabla 6. Hipótesis nulas para el modelo bifactorial empleado	48
Tabla 7. Caracterización de las muestras del suelo	51
Tabla 8. Porcentajes de remoción (%) de cada organismo en cada suelo	59
Tabla 9. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para <i>Escherichia coli</i>	60
Tabla 10. Constantes de Freundlich obtenidas para la adsorción de <i>Escherichia coli</i> sobre diferentes sustratos	62
Tabla 11. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para <i>Giardia lamblia</i>	65
Tabla 12. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para <i>A. lumbricoides</i>	67
Tabla 13. Porcentajes de recuperación de quistes de la fase sólida (2.5 g)	70
Tabla 14. Absorbancias en los sobrenadantes según la velocidad de centrifugación del cultivo de <i>Escherichia coli</i>	84
Tabla 15. Concentración de <i>Escherichia coli</i> según el tiempo de cultivo	85
Tabla 16. Concentración de quistes de <i>Giardia lamblia</i> encontrados en alícuotas de 30 µl de la suspensión sintética	86
Tabla 17. Concentración de huevos de <i>Ascaris</i> encontrados en alícuotas de 40 µl de la suspensión sintética	87
Tabla 18. Absorbancias en los sobrenadantes de mezclas de suelo sujetos a diferentes velocidades de centrifugación	88
Tabla 19. Absorbancias medidas para centrifugación de diferentes masas y tiempos	89
Tabla 20. Concentración de <i>Escherichia coli</i> en blancos	91
Tabla 21. Concentración adsorbida de <i>Escherichia coli</i> en AaMa en diferentes tiempos	91
Tabla 22. Concentración adsorbida de <i>Escherichia coli</i> en AaMb en diferentes tiempos	92
Tabla 23. Concentración adsorbida de <i>Escherichia coli</i> en AbMb en diferentes tiempos	92
Tabla 24. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para <i>Escherichia coli</i>	92
Tabla 25. Análisis por capas para el modelo bifactorial (Tiempo y suelo) para <i>Escherichia coli</i>	93
Tabla 26. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de <i>Escherichia coli</i>	94
Tabla 27. Conteo de quistes de <i>Giardia lamblia</i> en sobrenadantes a diferentes tiempos	95
Tabla 28. Concentraciones de quistes de <i>Giardia lamblia</i> adsorbidos en diferentes tiempos	95
Tabla 29. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para <i>Giardia lamblia</i>	96
Tabla 30. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de <i>Giardia lamblia</i>	97
Tabla 31. Conteo de huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> en sobrenadantes a diferentes tiempos	98
Tabla 32. Conteo de huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> en sobrenadantes a diferentes tiempos	98
Tabla 33. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para <i>Ascaris lumbricoides</i>	99
Tabla 34. Análisis por capas para el modelo bifactorial (Tiempo y suelo) para <i>Ascaris lumbricoides</i> ...	99

Tabla 35. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de <i>Ascaris lumbricoides</i>	100
Tabla 36. Concentraciones de <i>Escherichia coli</i> adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AaMa	101
Tabla 37. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Escherichia coli</i> en el suelo AaMa	101
Tabla 38. Concentraciones de <i>Escherichia coli</i> adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AaMb	103
Tabla 39. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Escherichia coli</i> en el suelo AaMb	103
Tabla 40. Concentraciones de <i>Escherichia coli</i> adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AbMb	105
Tabla 41. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Escherichia coli</i> en el suelo AbMb	105
Tabla 42. Concentraciones de quistes de <i>Giardia lamblia</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMa	107
Tabla 43. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AaMa	107
Tabla 44. Concentraciones de quistes de <i>Giardia lamblia</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMb	109
Tabla 45. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AaMb	109
Tabla 46. Concentraciones de quistes de <i>Giardia lamblia</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AbMb	111
Tabla 47. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AbMb	111
Tabla 48. Concentraciones de huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMa	113
Tabla 49. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AaMa	113
Tabla 50. Concentraciones de quistes de <i>Ascaris lumbricoides</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMb	115
Tabla 51. Concentraciones de quistes de <i>Ascaris lumbricoides</i> adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AbMb	116
Tabla 52. Variables de las isothermas de adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AbMb	116

Índice de Figuras

Figura 1. Localización del Valle de Tula	19
Figura 2. Supervivencia de algunos patógenos en suelos y cultivos.....	21
Figura 3. Comparación de tamaños de organismos, partículas y diámetro equivalente de poros. Modificado de: Matthess <i>et al.</i> , 1988 en Maier <i>et al.</i> , 2000.....	25
Figura 4. Microscopía electrónica de barrido de <i>Escherichia coli</i> ATCC 700078 (x10,000).....	27
Figura 5. Quiste de <i>Giardia lamblia</i> observado en MEB (x10,000).....	28
Figura 6. MEB de un huevo fértil de <i>Ascaris lumbricoides</i> (x1,500)	30
Figura 7. Proceso de adsorción biológica de acuerdo a la teoría de la doble capa.....	36
Figura 8. Localización de los sitios en donde se obtuvieron las muestras	42
Figura 9. MEB (x 1,000) de los suelos empleados: a) Muestra AaMa; b) Muestra AaMb; c) Muestra AbMb	52
Figura 10. a)Tiempo vs <i>Escherichia coli</i> adsorbida en las tres muestras de suelo de este estudio; b) Adhesión de <i>Pseudomonas marinas</i> sobre diferentes sustratos.	54
Figura 11. Tiempo vs quistes de <i>Giardia lamblia</i> adsorbidos en cada suelo a) Efecto por la presencia de materia orgánica; b) Efecto por la presencia de arcilla	56
Figura 12. Gráfico Tiempo vs huevos adsorbidos de <i>Ascaris lumbricoides</i> en los tres suelos a) Efecto por la presencia de materia orgánica; b) efecto por la presencia de arcilla.....	58
Figura 13. Isotermas de Freundlich para la adsorción de <i>Escherichia coli</i> en:	61
Figura 14. <i>Escherichia coli</i> adsorbida en suelo AaMb (x 14,000).....	64
Figura 15. Algunos limos y arenas no muestran adsorción de <i>Escherichia coli</i> , a pesar de la saturación de bacterias en la muestra (x 3,500).....	65
Figura 16. Quistes de <i>Giardia lamblia</i> en suelo AaMb (x10,000).....	66
Figura 17. Isotermas de Freundlich para la adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AbMb.....	67
Figura 18. Adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AbMb (x 1,500)	68
Figura 19. Porcentajes de recuperación de <i>Giardia lamblia</i> de cada suelo mediante lavados simples....	70
Figura 20. Porcentajes de recuperación de <i>Ascaris lumbricoides</i> de cada suelo mediante lavado simple y aplicación de hipoclorito de sodio.....	71
Figura 21. Crecimiento de poblaciones aisladas de <i>Escherichia coli</i> cepas ATCC 700078 e inóculos a ser empleados	83
Figura 22. Curva de crecimiento de la cepa ATCC 700078, gráfico tiempo vs absorbancia.....	83
Figura 23. Curva de crecimiento de la cepa ATCC 700078, gráfico tiempo vs absorbancia.....	85
Figura 24. Absorbancias vs velocidad de centrifugación para la separación de suspensiones de suelo y de bacterias.....	89
Figura 25. Absorbancia vs Tiempo para las diferentes masas de suelo y bacterias determinadas	90
Figura 26. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Escherichia coli</i> en AaMa a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	102
Figura 27. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Escherichia coli</i> en AaMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	104
Figura 28. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Escherichia coli</i> en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	106
Figura 29. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AaMa a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	108

Figura 30. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AaMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	110
Figura 31. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Giardia lamblia</i> en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II.....	112
Figura 32. Ajustes lineales de la adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AaMa a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II	114
Figura 33. Ajustes lineales de adsorción de <i>Ascaris lumbricoides</i> en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II	117

i. Resumen

Los suelos agrícolas del Valle de Tula reciben y depuran de manera natural las aguas residuales de la Ciudad de México. Algunas bacterias, como *Escherichia coli*, y parásitos, como los quistes de *Giardia lamblia* y los huevos de *Ascaris lumbricoides*, del agua residual se retienen en esta matriz. La arcilla y la materia orgánica son componentes del suelo que, dado que presentan cargas electrostáticas y tienen naturaleza hidrofóbica, se considera que podrían adsorber a los microorganismos mencionados. Por ello, esta tesis evalúa la adsorción de *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides* en suelos del Valle de Tula, con dos contenidos de materia orgánica (5 y 0.6%) y dos de arcilla (6 y 45%). Los suelos empleados son: Arcilla alta/materia orgánica alta (AaMa), arcilla alta/materia orgánica baja (AaMb) y arcilla baja/materia orgánica baja (AbMb). Dichos suelos se caracterizaron según la NOM-021-RECNAT-2000. Para los estudios de adsorción se prepararon suspensiones de *Escherichia coli*, quistes de *Giardia lamblia* y huevos de *Ascaris lumbricoides* a concentraciones conocidas. Las pruebas de adsorción se realizaron por lote una vez que se determinó el tiempo total de equilibrio. Los resultados de estas pruebas se ajustaron con las isothermas de Freundlich y Langmuir mediante regresiones lineales. Para verificar que había adsorción se hicieron pruebas de desorción con lavados sucesivos.

Se encontró que los tiempos de equilibrio son menores a 1 h para todos los microorganismos y en todos los suelos, excepto para AaMa con *A. lumbricoides* en donde fue de 2.5 h. En todos los casos, la presencia de materia orgánica actuó desfavorable para la adsorción en el suelo. Por otra parte, la presencia de arcilla favoreció la adsorción de *Escherichia coli* pero no tuvo efecto sobre *Giardia* o *Ascaris*. La isoterma de Freundlich describió la adsorción de *E. coli* en los tres suelos así como la de *A. lumbricoides* en AbMb, por lo que se consideró de naturaleza física. El modelo de Langmuir no funcionó para explicar el fenómeno ya que supone que el suelo es homogéneo y los microorganismos no se adhieren entre ellos, postulados que no concuerdan con la realidad. Los modelos probados no describen la adsorción de *Giardia lamblia*, debido a que este mecanismo podría ser más complejo. Experimentos complementarios deben realizarse para estimar la influencia de la adsorción en el modelo de transporte de los microorganismos hacia el acuífero.

ii. Introducción

El Valle de Tula, ubicado en el estado de Hidalgo, recibe el agua residual cruda que proviene de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), desde hace más de 110 años. En dicho Valle, el agua residual se utiliza para riego agrícola, debido a su alto contenido de nutrientes y a la baja disponibilidad natural de agua; ya que hay en la zona 450 mm de precipitación contra 2,100 mm de evaporación (BGS *et al.*, 1998). El reúso del agua residual como fuente de riego ha favorecido el desarrollo económico de la región, pues la producción agrícola se ha incrementado significativamente. Otra ventaja que se ha observado es la recarga de los acuíferos con agua de relativamente buena calidad, la cual se usa para diversos fines dentro del Valle, entre los cuales destaca el consumo doméstico (Jiménez *et al.*, 2004).

Un aspecto importante por considerar para el uso del agua residual infiltrada como fuente de suministro es el riesgo a la salud pública asociado con la presencia de diversos contaminantes, entre los que se encuentran los biológicos. Los patógenos y parásitos de cualquier tipo (virus, bacterias, protozoos y huevos helmintos) son de especial interés ya que transmiten enfermedades que se pueden manifestar en forma rápida y aguda (Jiménez, 2003). Además, éstos pueden sobrevivir en el agua y en el suelo por un tiempo considerable (Metcalf y Eddy, 2003) sin perder virulencia ni patogenicidad (Peavy *et al.*, 1985).

Aunado a lo anterior, los patógenos y parásitos pueden migrar hacia estratos inferiores del suelo y eventualmente llegar al acuífero. Sin embargo, su presencia no siempre es detectada en las fuentes de abastecimiento, sugiriendo así que algunos son retenidos en el suelo por mecanismos como la filtración, inactivación (Foppen y Schijven, 2006; Ferguson *et al.*, 2003) y la adsorción o adhesión (Cunningham *et al.*, 2007; Ferguson *et al.*, 2003; Stevik *et al.*, 2004). En la naturaleza, los mecanismos de retención no se presentan de manera aislada y muchas veces al predominar uno, como la filtración, es poco notoria la influencia de otros, como la adsorción.

Al respecto, ciertos autores reportan (Busscher *et al.*, 2008; Wand *et al.*, 2007; Bales *et al.*, 1991; Foppen y Schijven, 2006; Tufenkji, 2007) que la adsorción es un proceso reversible e insignificante para remover bacterias; mientras que otros (Farahat *et al.*, 2008, Kubota *et al.*,

2008, Pachepsky *et al.*, 2008, Jacobs *et al.*, 2007, Jiang *et al.*, 2007, Smith y Badawy, 2007, Hu y Xia, 2006, Smith y Hegazy, 2006, Guber *et al.*, 2005, Mallén *et al.*, 2005, Nola *et al.*, 2005, Herrera *et al.*, 2000, Soda *et al.*, 1999, Bitton y Gerba, 1994 y Breen *et al.*, 1995) afirman que la adsorción es muy importante, especialmente para los microorganismos más pequeños, como bacterias (como el caso de *Escherichia coli*).

Por otra parte, los protozoarios *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* se adhieren a diferentes sustratos como arcillas (Searcy *et al.*, 2005), superficies de vidrio recubiertas (Dai *et al.*, 2004) y lodos secundarios (Medema *et al.*, 1998); aunque de manera contraria, Dai y Boll (2003), han encontrado nula afinidad a las partículas de suelo.

Por último, los huevos de helmintos presentan fuerte afinidad al polvo de vidrio (Capizzi y Schwartzbrod, 2001; Gaspard *et al.*, 1994), pero las investigaciones sobre estos patógenos son aún limitadas y no incluyen al suelo. Por todo lo anterior se puede decir, que la literatura acerca de la remoción de microorganismos en el suelo por adsorción, además de ser escasa es contradictoria.

En la zona del Valle existe una amplia variabilidad de características físicas del suelo, en especial se presentan diferentes texturas (porcentaje de arcillas, limos y arenas), aunque en general todos los suelos han acumulado materia orgánica según su tiempo bajo riego. Ambos componentes (arcillas y materia orgánica) confieren cargas eléctricas y naturaleza hidrofóbica al suelo, por lo que podrían tener interacciones en diferente grado con los virus, bacterias, protozoarios y huevos de helmintos, ya que todos son estructuras que también poseen cargas. Por lo tanto, esta tesis se centra en el estudio de la adsorción de algunos patógenos existentes en el agua residual y que pueden representar un impacto negativo en la salud pública en suelos con diferente contenido de materia orgánica y de arcillas en el suelo.

La tesis se estructura de la siguiente manera: en el primer capítulo se presenta la descripción general de la zona de estudio, su localización y las características físicas del suelo (matriz de investigación). Asimismo, se reportan algunos estudios de calidad microbiológica realizados previamente en la zona, mismos que demuestran la presencia en suelo y agua

subterránea de algunos de ellos y que permiten establecer la existencia de riesgos a la salud por consumo de esta última y el empleo del agua residual cruda para el riego.

En el segundo capítulo se encuentran los fundamentos teóricos, donde se describe brevemente a los microorganismos y organismos de interés para este estudio. Existe también un apartado acerca de los mecanismos de retención en el suelo, en el que se hace énfasis sobre los fundamentos de la adsorción.

Posteriormente, en el tercer capítulo se describe detalladamente la metodología empleada para cumplir con los objetivos. Se presenta el diseño experimental, la selección y preparación de las suspensiones sintéticas de cada microorganismo, la obtención de muestras de suelo y su preparación para el estudio. Por último, se explica cómo se llevan a cabo las pruebas de adsorción y las variables seleccionadas.

En el cuarto capítulo se muestran los resultados de las pruebas de adsorción para los organismos estudiados en este trabajo. En el capítulo cinco se encuentran las conclusiones obtenidas a partir del experimento realizado en esta tesis. Por último, se presenta la bibliografía y los anexos correspondientes.

iii. Hipótesis, objetivos y alcances

Hipótesis

Los diferentes contenidos de materia orgánica y arcilla en los suelos provenientes del Valle de Tula afectan la adsorción de *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides*, presentes en el agua residual que se emplea para riego.

Objetivo general

Evaluar la adsorción de *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides* en suelos Feozem y Leptosol del Valle de Tula, Hidalgo, con diferentes porcentajes de arcilla y materia orgánica.

Objetivos específicos

- Conocer a partir de la literatura cómo afectan la materia orgánica o arcilla en la adsorción de cada microorganismo o parásito estudiado.
- Comparar la capacidad de retención de los suelos en estudio con base en los factores mencionados, para tres tipos de organismos representativos de bacterias, protozoarios y huevos de helmintos.
- Identificar el suelo con mayor riesgo potencial de contaminar el acuífero con base en su baja capacidad para adsorber patógenos, al aplicar agua residual.
- Determinar el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio de adsorción para cada organismo en estudio.
- Obtener la isoterma de adsorción de los patógenos en estudio para dichos suelos.

Alcances

Este estudio se limita a realizar pruebas de adsorción por lote, en dos clases de suelo predominantes del Valle de Tula: Feozem y Leptosol. Los porcentajes de arcilla por estudiar son

dos: 6 y 45%, y los de materia orgánica son: 5 y 0.6%. Los indicadores y patógenos seleccionados son la bacteria *Escherichia coli*, quistes del protozooario *Giardia lamblia* y huevos del helminto *Ascaris lumbricoides*.

CAPÍTULO I
ANTECEDENTES

1. Antecedentes

El reúso del agua se ha convertido en una fuente alterna para suplir las necesidades humanas, especialmente en actividades del sector agrícola. En México, el riego con agua residual es una práctica común, tal es el caso del Valle de Tula. Éste se localiza al suroeste del estado de Hidalgo y recibe agua residual cruda la cual se reutiliza para el riego en la agricultura de forrajes desde 1896 (BGS *et al.*, 1998). El gasto medio de agua residual que se recibe de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) es actualmente cerca de 45 m³/s (Blumenthal *et al.*, 2001; Downs *et al.*, 1999), misma que se distribuye en los distritos de riego (DR) 03 Tula, 100 Alfajayucan y 112 Ajacuba. En la Figura 1 se observa la localización del DR 03 dentro del Estado de Hidalgo, que es el de mayor extensión.

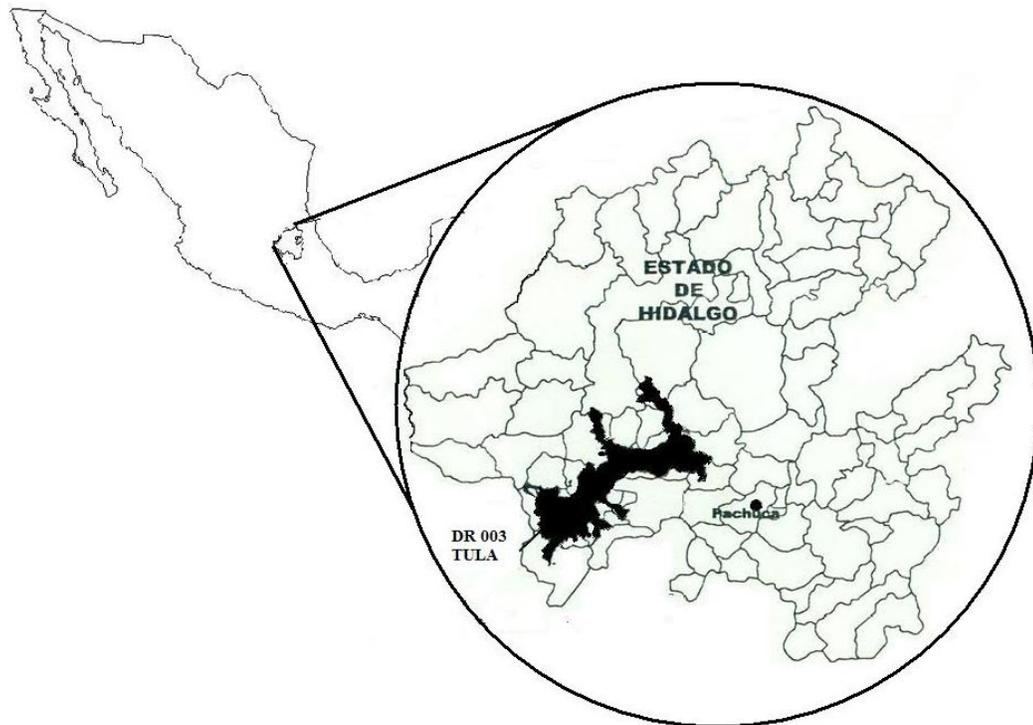


Figura 1. Localización del Valle de Tula

Como se mencionó, el riego en el Valle de Tula se realiza con agua residual cruda o compuesta por agua residual (80%) y agua pluvial (20%) y que conforme baja la topografía del Valle incluye también agua tratada de manera natural por el suelo (Siebe y Cifuentes, 1995). El agua de riego contiene una diversidad de contaminantes, siendo los patógenos especialmente importantes por el riesgo que representan para la salud de la población. Los estudios epidemiológicos de Cifuentes *et al.* (1994) y Blumenthal *et al.* (2001) reportan una alta prevalencia de infecciones gastrointestinales entre los campesinos y sus familias, en especial por *Ascaris lumbricoides* (helminto) y por *Giardia lamblia* en menores de 5 años (protozoario).

Por otra parte, el agua de riego se infiltra en el suelo y recarga el acuífero local. De este acuífero se extrae el agua para consumo directo. Diversos análisis de la calidad del agua de pozos, manantiales y norias han demostrado la presencia de bacterias coliformes fecales (Aguilar, 2006; BGS *et al.*, 1998; Gallegos *et al.*, 1999; Jiménez *et al.*, 1997) y *Escherichia coli* (Downs *et al.*, 1999) aunque en concentraciones mucho menores a las del agua residual cruda. Asimismo, en los pozos estudiados por Jiménez *et al.* (1997) y Jiménez *et al.* (2008) la presencia de virus y huevos de helmintos es muy baja o incluso nula, a pesar de encontrarse en el agua residual que llega al Valle (Jiménez *et al.*, 2008). Además, el estudio de Gallegos *et al.* (1999) reporta la presencia de coliformes fecales (3.5×10^4 UFC/100mL) en sedimentos localizados a profundidades menores de 10 m, cuyas concentraciones decrecen conforme aumenta la profundidad. Todo lo anterior sugiere que los patógenos podrían quedar retenidos en el suelo del Valle de Tula.

En efecto, de acuerdo con la literatura, el suelo tiene la capacidad de retener patógenos por medio de diferentes mecanismos, entre los cuales destacan la filtración, inactivación y adsorción (Cunningham *et al.*, 2007; Foppen y Schijven, 2006; Stevik *et al.*, 2004; Ferguson *et al.*, 2003). Los patógenos retenidos en el suelo pueden vivir en éste por un tiempo considerable. Feachem *et al.*, 1983 citados en Metcalf y Eddy, 2003 reportan como tiempo típico de supervivencia 10 días para protozoarios, 20 para virus, 50 para bacterias y varios meses para los huevos de helmintos. La Figura 2, compara el tiempo de supervivencia de los patógenos tanto en los cultivos como en el suelo. Se observa que los microorganismos y parásitos son aptos para sobrevivir en ambos medios, aunque se adaptan mejor a las condiciones en el suelo.

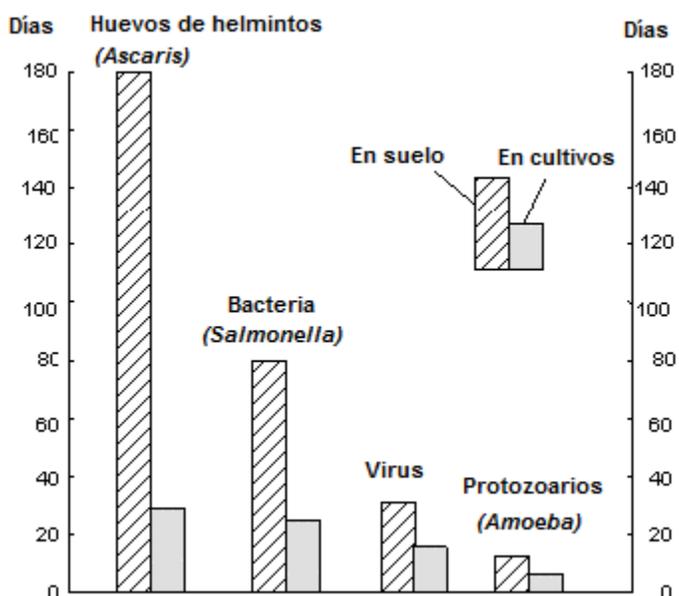


Figura 2. Supervivencia de algunos patógenos en suelos y cultivos

Fuente: Strauss, 2000

Por otro lado, debido a la extensa superficie del Valle (99,536 ha; CONAGUA, 2007), existe una amplia variedad de suelos con características físicas muy diferentes, como son la textura, la estructura, la porosidad y la profundidad. Estas características influyen en la remoción de los patógenos durante la infiltración del agua residual. Las clases predominantes de suelos en el área agrícola de Tula son: Vertisol eútrico, Leptosol mólico y réndzico, y Feozem háplico y cálcico (Siebe y Cifuentes, 1995). Dichos suelos contienen arcillas predominantemente de tipo esmectítico (Siebe y Cifuentes, 1995) en cantidad variable, tanto a nivel regional como local. Así, geográficamente se encuentran suelos con cantidades menores de 20% de arcillas en la zona de occidente, hasta suelos con más de 40% en la región central (Palacio y Siebe, 1994). Asimismo, por el riego constante con agua residual en los suelos del Valle de Tula se ha acumulado una cantidad significativa de materia orgánica (MO), evaluada como carbono orgánico (CO; Lucho *et al.*, 2005; Herre *et al.*, 2004; Ramírez *et al.*, 2002; Siebe y Cifuentes, 1995). Por tanto, hay suelos en la zona centro con un contenido de materia orgánica de más del 4% y en los extremos oriental y occidental del 3% (Palacio y Siebe, 1994). Incluso, suelos de la misma clase presentan diferencias importantes tanto de materia orgánica como de arcilla, como se observa en la Tabla 1, resultado de la caracterización de Siebe en 1994.

Tabla 1. Carbono orgánico y arcilla en horizontes superficiales de suelos del Valle de Tula

Clase de suelo	Arcilla (%)	CO (%)
Feozem háplico	10.5 - 31.9	0.9- 2.6
Leptosol mólico	18.6 - 39.1	1- 1.6
Leptosol rendzico	29.6- 39.1	1.6-3.7
Vertisol eutrico	30.5-54.4	1.5-3.2

Fuente: Siebe, 1994

A nivel local, se presentan también variaciones de ambos factores. Al respecto, el estudio de González (2008) realizado en Tlahuelilpan, Hgo., se usó para caracterizar una parcela en el Rancho Las Palmas, con suelo clase Feozem. El análisis de tres perfiles demostró que el porcentaje de arcilla difiere de acuerdo con su posición respecto del canal de riego y que, por la misma razón, la materia orgánica varía de acuerdo con su profundidad.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2. Marco teórico

En el Valle de Tula, la principal fuente de patógenos en el suelo es la aplicación del agua residual para la agricultura. Generalmente, dichos patógenos sólo se mueven unos cuantos centímetros a través de la zona vadosa. En cambio, bajo condiciones de flujo saturado pueden viajar distancias mayores (Bitton y Gerba, 1994). El destino de estos organismos en el subsuelo está determinado por su especie y por la capacidad de retención en las partículas de suelo por medio de diversos tipos de fenómenos. Por ello, en este apartado se explica de manera general las características de los microorganismos y organismos de interés, así como también de los mecanismos de retención.

2.1. Patógenos e indicadores

Los patógenos se definen como organismos capaces de producir una enfermedad en un huésped (Bitton y Gerba, 1994). Dentro de esta clasificación se incluye a algunos virus, bacterias, protozoarios y huevos de helmintos. Los organismos pertenecientes a estos grupos tienen diferentes formas y tamaños, los cuales pueden observarse en la Figura 3.

Usualmente, algunos protozoarios y helmintos también son parásitos intestinales; es decir, que viven a expensas del humano en el tracto del intestino. Otros, a pesar de vivir en el intestino de su huésped no tienen la capacidad de producir enfermedades o hacer daño, como el caso de algunas bacterias entéricas. Todos estos organismos se desechan en las heces fecales y a su vez se descargan a través del agua residual. Debido a la carga microbiológica del agua residual, ésta funciona como un vehículo para la propagación de enfermedades. La determinación del contenido de patógenos en el agua residual se realiza de manera directa o indirecta. En el caso indirecto se hace a través de organismos denominados indicadores. Es decir, la presencia de éstos se asocia directamente con la posible presencia del patógeno. La ventaja de los indicadores, es que aunque no tienen capacidad infectiva su detección es relativamente simple, rápida y confiable.

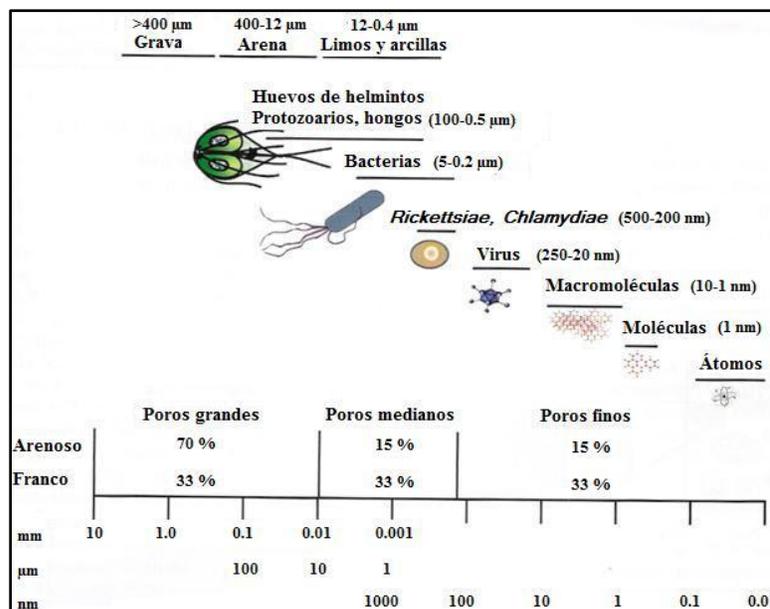


Figura 3. Comparación de tamaños de organismos, partículas y diámetro equivalente de poros. Modificado de: Matthes *et al.*, 1988 en Maier *et al.*, 2000

En las siguientes secciones se describirá brevemente cada grupo de organismos de interés, en especial, aquéllos patógenos o indicadores presentes en el Valle de Tula de importancia para la salud y para este trabajo.

2.1.1. Virus

Los virus se consideran entes no vivos, ya que son incapaces de reemplazar sus partes o llevar a cabo su metabolismo por sí mismos. Su replicación se realiza cuando se asocian con una célula viva al trasladar toda su información genética a éstos (Rittman y McCarty, 2001). En general, los virus son muy pequeños (15 a 300 nm). Los virus infectan todo tipo de células y pueden causar enfermedades e incluso la muerte, aunque no siempre una infección viral conduce a una enfermedad (Madigan *et al.*, 2004). Algunos virus entéricos en humanos que se han reportado son Adenovirus, Astrovirus, Enterovirus, Hepatitis A y Rotavirus. De éstos, los principales causantes de gastroenteritis en niños son los Rotavirus, Astrovirus y Adenovirus entéricos. Se estima que la concentración de un virus entérico en las heces de un individuo infectado puede ser tan alta como 1×10^{11} virus/g heces (Maier *et al.*, 2000).

En aguas residuales se ha detectado la presencia de Enterovirus principalmente y en menor escala de Adenovirus, Rotavirus y Hepatitis A (Maier *et al.*, 2000). En el agua, los bacteriófagos son los indicadores sugeridos para detectar contaminación viral, ya que son virus que infectan a las células procarióticas y prevalecen después del tratamiento biológico del agua residual.

2.1.2. Bacterias

Son microorganismos unicelulares, procarióticos, que pueden sintetizar protoplasma del ambiente circundante (Peavy *et al.*, 1985). Las bacterias son los organismos más pequeños considerados vivos y cuyas actividades son esenciales para la supervivencia de otras especies. Se encuentran en el suelo, aire y agua. Las formas en las que se presentan son esféricas, cilíndricas o helicoidales como cocos, bacilos y espirales (Metcalf y Eddy, 2003). Existen aquéllas de vida libre dentro del intestino de seres humanos o animales, las cuales pueden ser patógenas o no. Éstas son excretadas junto con las heces y encontradas en el agua residual.

Una de las bacterias más empleadas en la ingeniería ambiental como indicador son las del grupo coliformes fecales, que sin ser patógenas, su presencia en el agua residual sugiere la contaminación de origen fecal. A este grupo pertenece *Escherichia coli*, una bacteria anaerobia facultativa y gram negativa, con diámetro de 0.6-1.2 μm y largo de 1 a 10 μm (Metcalf y Eddy, 2003), la cual se observa en el Figura 4. *E. coli* se encuentra en la flora nativa intestinal del hombre sin causar daño, aunque existen algunas cepas enteropatógenas. Usualmente, las concentraciones de bacterias coliformes totales del agua residual varían de 1×10^7 a 1×10^9 /100 mL (Metcalf y Eddy, 2003) y las encontradas en el Emisor Central de la ciudad de México son aproximadas a 1×10^8 /100 mL (Cifuentes *et al.*, 2000).

Debido a su tamaño, éstas y otras bacterias tienen una alta relación superficie/volumen (Bitton, 1994), la cual se calcula que representa 12 m²/g (Rittman *et al.*, 2001). En suspensión las bacterias se comportan como coloides y tienen carga eléctrica negativa a pH mayor a 2, (-25.6 \pm 1 a -44.8 \pm 1.3; Jucker *et al.*, 1998). Dicha carga se debe a la desprotonación de las superficies de los grupos funcionales orgánicos que se encuentran en su membrana, como carboxilatos, hidroxilatos y fosfatos (Fein, 2000). Por su carga y las condiciones del ambiente,

los fenómenos de superficie predominan y controlan el comportamiento de las bacterias en una suspensión, estableciendo una posible interacción con otras partículas sólidas.

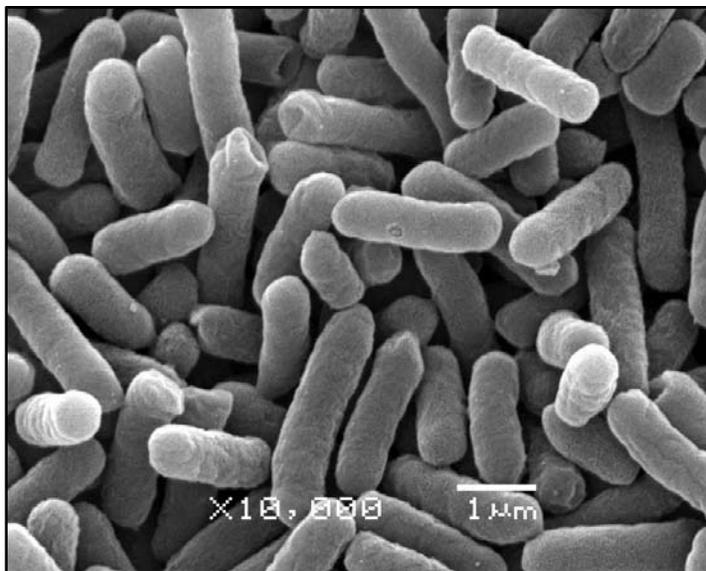


Figura 4. Microscopía electrónica de barrido de *Escherichia coli* ATCC 700078 (x10,000)

2.1.3. Protozoarios

Los protozoarios son organismos unicelulares, eucarióticos, que cuentan con organelos de locomoción. Su metabolismo, en la mayoría de los casos, es anaerobio (Romero, 1999). Los protozoarios tienen una actividad metabólica más compleja que la de las bacterias y frecuentemente consumen a éstas como una fuente de energía (Metcalf y Eddy, 2003). Algunos protozoarios presentan dos fases de vida, la primera como trofozoítos, la cual usan cuando viven en forma libre en el intestino del huésped (Gray, 1994; Romero, 1999). La segunda es un estado metabólico inactivo denominado quiste (Frankenberger, 1985), el cual sirve para sobrevivir, ya que lo emplean para protegerse de las agresiones del huésped, o bien, cuando están fuera de éste, en condiciones ambientales extremas. Los quistes son la forma infectiva de los protozoarios (Romero, 1999) y su pared gruesa los hace resistentes a la desecación, altas temperaturas y falta de nutrientes y de oxígeno (Bitton, 1994). Por esto, además de encontrarse en el intestino de algunos animales también son capaces de sobrevivir en el suelo o ambientes acuáticos (Peavy *et al.*, 1985; Bitton, 1994).

Algunos protozoarios son patógenos, de éstos *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora* y *Giardia lamblia* se encuentran en casi todas las aguas residuales y la desinfección convencional con cloro no los destruye o inactiva (Metcalf y Eddy, 2003). *Giardia lamblia* provoca la Giardosis, que es una enfermedad gastrointestinal ampliamente distribuida en México y que se presenta frecuentemente en niños de edad preescolar y escolar. Así, para el caso del Valle de Tula, los estudios epidemiológicos confirman que los menores de cinco años son los más afectados (Cifuentes *et al.*, 1994). Los quistes de *Giardia* son ovalados (Figura 5), miden 8 a 12 μm de largo y 7 a 10 μm de ancho (Hill en Mandell, 1995; Ponce y Martínez en Becerril, 2008), poseen cuatro núcleos y cargas negativas (-12 ± 1.1 mV; Dai y Boll, 2003). En ocasiones son muy abundantes en la materia fecal, ya que se encuentran en concentraciones de 21×10^6 quistes/g (Tay *et al.*, 2002). En el agua residual del Emisor Central se han encontrado en concentraciones de 125 a 300 quistes/L en el efluente y en el río Tula de 50 a 95 quistes/L (Cifuentes *et al.*, 2000).

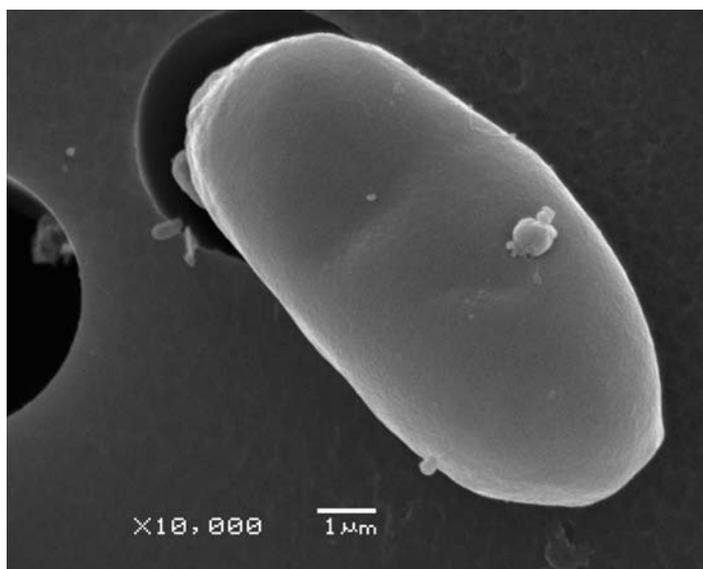


Figura 5. Quiste de *Giardia lamblia* observado en MEB (x10,000)

2.1.4. Huevos de helmintos

Los helmintos son organismos pluricelulares conocidos como lombrices parasitarias (Romero, 1999). Los helmintos se clasifican en Nemátodos, Platelminos y Anélidos, aunque son las lombrices incluidas en los primeros dos grupos las que ocasionan las infecciones en

humanos (Metcalf y Eddy, 2003). A diferencia de otros parásitos, las lombrices intestinales tienen un tamaño mayor (1mm a más de 50 cm), lo cual refleja su compleja estructura macrocelular (Mandell *et al.*, 1995). Algunas especies de helmintos presentan su etapa infectiva cuando son larvas o adultos, mientras que en otras durante su estadía de huevos (Metcalf y Eddy, 2003). En el agua residual los helmintos se presentan en forma de huevos, por esta razón son una amenaza para la salud de las personas que se encuentran en contacto directo con el agua residual cruda (Peavy *et al.*, 1985) o por la ingestión de verduras regadas con aguas negras (Tay *et al.*, 2002).

El nemátodo intestinal más grande que parasita al hombre es *Ascaris lumbricoides*, (Romero, 1999). Este helminto se distribuye en zonas tropicales y templadas del mundo, principalmente en zonas rurales donde las condiciones socioeconómicas e higiénicas son deficientes (Tay y Becerril en Becerril, 2008). Esta lombriz produce una enfermedad denominada Ascariasis, la cual infecta de un 1/4 a 1/5 de la población mundial (Romero, 1999). En México se calcula presente en el 33% de la población (Tay *et al.*, 2002; Tay y Becerril en Becerril, 2008). La helmintiasis se adquiere mediante la ingestión de un huevo larvado, que madura en el suelo (Tay *et al.*, 2002). Se presenta principalmente en niños debido a ciertos hábitos como jugar en suelo, ingesta mano boca, geofagia o por ingerir verduras regadas con aguas negras (Mandell *et al.*, 1995; Tay y Becerril en Becerril, 2008).

Los huevos fértiles de esta especie tienen forma ovalada y miden de 40 a 80 μm de largo y 35 a 50 μm de ancho (Mandell *et al.*, 1995). Están cubiertos por tres capas, la interna o vitelina, de naturaleza lipóide; la media, derivada del glucógeno y la externa o albuminoide con mamelones múltiples. En la Figura 6 se observa un huevo de *Ascaris lumbricoides* y su membrana externa con mamelones. Los huevos que no están fecundados miden 85 a 90 de largo por 30 a 40 de ancho, son óvulos más largos y estrechos, sin membrana vitelina y cubierta muy delgada (Tay y Becerril en Becerril, 2008). Los huevos pueden sobrevivir en condiciones ambientales por dos años (5 a 10°C), tres meses en la ausencia de oxígeno y de 2 a 3 semanas (22°C) en condiciones de desecación. En suelos húmedos y arenosos, los huevos viven hasta seis años e incluso se ha detectado su viabilidad después de ser sometidos a temperaturas de congelamiento en invierno (Mandell *et al.*, 1995). Los huevos de *Ascaris lumbricoides* se

presentan en el agua residual de la Ciudad de México en concentraciones que varían de 130 a 135 huevos/L (Siebe y Cifuentes, 1995).



Figura 6. MEB de un huevo fértil de *Ascaris lumbricoides* (x1,500)

2.2. Transporte y remoción de patógenos a través del suelo

Los patógenos contenidos en el agua residual, migran a través del suelo mediante un movimiento convectivo de la fase acuosa, combinado con una atenuación debida a los mecanismos de retención. Este transporte se expresa por la teoría de la filtración de coloides (Tufenkji, 2007) y está influenciado por las características de las células (carga superficial, hidrofobicidad, tamaño, movilidad y estado físico), las soluciones químicas (fuerza iónica, pH, temperatura) y las respectivas del medio poroso. La mayor parte de la remoción de los patógenos ocurre en la superficie del suelo; a continuación, se explican brevemente los mecanismos que intervienen.

2.2.1. Filtración

La filtración es la detención de las partículas mayores entre los espacios porosos, los cuales a su vez forman poros más pequeños y contribuyen así a la retención de partículas menores. Este mecanismo se presenta cuando las partículas exceden el 5% del tamaño medio del poro intersticial (Cunningham *et al.*, 2007; Tufenki, 2007). La filtración está influenciada

por diferentes factores, como son las características del medio poroso, el tamaño y forma de las bacterias, el grado de saturación del agua, el tamaño de partícula y el taponamiento del medio filtrante (Stevik *et al.*, 2004).

2.2.2. Decaimiento natural

El decaimiento natural o muerte de organismos se presenta principalmente cuando hay largos periodos de retención en condiciones de flujo no saturados (Bitton y Gerba, 1994). En medios saturados naturales, este mecanismo depende de la composición de la solución, el pH, la temperatura, el tipo de cepas, la depredación, el antagonismo, la luz, el tipo de suelo, la presencia de sustancias tóxicas y el contenido oxígeno disuelto (Foppen y Schijven, 2006). Algunos de estos factores se explican en la Tabla 2.

Tabla 2. Factores que favorecen o perjudican la supervivencia de microorganismos en el suelo

Factor	Positivos	Negativos
Contenido de humedad	Los suelos húmedos y los periodos de lluvia intensa	Desecación
Texturas	Arcillosas y limosas	Suelos arenosos
Temperatura	Bajas temperatura, periodos invernales	Altas temperaturas, veranos
pH	Las condiciones neutras favorecen su crecimiento	Ácidez (pH=3-5)>Alcalinas
Luz del sol	Ninguno	Radiación UV (desinfectante); Desecación
Materia orgánica	Incrementa la supervivencia y posible recrecimiento	Ninguno
Antagonismo con la microflora y fauna del suelo	Ninguno	Las bacterias entéricas no pueden competir con la microflora y fauna nativa

Fuente: Bitton y Gerba, 1994; Jiménez en WHO, 2003

2.2.3. Adsorción

El término adsorción se refiere al proceso por el cual los contaminantes presentes en una fase tienden a concentrarse en la superficie de otra. El contaminante por ser removido de la

fase líquida se conoce como adsorbato. El sólido, líquido o gas en el que concentra el adsorbato es el adsorbente (Sawyer, 2003). Las interacciones entre ambas se explican matemáticamente por medio de isotermas de adsorción, mismas que se detallan en el siguiente apartado.

2.2.3.1. Isotermas de adsorción

Una isoterma es la relación entre la cantidad de soluto adsorbido por unidad de masa de adsorbente sólido y la concentración del soluto en el equilibrio, a temperatura constante (Aboul y Simoneit, 2001; Metcalf y Eddy, 2003). Existen diferentes modelos de isotermas, entre las más empleadas para describir este fenómeno en microorganismos se encuentran las de Langmuir y de Freundlich.

El modelo de **Langmuir** describe el equilibrio de adsorción entre una fase sólida y una acuosa como un equilibrio químico reversible. Se basa en las suposiciones de que existen sitios definidos de adsorción; la energía de adsorción es constante e independiente de la cobertura superficial; la superficie de adsorción es homogénea; no hay interacción entre las moléculas adsorbidas y la adsorción ocurre en una sola capa (Noll *et al.*, 1992; Tien, 1994). El modelo general está en la Ecuación 1.

$$q_e = \frac{S_{max}bC_e}{(1+bC_e)} \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

donde

q_e : Cantidad de adsorbato adherido en el adsorbente (masa del contaminante adsorbido/masa del adsorbente)

C_e : Concentración del equilibrio del adsorbato en solución (unidad del contaminante/mL)

b : Constante relacionada a la fuerza de unión

$S_{m\acute{a}x}$: Cantidad máxima de adsorbato que puede ser adsorbido (en la monocapa)

Las constantes $S_{m\acute{a}x}$ y b son calculadas al graficar (C_e/q_e) vs C_e cuando se hace uso del ajuste semirec\iproco (Tipo I) mostrado en la Ecuaci3n 2. La pendiente es $\frac{1}{S_{m\acute{a}x}}$ y la intercepci3n es $\frac{1}{S_{m\acute{a}x}b}$.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{S_{m\acute{a}x}} + \frac{1}{S_{m\acute{a}x}b} \dots \dots \text{Ecuaci3n 2}$$

O bien, si se grafica $1/q_e$ vs $1/C_e$ cuando se emplea un ajuste rec\iproco o del tipo II (Ecuaci3n 3). La pendiente es $\frac{1}{S_{m\acute{a}x}b}$ y la intercepci3n es $\frac{1}{S_{m\acute{a}x}}$

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{S_{m\acute{a}x}b} + \frac{1}{S_{m\acute{a}x}} \dots \dots \text{Ecuaci3n 3}$$

El modelo de **Freundlich** considera que la adsorci3n es de naturaleza f\isica, la superficie del adsorbente es heterog\enea y la cantidad de soluto adsorbido aumenta infinitamente al aumentar la concentraci3n en la fase fluida (Noll *et al.*, 1992). Este modelo no predice la concentraci3n m\axima adsorbible. La expresi3n matem\atica para este modelo se encuentra en la Ecuaci3n 4.

$$q_e = k_f C_e^{1/n} \dots \dots \text{Ecuaci3n 4}$$

donde

q_e : Cantidad de adsorbato adherido en el adsorbente (masa del contaminante/masa del adsorbente)

C_e : Concentraci3n del equilibrio del adsorbato en soluci3n (masa del contaminante/mL)

k_f : Constante de equilibrio que indica la fuerza de sorci3n

n : Grado de no linealidad

Cuando se grafica la forma linealizada (Ecuación 5), es decir el log de q en función del log de C, se obtiene una línea recta cuya intercepción en la ordenada corresponde al valor de log k_f y la pendiente con n. El valor de k_f puede ser considerado como un índice del grado de adsorción de varios adsorbatos e implica que la energía de adsorción en una superficie homogénea es independiente de la cobertura superficial.

$$\text{Log } q_e = \log k_f + 1/n \cdot \log C \dots \text{Ecuación 5}$$

2.2.3.2. Pruebas de Adsorción

Las técnicas experimentales necesarias para conocer las características de adsorción/desorción son dos: las pruebas por lote y las pruebas en columnas.

- a) **Pruebas por lote:** Estos experimentos sirven para estudiar el equilibrio de sorción entre las partículas sólidas y varios contaminantes y obtener las isothermas de adsorción. Particularmente, estas pruebas asumen que existe un sistema de mezcla completa, donde todas las partículas sólidas están completamente dispersas de forma que su superficie está expuesta y disponible para interactuar con el contaminante de interés. Las pruebas por lote se realizan mezclando el adsorbente (previamente secado, molido y con una textura granular uniforme) con diferentes concentraciones del contaminante de interés en solución. Para ello, se requiere lograr una completa dispersión del sólido en la solución, lo cual se efectúa con una buena agitación y añadiendo las proporciones soluto/solución adecuadas. La concentración del contaminante en el equilibrio se obtiene a partir de su determinación en la fase acuosa (Aboul y Simoneit, 2001). Cabe destacar, que el equilibrio de adsorción se alcanza después de cierto tiempo de contacto entre el adsorbente y el adsorbato, momento en el cual la concentración del adsorbato permanece casi constante en la solución. Ahora bien, con los datos de las pruebas por lote se calcula la adsorción por unidad de masa a partir de la ecuación 5. Con esta información se ajustan los modelos de las isothermas explicados anteriormente.

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{m} \dots \text{Ecuación 6}$$

donde

q_e : Concentración en el adsorbente después del equilibrio (masa del contaminante adsorbido/masa del adsorbente)

C_o : Concentración inicial del adsorbato (masa del contaminante/mL)

C_e : Concentración final del adsorbato después que la adsorción ha ocurrido (masa del contaminante/mL)

V : Volumen de líquido en el reactor (mL)

m : masa del adsorbente (g)

b) Pruebas en columnas: Estas pruebas sirven para estudiar la sorción pero también la difusión de los contaminantes a través del adsorbente. El ensayo consiste en colocar al adsorbente dentro de una estructura denominada columna. El contaminante, en cambio, se encuentra en solución y se hace pasar a través de la columna. La concentración del contaminante en el efluente (C) se mide a través del tiempo y los resultados se grafican en forma de curvas al punto de quiebre o correlaciones de C/C_o vs Tiempo (t) o volumen de poro (PV). A diferencia de las pruebas por lote, las columnas simulan la migración de los contaminantes en solución a través de la zona subsuperficial del suelo y sólo una fracción del área superficial de las partículas sólidas se encuentra en contacto directo con el contaminante (Aboul y Simoneit; 2001). Además, las pruebas en columnas sirven para estimar el volumen de poro requerido para lograr una curva al punto de quiebre de un contaminante específico y para determinar los parámetros de transporte, que controlan la migración el contaminante a través de la subsuperficie.

2.2.3.3. Adsorción biológica

La adsorción de los biocoloides (como se conocen a las bacterias, virus y otros organismos vivos) es un proceso cinético que tiende al equilibrio. Este último se alcanza mediante dos mecanismos de adhesión, el primero reversible y el segundo irreversible. Este proceso se ha descrito en términos de la teoría de la doble capa o de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO). Dicha teoría explica que las bacterias por ejemplo, son capaces de

superar las fuerzas repulsivas de la superficie del medio adsorbente por medio de las fuerzas electrostáticas y de Van der Waals, resultando en una interacción débil (adsorción reversible). Posteriormente, las sustancias poliméricas extracelulares producidas por las bacterias forman enlaces permanentes con el adsorbente (Stevik *et al.*, 2004; Percival *et al.*, 2000), formando así una interacción permanente conocida como adhesión (adsorción irreversible). Este proceso puede observarse, de manera general, en la Figura 7.

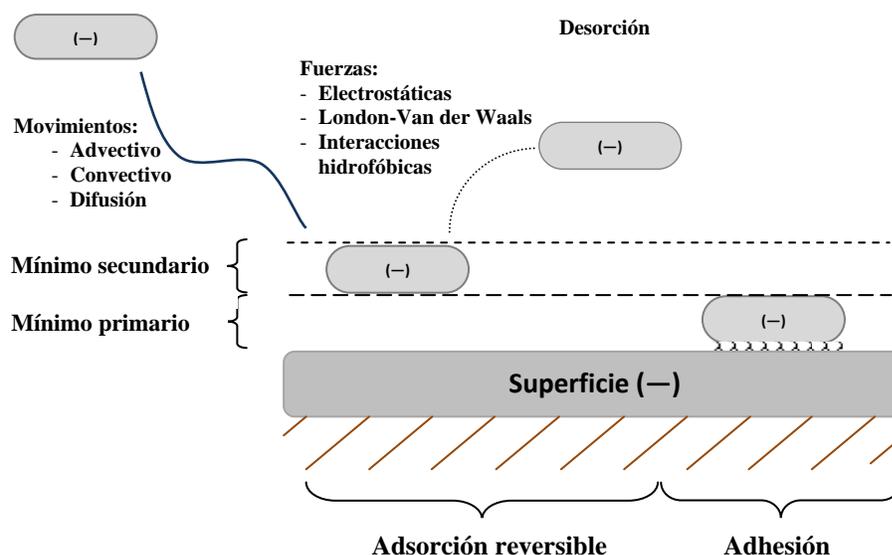


Figura 7. Proceso de adsorción biológica de acuerdo a la teoría de la doble capa

Los procesos que afectan esta adsorción son físicos, biológicos y químicos. Los de tipo físico incluyen a la temperatura, la velocidad del flujo de agua, las características del adsorbente, la presencia de arcillas (Bitton y Gerba, 1994) y la materia orgánica (Johnson y Logan, 1996; Smith y Badawy, 2007; Smith y Hegazy, 2006). En tanto que los biológicos abarcan la especie (Bitton y Marshall, 1980), la hidrofobicidad y las características de la superficie celular (Jacobs *et al.*, 2007). Por último, hay también interacciones de tipo químico como son la fuerza iónica, el pH, la presencia de cationes y de metales como Fe, Cu y Zn (Bitton y Gerba, 1994). Por todos estos factores, los experimentos de adsorción se deben llevar a cabo en condiciones homogéneas para poder hacer comparaciones.

Aunado a lo anterior, la propia naturaleza de los experimentos biológicos requiere que se realicen pruebas para evitar interferencias por depredación o inactivación. Para ello, se debe asegurar utilizar un adsorbente estéril (Wand *et al.*, 2007), que para el caso de los suelos se logra con la radiación gamma por provocar alteraciones mínimas en el adsorbente (Berns *et al.*, 2008). Asimismo, se deben realizar pruebas confirmativas o de desorción. Éstas consisten en añadir algún diluyente o desorbedor (sin inocular) que actúa directamente en las cargas electrostáticas, y hacer que los microorganismos adheridos se desprendan (Wand *et al.*, 2007). Entre las sustancias más empleadas se encuentran el formaldehído, el pirofosfato, el periodato de sodio, el Tritón X-100, el agua de peptona al 0.1 % y el agua destilada o desmineralizada (Ferguson *et al.*, 2003). En los experimentos con columnas se comparan las curvas obtenidas de un trazador no adsorbible con las obtenidas con los biocoloides. Si ambas curvas resultan iguales entonces no existe adsorción (Wand *et al.*, 2007).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3. Materiales y métodos

En este capítulo se presenta la metodología empleada para poder cumplir con los objetivos de la tesis. Inicialmente, se explican los criterios para la selección de los dos parásitos y el organismo indicador en estudio. Luego, la selección de las muestras de suelo para que tuvieran contrastes significativos en los factores de estudio: contenido de arcillas y materia orgánica. Posteriormente, se describe la ubicación de los sitios de muestreo, la colección de las muestras en campo y su caracterizaron en laboratorio. Se detalla también la preparación de las suspensiones sintéticas de los organismos patógenos e indicadores por evaluar. Además, se explica cómo se llevaron a cabo las pruebas de adsorción para encontrar el tiempo de equilibrio y las isothermas, y cómo se planteó el diseño experimental y el análisis estadístico de los datos. Finalmente, se especifica el procedimiento para las pruebas de desorción, así como para la obtención de imágenes de microscopía electrónica de barrido.

3.1. Selección de los microorganismos indicadores y patógenos a estudiar

Los microorganismos indicadores y parásitos por estudiar se seleccionaron con base en los criterios enlistados en la Tabla 3. El análisis se realizó únicamente para los microorganismos cuya presencia ha sido reportada en la zona, ya sea en el agua residual, en el agua de suministro o por su incidencia infecciosa en la población. El criterio de evaluación fue asignar un peso mediante el uso del símbolo +, que correspondían a un valor numérico + (1), ++ (2) y +++ (3). Se seleccionaron aquéllos microorganismos o parásitos con la más alta calificación.

Tabla 3. Matriz para la selección de los organismos por estudiar

Microorganismo o parásito		Riesgos para la salud	Susceptibles a ser adsorbidos	Información disponible	Determinación accesible	Innovación	Total
Virus	Bacteriófagos somáticos	+	+++	+++	++	+	10
Bacterias	<i>Escherichia coli</i>	+	+++	+++	+++	+	14
Protozoarios	<i>Entamoeba histolytica</i>	++	+	+	+++	+++	13
	<i>Giardia lamblia</i>	+++	+	++	+++	++	14
Helmintos	<i>Ascaris lumbricoides</i>	+++	+	+	+++	+++	14

Los estudios de adsorción se centran principalmente en los microorganismos como virus y bacterias. De estos grupos se seleccionó trabajar con una cepa no patógena de *Escherichia coli*, principalmente por la facilidad de su determinación, que la información previa disponible es suficiente para realizar un comparativo y que otras bacterias patógenas (*Salmonella*, *Shigella* y *Vibro Cholerae*) se reportan ausentes (Gallegos *et al.*, 1999). El grupo de los virus quedó fuera del alcance de esta tesis, ya que su presencia en el Valle ha sido poco reportada y que han sido estudiados a nivel internacional en mayor medida que los otros (Tufenkji, 2007). Aparte de esto las capacidades analíticas para evaluarlas no estuvieron al alcance de este estudio.

Entamoeba histolytica y *Giardia lamblia* son dos protozoarios encontrados en la zona, cuya prevalencia infecciosa está determinada en diferentes grupos de exposición (Cifuentes *et al.*, 1994). Los principales criterios para realizar un estudio de adsorción de *Giardia lamblia* sobre *Entamoeba histolytica* fueron que: a) tiene un mayor impacto sobre la salud de la población, ya que su prevalencia infecciosa se ha comprobado entre los infantes de 1 a 5 años (Cifuentes *et al.*, 2000); b) existen estudios previos en los que se demuestra que pueden adherirse a diferentes sustratos, y c) que dicha información puede compararse con los resultados de esta tesis.

Para el caso de los huevos de helmintos, *Ascaris lumbricoides* se seleccionó debido a que se ha detectado ampliamente en el Valle y sus efectos a la salud son corroborados con estudios epidemiológicos (Cifuentes *et al.*, 1994). Sin embargo, las investigaciones previas acerca de la adsorción sobre los huevos de helmintos son muy escasos. Por ello, esta tesis permite realizar un estudio novedoso y generar mayor información acerca de cómo se retienen los huevos en el suelo.

3.2. Obtención y caracterización del suelo

Se emplearon tres muestras simples de suelo del Valle de Tula. Cada una de ellas contiene diferentes proporciones de materia orgánica y arcilla, de tal modo que representan tres condiciones contrastantes de ambos factores. En la Tabla 4, se detallan las proporciones de cada factor en las muestras empleadas y entre paréntesis se encuentra la clave de la muestra. La

nomenclatura se compone de una letra en mayúscula “A” que significa arcilla y una “M” de materia orgánica. Las letras minúsculas refieren a la proporción, “a” es alta y “b” es baja.

Tabla 4. Composición de las muestras de suelo empleadas

Nombre de la muestra	AaMa	AaMb	AbMb
Condición	1	2	3
Arcilla (A)	Alta (a)	Alta (a)	Baja (a)
Materia orgánica (M)	Alta (a)	Baja (b)	Baja (b)

3.2.1 Localización de los sitios de muestreo

Las muestras AaMa y AaMb se colectaron de dos perfiles en una parcela del Rancho “Las Palmas”, caracterizada por González (2008), en Tlahuelilpan, Hidalgo. Estas muestras corresponden a la clase de suelo Feozem y se riegan con agua residual. La muestra AaMa (477799 W, 2225150 N) se obtuvo en un horizonte superficial Ap2 (2-10 cm), en la capa arable y muy cercana al canal de riego. La muestra AaMb (477720W, 2225040N) se colectó de un horizonte C₂, localizado a una profundidad mucho mayor (117-123/130 cm), en la zona más lejana al canal. La masa de ambas muestras fue de 1 kg, las cuales se transportaron en bolsas de polietileno al Instituto de Ingeniería.

La muestra AbMb se consiguió en el Instituto de Ingeniería, UNAM. Ésta se colectó anteriormente en el horizonte Ap2 (15-29 cm) de una parcela aledaña al pozo CIC 126, en el municipio de Actopan. La clase de suelo es Leptosol réndzico y el riego se realiza con agua de pozo (Jiménez *et al.*, 2008). En la Figura 8 se puede observar la localización de los puntos de muestreo, las muestras AaMa y AaMb se encontraron en la zona centro del Valle, mientras que la muestra AbMb en la zona Noreste.

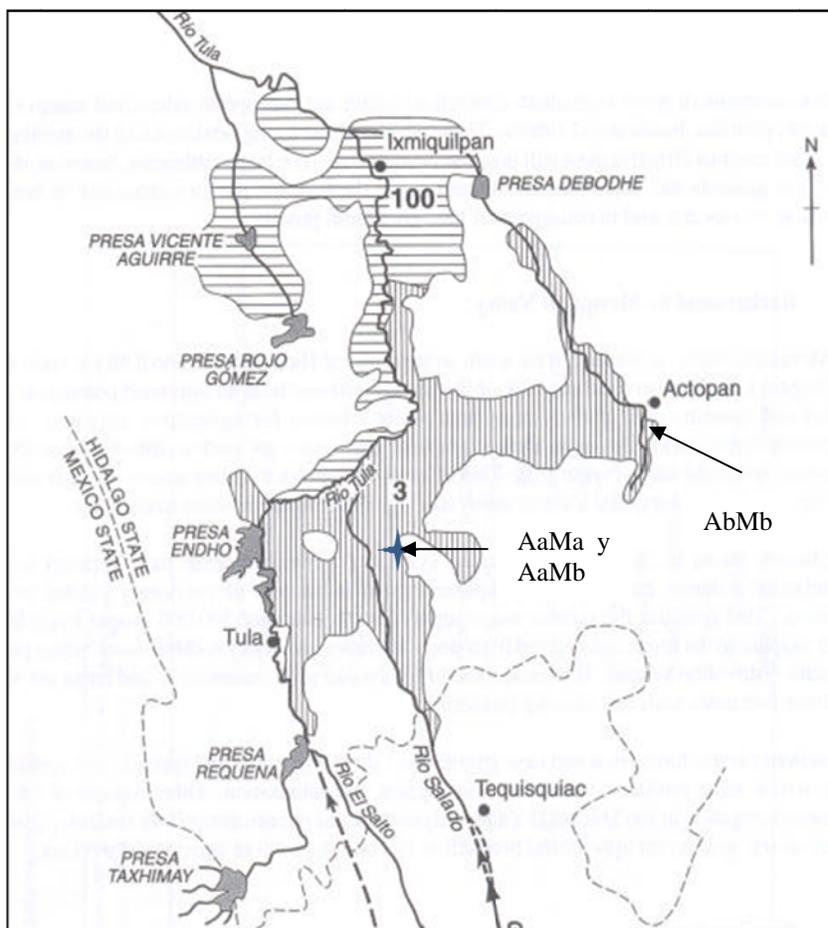


Figura 8. Localización de los sitios en donde se obtuvieron las muestras

3.2.2 Caracterización del suelo

Las muestras colectadas AaMa y AaMb se secaron al aire, mortearon y tamizaron en malla # 10. Posteriormente, se analizó su contenido de materia orgánica (método de Walkley y Black), pH (electrométrico con cloruro de calcio), textura (método de Bouyoucos) y humedad (por gravimetría), según la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000.

La muestra AbMb se obtuvo morteadada, tamizada y caracterizada del Instituto de Ingeniería, UNAM. Finalmente, las tres muestras se esterilizaron con radiación gamma a una dosis de 25 kGy (Murillo, 2007) en el Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM. El suelo se almacenó en frascos de vidrio ámbar a 4°C hasta su uso.

3.3 Preparación de las suspensiones sintéticas

3.3.1 *Escherichia coli*

En este estudio se empleó la cepa de *Escherichia coli* ATCC 700078 (WG5), la cual se aisló en cajas Petri con agar McConkey (36°C por 24 h; ISO 8199:1988). Cuatro colonias se inocularon en 50 mL de caldo MSB estéril¹. Este se mezcló a 90 rpm durante 5 h y se añadieron 10 mL de glicerol estéril (20% v/v). El cultivo se distribuyó en volúmenes de 1.2 mL en viales para criogenia, los cuales se almacenaron a -20° C. Los viales sirvieron como fuente de inóculo para las pruebas posteriores.

El contenido de un vial se sembró en 50 mL de caldo MSB durante 24 h (36°C, 90 rpm, Anexo I). Una alícuota de 10 mL de este cultivo se tomó y se transfirió a un tubo de centrifuga de 15 mL. Se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 min (pruebas preliminares Anexo II), en un equipo Eppendorf 5810R. El sobrenadante se retiró y se añadió solución isotónica estéril (NaCl 0.85%, pH 7.0±0.1). Este lavado se repitió una vez más para eliminar la mayor parte del caldo. La suspensión se diluyó hasta una concentración de $\sim 2-4 \times 10^7$ UFC/mL (0.5 mL en 20 mL de NaCl 0.85%). El método empleado para medir la concentración fue el de filtración de membrana (APHA *et al.*, 1998) en agar McConkey, en una incubadora VWR 1540 ScientificInc a 36°C (Anexo III).

3.3.2 *Giardia lamblia*

Los quistes de *Giardia lamblia* fueron adquiridos del laboratorio PACAL como una suspensión de 3,000 quistes/mL en formol al 5%. Una alícuota de 2.5 mL de esta suspensión se diluyó en 10 mL de solución isotónica estéril (NaCl 0.9%, pH 7.2) y se le añadió 2 mL de lugol para obtener una concentración final de 51 ± 3 quistes/30 μ l. Dicha concentración se obtuvo por la observación directa en microscopio óptico (40x) de diez alícuotas (Anexo IV).

¹ 10g de peptona, 3 g de extracto de levadura, 12 g de extracto de carne, 2 g de cloruro de sodio, 5 mL de solución carbonato de sodio y 0.3 mL de cloruro de magnesio en un litro de agua, pH 7.2, esterilizado en autoclave a 121°C por 15 min

3.3.3 *Ascaris lumbricoides*

Los huevos de *Ascaris lumbricoides* utilizados se obtuvieron del laboratorio de parasitología del “Grupo de Tratamiento y Reúso” del Instituto de Ingeniería, UNAM. Los huevos contenidos en 2 mL se resuspendieron en 13 mL de solución isotónica estéril (NaCl 0.9%, pH 7.2). La concentración final fue de 50 ± 2 huevos/40 μ l, la cual se obtuvo por la observación directa en microscopio óptico (10x) de diez alícuotas (Anexo V).

3.4 Pruebas de adsorción

Las pruebas de adsorción consistieron en dos tipos de ensayos. En los primeros se estimó el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio de cada microorganismo o parásito con cada muestra de suelo. A partir de estos resultados, se obtuvo el tiempo de agitación para continuar con la siguiente fase. En los siguientes ensayos se variaron las concentraciones de suelo empleadas para obtener las isothermas de cada suelo. El procedimiento exacto para cada microorganismo o parásito se describe a continuación.

3.4.1 Tiempo de equilibrio de adsorción

a) *Escherichia coli*

Para obtener el tiempo al cual se logra el equilibrio de adsorción se hicieron pruebas por lote. Para ello, se colocaron 2.5 g de suelo estéril en un tubo para centrífuga de 50 mL y se añadieron 20 mL de suspensión sintética de bacteria ($4-5 \times 10^7$ UFC/mL) por triplicado. Luego, cada tubo se mezcló en vortex durante 10 s y se agitó de manera horizontal en un mezclador rotatorio Aros 160 Thermolyne a 110 rpm durante cinco tiempos: 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 h. Una vez que se alcanzó cada tiempo, el tubo se centrifugó a 1,000 rpm/10 min (pruebas preliminares Anexo VI) en un equipo Mistral 3000 MSE, para separar la fase sólida de la líquida. Se tomó una alícuota de 100 μ l del sobrenadante y se analizó su concentración final mediante filtración de membrana 9222D (APHA *et al.*, 1998), con agar McConkey y se incubó a una temperatura de 36°C durante 24 h. Simultáneamente, se corrió un blanco (inóculo de bacteria más solución pero sin suelo) para cada tiempo, con la finalidad de determinar cualquier interacción con el recipiente o variación durante el experimento.

b) *Giardia lamblia*

Esta prueba se realizó empleando una masa de 2.5 g de suelo con 20 mL de solución salina por tubo y en triplicado para cada tiempo. La concentración inicial añadida fue de 51 quistes/tubo. Los tiempos de agitación fueron: 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 y 4.5 h, previo mezclado en vortex. Una vez que se alcanzó cada tiempo, el tubo se centrifugó a 1,000 rpm/10 min (pruebas preliminares Anexo VI) en una centrifuga Mistral 3000 MSE. A esta velocidad los quistes sedimentaron, por lo que se retiró el sobrenadante y cuidadosamente se añadieron 5 mL de sulfato de zinc (1.08 g.e.) para no resuspender las partículas de suelo. El sobrenadante y el sulfato se filtraron por el tamiz de 20 µm y se recuperó el enjuague. Dicha solución se diluyó hasta un volumen de 250 mL con agua destilada. Luego, se centrifugó a 3,000/15 min y se aspiró el sobrenadante hasta un volumen aproximado de 50 mL. La centrifugación se repitió dos veces, la primera para concentrar a 5 mL y la siguiente para obtener un volumen de 0.5 mL. Los quistes se cuantificaron por observación directa en un microscopio óptico (40x) y tinción con lugol. La concentración adsorbida de quistes de *Giardia* se determinó por diferencia, empleando la Ecuación 5.

c) *Ascaris lumbricoides*

De la misma manera que con los organismos anteriores una masa de 2.5 g de suelo, 20 mL de solución salina y 50 huevos se colocaron en cada tubo. Se mezclaron durante 10 s en vortex y se agitaron cinco tiempos: 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 y 4.5 h. Se centrifugó a 1,000 rpm/10 min (pruebas preliminares Anexo VI) en una centrífuga Mistral 3000 MSE. El sobrenadante se retiró y se añadieron 5 mL con sulfato de zinc (1.2 g.e.) a la superficie de la pastilla, cuidando que no se resuspendiera el suelo. El sobrenadante y el sulfato se filtraron por el tamiz de 20 µm. El filtrado (fase sobre el tamiz) se recuperó a partir de enjuagues con agua potable y se trasvasó a un tubo de 50 mL. Luego, todos los tubos se centrifugaron a 3,000 rpm/10 min y se aspiró el líquido hasta un volumen aproximado de 5 mL. Finalmente, se cuantificaron los huevos en un microscopio óptico (10x) utilizando para ello un disco Don Caster. La concentración de *Ascaris* adsorbida se determinó por diferencia, empleando la Ecuación 5.

3.4.2 Isotermas de adsorción

En esta parte del experimento se emplearon diferentes masas de suelo, para la bacteria *Escherichia coli* se probaron cinco: 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 g, para los quistes de *Giardia lamblia* y los huevos de *Ascaris lumbricoides* fueron: 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 g. En todos los casos, los ensayos se realizaron triplicados y el tiempo de agitación fue el que se determinó en la fase experimental anterior. Las velocidades de mezclado y agitación, el volumen de solución y las concentraciones iniciales permanecieron iguales a lo descrito en el punto 3.4.1.

Los resultados obtenidos se ajustaron a los modelos lineales de la isoterma de Langmuir tipo I (Ecuación 2) y tipo II (Ecuación 3), así como a la isoterma de Freundlich (Ecuación 4). Se graficaron los datos para obtener una línea recta y por medio de una regresión lineal se obtuvo el coeficiente de ajuste R^2 . El modelo más adecuado fue elegido a partir de este parámetro y las constantes fueron calculadas a partir de las ecuaciones de los gráficos.

3.4.3 Prueba de desorción

Las pruebas de desorción se realizaron con la finalidad de recuperar los patógenos adheridos a los suelos y así comprobar su reversibilidad. Para el caso de *Escherichia coli* se tomaron las fracciones centrifugadas de suelo de la prueba de isoterma de 2.5 g a 30 min de contacto, por triplicado para AaMa, AaMb y AbMb. Se añadieron 20 mL de solución salina estéril 0.85%, se agitó 30 minutos, se centrifugó a 1,000 rpm/1h y se determinó la concentración por la técnica de filtración de membrana, este procedimiento se repitió una vez más.

En cuanto a los quistes de *Giardia lamblia* se aplicó esta prueba a la fracción de suelo centrifugada de la prueba de isoterma de 2.5 g a 2.5 h de contacto. A estos suelos se les realizó un doble lavado con 20 mL con agua destilada. En todos los casos la velocidad de centrifugación se mantuvo a 1000 rpm/10 min y los quistes se cuantificaron por observación directa en un microscopio óptico a 40x.

En cuanto a los huevos de *Ascaris lumbricoides* se aplicó esta prueba a la fracción de suelo centrifugada de la prueba de cinética 2.5 g a 3.5 h de contacto. A estos suelos se les realizó un lavado con 20 mL de solución salina estéril 0.85% con igual tiempo de contacto. Un segundo lavado se realizó aplicando 20 mL de hipoclorito de sodio 0.4% para remover la capa externa y disminuir sus capacidades adhesivas (Gaspard *et al.*, 1994) y se mezcló en vortex 30 segundos. En todos los casos la centrifugación se conservó a 1,000 rpm/10 min y los huevos se cuantificaron por observación directa en un microscopio óptico 10x.

3.4.4 Diseño del experimento y análisis estadístico

Los resultados de la fase experimental del tiempo de equilibrio se analizaron empleando un diseño bifactorial completamente al azar, el cual determinó el efecto de los factores tiempo (t) y suelo (S). Luego, se aplicó una prueba de Tukey para poder comparar las medias, ya fuera para la interacción o factor independiente según el caso. Este diseño experimental se especifica en la Tabla 5 y las hipótesis nulas para este modelo en la Tabla 6.

Tabla 5. Diseño experimental para los factores suelo vs tiempo

Tiempo	Muestra		
	AaMa	AaMb	AbMb
t ₁	C ₁₁₁ , C ₁₁₂ , C ₁₁₃	C ₂₁₁ , C ₂₁₂ , C ₂₁₃	C ₃₁₁ , C ₃₁₂ , C ₃₁₃
t ₂	C ₁₂₁ , C ₁₂₂ , C ₁₂₃	C ₂₂₁ , C ₂₂₂ , C ₂₂₃	C ₃₂₁ , C ₃₂₂ , C ₃₂₃
t ₃	C ₁₃₁ , C ₁₃₂ , C ₁₃₃	C ₂₃₁ , C ₂₃₂ , C ₂₃₃	C ₃₃₁ , C ₃₃₂ , C ₃₃₃
t ₄	C ₁₄₁ , C ₁₄₂ , C ₁₄₃	C ₂₄₁ , C ₂₄₂ , C ₂₄₃	C ₃₄₁ , C ₃₄₂ , C ₃₄₃
t ₅	C ₁₅₁ , C ₁₅₂ , C ₁₅₃	C ₂₅₁ , C ₂₅₂ , C ₂₅₃	C ₃₅₁ , C ₃₅₂ , C ₃₅₃

El modelo general es:

$$C_{ijk} = \mu + S_i + t_j + (St)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

donde

C: Concentración del microorganismo o parásito en fase acuosa

S: Suelo (AaMa, AaMb, AbMb)

t: tiempo (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 h)

k: repeticiones (3)

ϵ : Error

Tabla 6. Hipótesis nulas para el modelo bifactorial empleado

Hipótesis nulas	
$H_{01}: St_{ij} = 0$	No existe interacción entre el suelo y el tiempo
$H_{02}: S_i + t_j = 0$	No existe efecto por la muestra de suelo
$H_{03}: t_j + St_{ij} = 0$	No existe efecto por el cambio de tiempo

Las variables de respuesta fueron las concentraciones en la fase acuosa de cada uno de los siguientes organismos:

- a) *Escherichia coli* (ufc/mL; unidades formadoras de colonias)
- b) *Giardia lamblia* (quistes/mL)
- c) *Ascaris lumbricoides* (huevos/mL)

3.4.5 Imágenes de microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (MEB) se empleó para visualizar y comparar los tres suelos una vez estériles y secos. De igual manera, se utilizó para comprobar de manera cualitativa la adhesión de los parásitos e indicadores en estudio, especialmente los de mayor tamaño. La preparación de las muestras siguió diferentes fases: el secado, la fijación y deshidratación se llevaron a cabo en el Instituto de Ingeniería, mientras que las fases de desecado al punto crítico, montaje, recubrimiento y observación se realizaron en el laboratorio de microscopía del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL).

Las muestras de suelos estériles (1g) se secaron durante 2 horas en estufa (110°C) sobre una charola de aluminio, luego se colocaron en frascos de vidrios (previamente secados a 110°C/24 h) y se transportaron al laboratorio de microscopía. Las muestras se observaron de manera separada en fracciones gruesas y finas.

Los inóculos puros y los microorganismos adheridos se prepararon con las siguientes concentraciones de cada uno: 0.1 mL de una solución de *Escherichia coli* (2×10^4 ufc/mL), 1,500 quistes de *Giardia* y 200 huevos de *Ascaris lumbricoides*. Se empleó el suelo que mostró mayor retención (~0.003 g). Se agitó el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio y una vez

transcurrido éste se añadió formol 4% buffer Sorenson de fosfatos² (pH 7.2) en una proporción suspensión/solución de formol de 1 a 10. Se pusieron en contacto durante 24 h a 4°C. Las muestras se filtraron en sistemas milipore con filtros de policarbonato del diámetro adecuado, se enjuagaron dos veces con 5 mL de solución buffer Sorenson de fosfatos 0.1 M³. Posteriormente, se hizo la deshidratación, los filtros se colocaron en serie de alcoholes 20,40, 50, 60 y 70% por 10 min, y 80, 90 y 100% por 15 min c/u (esta última se realizó dos veces).

Las muestras se transportaron en alcohol 100% al ICMYL para continuar con las fases mencionadas anteriormente. El secado se realizó con un desecador a punto crítico Samdri 795, usando dióxido de carbono como transportador. Se montaron en portamuestras cilíndricos y recubiertos con oro/paladio a 12 ± 15 mA usando una ionizadora Jeol JFC-1100. Finalmente, las muestras se observaron y fotografiaron en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM6360LV.

² 90 mL de agua destilada, 10 mL formaldehído (37-40%), 1.16 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 0.27 g de NaOH, ajustar pH de ser necesario con HCl

³ 27 mL NaH_2PO_4 0.2 M, 73 mL de Na_2HPO_4 0.2 M y 100 mL de agua destilada

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Resultados y discusión

4.1. Caracterización del suelo

La Tabla 7 muestra los resultados de la caracterización de los suelos AaMa y AaMb, y los datos reportados para la muestra AbMb. De manera comparativa, se presentan los resultados de González (2008) para los mismos horizontes muestreados en Tlahuelilpan, Hgo.

Tabla 7. Caracterización de las muestras del suelo

Parámetro	AaMa		AaMb		AbMb
	Este estudio	González, 2008	Este estudio	González, 2008	Este estudio
pH	6.9±0.02	7.3	6.6±0.04	7.6	7.9
Carbono orgánico (%)	3.2±0.1	3.9	0.4±0.1	0.6	3.4 mg/g
Materia orgánica (%)	5.4	6.6	0.60	1	0.6
% Arcillas	42±1	45	44±4	47	6
% Limo	31±4	36	20±1	35	24
% Arena	27±3	19	37±3	19	70

El suelo AaMa tiene un contenido alto de materia orgánica, un pH neutro y una textura arcillosa (R). La muestra AaMb presenta un contenido bajo de materia orgánica, un pH neutro y de igual manera que la muestra anterior tiene una textura arcillosa (R). La muestra AbMb tiene un contenido bajo de materia orgánica, un pH moderadamente alcalino y una textura franco arenosa (Ca), de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000.

Ahora bien, los resultados de pH, carbono orgánico y porcentaje de arcillas de AaMa y AaMb son comparables con los obtenidos por González (2008). Sin embargo, la proporción de arena y limo encontrados en AaMb resultan en una proporción inversa a la de González (2008). Esto podría deberse a la diferencia entre los métodos empleados para realizar la prueba de textura. En el método de Bouyoucos no se eliminan interferencias por la presencia de otros compuestos, por lo que podrían aglomerar a las partículas de menor tamaño (limos y arena), y podrían medirse como si fueran arenas por su rápida sedimentación. En la Figura 9 se observan algunas microfotografías (MEB) de cada suelo empleado.

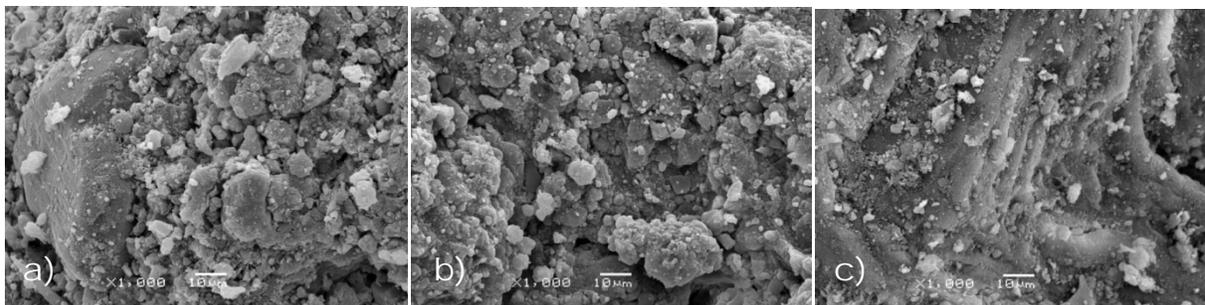


Figura 9. MEB (x 1,000) de los suelos empleados: a) Muestra AaMa; b) Muestra AaMb; c) Muestra AbMb

La morfología de las muestras de suelo seco es muy variable. Las muestras AaMa y AaMb tienden a formar agregados, los cuales se componen por partículas de diferentes tamaños. Esto podría indicar una alta interacción electrostática. En cambio, en la muestra AbMb se observaron mayormente partículas con estructuras geométricas, uniformes y lisas, debido a su alta proporción de arenas. Esto último sugiere que la disponibilidad de superficies reactivas, que favorezcan la adsorción podría ser limitada.

4.2. Pruebas de adsorción

4.2.1. Tiempo de equilibrio de adsorción

a) *Escherichia coli*

Las concentraciones de bacterias adsorbidas en los suelos varían de acuerdo con la muestra empleada y según el tiempo de agitación. El análisis de varianza de los datos (Anexo VII) concluye que existe un efecto sobre dicha concentración por la interacción del suelo y el tiempo de agitación.

En efecto, una comparación de medias indica cómo varían las concentraciones a través del tiempo. Primero, en la muestra AaMa las concentraciones adsorbidas son estadísticamente iguales de 0.5 a 2 horas, encontrándose un ligero incremento a 1 hora. Por ello, se puede afirmar que a partir de los 30 minutos se alcanza el equilibrio, con capacidad de adsorción de 1.2×10^8 ufc/g para 125 mg de suelo/L. La concentración adsorbida estimada a las 2.5 horas

resulta menor que las anteriores. La eficiencia de remoción en esta muestra es de $79\pm 5\%$ (0.7 ± 0.1 log).

Segundo, en la muestra AaMb la concentración adsorbida a las 0.5 h es la menor determinada durante los tiempos estudiados. A partir de 1 h y hasta 2.5 h el equilibrio se alcanza y se mantiene. La concentración en el equilibrio resultó de 1.45×10^8 ufc/g para la dosis de 125 mg/L de suelo. Por esta razón, el tiempo seleccionado para la fase siguiente fue de 1 hora. Su remoción alcanza el $91\pm 3\%$ (1.1 ± 0.2 log).

Tercero, las concentraciones adsorbidas en el suelo AbMb permanecen constantes durante los cinco tiempos estudiados, por lo que se puede decir que el equilibrio se alcanzó desde los primeros 30 minutos. Por ello, en la siguiente fase experimental el tiempo empleado fue de 30 minutos. La capacidad de retención en este suelo fue de $67\pm 6\%$ (0.5 ± 0.1 log).

La Figura 10 muestra los resultados de las concentraciones adsorbidas de *Escherichia coli* en las tres muestras AaMa, AaMb y AbMb y se comparan con el gráfico mostrado por Fletcher y Loeb (1979) para *Pseudomonas marinas*. En este último, se distingue que para la mayoría de los sustratos empleados sus concentraciones adsorbidas logran el equilibrio durante los primeros 40 minutos.

Los tiempos de equilibrio determinados para AaMa y AbMb coinciden con Farahat *et al.*, (2008) y Guber *et al.* (2005), quienes encontraron que para lograr el equilibrio de adsorción de *E. coli* sobre cuarzo y suelos agrícolas (francos y arenosos) se requería un tiempo menor a 30 min. Para el suelo AaMb el tiempo de equilibrio es mayor. Este retardo puede deberse en este caso al elevado contenido de arcilla (44 %) que hace que las bacterias tengan mayores sitios disponibles y el proceso sea más largo (Theng y Orchard, 1995).

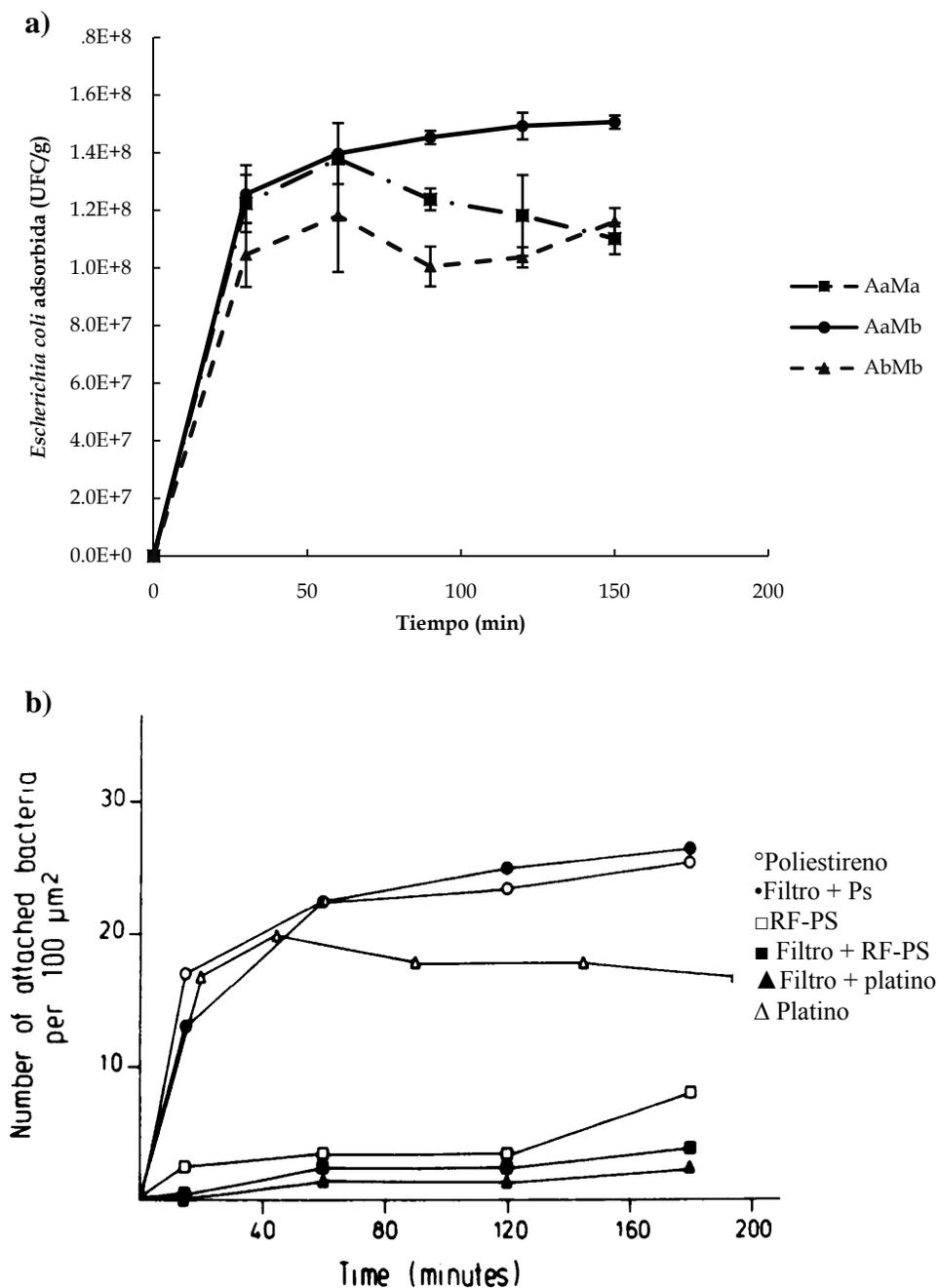


Figura 10. a) Tiempo vs *Escherichia coli* adsorbida en las tres muestras de suelo de este estudio; b) Adhesión de *Pseudomonas marinas* sobre diferentes sustratos.

Por otro lado, la disminución en la concentración adsorbida en la muestra AaMa (42% arcilla, 5% M.O.) a las 2.5 h y la tendencia negativa podría deberse ya sea al desprendimiento

de bacterias, o bien, a su recrecimiento. En el primer caso tres procesos podrían llevarse a cabo: a) El equilibrio alcanzado es tan rápido que ocurre una adsorción reversible (Ferguson *et al.*, 2003), lo cual significaría que las bacterias se transfieren a la superficie de las partículas pero no logran el intercambio de sustancias exopoliméricas necesario para adherirse fuertemente; b) la materia orgánica contenida en el suelo se disuelve rápidamente y deja sitios libres para la adsorción de las bacterias, que son ocupados por *E. coli*; sin embargo, después de un tiempo los compuestos húmicos y fúlvicos disueltos podrían asociarse a las bacterias y alterar su carga haciéndola más negativa, esto resultaría en una repulsión (Johnson y Logan, 1996); c) la afinidad de los sedimentos es mayor hacia la materia orgánica disuelta y existe una fuerte competencia con las bacterias por los sitios de adsorción (Guber *et al.*, 2005).

En el segundo caso, con recrecimiento de bacterias posible, se origina por la presencia de carbono orgánico en esta (3.2%) que promueve su consumo y reproducción. En efecto, los estudios de Tate (1978) y de Unc y Goss (2006) reportan que el recrecimiento de *E. coli* en suelos estériles con estiércol es posible y que sus tasas de crecimiento aumentan durante periodos de días e incluso semanas.

b) *Giardia lamblia*

En las tres muestras AaMa, AaMb y AbMb las concentraciones adsorbidas permanecen constantes a través de los cinco tiempos estudiados. Por tanto, después de realizar el análisis estadístico (Anexo VIII) se afirma que el efecto principal se debe a las diferencias entre los suelos empleados. El efecto por la interacción de los factores (suelo y tiempo) o por el tiempo de agitación es insignificante. Por tanto, se consideró que el equilibrio se alcanzó desde los primeros 30 minutos en las tres muestras.

La Figura 11 muestra los resultados de las concentraciones adsorbidas de *Giardia lamblia* en cada una de las muestras AaMa, AaMb y AbMb. Se observa que el efecto por la presencia de materia orgánica es negativo, reduciendo la remoción de AaMa; mientras que aparentemente no existe variación por presencia de arcilla.

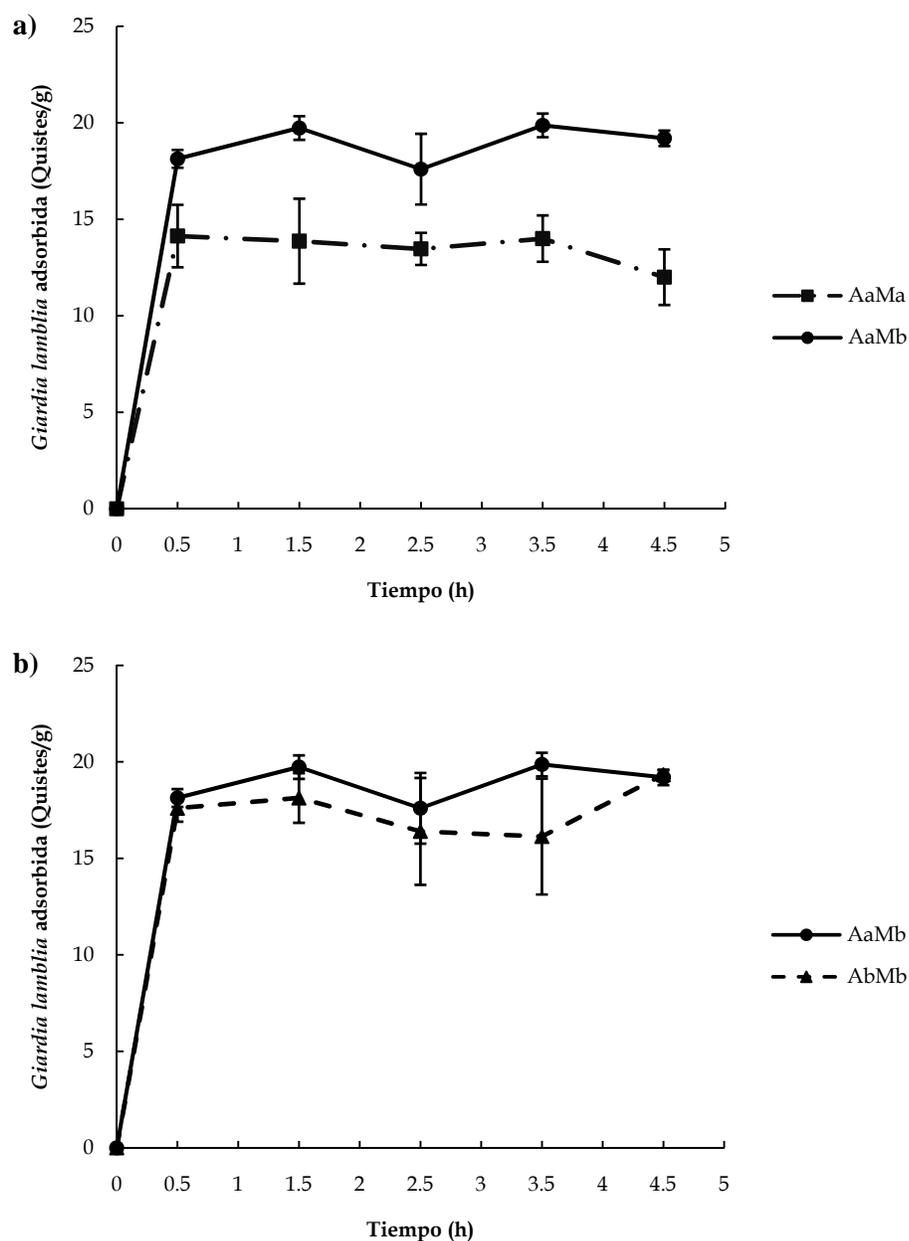


Figura 11. Tiempo vs quistes de *Giardia lamblia* adsorbidos en cada suelo a) Efecto por la presencia de materia orgánica; b) Efecto por la presencia de arcilla

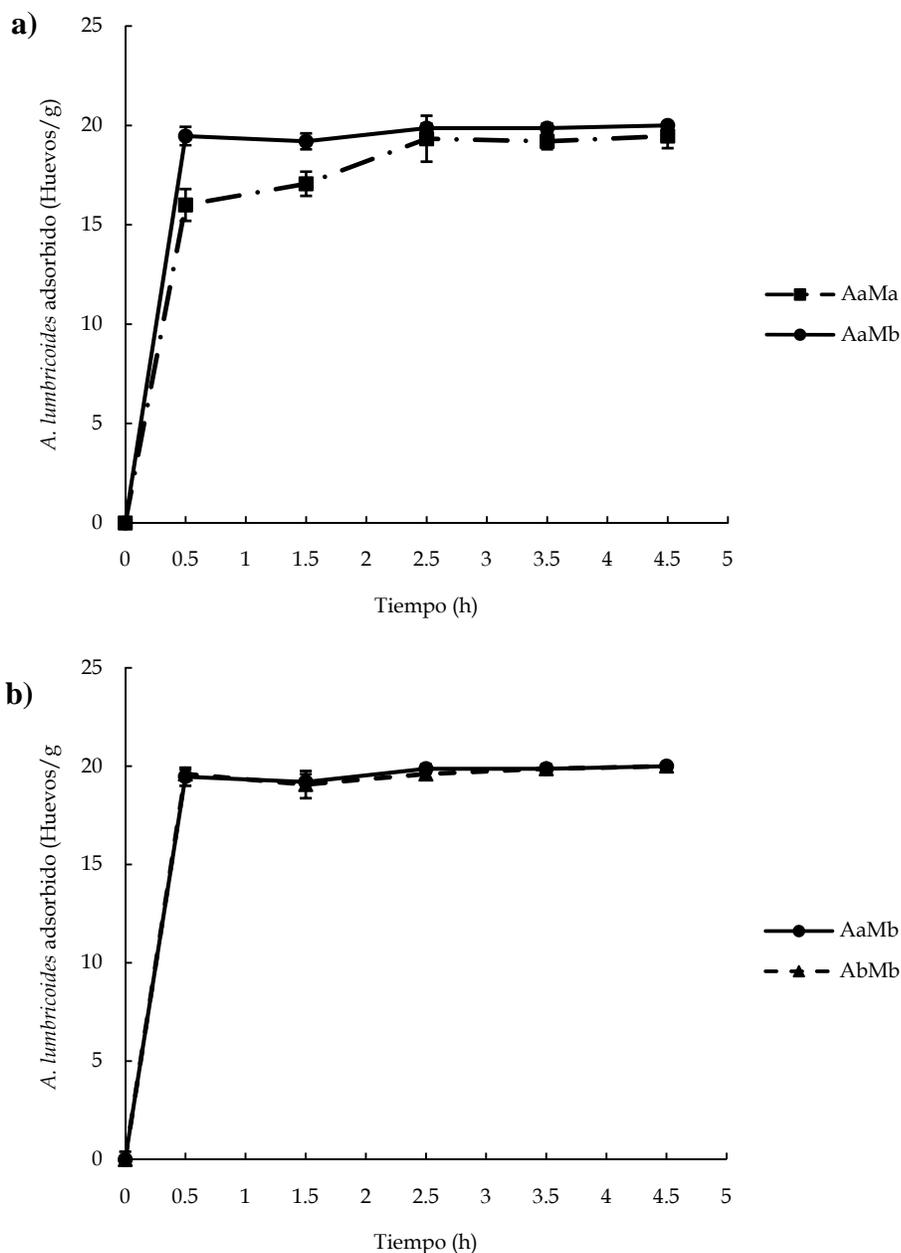
Las capacidades de remoción difieren entre las muestras. El suelo AaMa (42% arcilla, 5% M.O.) fue el menos apto para la adsorción de quistes, ya que sus reducciones sólo lograron el $65\pm 4\%$ (13.1 quistes/g). El suelo AaMb (44% arcilla, 0.6 M.O.), en cambio logró mejores resultados, ya que retuvo hasta el $93\pm 5\%$ (18.50 quistes/g) de la concentración inicial. Por

último, el suelo AbMb (6% arcilla, 0.6 M.O.) tuvo una eficiencia de $86\pm 7\%$ (17.1 quistes/g). De acuerdo con lo anterior, la capacidad de adsorción de AaMb es similar a la de AbMb y un 27% más eficiente que de AaMa. Al respecto, Medema *et al.*, (1998) demostraron que existía una adhesión de manera casi instantánea para aproximadamente el 35% de los quistes añadidos y una reducción del 70% después de 24 horas para flóculos de efluente secundario. En esta tesis, las remociones son mayores en menor tiempo debido quizás a la propia naturaleza de las partículas del suelo.

c) *Ascaris lumbricoides*

Las concentraciones adsorbidas de huevos son afectadas por la interacción de los tiempos y de las muestras de suelo empleados (Anexo IX). El intervalo de tiempo se definió con base a la probabilidad para obtener una remoción aproximada al 100% de huevos de helmintos en media hora (Gaspard *et al.*, 1994). En efecto, el análisis estadístico demostró que dichas concentraciones son constantes en todos los tiempos estudiados para los suelos AaMb y AbMb. Por lo tanto, para estas muestras el equilibrio se alcanza por lo menos a los 30 minutos. En cambio, el suelo AaMa muestra un retardo para alcanzar el equilibrio, el cual se logra a partir de las 2.5 h. El tiempo de 2.5 horas fue el seleccionado para evaluar la siguiente fase experimental. En la Figura 12 se presentan los resultados de la concentración de huevos adsorbidos para todos los suelos.

En el suelo AaMa se logra una remoción del $80\pm 4\%$ durante los primeros 30 minutos, aunque después de las 2.5 h alcanza $97\pm 1\%$. En cambio, los suelos AaMb y AbMb muestran capacidades de adsorción ligeramente mayores ($98\pm 2\%$ y $99\pm 1\%$ respectivamente) durante los primeros 30 minutos, las cuales se mantienen a través de los tiempos estudiados. En el equilibrio (a partir de 2.5 horas) la eficiencia de remoción de las tres muestras de suelo es similar. Al respecto, la investigación de Gaspard *et al.* (1994) sobre la adhesión de *Ascaris suum* en el polvo de vidrio de borosilicato reportó una remoción de $81\% \pm$ a los 30 minutos. Esto es prácticamente consistente con la eficiencia en el suelo AaMa en el mismo tiempo y resulta en un valor menor para los suelos AaMb y AbMb.



**Figura 12. Gráfico Tiempo vs huevos adsorbidos de *Ascaris lumbricoides* en los tres suelos
a) Efecto por la presencia de materia orgánica; b) efecto por la presencia de arcilla**

Ahora bien, las diferencias entre capacidades de remoción encontradas entre las muestras AaMa y AaMb, indican que la presencia de altos porcentajes de materia orgánica actúan de manera desfavorable durante las primeras horas de contacto. Posteriormente, es posible que los huevos de *Ascaris lumbricoides* puedan permanecer estables después de un

tiempo considerable y que por lo mismo se observan eficiencias comparables a las de los otros suelos.

Por otro lado, el hecho de que las concentraciones adsorbidas entre el AaMb y AbMb sean iguales (Anexo IX) sugiere que los huevos tienen la capacidad de adherirse tanto a las arcillas como a las arenas. Esto se podría deber a que la naturaleza de dichas partículas es similar, por una parte, las arcillas esmectíticas contienen una capa tetraédrica de $\text{Si}(\text{O},\text{OH})_4$ (Huang et al., 1998), mientras que en las arenas su principal componente es el óxido de silicio (SiO_2). Esto coincide prácticamente con Gaspard *et al.* (1994) y Cappizzi y Schwartzbrod (2001) en el que demostraron que *Ascaris suum* tiene una alta afinidad a los materiales con silicio, como el vidrio de borosilicato.

d) Comparativa de remociones para los organismos en estudio

Los suelos tienen eficiencias de remoción que dependen tanto de las características del suelo como de la especie estudiada. En la Tabla 8 se presentan las remociones de cada microorganismo en cada una de las muestras de suelos en el equilibrio.

Tabla 8. Porcentajes de remoción (%) de cada organismo en cada suelo

Suelo	Composición del suelo (%)			Remoción (%)		
				<i>E. coli</i>	<i>G. lamblia</i>	<i>A.lumbricoides</i>
AaMa	Fracción mineral	Arcillas	42±1	79±5% (<1 log)	65±4%	97±1%
		Limo	31±4			
		Arenas	27±3			
	Materia orgánica	5.4				
AaMb	Fracción mineral	Arcillas	44±4	91±3% (>1 log)	93±5%	98±2%
		Limo	20±1			
		Arenas	37±3			
	Materia orgánica	0.6				
AbMb	Fracción mineral	Arcillas	6.0	67±6% (<1 log)	86±7%	99±1%
		Limo	24			
		Arenas	70			
	Materia orgánica	0.6				

El suelo que mejor retención presenta para *E. coli* es AaMb (alta arcilla y baja materia orgánica), seguido por AaMa (alta arcilla y materia orgánica) y finalmente AbMb (alta arcilla y baja materia orgánica). Cabe aclarar que los porcentajes presentados sirven para comparar la eficiencia de los suelos, ya que para efectos prácticos las concentraciones de bacterias adsorbidas son poco significativas (de 0 a 1 log).

En cuanto a *G. lamblia* las eficiencias son mayores en las muestras AaMb y AbMb, las cuales independientemente de su textura presentan bajo contenido de materia orgánica (0.6%), mientras que la muestra AaMa es la que menos adsorbe.

Por último, las remociones de *A. lumbricoides* son iguales en los tres suelos y cercanas al 100%, por lo que en el equilibrio no hay efecto por la materia orgánica o por la arcilla.

4.2.2. Isotermas de adsorción

a) *Escherichia coli*

Las concentraciones de *Escherichia coli* adsorbidas en cada suelo se ajustaron a los modelos de las isotermas de Freundlich y Langmuir, de este último se probaron dos linealizaciones (Anexo X). Los coeficientes de regresión de los modelos ajustados se encuentran en la Tabla 9. Al respecto, el modelo de Freundlich es el que mejor describe la adsorción de *E. coli* en las tres muestras de suelo empleadas. Las muestras AaMa y AaMb tienen una mejor correlación (0.983 y 0.928 respectivamente) que la encontrada para el suelo AbMb (0.854). Los ajustes del modelo de Freundlich para cada muestra se observan en la Figura 13.

Tabla 9. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para *Escherichia coli*

Suelo	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
AaMa	0.983	0.485	0.980
AaMb	0.928	0.004	0.916
AbMb	0.854	0.436	0.849

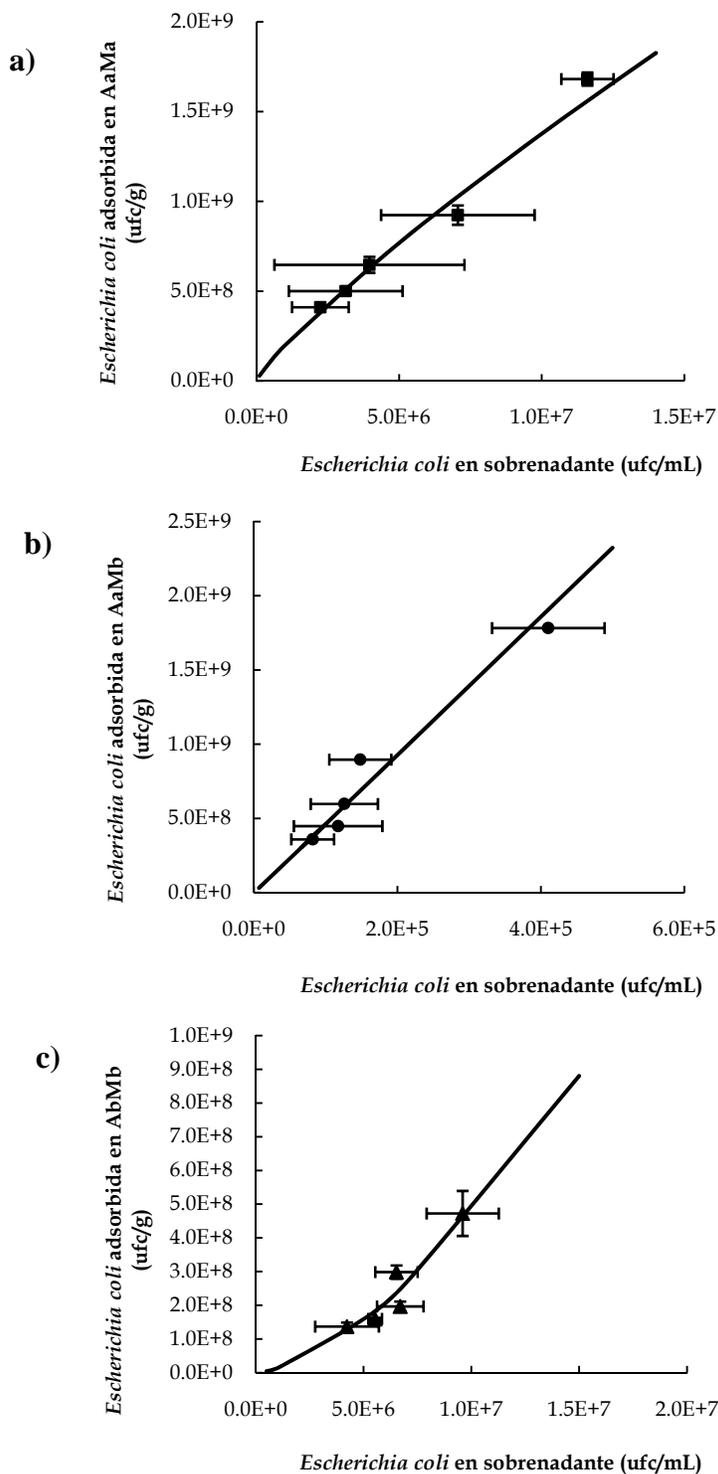


Figura 13. Isotermas de Freundlich para la adsorción de *Escherichia coli* en:
a) suelo AaMa, b) suelo AaMb y c) suelo AbMb

Las constantes calculadas para dichos ajustes se encuentran en la Tabla 10. Diferentes autores (Deng *et al.*, 2008, Jiang *et al.*, 2007, Smith y Badawy, 2007, Nola *et.al.*, 2005) han descrito también la adsorción de *E. coli* sobre diferentes sustratos por medio de este modelo; por ello, en dicha tabla también se presentan los resultados obtenidos por éstos.

Tabla 10. Constantes de Freundlich obtenidas para la adsorción de *Escherichia coli* sobre diferentes sustratos

Sustrato	MO	Kf	1/n	n	Referencia
Arena "Oamaru sílica" gruesa (>500 µm)	Eliminada	0.0109	1.367	0.511	Jiang <i>et al.</i> , 2007
Arena "Oamaru sílica" finos (<500 µm)	Eliminada	10.98	1.299	0.770	Jiang <i>et al.</i> , 2007
Carbón nanotubos	-	1.67×10^8	0.410	2.438	Deng <i>et al.</i> , 2008
Suelo ferrolaterítico (H-7)	4.14mg/g	19	1.002	0.998	Nola <i>et.al.</i> , 2005
Suelo ferrolaterítico (H-8)	4.35mg/g	4026	0.584	1.712	Nola <i>et.al.</i> , 2005
Suelo 1	0.5	6.4	0.415	2.410	Smith and Badawy, 2007
Suelo 3	1.5	13.4	0.397	2.519	Smith and Badawy, 2007
AaMa	5.4	1,821.4	0.839	1.191	Este estudio
AaMb	0.6	4,340.1	1.005	0.995	Este estudio
AbMb	0.6	0.006	1.558	0.642	Este estudio

MO:Materia orgánica; Kf:Constante de Freundlich; n: Grado de linealidad

La constante de adsorción estimada para AaMb es al menos dos veces mayor que la encontrada para AaMa y 7×10^5 veces mayor que la de AbMb. Esto último indica que la muestra con 0.6 % de materia orgánica y 42% de arcilla (AaMb) tiene la mayor capacidad para adsorber *E. coli*, mientras que el suelo AbMb (arenoso y con bajo contenido de materia orgánica) es el menos apto para llevar a cabo dicha adsorción. Cuando se comparan las constantes entre los suelos arcillosos AaMa (5% M.O.) y AaMb (0.6% M.O.), se demuestra que la presencia de materia orgánica reduce significativamente la capacidad de adsorción en los suelos. Por otro lado, el contraste entre las constantes de las muestras con ~ 0.6% de materia orgánica AaMb (44% arcilla) y AbMb (6% arcilla), evidencia que las texturas arcillosas

favorecen la adsorción de *E. coli*, mientras que las arenosas tienden a tener capacidades considerablemente menores.

De acuerdo con la bibliografía consultada, se encontró que los coeficientes de intensidad (n) de adsorción en fracciones arenosas varían entre 0.5 y 0.8 (Jiang *et al.*, 2007). El coeficiente encontrado para AbMb se encuentra dentro de éste, por lo que su comportamiento resulta similar. Los coeficientes n de las dos muestras restantes son muy cercanos a 1, por lo que se encuentran dentro de los rangos reportados en la bibliografía consultada (0.99 a 2.5) y son similares a los de los suelos estudiados por Nola *et al.* (2005). En cambio, las constantes de adsorción de AbMb son menores a las reportadas por Jiang *et al.* (2007), a pesar de que esta muestra también posee arcillas (6%), lo cual debería proveer más superficie de reacción que las arenas comparadas. La muestra AaMb tiene un coeficiente de adsorción similar al horizonte H8 estudiado por Nola *et al.* (2005), aunque la textura no se reporta. Entonces, se puede afirmar que las constantes determinadas para la adsorción de *E. coli* difieren entre un autor y otro. Esto se debe a la amplia variabilidad entre las condiciones experimentales y a las características intrínsecas de los sustratos estudiados, los cuales no coinciden entre ninguno de los estudios reportados.

La adsorción de bacterias incluye interacciones de diferente tipo, predominantemente electrostáticas o hidrofóbicas. Las primeras incluyen una contradicción de conceptos dado que tanto las arcillas como las bacterias poseen cargas negativas, aunque dichas interacciones pueden explicarse por medio de la teoría de la doble capa. No obstante, las bacterias pueden excretar sustancias exopolisacáridos, para adherirse y formar biopelículas en tiempos muy cortos. Dichas sustancias podrían tener cationes polivalentes y enlazar a las bacterias con los minerales del suelo (Theng y Orchard, 1995).

La materia orgánica en este experimento resultó desfavorable para la adsorción, lo cual coincide con Jonhson y Logan (1996), los cuales explican que la materia orgánica disuelta en el suelo disminuye la adsorción. Asimismo, Guber *et al.* (2005) demuestran que al añadir excremento se reduce la adsorción de las bacterias. Esto se relaciona con el carbono orgánico añadido en los suelos del Valle de Tula. Dicho carbono resulta de la aportación del agua residual y a su vez proviene de las excretas humanas. La materia orgánica disuelta podría tener

compuestos similares a los de las superficies de la membrana y por ello resultar en una competencia para la propia fijación de un material u otro. De manera opuesta, Smith y Badawy (2007) concluyeron que en sus suelos agrícolas la presencia de materia orgánica resultaba favorable. Sin embargo, su muestra “suelo 1” se especifica como “ligeramente areno-arcillosa” y la muestra “suelo 3” es arcillosa; por lo que los suelos más arcillosos presentan más remoción, a pesar de tener altos contenidos de materia orgánica, mientras que en los arenosos las adsorciones son más bajas, tal como indicaban los resultados de esta tesis. Por todo lo anterior, futuras investigaciones deben considerar distinguir los compuestos presentes en dicha materia orgánica.

Además de todo lo anterior, en la Figura 14 se observa la micrografía de la interacción del suelo AaMb con las bacterias. *E. coli* se adhiere al suelo y tienden a formar biopelículas en tiempos muy cortos (1 hora). Las observaciones demuestran que las arcillas se aglutinan sobre las bacterias una vez que éstas se han adherido a partículas de tamaño medio, como los limos, por lo que dicha adsorción también involucra a estas partículas. Es posible también que se adhieran con arcillas de su mismo tamaño sobre su superficie. En ambos casos tienden a formar agregados muy grandes en combinación con las sustancias de las biopelículas. Cabe destacar que a pesar de la saturación, algunos limos y arenas tenían muy pocas bacterias (Figura 15).

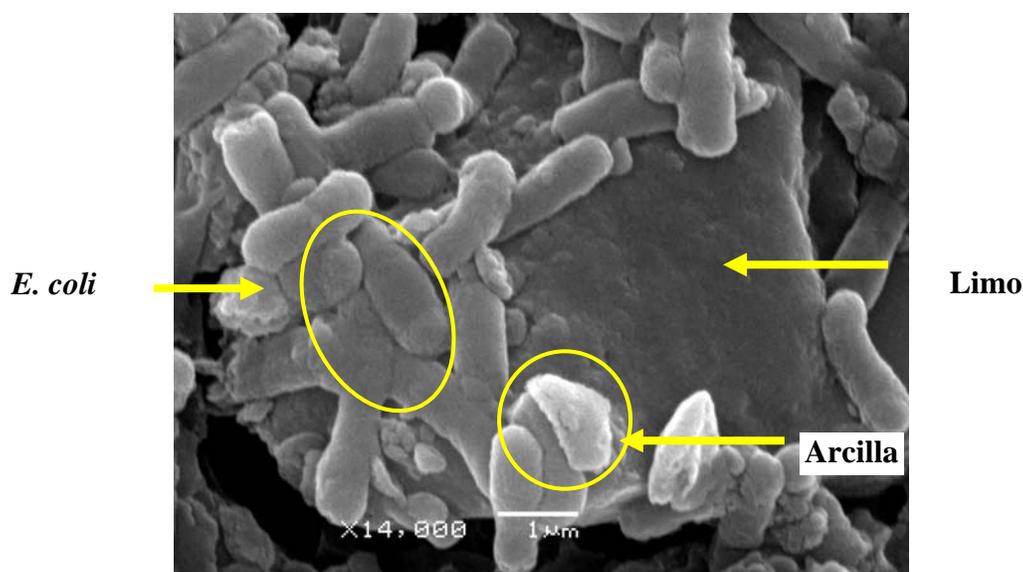


Figura 14. *Escherichia coli* adsorbida en suelo AaMb (x 14,000)

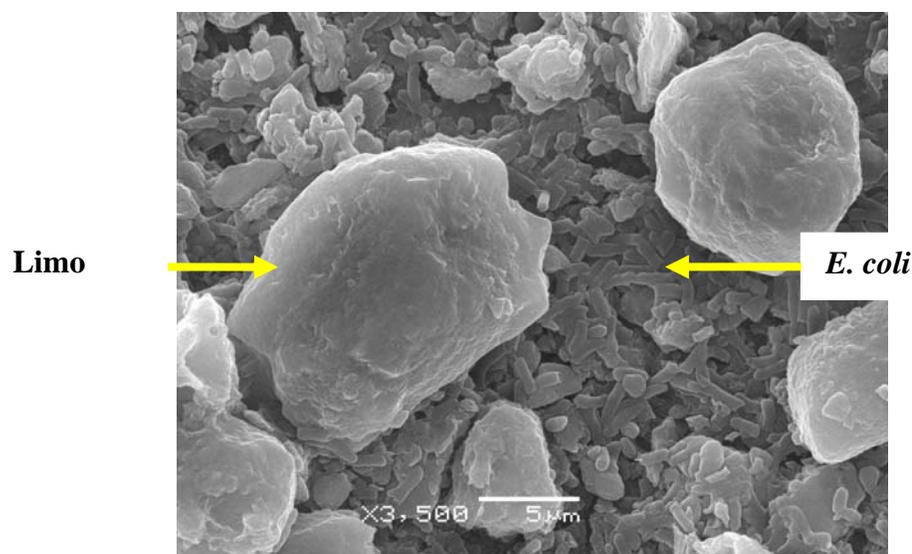


Figura 15. Algunos limos y arenas no muestran adsorción de *Escherichia coli*, a pesar de la saturación de bacterias en la muestra (x 3,500)

b) *Giardia lamblia*

Las concentraciones de *G. lamblia* adsorbidas en cada suelo no se ajustaron a los modelos de las isotermas de Freundlich y Langmuir mencionados anteriormente (Anexo XI). Los coeficientes de regresión para dichos modelos se encuentran en la Tabla 11. El ajuste de Langmuir (tipo I) parece tener correlación con los suelos AaMa y AaMb, mientras que un modelo Freundlich simula poder predecir el comportamiento de AbMb. Sin embargo, en todos los casos las constantes determinadas son negativas, por lo tanto dichos modelos no describen al fenómeno.

Tabla 11. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para *Giardia lamblia*

Suelo	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
AaMa	0.549	0.730	0.640
AaMb	0.453	0.790	0.589
AbMb	0.902	0.895	0.600

Las concentraciones de quistes encontrados en los sobrenadantes son menores a los de la concentración inicial, por lo que existe una reducción. Sin embargo, no se expresa una relación proporcional a las concentraciones de suelo empleadas. Dado lo anterior, el modelo de

Freundlich no podría emplearse para representar al fenómeno, ya que asume que existe un aumento en la adsorción al aumentar la concentración del adsorbente. El modelo de Langmuir tampoco describió al fenómeno y esto puede deberse a que el suelo es una matriz compleja y heterogénea, en lugar de un adsorbente con sitios definidos e iguales. Es probable, que se esté presentando una adsorción más compleja, que no pueda ser descrita por los modelos empleados en el ajuste y que convendría explorar en un trabajo posterior.

Algunas investigaciones de *Giardia lamblia* (Searcy *et al.*, 2005; Dai *et al.*, 2004; Medema *et al.*, 1998) afirman que los quistes pueden adherirse a diferentes sustratos, aunque Dai y Boll (2003) demostraron la nula interacción de los quistes con las partículas de suelo. En este experimento podría ocurrir que la proporción de las interacciones suelo-quiste sean muy bajas y que no sea posible diferenciarlas porque los quistes permanezcan en el sobrenadante. Pero también, la suspensión de quistes adquirida contenía un reactivo químico (formol 5%), que pudo haber alterado a los compuestos de la pared quística que sirven para la adhesión.

En la Figura 16 se observa la interacción de uno de los quistes de *Giardia lamblia* con el suelo AaMb. Cabe destacar que fue particularmente difícil encontrar a los quistes en esta muestra, debido a la similitud de éstos con las partículas del suelo y a que entre las partículas observadas hubo muy poca interacción.

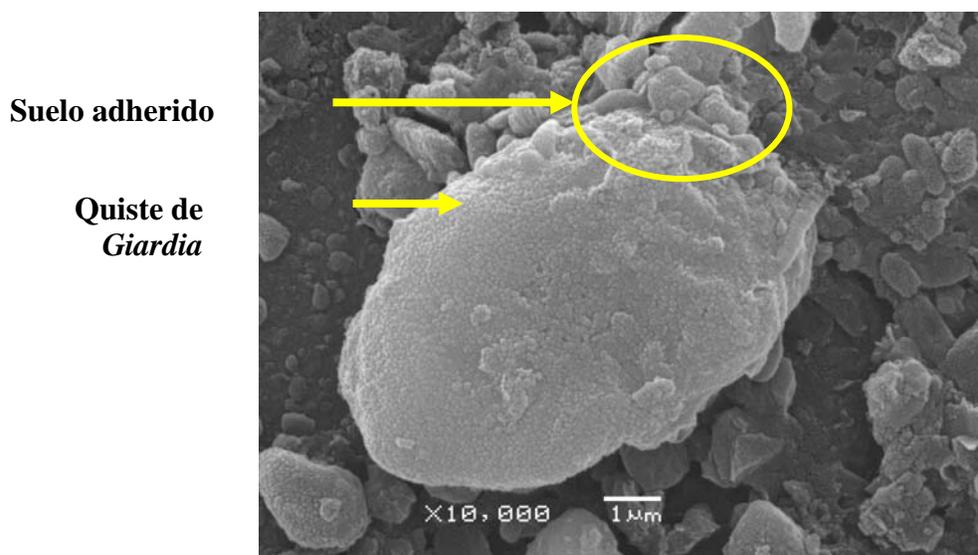


Figura 16. Quistes de *Giardia lamblia* en suelo AaMb (x10,000)

c) *Ascaris lumbricoides*

Las concentraciones de *Ascaris lumbricoides* adsorbidas en los suelos AaMa y AbMb se ajustaron a los modelos de las isothermas mencionados anteriormente (Anexo XII). Los coeficientes de regresión de los modelos ajustados se encuentran en la Tabla 12. En la muestra AaMb no se logró realizar el ajuste, ya que sus eficiencias de remoción fueron del 100 % para la mayoría de las concentraciones de suelo (0.025-0.125 g/mL) y sus lecturas en los sobrenadantes fueron de cero.

Tabla 12. Coeficientes de regresión de los ajustes lineales de cada modelo empleado para *A. lumbricoides*

Suelo	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
AaMa	0.194	0.237	0.312
AbMb	0.667	0.093	0.903

El modelo Langmuir tipo II tiene el mayor coeficiente de correlación para la muestra AbMb ($R^2=0.903$); sin embargo, dado que su constante y su concentración máxima resultaron negativas dicho modelo no es adecuado. Por ello, se empleó el modelo de Freundlich ($R^2=0.667$) para describir su adsorción, la cual puede observarse en la Figura 17. Su constante fue de 741.3 y su coeficiente n es de 0.7. Por otro lado, la muestra AaMa tuvo correlaciones muy bajas en las linealizaciones de los modelos descritos anteriormente.

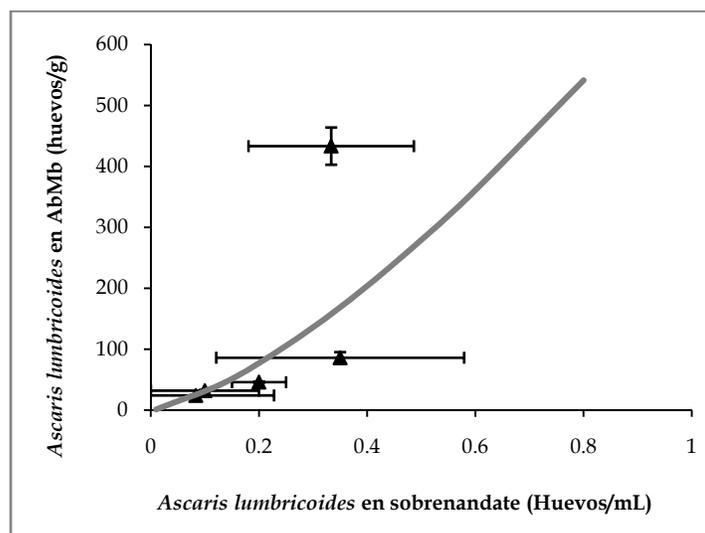


Figura 17. Isothermas de Freundlich para la adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AbMb

Los estudios relacionados con la adhesión de huevos de helmintos son muy escasos y se limitan al estudio de *Ascaris suum* (Gaspard *et al.*, 1994; Cappizzi y Schwartzbrod, 2001). Los sustratos empleados en tales estudios son sintéticos y no incluyen al suelo. En el estudio de Gaspard *et al.*, (1994) no se intenta explicar el fenómeno a partir de los modelos clásicos de isotermas de adsorción, sino que describen los porcentajes de reducción sobre los sustratos y estudian la influencia de diferentes condiciones en el experimento.

Los modelos clásicos de isotermas (Freundlich y Langmuir) han servido para explicar la adsorción de microorganismos más pequeños, como los virus y las bacterias. Sin embargo, en la muestra AaMa dichas isotermas no son útiles para describir el fenómeno llevado a cabo. Esto puede deberse a los propios postulados de los modelos, en el caso de Langmuir se asume una homogeneidad en el adsorbente y la nula interacción entre los huevos de helmintos, lo cual no es posible corroborar, dado que la propia naturaleza biológica de la superficie del huevo permitiría establecer enlaces entre ellos mismos. En cambio, en la muestra AbMb, el suelo más arenoso y de bajo contenido de materia orgánica se empleó un modelo Freundlich, que resultó más adecuado que el anterior, ello por la relación entre la cantidad de adsorbente y material adsorbido, así como que concuerda con la naturaleza heterogénea del suelo. De acuerdo con el tamaño de los huevos de *Ascaris* se debe suponer que las partículas de arcilla se adhieren sobre la superficie de éstos (Figura 18), y a su vez otras partículas se unen a la superficie para formar conglomerados más complejos.

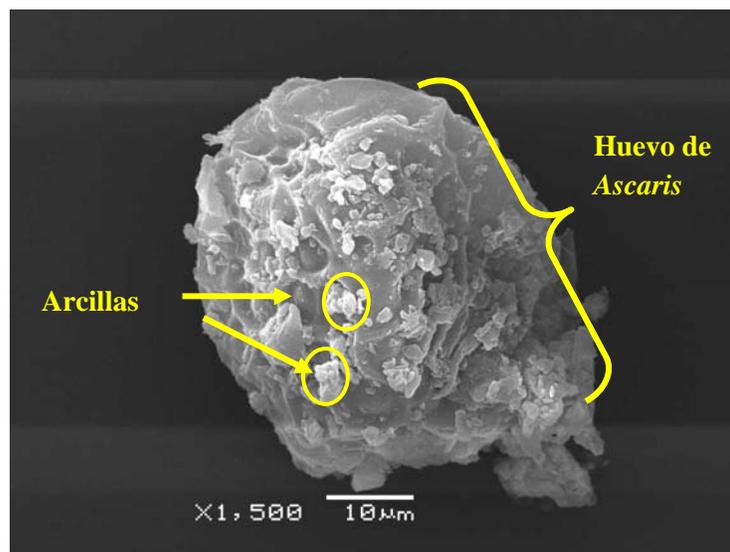


Figura 18. Adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AbMb (x 1,500)

4.2.3. Pruebas de desorción

a) *Escherichia coli*

La recuperación de las bacterias de la fase sólida se llevó a cabo por medio de dos lavados simples con solución salina estéril. En el primer lavado las recuperaciones fueron para AaMa del $13\pm 7.6\%$, para AaMb de $2.8\pm 1.2\%$ y en AbMb de $22.8\pm 9.0\%$. Entonces, al parecer las bacterias quedaron más retenidas en los suelos arcillosos que en el suelo arenoso, siendo el que tiene menos materia orgánica en el que se quedaron más fijas.

En el caso del segundo lavado sólo se pudo cuantificar la recuperación para AbMb de $11.8\pm 5.0\%$. El total recuperado en esta muestra fue del $34.7\pm 11.8\%$. En las muestras arcillosas, AaMa y AaMb, sucedió lo contrario a lo esperado y la concentración de bacterias aumentó para esa dilución. Entonces, esto último sugiere que en este segundo lavado existe un desprendimiento total de las bacterias o bien un recrecimiento. Para la muestra AaMa podría haber un desprendimiento total, por la interacción desfavorable con la materia orgánica, o bien, que las bacterias utilicen las fuentes de carbono y su número aumente. En el caso de AaMb se ha demostrado que las bacterias son capaces de sobrevivir en ambientes arcillosos, es probable que esto esté beneficiando su tiempo de vida.

b) *Giardia lamblia*

Los porcentajes de recuperación de los quistes de la fase sólida a partir del lavado simple con agua destilada son considerables (Tabla 13), especialmente para las muestras AaMa y AbMb. Para el segundo lavado se encontró que el tween tenía cierta reacción, por lo que se decidió probar otro lavado simple en lugar de este surfactante. Luego del segundo lavado no hubo cambios significativos en su recuperación. Cabe destacar que las concentraciones de quistes en los sobrenadantes tienen amplia variación. Esto puede ocurrir debido a que en esta fase no todas las arcillas sedimentan.

Tabla 13. Porcentajes de recuperación de quistes de la fase sólida (2.5 g)

Tratamiento	AaMa	AaMb	AbMb
Lavado	37.0±21.6	20.5±11.1	37.1±23.5
Doble lavado	19.6±7.4	30.1±7.2	46.7±24.7
Total	56.5±20.3	50.6±4.6	83.8±45.8

La recuperación más alta se logró en la muestra arenosa (AbMb) mientras que para las muestras arcillosas fueron menores (AaMa y AaMb), tal como se muestra en la Figura 19.

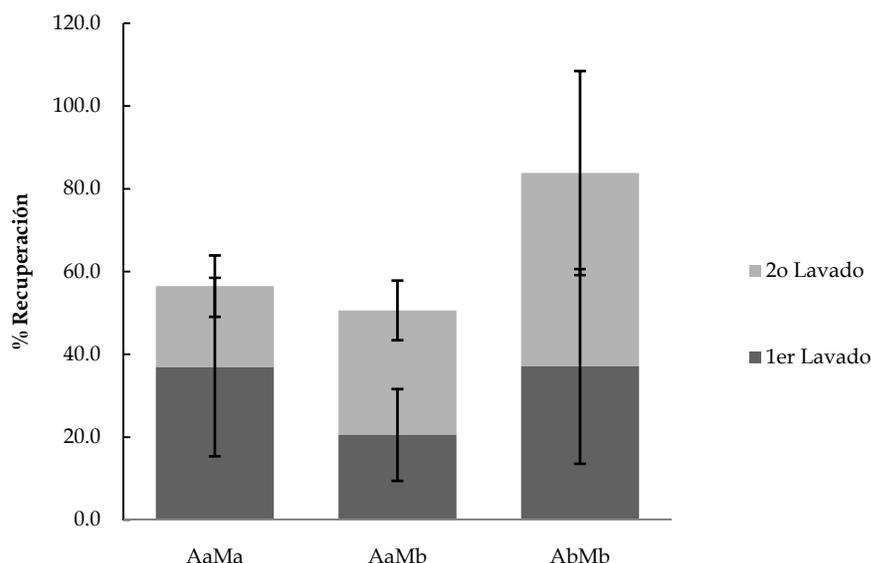


Figura 19. Porcentajes de recuperación de *Giardia lamblia* de cada suelo mediante lavados simples

c) *Ascaris lumbricoides*

Los porcentajes de recuperación de huevos adsorbidos a partir del lavado simple con solución salina son muy bajos o incluso nulos, como en el caso de AaMb. En cambio, después de la aplicación de hipoclorito de sodio dichos porcentajes se incrementaron hasta 11.8% ±1.2 para AaMa, 17.5±4.4 para AaMb y 7% ±3 para AbMb (Figura 20). De acuerdo con lo anterior, la capacidad de los suelos para mantener fijados a los huevos disminuye de AbMb > AaMa > AaMb. Al respecto, Gaspard *et al.*(1994) compararon diferentes detergentes y encontraron que los porcentajes de recuperación de huevos adsorbidos al polvo de vidrio eran del 99% cuando

se aplicaba hipoclorito de sodio (2°), ya que suprimía prácticamente todas las propiedades de fijación de la membrana externa. En esta tesis, aunque dichos porcentajes son mayores que cuando se realiza un lavado simple, no se alcanzan valores tan altos, lo que haría suponer que la adhesión es muy fuerte o que existe alguna interacción no considerada, ya que un suelo no se comporta como el vidrio.

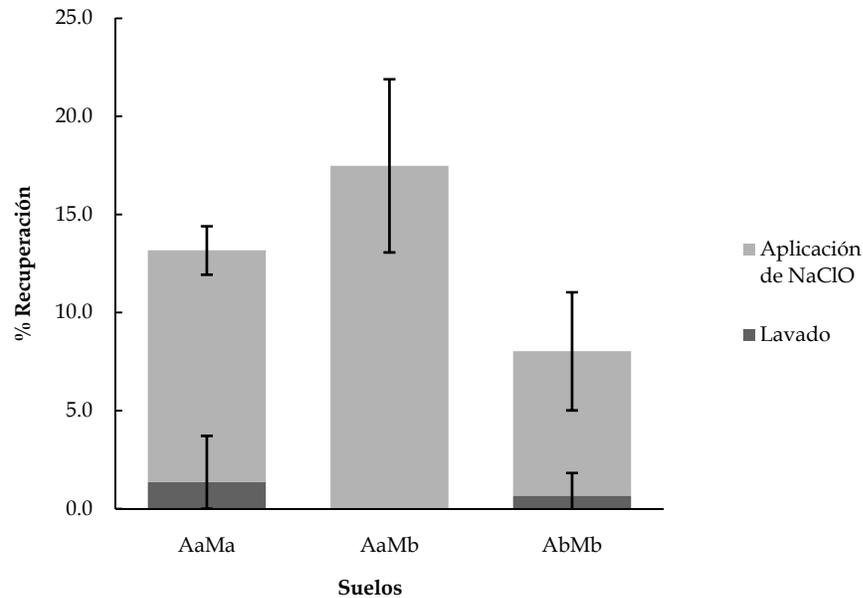


Figura 20. Porcentajes de recuperación de *Ascaris lumbricoides* de cada suelo mediante lavado simple y aplicación de hipoclorito de sodio

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES

5. Conclusiones

De acuerdo con la revisión bibliográfica y los datos experimentales obtenidos en esta tesis se concluyen los siguientes puntos:

- a) La literatura acerca de la adsorción de microorganismos ha sido estudiada en mayor medida en las bacterias, existen unos cuantos estudios sobre protozoarios y muy pocos en huevos de helmintos. De toda la información estudiada se puede decir que existe una amplia variabilidad entre las condiciones experimentales y los sustratos empleados, por lo que sus resultados no siempre coinciden. Por todo lo anterior, se puede afirmar que la literatura además de ser escasa es contradictoria.
- b) En el equilibrio, el suelo AaMb logró las remociones más altas de *Escherichia coli* (91%), seguido por AaMa (79%) y finalmente AbMb (67%). Por tanto, los suelos arcillosos adsorben en mayor medida a las bacterias con respecto al suelo arenoso. En cambio, la capacidad de remoción de esta bacteria disminuye cuando altos porcentajes de materia orgánica están presentes en los suelos arcillosos.
- c) Las remociones de los quistes de *Giardia lamblia* en los suelos AaMb y AbMb son iguales, por lo que se afirma que no existe efecto por la presencia o disminución en la arcilla. En cambio, la materia orgánica afecta negativamente la capacidad de adsorción, ya que reduce significativamente las remociones cuando está presente.
- d) Los suelos estudiados tienen eficiencias mayores al 97% para adsorber a los huevos de *Ascaris lumbricoides*, por lo que en el equilibrio no existe efecto por la presencia de arcilla o de materia orgánica.
- e) La adsorción que se presenta en los suelos AaMa, AaMb y AbMb para remover a *Escherichia coli*, así como en el suelo AbMb para *Ascaris lumbricoides* se presenta en una monocapa e indica que la superficie es heterogénea (implicaciones del modelo de Freundlich). Sin embargo, la adsorción de *Giardia lamblia* con los suelos estudiados y

de *Ascaris lumbricoides* en AaMa no se ajustan a los modelos empleados, esto requeriría de un estudio posterior.

- f) Los suelos que por mostrar las menores retenciones podrían aumentar el riesgo de la migración de microorganismos al acuífero son: AbMb cuando se trate de *Escherichia coli* y AaMa cuando sea *Giardia lamblia*. Los tres suelos adsorben a *Ascaris lumbricoides*.

- g) Estos experimentos demuestran que la adsorción se presenta en suelos del Valle de Tula, con diferentes texturas y contenidos de materia orgánica, para los organismos estudiados. Los resultados obtenidos sirven como pauta para experimentos posteriores a realizarse en columnas, con los cuales se comparará su influencia en el modelo de general de transporte de contaminantes hacia el acuífero.

BIBLIOGRAFÍA

6. Bibliografía

- 6.1. Aboul T. A. T. y Simoneit B. R. T. (2001) *The Handbook of Environmental Chemistry* Vol. 5, parte E, Pollutant-solid phase interactions, mechanism, chemistry and modeling. Edit. Springer. Alemania.
- 6.2. Aguilar, A. (2006) Determinación del tipo de membrana óptimo para potabilizar el agua del acuífero de Tula. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 254 págs.
- 6.3. APHA, AWWA y WEF (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, Method 9222D, 20th edition, Edit by American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) y Water Environment Federation (WEF), USA
- 6.4. Bales R.; Hinkle S.; Kroeger W.T.; Stocking K.; Gerba C. (1991) Bacteriophage adsorption during transport through porous media: Chemical perturbations and reversibility. *Environmental science and technology*. **25** (12): 2088-2095.
- 6.5. Berns A.E.; Philipp H.; Narres H.-D., Burauel P.; Vereecken H.; Tappe W. (2008) Effect of gamma-sterilization and autoclaving on soil organic matter structure as studied by solid state NMR, UV and fluorescence spectroscopy. *European Journal of Soil Science*. **59** (3): 540–550
- 6.6. Bitton G.; Marshall K. C. (1980) *Adsorption of Microorganisms to Surfaces*, edit by John Wiley & Sons Inc, USA. 452 pages
- 6.7. Bitton, G. (1994) *Wastewater Microbiology*, edit by Wiley-Liss, USA. 478 págs.
- 6.8. Bitton, G.; Gerba C. (1994) *Groundwater Pollution Microbiology*, edit by Krieger publishing company, USA. 377 pages
- 6.9. Blumenthal U.; Cifuentes E.; Bennett S.; Quigley M.; Ruiz-Palacios G.; (2001) The risk of enteric infections associated with wastewater reuse: the effect of season and degree of storage of wastewater. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine And Hygiene*. **95**(2): 131-137.
- 6.10. Breen P. J.; Compadre C. M.; Fifer E. K.; Salari H.; Serbus D. C.; Lattin D. L. (1995) Quaternary ammonium compounds inhibit and reduce the attachment of viable *Salmonella typhimurium* to poultry tissues. *Journal of Food Science*. **60** (6): 1191-1196.
- 6.11. British Geological Survey BGS, Nacional Water Commission of Mexico, London School of Hygiene and Tropical Medicine and University of Birmingham (1998) Impact of Wastewater Reuse on Groundwater in the Mezquital Vally, Hidalgo State, Mexico. Final Report November 1998. BGS Technical Report WC/98/42, Keyworth, Nottingham PAGES
- 6.12. Busscher H. Dijkstra R. J. B.; Langworthy D. E.; Collias D. O.; Bjorkquist D. W.; Mitchell M. D.; Van der Mei H. C. (2008) Interaction forces between waterborne bacteria and activated carbon particles. *Journal of Colloid and Interface Science*. **322** (1): 351-357.
- 6.13. Capizzi S.; Schwartzbrod, J.; (2001) Surface properties of *Ascaris suum* eggs: hydrophobic potential and Lewis acid–base interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **22**(2): 99-105
- 6.14. Cifuentes E.; Blumenthal U.; Ruiz-Palacios G.; Bennett S.; Peasey A. (1994) Escenario epidemiológico del uso agrícola del agua residual: El Valle del Mezquital, México. *Salud Pública Méx.* **36** (1):3-9.

- 6.15. Cifuentes E.; Gomez M.; Blumenthal U.; Tellez-Rojo M.; Romieu I.; Ruiz-Palacios G.; Ruiz-Velazco S. (2000) Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **62**(3): 388–392.
- 6.16. Comisión Nacional del agua CONAGUA (2007) Estadísticas del agua en México, México. 259 págs.
- 6.17. Cunningham A.; Sharp R.; Caccavo F.; Gerlach R. (2007) Effects of starvation on bacterial transport through porous media. *Advances in Water Resources*. **30** (6-7): 1538-1592.
- 6.18. Dai X.; Boll J. (2003) Evaluation of attachment of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* to Soil Particles. *Journal of Environmental Quality*. **32**(11): 296–304
- 6.19. Dai X.; Boll J.; Hayes M.E.; Aston D.E. (2004) Adhesion of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* to solid surfaces: the role of surface charge and hydrophobicity. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. **34**(4): 259-263
- 6.20. Deng S.; Upadhyayula V. K. K.; Smith G. B.; Mitchell M. C. (2008) Adsorption equilibrium and kinetics of microorganisms on single-wall carbon nanotubes. *IEEE Sensors Journal*. **8** (6): 954-962
- 6.21. Downs T.; Cifuentes, E.; Mel I. (1999) Risk screening for exposure to groundwater pollution in a wastewater irrigation district of the Mexico City region. *Environmental Health Perspectives*. **107** (7): 553-561 Disponible en línea a partir del 3 de Junio de 1999. <http://www.ehponline.org/members/1999/107p553-561downs/downs-full.html>
- 6.22. Farahat M.; Hirajima T.; Ssaki K.; Aiba Y.; Doi K. (2008) Adsorption of SIP *E. coli* onto quartz and its applications in froth flotation. *Minerals Engineering*. **21** (5): 389-395
- 6.23. Fein J.B. (2000) Quantifying the effects of bacteria on adsorption reactions in water-rock systems. *Chemical Geology*, **169** (3-4): 265-280.
- 6.24. Ferguson C.; Roda A.; Altavilla N.; Deere D.; Ashbolt N. (2003) Fate and transport of surface water pathogens in watersheds. *Critical Reviews Environmental Science and Technology*. **33** (3): 299–361
- 6.25. Fletcher M. y Loeb G. I. (1979) Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*. **37** (1): 67-72
- 6.26. Foppen J.W.; Schijven J.F. (2006) Evaluation data from the literature on transport y survival of *Escherichia coli* y thermotolerant coliforms in aquifers under saturated conditions. *Water Research*. **40** (3): 401-426.
- 6.27. Frankenberger W.T. (1985) Fate of wastewater constituents in soil and groundwater: pathogens (chapter 14) in *Irrigation with reclaimed municipal wastewater, A guidance manual*, edit by Pettygrove, England. 518 págs
- 6.28. Gallegos E. ; Warren A. ; Robles E. ; Campy E. ; Calderon A, Sainz M. G., Bonilla P., Escolero O. (1999) The Effects of wastewater irrigation on groundwater quality in Mexico. *Water Science y Technology*. **40** (2): 45-52
- 6.29. Gaspard P. G.; Wiart J.; Schwartzbrod J. (1994) Étude expérimentale de l'adhésion des ceufs d'helminthes (*Ascaris suum*): conséquences pour l'environnement. *Revue des sciences de l'eau*. **7** (4): 367-376

- 6.30. González B. (2008) Emisiones de gases con efecto invernadero en suelos bajo riego con agua residual. Tesis doctoral en proceso. Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- 6.31. Gray, N (1994) *Drinking Water Quality Problems and Solutions*, edit by Wiley, Great Britain, 315 págs.
- 6.32. Guber A. K.; Shelton D. R.; Pachepsky Ya. A. (2005) Effect of manure on *Escherichia coli* attachment to soil. *Journal of Environmental Quality*. **34**: 2086-2090.
- 6.33. Herre A.; Siebe C.; Kaupenjohann M. (2004) Effect of irrigation water quality on organic matter, Cd y Cu mobility in soils of Central Mexico. *Water Science and Technology*. **50** (2): 277-284
- 6.34. Herrera P.; Burghardt R.; Phillips T. (2000) Adsorption of *Salmonella enteritis* by cetylpyridinium exchange montmorillonite clays. *Veterinary Microbiology*. **74**(3): 259-272
- 6.35. Hu C.H. y Xia M. S. (2006) Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K₈₈. *Applied Clay Science*. **31** (3-4): 180-184
- 6.36. Huang P. M.; Bollag J. M. (1998) Chapter 1. Minerals-organics-microorganisms interactions in the soil environment 3-39 p.p. en Huang P.M., Senesi N. and Buffle J., *Structure and Surface Reactions of Soil particles* V.4, edited by John Wiley & Sons, England
- 6.37. ISO 8199 (1988) Water quality. General guidance on the enumeration of microorganisms by culture, International Organization for Standardization
- 6.38. Jacobs A.; Lafolie F.; Herry J.; Debroux M. (2007) Kinetic adhesion of bacterial cells to sand: Cell surface properties and adhesion rate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **59**(1): 35-45
- 6.39. Jiang G.; Noonan M.; Buchan G.; Smith N. (2007) Transport of *Escherichia coli* through variably saturated sand columns y modeling approaches. *Journal of Contaminant Hydrology*. **93**(1-4): 2-20
- 6.40. Jiménez B. (2003) Chapter 3 in Health Risks in Aquifer Recharge with Recycle Water in State of the Art Report Health Risk in Aquifer Recharge Using Reclaimed Water., pp 54-172 R. Aertgeerts y A. Angelakis Editors. WHO Regional Office for Europe
- 6.41. Jiménez B.; Chávez A., Gibson R., Maya C. (2008) Water reclamation technologies for safe artificial ground water recharge reclaim water. Case of study Tula Valley. Final Deliverable. Proyecto 7314. 24p.p.
- 6.42. Jiménez B.; López N.; Sotomayor C. (1997) Estudio de la calidad y suministro del agua para consumo doméstico en el Valle del Mezquital. Informe final Instituto de Ingeniería, UNAM. Proyecto 5322 elaborado para la Comisión Nacional del Agua. Febrero 1997, 269 p.p.
- 6.43. Jiménez B.; Siebe C.; Cifuentes E. (2004) Capítulo El reúso intencional y no intencional del agua en el Valle de Tula, 33-55 p.p., en *El agua en México vista desde la Academia*. Jiménez y Marín Editores, Academia Mexicana de Ciencias, México.
- 6.44. Jonhson W.; Logan B. (1996) Enhanced transport of bacteria in porous media by sediment phase and aqueous phase natural organic matter. *Water Research*. **30** (4): 923-931

- 6.45. Jucker B. A.; Harms H.; Zehnder A. J. B. (1998) Polymer interactions between five gram-negative bacteria and glass investigated using LPS micelles and vesicles as model systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **11**(1): 33–45
- 6.46. Kubota M.; Matsui M.; Chiku H.; Kasashima N.; Shimojoh M.; Sakaguchi K. (2008) Cell adsorption and selective desorption for separation of microbial cells by using Chitonsa-immobilized silica. *Applied and Environmental Microbiology*. **71** (12): 8895-8902
- 6.47. Lucho C.; Prieto F.; Del Razo L.; Rodríguez R.; Poggi H. (2005) Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with wastewater in central Mexico Agriculture. *Ecosystems and Environment*. **108**(1): 57–71
- 6.48. Madigan M. T.; Martinko J. M.; Parker J. (2004) Brock, *Biología de los Microorganismos*, 10ª edición, edit. Pearson Educación, España. 1096 págs.
- 6.49. Maier R. M.; Pepper I. L.; Gerba C. P. (2000) *Environmental Microbiology*, edit. Academic Press, Canada. 585 págs.
- 6.50. Mallén G.; Maloszewski P.; Flynn R.; Rossi P.; Engel M.; Seiler K. (2005) Determination of bacterial y viral transport parameters in a gravel aquifer assuming linear kinetic sorption y desorption. *Journal of Hydrology*. **306** (1-4): 21-36
- 6.51. Mandell G., Bennett, J and Dolin, R. (1995) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th edition, edit. Churchill Livingstone, Vol. II, USA. 2525-2529 p.p.
- 6.52. Matthess, Pekdeger y Schroeder (1988) Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater-a conceptual evaluation, *Journal of Contaminant Hydrology*. **2** (2): 171-188
- 6.53. Medema G. J.; Schets F. M.; Teunis P. F. M.; Havelaar A. H. (1998) Sedimentation of free and attached *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cyst in water. *Applied and Environmental Microbiology*. **64** (11): 4460-4466
- 6.54. Metcalf y Eddy (2003) *Wastewater Engineering Treatment y reuse*, 4th edition, edit by Mc Graw Hill, USA, 1819 pages.
- 6.55. Murillo T. R. (2007) Modelación de la capacidad del suelo para adsorber contaminantes orgánicos específicos del agua residual utilizada para riego en el Valle de Tula, Hidalgo. Tesis doctoral en proceso. Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México.
- 6.56. Nola M.; Njiné T.; Boutin C.; Servais P.; Messouli M.; Ngo-Bidjeck L. M.; Monkiedje A.; Zébazé S.; Kemka N. (2005) Sorption Kinetics of *Escherichia coli* and *Salmonella sp* on two soil layers associated with a groundwater table in Yaounde, Cameroon. *International Journal of Environmental Research and Public health*. **2** (3): 447-455
- 6.57. Noll, K. E.; Gounaris, V.; Hou, W. S., (1992). *Adsorption Ttechnology for Air and Water Pollution Control*. Lewis Publishers. Inc. USA.
- 6.58. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación 17 de Octubre de 2000. México.
- 6.59. Pachepsky Y. A.; Yu O.; Karns J. S.; Shelton D. R.; Guber A. K.; van Kessel J. S (2008) Strain-dependent variations in attachment of *E. coli* to soil particles of different sizes. *International Agrophysics*. **22**(1): 61-66
- 6.60. Palacio J. L.; Siebe C. (1994) Variabilidad y distribución espaciales de algunos parámetros físicos y químicos del suelo en el Distrito de Riego 03, Estado de

- Hidalgo, México, Parte 2, Cartografía. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*. **11** (1): 68-78
- 6.61.** Peavy R.; Rowe D.; Tchobanoglous G. (1985) *Environmental Engineering*, edit by McGraw Hill, USA. 699 pages.
- 6.62.** Percival S.; Walker J.; Hunter P. (2000) *Microbiological aspects of biofilms and drinking water*, edit by CRC Press LLC, United States of America. Pages 61-84
- 6.63.** Ponce M. y Martínez M. (2008) Capítulo 8 Giardiosis, p.p 42-49 en Becerril: *Parasitología médica*, 2ª edición, edit Mc Graw Hill, 2008, 308 págs.
- 6.64.** Prieto-García F.; Lucho-Constantino C.A.; Poggi-Valardo H.; Álvarez-Suárez M.; Barrado-Esteban E. (2007) Caracterización fisicoquímica y extracción secuencial de metales y elementos trazas en suelos de la región Actopan-Ixmiquilpan del distrito de riego 03, Valle de Mezquital, Hidalgo, México. *Ciencia Ergo Sum*. **14** (1): 69-80
- 6.65.** Ramírez E., Lucho C.; Escamilla E.; Dendooven L. (2002) Characteristics, and carbon and nitrogen dynamics in soil irrigated with wastewater for different lengths of time. *Bioresource Technology*. **85**(2): 179-187 p.p.
- 6.66.** Rittman B.; McCarty, P. (2001) *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, edit. McGraw Hill, USA. 754 págs.
- 6.67.** Romero R. (1999) *Microbiología y Parasitología humana, Bases Etiológicas de las Enfermedades Infecciosas*, edit. Panamericana, Mexico. 873 págs.
- 6.68.** Sawyer C.; McCarty P.; Parkin G. F. (2003) *Chemistry for Environmental Engineering and Science*, 5th edition, edit. McGraw Hill, USA, 752 págs.
- 6.69.** Searcy K. E.; Packman A. I.; Atwill E. R.; Harter T. (2005) Association of *Cryptosporidium parvum* with Suspended Particles: Impact on Oocyst Sedimentation *Applied And Environmental Microbiology*. **71** (2): 1072–1078
- 6.70.** Siebe C. (1994) Akkumulation, mobilität und verfügbarkeit von Schwermetallen in langjährig mit städtischen Abwässern bewässerten Böden in Zentral Mexiko. Universität Hohenheim (310), D-70593, Stuttgart. 213 págs.
- 6.71.** Siebe C.; Cifuentes E. (1995) Environmental impact of wastewater irrigation in central Mexico: an overview. *International Journal of Environmental Health Research*. **5**(2): 161-173
- 6.72.** Smith E.; Badawy A. (2007) Adsorption of *E. coli* on Egyptian agricultural soils: impact of soil organic content. 6th IWA specialist conference on wastewater reclamation and reuse for sustainability, October 9-12, Belgium
- 6.73.** Smith E.; Hegazy S. (2006) *E. coli* transport in soil columns: implications for reuse of treated wastewater in irrigation. *Water Science & Technology*. **54** (11-12): 175-182
- 6.74.** Soda S.; Ike M.; Fujita M. (1999) Adsorption of bacterial cells onto activated sludge flocs. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **87** (4): 513-518
- 6.75.** Stevik T.; Aa k.; Ausland G.; Hanssen J. F. (2004) Retention y removal of pathogenic bacteria in wastewater percolating through porous media: a review. *Water Research*. **38** (6): 1355-1367
- 6.76.** Strauss M. (2000) Human Waste (Excreta and Wastewater), Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (EAWAG) department of Water & Sanitation in developing countries, Suiza, 31 pags. Disponible en línea en: http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_wra/downloads_wra/human_waste_use_ETC_SIDA_UA.pdf

-
- 6.77. Tate R. L. (1978) Cultural and environmental factors affecting the longevity of *Escherichia coli* in Histosols. *Applied and Environmental Microbiology*. **35** (5): 925-929
- 6.78. Tay J.; Becerril M. A. (2008) Capítulo 28 Ascariosis, p.p. 172-176 en Becerril: *Parasitología Médica*, 2ª edición, edit Mc Graw Hill, 308 págs.
- 6.79. Tay J.; Lara R.; Velasco O. Gutierrez M (2002) *Parasitología Médica*, 7ª edición, Edit. Mendez editores, México, 504 págs.
- 6.80. Theng B. K. G. y Orchard A. (1995) Capítulo 12 Interactions of clays with microorganisms and bacterial survival in soil: a physicochemical perspective en *Environmental impact of Soil component interactions, Metals, Other inorganics and Microbial activities* Vol. II. Editado por Huang P. M., Berthelin J., Bollag J. M., McGill W. B. y Page A.L. Lewis Publishers, USA.
- 6.81. Tien C. (1994) *Adsorption Calculation and Modeling*, Butterworth-Heinemann Ed., USA. 244 págs.
- 6.82. Tufenkji N. (2007) Modeling microbial transport in porous media: Traditional approaches and recent developments. *Advances in Water Resources*. **30** (6-7):1455-1469
- 6.83. Unc A. y Goss M. (2006) Culturable *Escherichia coli* in soil mixed with two types of manure. *Soil Science Society of American Journal, Soil biology & Biochemistry*. **70** (33): 763-769
- 6.84. Wand H.; Vacca G.; Kusch P.; Krüger M.; Kästner M. (2007) Removal of bacteria by filtration in planted y non planted sand columns. *Water research*. **41**(1): 159-167

ANEXOS

Anexo I. Aislamiento y preparación de viales de *Escherichia coli*

Se prepararon los viales que sirvieron como inóculos, para lo cual se aislaron las colonias de la cepa 700078 (WG5) en cajas petri, tal como se muestra en la Figura 21.

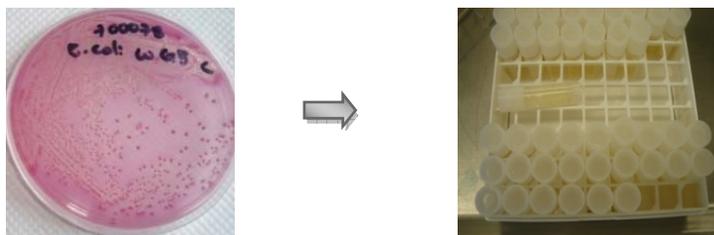


Figura 21. Crecimiento de poblaciones aisladas de *Escherichia coli* cepas ATCC 700078 e inóculos a ser empleados

Se realizó la curva de crecimiento para la cepa seleccionada, cuyo gráfico se presenta en la Figura 22. A partir de las 4 h se obtiene una concentración aproximada a 10^8 ufc/100 mL durante la fase de crecimiento exponencial. La fase de crecimiento estacionario se encuentra después de las 12 h.

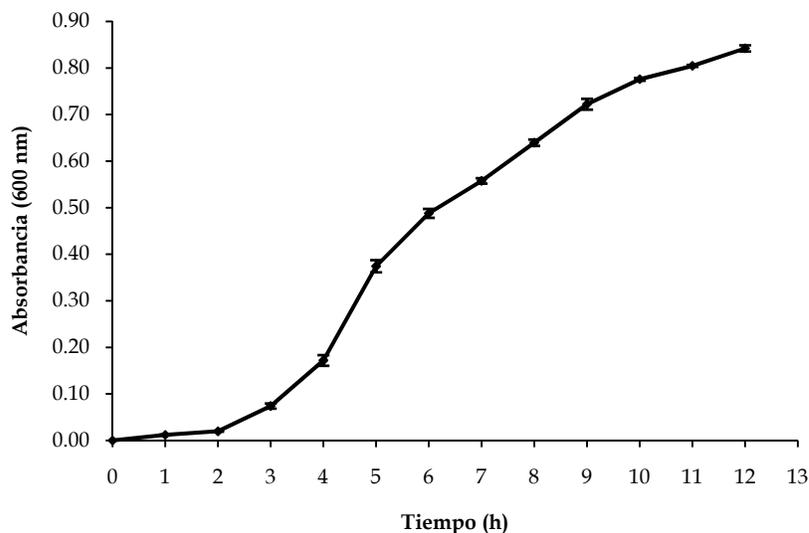


Figura 22. Curva de crecimiento de la cepa ATCC 700078, gráfico tiempo vs absorbancia

Anexo II. Determinación de la velocidad de centrifugación del cultivo de *Escherichia coli*

Se probaron diferentes velocidades de centrifugación para poder recuperar a las bacterias en forma de pastilla. La prueba se realizó por duplicado añadiendo 10 mL de bacteria cultivada en caldo MSB (13 h) en un tubo para centrífuga de PET de 15 mL. Se centrifugó a las siguientes velocidades: 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 y 6000 rpm, durante 10 minutos en un equipo Eppendorf 5810R (rotor de ángulo fijo 45°). Luego, se retiró el sobrenadante y a éste se le midió la absorbancia (600 nm) en un espectrofotómetro HACH DR5000, cuyos resultados se encuentran en la Tabla 14.

Tabla 14. Absorbancias en los sobrenadantes según la velocidad de centrifugación del cultivo de *Escherichia coli*

Velocidad	Absorbancia (600 nm)		Media
	1	2	
0	0.629	0.671	0.650±0.030
1000	0.302	0.363	0.333±0.043
2000	0.028	0.022	0.025±0.004
3000	0.009	0.008	0.009±0.001
4000	0.006	0.003	0.005±0.002
5000	0.005	0.003	0.004±0.001
6000	0	0.003	0.002±0.002

Posteriormente, se hizo el análisis estadístico para comparar las medias (prueba de Tukey) empleando el software JMP (2007). De acuerdo con estos datos, las absorbancias de los sobrenadantes son iguales desde 2,000 rpm y hasta 6,000 rpm. Se optó por emplear la velocidad máxima (6,000 rpm).

Prueba de Tukey de comparación de medias

Velocidad		Media
0	A	0.650
1000	B	0.333
2000	C	0.025
3000	C	0.009
4000	C	0.005
5000	C	0.004
6000	C	0.002

Anexo III. Concentración de la suspensión sintética de *Escherichia coli*

Para poder determinar si existía algún crecimiento o muerte de las bacterias en los tiempos de agitación seleccionados se probaron dos suspensiones de *E. coli*, preparadas con dos cultivos de bacterias de diferentes edades, el primero a las 5 h y el segundo a las 13.5 h. Dichas suspensiones se agitaron a dos tiempos 1.5 y 2.5 horas y se determinó la concentración en los sobrenadantes. Los resultados se encuentran en la Tabla 15 y el gráfico en la Figura 23.

Tabla 15. Concentración de *Escherichia coli* según el tiempo de cultivo

Tiempo	Cultivo 5 h ($\times 10^7$ ufc/mL)				Cultivo 13.5 h ($\times 10^7$ ufc/mL)		
	Réplica			Media geométrica	Réplica		Media geométrica
	A	B	C		A	B	
0	2.4	2.2	1.7	2.0	2.5	1.8	2.1
1.5	2.6	3.1	2.7	2.8	2.5	3.0	2.7
2.5	3.7	3.1	4.1	3.6	2.5	2.9	2.7

A partir de los resultados anteriores se demostró que la concentración en el cultivo de 5 h de crecimiento aumentaba paulatinamente conforme pasaba el tiempo. En cambio, el cultivo a 13.5 h se mantiene relativamente constante, como se aprecia en la Figura 23. La concentración resulta entre 2 a 3 $\times 10^7$ ufc/mL, pudiendo variar desde 1 hasta 4 $\times 10^7$ ufc/mL.

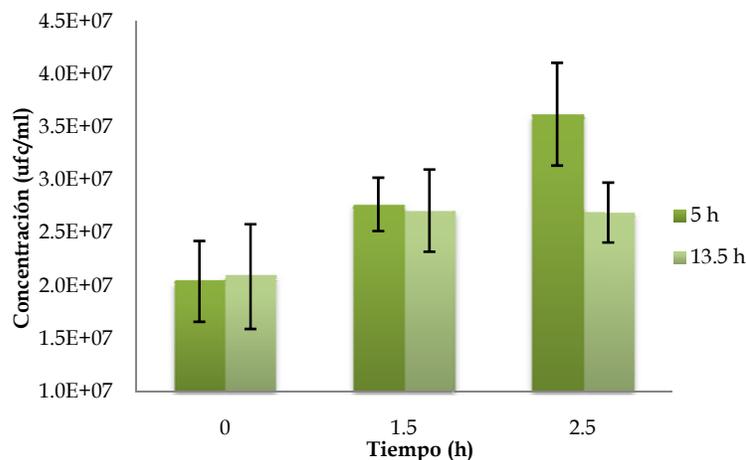


Figura 23. Curva de crecimiento de la cepa ATCC 700078, gráfico tiempo vs absorbancia

Anexo IV. Concentración de la suspensión sintética de *Giardia lamblia*

En la Tabla 16 se presentan las 10 réplicas de las observaciones para determinar la concentración.

Tabla 16. Concentración de quistes de *Giardia lamblia* encontrados en alícuotas de 30 μ l de la suspensión sintética

Lectura	Quistes
1	52
2	47
3	51
4	53
5	50
6	46
7	52
8	51
9	55
10	47

Promedio: 50.4

Desviación estándar: 3

Anexo V. Concentración de la suspensión sintética de *Ascaris lumbricoides*

En la Tabla 17 se presentan las 10 réplicas de las observaciones para determinar la concentración.

Tabla 17. Concentración de huevos de *Ascaris* encontrados en alícuotas de 40 μ l de la suspensión sintética

Lectura	Concentración
1	49
2	51
3	50
4	52
5	50
6	48
7	51
8	53
9	49
10	50

Promedio: 50.3

Desviación estándar: 2

Anexo VI. Determinación de la velocidad y el tiempo de centrifugación del suelo

Se realizaron unas pruebas preliminares de centrifugación de los suelos arcillosos y bacterias, para establecer la velocidad de separación de la fase acuosa. Para ello, se midió la absorbancia en los sobrenadantes de suspensiones de suelos arcillosos (5 g/20 mL NaCl 0.85%) y de separadamente los sobrenadantes en una suspensión de bacterias. Se probaron seis velocidades para llevar a cabo dicha separación: 500, 1000, 1500, 2000, 2500 y 3000 rpm durante 10 min en la centrífuga Mistral. Se midió la absorbancia a 810 nm para la mezcla de suelo y a 600 nm para la suspensión de bacteria. Las lecturas obtenidas se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Absorbancias en los sobrenadantes de mezclas de suelo sujetos a diferentes velocidades de centrifugación

Velocidad	AaMa	AaMb	Bacteria
0	nd	nd	0.025±0.005
500	0.019±0.002	0.017±0.001	0.024±0.001
1000	0.016±0.002	0.006±0.003	0.022±0.002
1500	0.003±0.001	0.003±0.001	0.009±0.001
2000	0.002±0.001	0.002±0.001	0.003±0.001
2500	0.002±0.000	0.003±0.001	0.001±0.000
3000	0.003±0.001	0.001±0.001	0.001±0.000

nd: No determinado

La velocidad de 500 rpm aparentemente no centrifugaba a las bacterias, pero tampoco formaba una pastilla suficientemente estable. A partir de los datos anteriores se estimó que 1000 rpm era una velocidad adecuada, ya que permitía una remoción considerable de arcillas especialmente para el suelo AaMb sin afectar a las bacterias, como se muestra en la Figura 24.

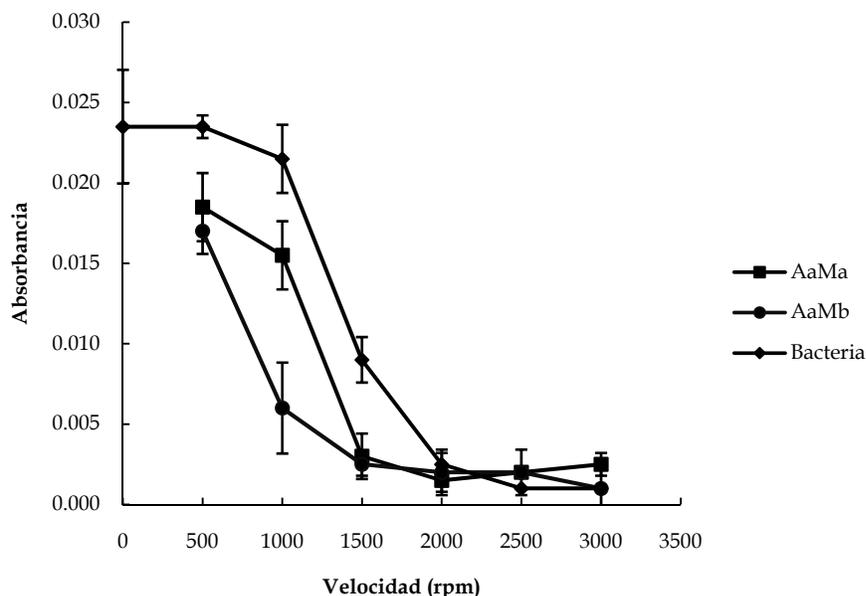


Figura 24. Absorbancias vs velocidad de centrifugación para la separación de suspensiones de suelo y de bacterias

Posteriormente, se probaron dos masas (4 y 2.5 g) de los suelos arcillosos para tres tiempos de centrifugación: 5, 10 y 15 minutos en la velocidad seleccionada (1,000 rpm). Los resultados de las absorbancias medidas están en la Tabla 19.

Tabla 19. Absorbancias medidas para centrifugación de diferentes masas y tiempos

T (min)	4 g		2.5 g		Bacteria
	AaMa	AaMb	AaMa	AaMb	
5	0.012±0.002	0.010±0.002	0.010±0.001	0.011±0.002	0.019±0.001
10	0.006±0.001	0.004±0.000	0.005±0.001	0.006±0.001	0.020±0.004
15	0.005±0.001	0.003±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001	0.010±0.001

En la Figura 25 se grafican los resultados anteriores, los tiempos que presentan la mejor retención son 10 min y 15 min para el caso de los suelos. Sin embargo, a 15 min se reduce significativamente la concentración de bacterias en el sobrenadante, por lo que si se empleará este tiempo para la centrifugación habría un error. Por tanto, se seleccionó 10 minutos para la centrifugación.

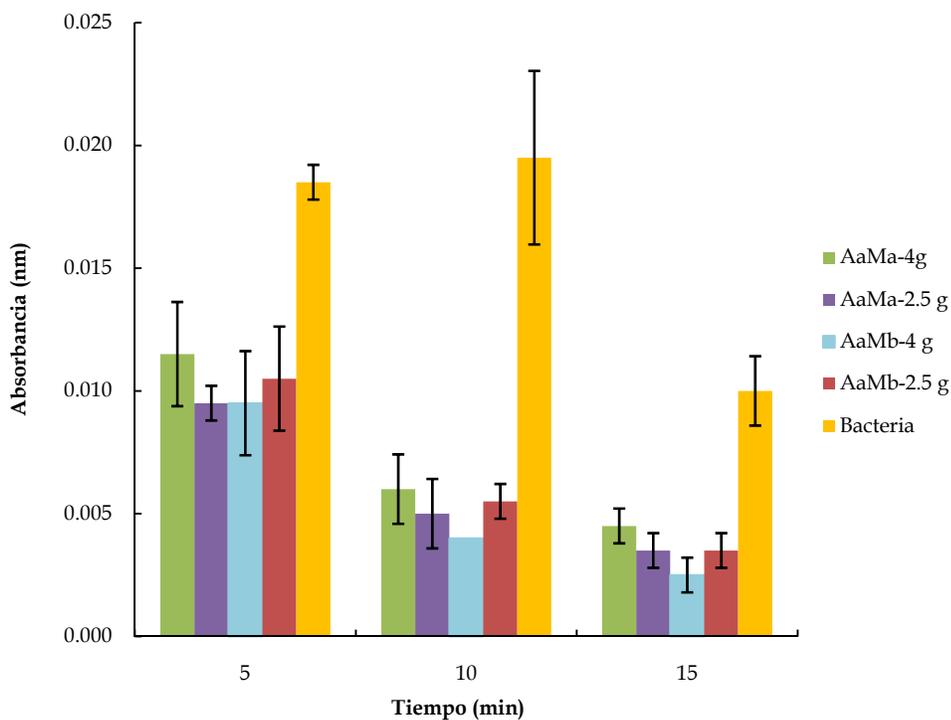


Figura 25. Absorbancia vs Tiempo para las diferentes masas de suelo y bacterias determinadas

Por otra parte, para los experimentos con huevos de helmintos y quistes de protozoarios se consideró apropiada dicha velocidad. Esto se debió a que la técnica de recuperación añadiendo sulfato de zinc permite que vuelvan a flotar aquéllos que pudieran haber sedimentado.

Anexo VII. Resultados y análisis estadístico del tiempo de equilibrio para *Escherichia coli*

Condiciones iniciales:

Edad del cultivo	24	h
Masa de suelo	2.5	g
Volumen	20	mL
Concentración del suelo	0.125	g/mL
Temperatura	22-26	°C
Dilución para cuenta en blancos	1×10^{-6}	
Dilución para cuenta en tubos	1×10^{-5}	

En la Tabla 20 se presentan las concentraciones de *E. coli* de los blancos en los cinco tiempos estudiados.

Tabla 20. Concentración de *Escherichia coli* en blancos

Tiempo (h)	Número de colonias en cada caja		Concentración ($\times 10^7$ ufc/mL)
	I	II	
0	18	22	2.0
0.5	15	15	1.5
1	16	27	2.3
1.5	21	19	2.0
2	23	30	2.7
2.5	25	14	2.0

En las Tablas 21 a la 23 se presentan los resultados del conteo de colonias en las cajas Petri, se estiman las concentraciones de *E. coli* en los sobrenadantes de cada tubo y las concentraciones adsorbidas en cada una de las muestras de suelo.

Tabla 21. Concentración adsorbida de *Escherichia coli* en AaMa en diferentes tiempos

Tiempo (h)	Conteo en caja Petri						Concentración en sobrenadante ($\times 10^6$ ufc/mL)			Concentración adsorbida ($\times 10^8$ ufc/g)			
	A		B		C		A	B	C	A	B	C	Media
	I	II	I	II	I	II							
0.5	46	34	59	63	41	37	4.0	6.1	3.9	1.3	1.1	1.3	1.2 \pm 0.1
1	27	29	30	27	27	26	2.8	2.9	2.7	1.4	1.4	1.4	1.4 \pm 0.01
1.5	39	48	53	48	43	40	4.4	5.1	4.2	1.3	1.2	1.3	1.2 \pm 0.04
2	40	49	35	42	67	76	4.5	3.9	7.2	1.2	1.3	1.0	1.2 \pm 0.1
2.5	64	71	60	69	51	58	6.8	6.5	5.5	1.1	1.1	1.2	1.1 \pm 0.1

Tabla 22. Concentración adsorbida de *Escherichia coli* en AaMb en diferentes tiempos

Tiempo (h)	Conteo en caja Petri						Concentración en sobrenadante ($\times 10^6$ ufc/mL)			Concentración adsorbida ($\times 10^8$ ufc/g)			
	A		B		C		A	B	C	A	B	C	Media
	I	II	I	II	I	II							
0.5	3	3	5	4	7	4	3.0	4.5	5.5	1.4	1.2	1.2	1.3 \pm 0.1
1	4	3	nd	3	1	1	3.5	3.0	1.0	1.3	1.4	1.5	1.4 \pm 0.1
1.5	3	1	2	1	2	nd	2.0	1.5	2.0	1.4	1.5	1.4	1.5 \pm 0.02
2	2	nd	1	1	1	1	2.0	1.0	1.0	1.4	1.5	1.5	1.5 \pm 0.1
2.5	1	nd	1	2	1	1	1.0	1.5	1.0	1.5	1.5	1.5	1.5 \pm 0.02

Tabla 23. Concentración adsorbida de *Escherichia coli* en AbMb en diferentes tiempos

Tiempo (h)	Conteo en caja Petri						Concentración en sobrenadante ($\times 10^6$ ufc/mL)			Concentración adsorbida ($\times 10^8$ ufc/g)			
	A		B		C		A	B	C	A	B	C	Media
	I	II	I	I	II	I							
0.5	68	63	73	73	87	98	6.6	7.3	9.3	1.1	1.0	0.9	1.0 \pm 0.1
1	24	26	61	48	73	74	2.5	5.5	7.4	1.4	1.2	1.0	1.2 \pm 0.2
1.5	63	82	87	80	64	69	7.3	8.4	6.7	1.0	9.3	1.1	1.0 \pm 0.1
2	67	64	80	63	75	73	6.6	7.2	7.4	1.1	1.0	1.0	1.0 \pm 0.03
2.5	54	62	45	51	52	65	5.8	4.8	5.9	1.1	1.2	1.1	1.2 \pm 0.1

Los resultados para el análisis de varianza se encuentran en la Tabla 24. De acuerdo al valor de P ($0.0035 > 0.05$), existe interacción entre los factores tiempo y suelo sobre las concentraciones adsorbidas de bacterias. Por lo que los tres suelos se comportan de manera diferente a través del tiempo de agitación.

Tabla 24. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para *Escherichia coli*

Fuente	Nparm	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F	Prob > F
Tiempo(h)	4	4	1.36×10^{15}	4.2893	0.0073
Suelo	2	2	9.42×10^{15}	59.2802	<.0001
Tiempo(h)*Suelo	8	8	2.41×10^{15}	3.7999	0.0035

En la Tabla 25 se encuentran los resultados para la comparación por factores, a partir de los cuales se concluye que las concentraciones adsorbidas de los tres suelos son diferentes en los tiempos estudiados.

Tabla 25. Análisis por capas para el modelo bifactorial (Tiempo y suelo) para *Escherichia coli*

Factor	Prob>F	Conclusión
t=0.5 h	0.0013	Hay diferencias
t = 1 h	0.0139	Hay diferencias
t = 1.5 h	4.9×10^{-6}	Hay diferencias
t = 2 h	2.6×10^{-6}	Hay diferencias
t = 2.5 h	1.3×10^{-6}	Hay diferencias
Suelo AaMa	0.013	Hay diferencias
Suelo AaMb	0.004	Hay diferencias
Suelo AbMb	0.0220	Hay diferencias

Por todo lo anterior, se realizó una prueba de Tukey para poder establecer en que tiempos existe diferencias por cada suelo. Según la prueba de Tukey, cuyos resultados se muestran posteriormente, las concentraciones adsorbidas en el suelo AaMa son estadísticamente iguales desde 0.5 y hasta 2, incrementándose ligeramente dicha concentración a la hora. En el AaMb la concentración adsorbida de 0.5 h es menor que los demás tiempos en estudio, mientras que desde 1 hasta 2.5 horas se mantienen constantes. En el suelo AbMb las concentraciones son estadísticamente iguales en todos los tiempos.

Prueba de Tukey para las interacciones tiempo-suelo

$\alpha=0.050$ $Q=3.68501$

Nivel	Comparaciones	Media
2.5,2	A	154666667
2,2	A B	149333333
1.5,2	A B C	145333333
1,2	A B C D	140000000
1,1	A B C D	137866667
0.5,2	B C D E	125333333
1.5,1	B C D E F	123866667
0.5,1	B C D E F	122666667
1,3	C D E F	119200000
2,1	C D E F	118800000
2.5,3	D E F	116133333
2.5,1	E F	110266667
2,3	E F	103733333
1.5,3	E F	100666667
0.5,3	F	98400000

Por último se verificaron las suposiciones del modelo, las cuales se encuentran en la Tabla 26. Para la parte de normalidad se guardaron los residuales y se realizó la prueba de Shapiro-Wilk. Además de lo anterior, se realizó la prueba de Levene y Bartlett recodificando en un solo factor y se estableció como nivel de significancia 1%.

Tabla 26. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de *Escherichia coli*

Suposición	Prueba	Significancia (%)	Prob>F	Conclusión
Normalidad	Shapiro-Wilk	5	0.5469	No se rechaza
Homogeneidad de varianzas	Levene	1	0.0120	No se rechaza
	Bartlett	1	0.0887	No se rechaza

Anexo VIII. Resultados y análisis estadístico del tiempo de equilibrio para *Giardia lamblia*

Condiciones iniciales:

Quistes añadidos	50±3	quistes
Masa de suelo	2.5	g
Volumen	20	mL
Concentración del adsorbato	0.125	g/mL
Temperatura	22-26	°C
Repeticiones en tubo	A, B y C	

En la Tabla 27 se presentan los resultados del conteo de quistes en los sobrenadantes de cada repetición en cada muestra de suelo, así como en el control para cada tiempo.

Tabla 27. Conteo de quistes de *Giardia lamblia* en sobrenadantes a diferentes tiempos

Tiempo (h)	Concentración en sobrenadante (Quistes/20 mL)												Control
	AaMa				AaMb				AbMb				
	A	B	C	Media	A	B	C	Media	A	B	C	Media	
0.5	12	15	20	16±4	7	5	5	6±1	5	8	8	7±2	56
1.5	16	11	22	16±6	2	3	0	2±2	8	7	2	6±3	56
2.5	18	15	19	17±2	11	8	2	7±5	6	18	6	10±7	46
3.5	16	19	13	16±3	3	0	1	1±2	3	11	18	11±8	56
4.5	24	22	17	21±4	3	2	4	3±1	3	3	2	3±1	48

En la Tabla 28 se muestran las concentraciones de quistes adsorbidas en cada una de las muestras de suelo.

Tabla 28. Concentraciones de quistes de *Giardia lamblia* adsorbidos en diferentes tiempos

Tiempo (h)	Concentración adsorbida (Quistes/g)											
	AaMa				AaMb				AbMb			
	A	B	C	Media	A	B	C	Media	A	B	C	Media
0.5	15.2	14.0	12.0	14±2	17.2	18.0	18.0	18±0	18.0	16.8	16.8	17±1
1.5	13.6	15.6	11.2	13±2	19.2	18.8	20.0	19±1	16.8	17.2	19.2	18±1
2.5	12.8	14.0	12.4	13±1	15.6	16.8	19.2	17±2	17.6	12.8	17.6	16±3
3.5	13.6	12.4	14.8	14±1	18.8	20.0	19.6	19±1	18.8	15.6	12.8	16±3
4.5	10.4	11.2	13.2	12±1	18.8	19.2	18.4	19±0	18.8	18.8	19.2	19±0

A partir de los resultados anteriores se realizó el análisis de varianza, el cual se encuentra en la Tabla 29.

Tabla 29. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para *Giardia lamblia*

Fuente	N parm	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F	Prob>F
Tiempo (h)	4	4	9.6924	1.0373	0.4043
Suelo	2	2	237.2053	50.7717	<0.0001
Tiempo*Suelo	8	8	31.9502	1.7097	0.1370

De acuerdo al valor de P ($0.1370 > 0.05$), la hipótesis nula de que no existe interacción entre los factores se acepta. Por lo tanto, se analizó el efecto por cada uno de los factores. En el caso del tiempo no hay diferencias entre las concentraciones adsorbidas ($0.4043 > 0.05$), por lo que cada suelo se comporta de la misma manera a través de los cinco tiempos estudiados. En el caso del suelo la hipótesis de que no existe efecto por el factor suelo se rechaza ($0.001 < 0.05$), es decir si existen diferencias entre cada uno de éstos; por lo que se analiza más a detalle a través de una prueba de Tukey.

Prueba de Tukey HSD para el factor suelo

$\alpha=0.050$ $Q=2.46534$

Nivel	Comparaciones	Media
2	A	18.506667
3	B	17.120000
1	C	13.093333

De acuerdo con la prueba de Tukey los tres suelos se comportan de manera diferente. El suelo AaMb es el que tiene la mayor capacidad de adsorción, seguido por AbMb y el de menor capacidad es AaMa.

La verificación de los supuestos del modelo (normalidad y homogeneidad de varianzas) se encuentra en la Tabla 30. En el caso de la normalidad se realizó la prueba de Shapiro-Wilk a partir de los residuales. En el caso de la varianza, se realizaron las pruebas de Levene y Bartlett recodificando en un solo factor y se estableció como nivel de significancia 1%.

Tabla 30. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de *Giardia lamblia*

Suposición	Prueba	Significancia (%)	Prob>F	Conclusión
Normalidad	Shapiro-Wilk	5	0.3616	No se rechaza
Homogeneidad de varianzas	Levene	1	0.0345	No se rechaza
	Bartlett	1	0.0953	No se rechaza

Anexo IX. Resultados de tiempo de equilibrio para *Ascaris lumbricoides*

Condiciones iniciales:

Huevos añadidos	50±2	h
Masa de suelo	2.5	g
Volumen	20	mL
Concentración del adsorbato	0.125	g/mL
Temperatura	22-26	°C
Repeticiones en tubo	A,B y C	

En la Tabla 31 se presentan los resultados del conteo de huevos en los sobrenadantes de cada repetición en cada muestra de suelo, así como en los controles para los tiempos 1.5 y 2.5 h.

Tabla 31. Conteo de huevos de *Ascaris lumbricoides* en sobrenadantes a diferentes tiempos

Tiempo (h)	Huevos en sobrenadantes									Control
	AaMa			AaMb			AbMb			
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
0.5	8	10	12	2	2	0	2	0	1	
1.5	9	6	7	2	3	1	2	2	3	49
2.5	0	5	0	0	0	1	0	0	3	52
3.5	1	2	3	1	0	0	0	1	0	
4.5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	

En la Tabla 32 se muestran las concentraciones de quistes adsorbidas en cada una de las muestras de suelo.

Tabla 32. Conteo de huevos de *Ascaris lumbricoides* en sobrenadantes a diferentes tiempos

Tiempo (h)	Huevos adsorbidos (huevos/g)											
	AaMa				AaMb				AbMb			
	A	B	C	Prom	A	B	C	Prom	A	B	C	Prom
0.5	16.8	16.0	15.2	16±1	19.2	19.2	20.0	19±1	19.2	20.0	19.6	20±0
1.5	16.4	17.6	17.2	17±1	19.2	18.8	19.6	19±0	19.2	19.2	18.8	19±0
2.5	20.0	18.0	20.0	19±1	20.0	20.0	19.6	20±0	20.0	20.0	18.8	20±1
3.5	19.6	19.2	18.8	19±0	19.6	20.0	20.0	20±0	20.0	19.6	20.0	20±0
4.5	18.8	19.6	20.0	19±1	20.0	20.0	20.0	20±0	20.0	20.0	20.0	20±0

A partir de los resultados anteriores se realizó el análisis de varianza, el cual se encuentra en la Tabla 33. Este análisis se realizó únicamente para cuatro tiempos, desde (t=0.5 h hasta t=3.5 horas) dado que las muestras AaMb y AbMb logran una reducción del 100% en el tiempo de 4.5 horas y no tienen desviación estándar.

Tabla 33. Análisis de varianza bifactorial (Tiempo y suelo) para *Ascaris lumbricoides*

Fuente	Nparm	Grados de libertad	Suma de cuadrados	F	Prob > F
Tiempo(h)	3	3	13.4889	14.4524	<.0001
Suelo	2	2	22.2489	35.7571	<.0001
Tiempo(h)*Suelo	6	6	12.6311	6.7667	0.0003

A partir del resultado anterior del valor P (0.1370>0.05), existe interacción entre los factores tiempo y suelo sobre las concentraciones adsorbidas. A continuación, se analizó dicha interacción por capas (Tabla 34). De acuerdo al análisis por capas las concentraciones adsorbidas difieren en los primeros tiempos (0.5 y 1.5 h). Mientras que a las 2.5 horas ya no existe efecto. Los suelos 2 y 3 se comportan igual a través del tiempo, mientras que en el suelo 1 si existe un efecto.

Tabla 34. Análisis por capas para el modelo bifactorial (Tiempo y suelo) para *Ascaris lumbricoides*

Factor	Prob>F	Conclusión
t=0.5 h	2.19×10^{-8}	Hay diferencias
t = 1.5 h	0.0001	Hay diferencias
t = 2.5 h	0.5133	No hay diferencias
t = 3.5 h	0.2593	No hay diferencias
Suelo AaMa	1.074×10^{-7}	Hay diferencias
Suelo AaMb	0.3976	No hay diferencias
Suelo AbMb	0.3741	No hay diferencias

Por lo tanto, de acuerdo a la prueba de Tukey, los suelos AaMb y AbMb no presentan diferencias en las concentraciones adsorbidas en los tiempos de agitación analizados. En el suelo AaMa son diferentes las concentraciones en los primeros tiempos de agitación (0.5 y 1.5h) y permanecen constantes a partir de 2.5 horas. Los tres suelos tienen la misma capacidad de reducción a partir de 2.5 horas.

Prueba de Tukey

$\alpha=0.050$ $Q=3.60563$

Nivel	Comparaciones	Media
3.5,3	A	19.866667
2.5,2	A	19.866667
3.5,2	A	19.866667
0.5,3	A	19.600000
2.5,3	A	19.600000
0.5,2	A	19.466667
2.5,1	A	19.333333
1.5,2	A	19.200000
3.5,1	A	19.200000
1.5,3	A	19.066667
1.5,1	B	17.066667
0.5,1	B	16.000000

Por último, la verificación de los supuestos del modelo (normalidad y homogeneidad de varianzas) se encuentra en la Tabla 35. En el caso de la normalidad se realizó la prueba de Shapiro-Wilk a partir de los residuales. En el caso de la varianza, se realizaron las pruebas de Levene y Bartlett recodificando en un solo factor y se estableció como nivel de significancia 1%.

Tabla 35. Verificación de supuestos para el análisis de varianza de *Ascaris lumbricoides*

Suposición	Prueba	Significancia (%)	Prob>F	Conclusión
Normalidad	Shapiro-Wilk	5	0.1204	No se rechaza
Homogeneidad de varianzas	Levene	1	0.0376	No se rechaza
	Bartlett	1	0.4235	No se rechaza

Anexo X. Ajustes lineales de las isotermas para *Escherichia coli*

a) Suelo AaMa

En la Tabla 36 se presentan las concentraciones de *E. coli* adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial de la suspensión (C_0) es de 5.4×10^7 ufc/mL.

Tabla 36. Concentraciones de *Escherichia coli* adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AaMa

Concentración de suelo (g/mL)	Ce (ufc/mL)		qe (ufc/g)	
	Repeticiones	Media	Repeticiones	Media
0.025	1.1×10^7	$1.2 \times 10^7 \pm 9.2 \times 10^5$	1.7×10^9	$1.7 \times 10^9 \pm 3.7 \times 10^7$
	1.3×10^7		1.6×10^9	
	1.2×10^7		1.7×10^9	
0.05	4.4×10^6	$7.1 \times 10^6 \pm 2.7 \times 10^6$	9.9×10^8	$9.2 \times 10^8 \pm 5.4 \times 10^7$
	9.4×10^6		8.9×10^8	
	8.6×10^6		9.0×10^8	
0.075	7.0×10^6	$4.0 \times 10^6 \pm 3.3 \times 10^6$	6.2×10^8	$6.5 \times 10^8 \pm 4.4 \times 10^7$
	7.1×10^6		6.2×10^8	
	1.3×10^6		7.0×10^8	
0.1	5.0×10^6	$3.1 \times 10^6 \pm 2.0 \times 10^6$	4.9×10^8	$5.0 \times 10^8 \pm 2.0 \times 10^7$
	4.5×10^6		4.9×10^8	
	1.3×10^6		5.2×10^8	
0.125	3.3×10^6	$2.2 \times 10^6 \pm 9.9 \times 10^5$	4.0×10^8	$4.1 \times 10^8 \pm 8.0 \times 10^6$
	2.6×10^6		4.1×10^8	
	1.3×10^6		4.2×10^8	

En la Tabla 37 se encuentran las variables obtenidas experimentalmente. Las linealizaciones de los modelos de Freundlich y Langmuir se muestran en la Figura 26.

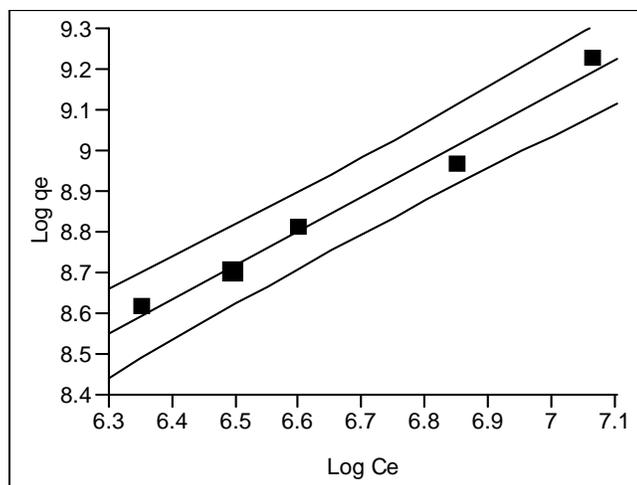
Tabla 37. Variables de las isotermas de adsorción de *Escherichia coli* en el suelo AaMa

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.983	0.485	0.980
K	1821.4	3.6×10^{-8}	5.36×10^{-8}
n	1.1908	-	-
$Smáx$	-	5.0×10^9	3.33×10^9

a) Freundlich

$$y = 0.839x + 3.260$$

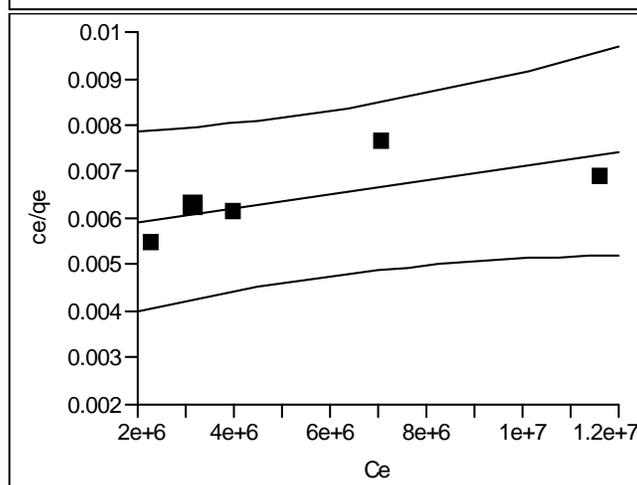
$$R^2 = 0.983$$



b) Langmuir I

$$y = 2E-10x + 0.005$$

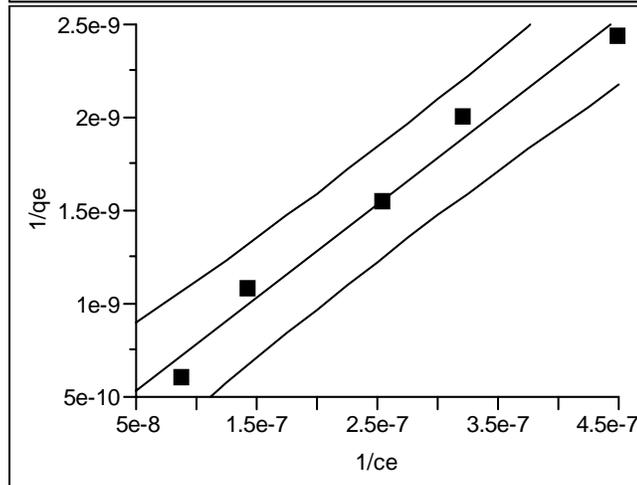
$$R^2 = 0.485$$



c) Langmuir II

$$y = 0.005x + 3E-10$$

$$R^2 = 0.980$$



(Intervalo de confianza 90 %)

Figura 26. Ajustes lineales de la adsorción de *Escherichia coli* en AaMa a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

b) Suelo AaMb

En la Tabla 38 se presentan las concentraciones de *E. coli* adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial de la suspensión (C_0) es de 4.5×10^7 ufc/mL.

Tabla 38. Concentraciones de *Escherichia coli* adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AaMb

Concentración de suelo (g/mL)	Ce (ufc/mL)		qe (ufc/g)	
	Repeticiones	Media	Repeticiones	Media
0.025	3.8×10^5	$4.1 \times 10^5 \pm 7.8 \times 10^4$	1.8×10^9	$1.8 \times 10^9 \pm 3.1 \times 10^6$
	3.6×10^5		1.8×10^9	
	5.1×10^5		1.8×10^9	
0.05	1.1×10^4	$1.5 \times 10^5 \pm 4.3 \times 10^4$	9.9×10^8	$9.0 \times 10^8 \pm 8.6 \times 10^5$
	1.5×10^5		9.0×10^8	
	2.0×10^5		9.0×10^8	
0.075	1.4×10^5	$1.3 \times 10^5 \pm 4.7 \times 10^4$	6.0×10^8	$6.0 \times 10^8 \pm 6.2 \times 10^5$
	8.1×10^4		6.0×10^8	
	1.7×10^5		6.0×10^8	
0.1	6.7×10^4	$1.2 \times 10^5 \pm 6.2 \times 10^4$	4.5×10^8	$4.5 \times 10^8 \pm 6.2 \times 10^5$
	1.9×10^5		4.5×10^8	
	1.3×10^5		4.5×10^8	
0.125	5.2×10^4	$8.2 \times 10^4 \pm 3.0 \times 10^4$	3.6×10^8	$3.6 \times 10^8 \pm 2.4 \times 10^5$
	1.1×10^5		3.6×10^8	
	9.5×10^4		3.6×10^8	

En la Tabla 39 se encuentran las variables obtenidas experimentalmente. Las linealizaciones de los modelos de Freundlich y Langmuir se muestran en la Figura 27.

Tabla 39. Variables de las isotermas de adsorción de *Escherichia coli* en el suelo AaMb

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.928	0.004	0.916
K	4340.1	1.0×10^{-7}	-5.00×10^{-7}
n	0.9948	-	-
$Smáx$	-	5.0×10^{10}	1.00×10^{10}

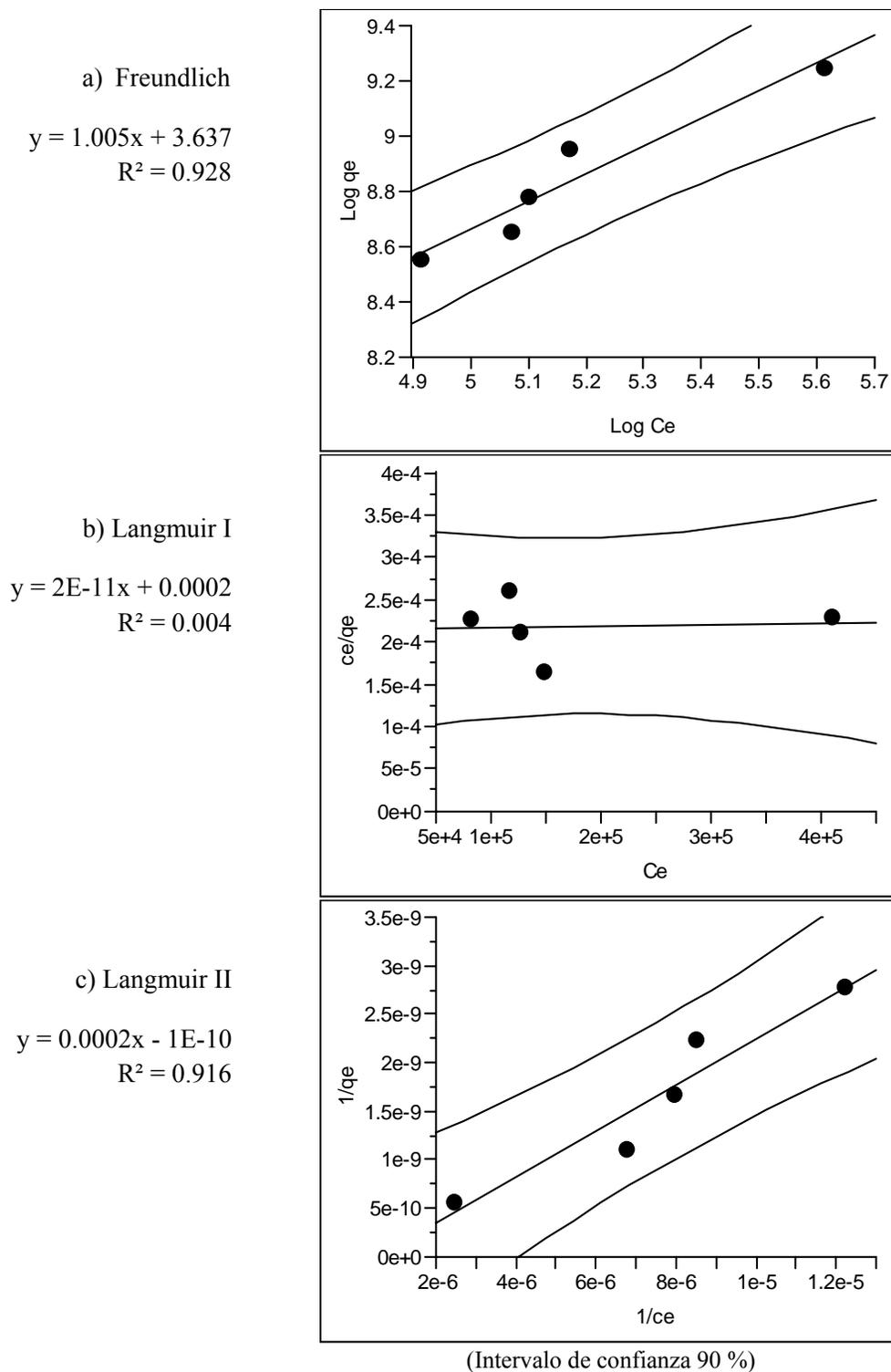


Figura 27. Ajustes lineales de la adsorción de *Escherichia coli* en AaMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

c) Suelo AbMb

En la Tabla 40 se presentan las concentraciones de *E. coli* adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial de la suspensión (C_0) es de 2.2×10^7 ufc/mL.

Tabla 40. Concentraciones de *Escherichia coli* adsorbidas en diferentes concentraciones de suelo AbMb

Concentración de suelo (g/mL)	Ce (ufc/mL)		qe (ufc/g)	
	Repeticiones	Media	Repeticiones	Media
0.025	1.1×10^7	$9.6 \times 10^6 \pm 1.7 \times 10^6$	4.0×10^8	$4.7 \times 10^8 \pm 6.7 \times 10^7$
	8.1×10^6		5.4×10^8	
	9.5×10^6		4.8×10^8	
0.05	7.5×10^6	$6.5 \times 10^6 \pm 9.8 \times 10^5$	2.8×10^8	$3.0 \times 10^8 \pm 2.0 \times 10^7$
	6.7×10^6		3.0×10^8	
	5.5×10^6		3.2×10^8	
0.075	8.0×10^6	$6.7 \times 10^6 \pm 1.1 \times 10^6$	1.8×10^8	$2.0 \times 10^8 \pm 1.4 \times 10^7$
	5.9×10^6		2.1×10^8	
	6.5×10^6		2.0×10^8	
0.1	5.7×10^6	$5.5 \times 10^6 \pm 3.1 \times 10^5$	1.6×10^8	$1.6 \times 10^8 \pm 3.1 \times 10^6$
	5.7×10^6		1.6×10^8	
	5.2×10^6		1.6×10^8	
0.125	4.1×10^6	$4.2 \times 10^4 \pm 1.5 \times 10^6$	1.4×10^8	$1.4 \times 10^8 \pm 1.2 \times 10^7$
	6.0×10^6		1.2×10^8	
	3.1×10^6		1.5×10^8	

En la Tabla 41 se encuentran las variables obtenidas experimentalmente. Las linealizaciones de los modelos de Freundlich y Langmuir se muestran en la Figura 28.

Tabla 41. Variables de las isotermas de adsorción de *Escherichia coli* en el suelo AbMb

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.854	0.436	0.849
K	0.0	-4.6E-08	-4.99E-08
n	0.6418	-	-
$S_{m\acute{a}x}$	-	-5.0E+08	-5.00E+08

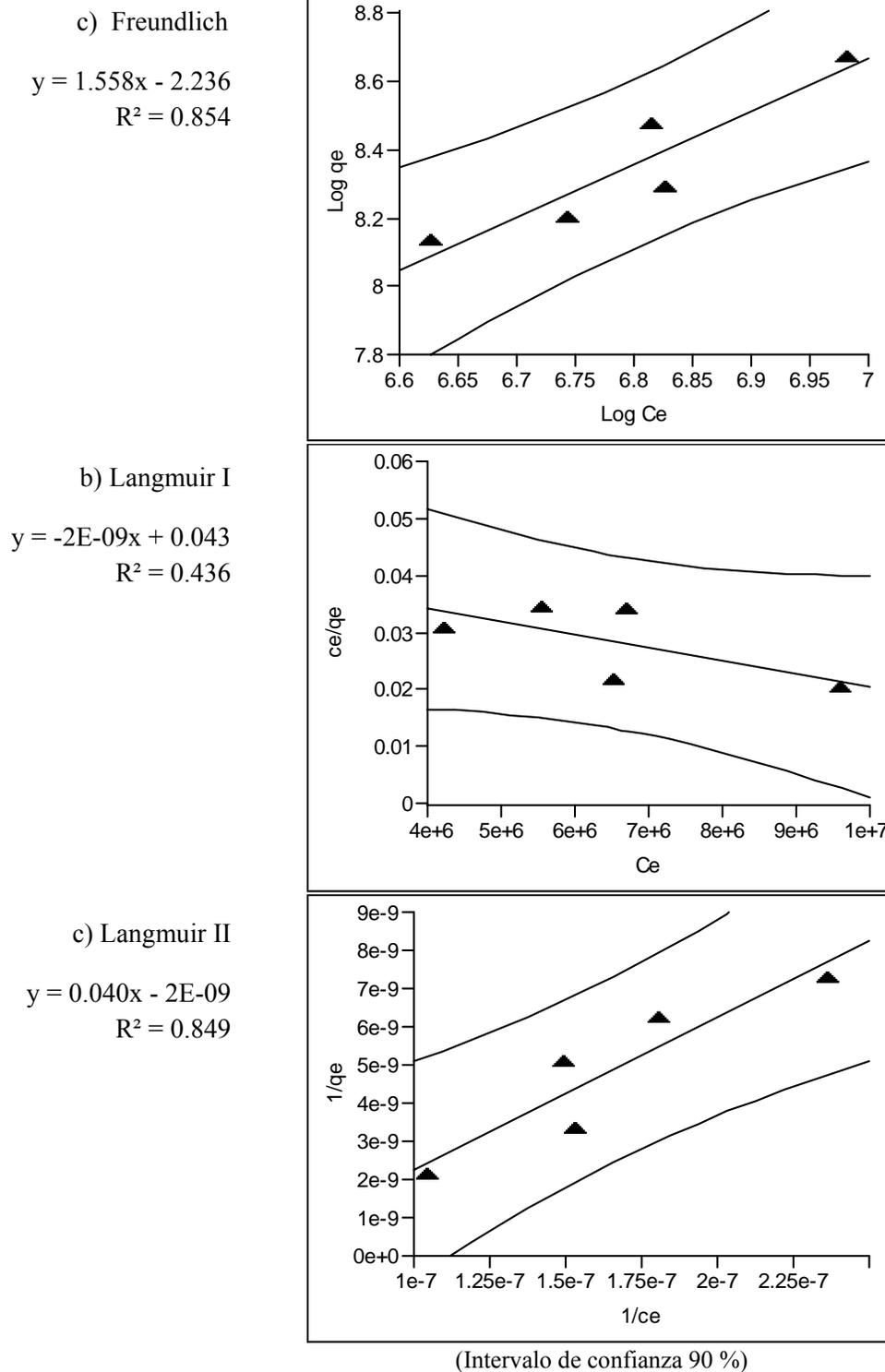


Figura 28. Ajustes lineales de la adsorción de *Escherichia coli* en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

Anexo XI. Ajustes lineales de las isotermas para *Giardia lamblia*

a) Suelo AaMa

En la Tabla 42 se presentan las concentraciones de *Giardia* en sobrenadantes y adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5quistes/mL.

Tabla 42. Concentraciones de quistes de *Giardia lamblia* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMa

Concentración de suelo (mg/mL)	Quistes en sobrenadante	Ce (quistes/mL)	qe (quistes/mg)		
5	9	0.5	0.7±0.3	0.41	0.36±0.07
	12	0.6		0.38	
	12	1.1		0.28	
25	14	1.0	0.8±0.3	0.06	0.07±0.01
	19	0.4		0.08	
	18	0.9		0.06	
50	16	0.7	0.9±0.1	0.07	0.07±0.01
	13	1.0		0.06	
	19	0.9		0.06	
75	15	0.8	0.8±0.3	0.02	0.02±0.0
	10	0.5		0.03	
	21	1.1		0.02	
100	17	0.9	0.9±0.1	0.02	0.02±0.0
	16	0.8		0.02	
	19	1.0		0.02	
125	24	1.2	1.0±0.2	0.01	0.01±0.0
	17	0.9		0.01	
	18	0.9		0.02	

En la Tabla 43 se encuentran las constantes de los modelos de Freundlich y Langmuir, y sus linealizaciones se muestran en la Figura 29.

Tabla 43. Variables de las isotermas de adsorción de *Giardia lamblia* en AaMa

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.549	0.729	0.640
K	0.008	-1.426	-1.433
n	-0.120	-	-
$Smáx$	-	0.004	0.004

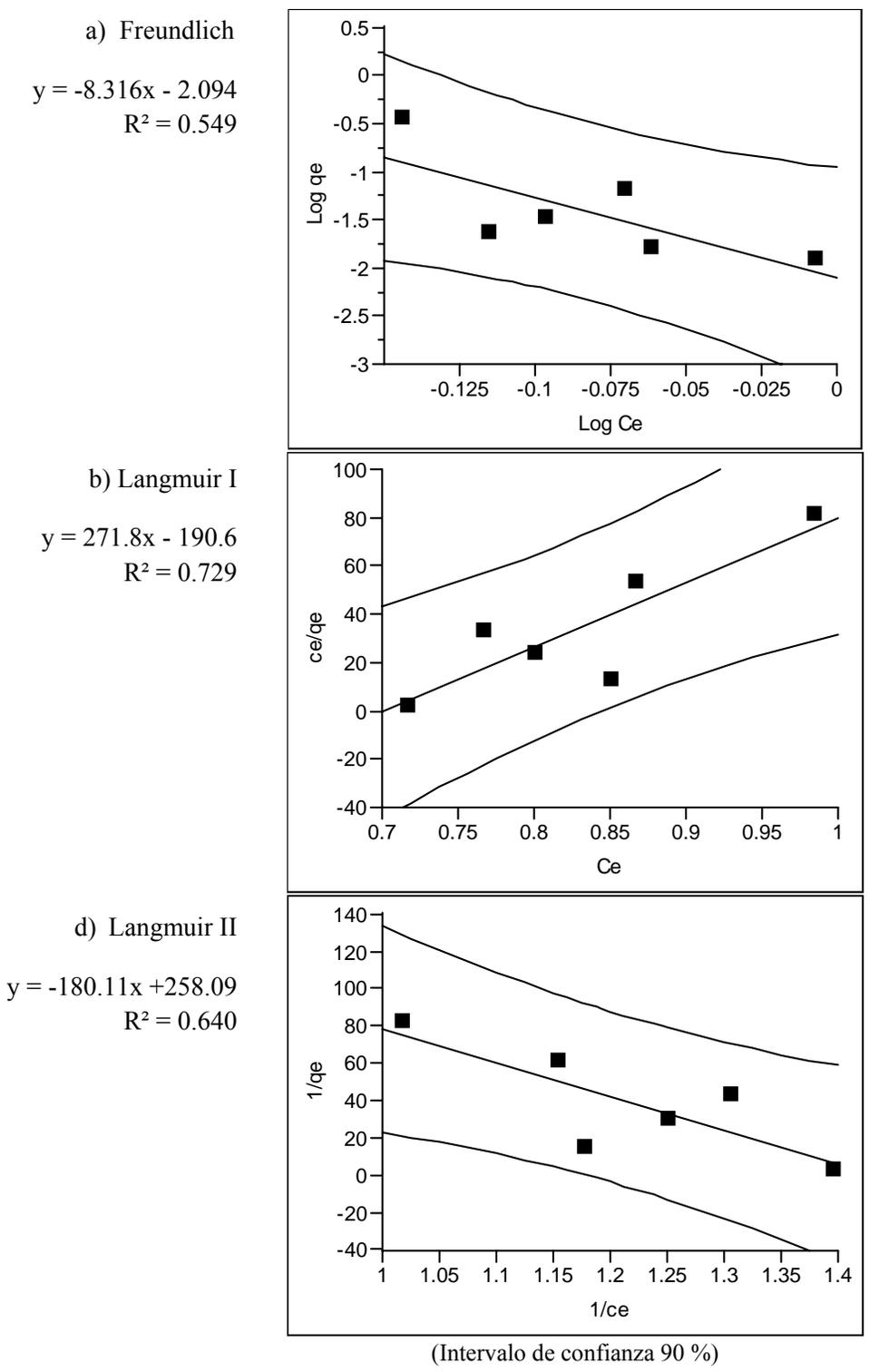


Figura 29. Ajustes lineales de la adsorción de *Giardia lamblia* en AaMa a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

b) Suelo AaMb

En la Tabla 44 se presentan las concentraciones de *Giardia* en sobrenadantes y adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5quistes/mL.

Tabla 44. Concentraciones de quistes de *Giardia lamblia* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMb

Concentración de suelo (mg/mL)	Quistes en sobrenadante	Ce (quistes/mL)		qe (quistes/mg)	
5	9	0.5	0.5±0.1	0.41	0.40±0.02
	9	0.5		0.41	
	12	0.6		0.38	
25	19	1.0	0.8±0.3	0.06	0.07±0.01
	8	0.4		0.08	
	18	0.9		0.06	
50	6	0.3	0.5±0.2	0.04	0.04±0.004
	11	0.6		0.04	
	13	0.7		0.04	
75	11	0.6	0.6±0.2	0.03	0.03±0.003
	8	0.4		0.03	
	17	0.9		0.02	
100	12	0.6	0.8±0.3	0.02	0.02±0.003
	12	0.6		0.02	
	23	1.2		0.01	
125	28	1.4	1.0±0.5	0.01	0.01±0.004
	23	1.2		0.01	
	9	0.5		0.02	

En la Tabla 45 se encuentran las constantes de los modelos de Freundlich y Langmuir, y sus linealizaciones se muestran en la Figura 30.

Tabla 45. Variables de las isotermas de adsorción de *Giardia lamblia* en AaMb

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.453	0.790	0.589
K	0.012	-0.488	-6876.441
n	-0.325	-	-
Smáx	-	0.006	-0.018

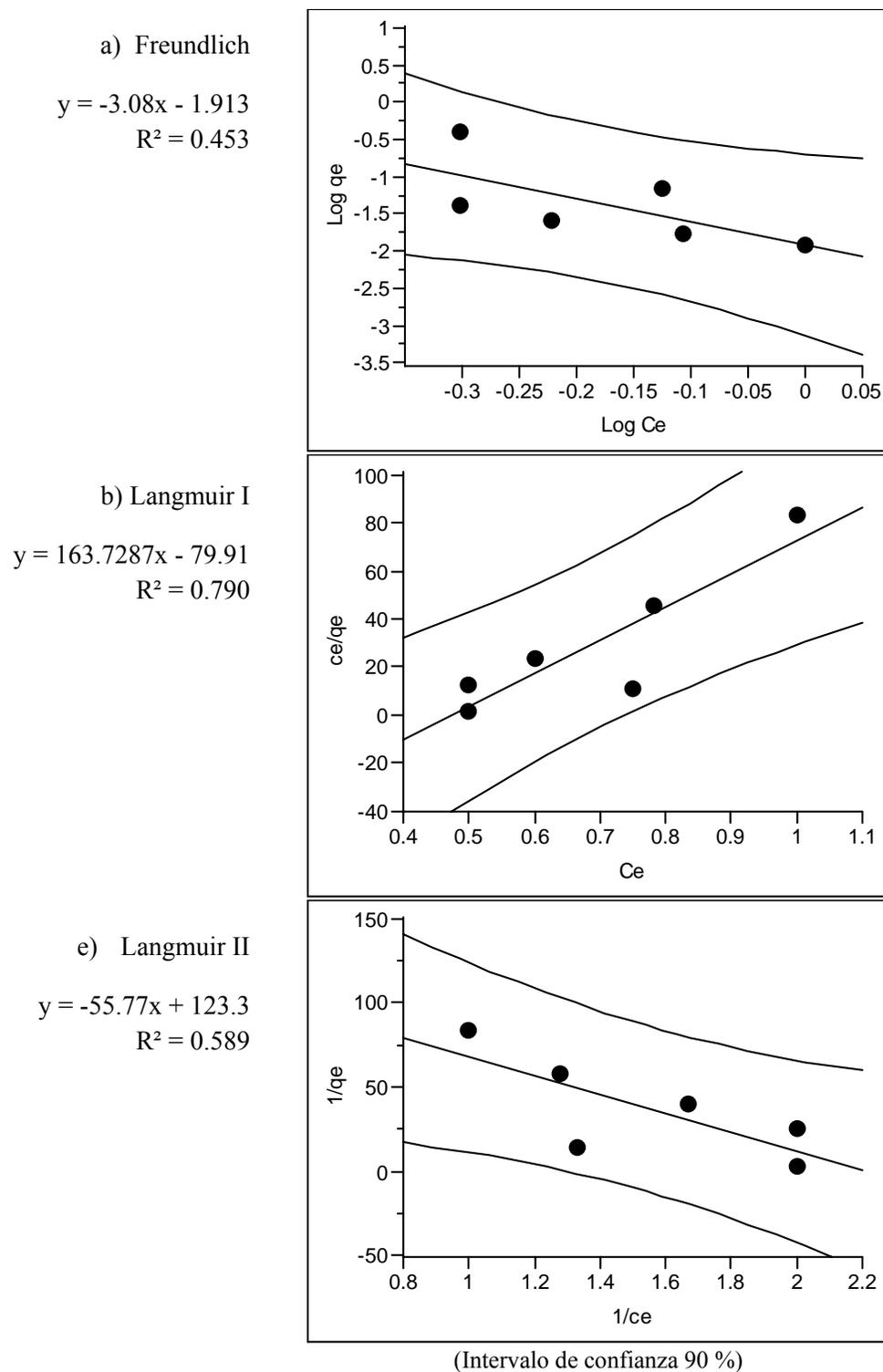


Figura 30. Ajustes lineales de la adsorción de *Giardia lamblia* en AaMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

c) Suelo AbMb

En la Tabla 46 se presentan las concentraciones de *Giardia* en sobrenadantes y adsorbidas en esta muestra de suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5quistes/mL.

Tabla 46. Concentraciones de quistes de *Giardia lamblia* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AbMb

Concentración de suelo (mg/mL)	Quistes en sobrenadante	Ce (quistes/mL)		qe (quistes/mg)	
5	6	0.3	0.2±0.16	0.44	0.46±0.03
	5	0.3		0.45	
	0	0.0		0.50	
25	4	0.2	0.5±0.24	0.09	0.08±0.01
	11	0.6		0.08	
	13	0.7		0.07	
50	4	0.2	0.5±0.22	0.05	0.04±0.004
	12	0.6		0.04	
	11	0.6		0.04	
75	16	0.8	0.5±0.33	0.02	0.03±0.004
	8	0.4		0.03	
	3	0.2		0.03	
100	9	0.5	0.8±0.31	0.02	0.02±0.003
	17	0.9		0.02	
	21	1.1		0.01	
125	18	0.9	1.0±0.40	0.01	0.01±0.003
	28	1.4		0.01	
	12	0.60		0.02	

En la Tabla 47 se encuentran las constantes de los modelos de Freundlich y Langmuir, y sus linealizaciones se muestran en la Figura 31.

Tabla 47. Variables de las isotermas de adsorción de *Giardia lamblia* en AbMb

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.902	0.895	0.600
K	0.010	-3.342	-4.866
n	-0.462	-	-
Smáx	-	0.009	0.014

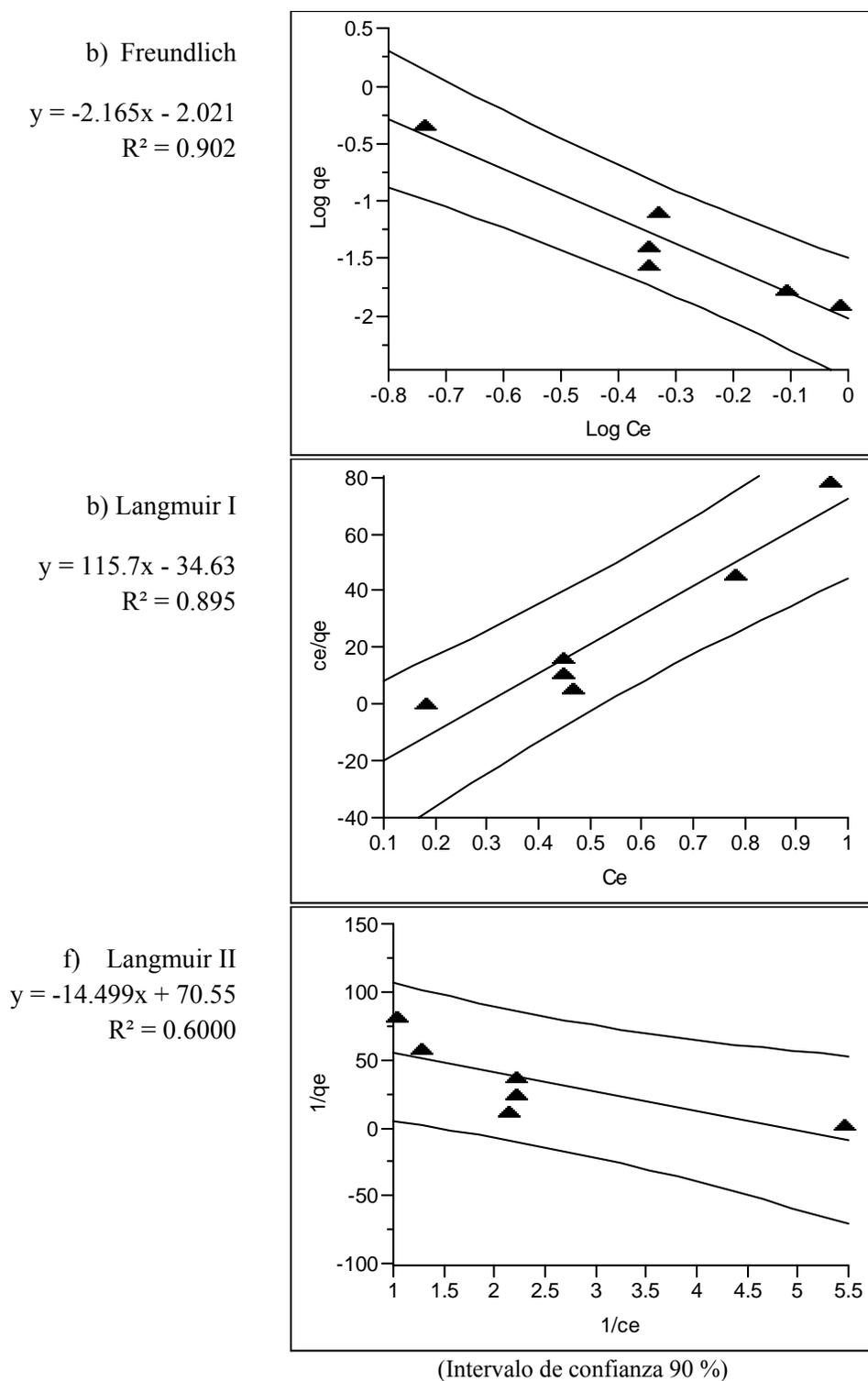


Figura 31. Ajustes lineales de la adsorción de *Giardia lamblia* en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

Anexo XII. Ajustes lineales de las isotermas para *Ascaris lumbricoides*

a) Suelo AaMa

En la Tabla 48 se presentan las concentraciones de *Ascaris* en sobrenadantes y adsorbidos en este suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5 huevos/mL.

Tabla 48. Concentraciones de huevos de *Ascaris lumbricoides* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMa

Concentración de suelo (g/mL)	Concentración en sobrenadante (huevos/20 mL)	C_e (huevos/mL)		q_e (huevos/g)	
0.005	13	0.7	0.5±0.1	370	393±25
	8	0.4		420	
	11	0.6		390	
0.025	8	0.4	0.4±0.04	84	84±2
	9	0.5		82	
	7	0.4		86	
0.05	7	0.4	0.4±0.4	43	42±1
	9	0.5		41	
	8	0.4		42	
0.075	11	0.6	0.6±0.1	26	25±1
	12	0.6		25	
	15	0.8		23	
0.1	5	0.3	0.4±0.1	23	22±1
	8	0.4		21	
	8	0.4		21	
0.125	3	0.2	0.1±0.1	19	20±1
	1	0.1		20	
	0	0		20	

En la Tabla 49 se encuentran las constantes de los modelos de Freundlich y Langmuir, y sus linealizaciones se muestran en la Figura 32.

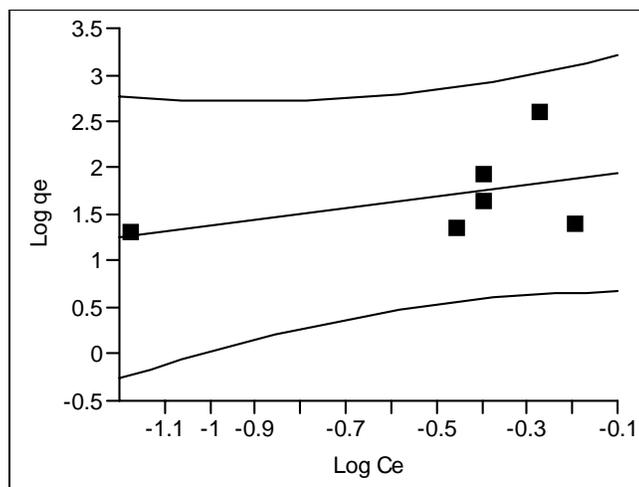
Tabla 49. Variables de las isotermas de adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AaMa

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.194	0.237	0.312
K	99.06	26.00	9.57
n	1.60	-	-
Smáx	-	42.74	49.75

a) Freundlich

$$y = 0.626x + 1.995$$

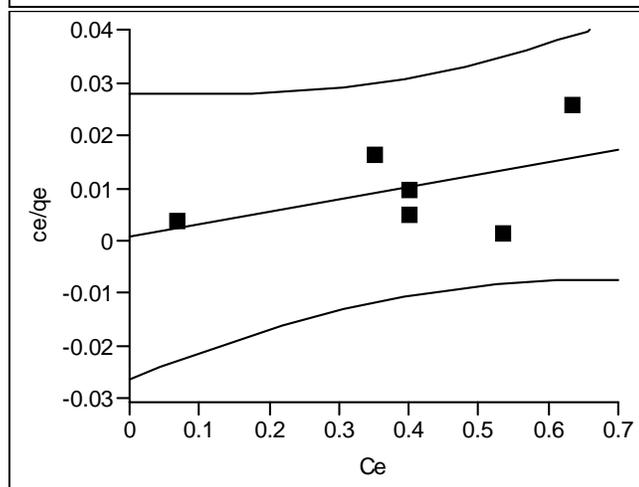
$$R^2 = 0.194$$



b) Langmuir I

$$y = 0.023x + 0.000$$

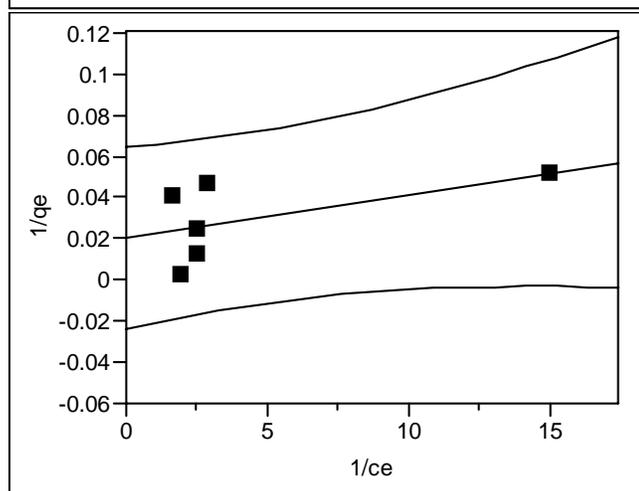
$$R^2 = 0.237$$



c) Langmuir II

$$y = 0.002x + 0.020$$

$$R^2 = 0.312$$



(Intervalo de confianza 90 %)

Figura 32. Ajustes lineales de la adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AaMa a) Isotherma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II

a) Suelo AaMb

En la Tabla 50 se presentan las concentraciones de huevos de *Ascaris* en sobrenadantes y adsorbidos en esta muestra de suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5 huevos/mL.

Tabla 50. Concentraciones de quistes de *Ascaris lumbricoides* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AaMb

Concentración de suelo (g/mL)	Concentración en sobrenadante (huevos/20 mL)	C_e (huevos/mL)	q_e (huevos/g)
0,005	3	0,2	470
	3	0,2	470
	9	0,5	410
0,025	0	0	100
	0	0	100
	0	0	100
0,05	0	0	50
	0	0	50
	0	0	50
0,075	0	0	33
	0	0	33
	0	0	33
0,1	1	0,05	25
	2	0,1	24
	0	0	25
0,125	0	0	20
	0	0	20
	0	0	20

b) Suelo AbMb

En la Tabla 51 se presentan las concentraciones de huevos de *Ascaris* en sobrenadantes y adsorbidos en esta muestra de suelo. La concentración inicial (C_0) fue de 2.5 huevos/mL.

Tabla 51. Concentraciones de quistes de *Ascaris lumbricoides* adsorbidos en diferentes concentraciones de suelo AbMb

Concentración de suelo (g/mL)	Concentración en sobrenadante (huevos/20 mL)	C_e (huevos/mL)		q_e (huevos/g)	
0,005	10	0,5	0,3±0,2	400	433±31
	6	0,3		440	
	4	0,2		460	
0,025	2	0,1	0,4±0,2	96	86±9
	11	0,6		78	
	8	0,4		84	
0,05	3	0,2	0,2±0,1	47	46±1
	4	0,2		46	
	5	0,3		45	
0,075	2	0,1	0,1±0,1	32	32±1
	4	0,2		31	
	0	0		33	
0,1	0	0	0,1±0,1	25	24±1
	0	0		25	
	5	0,3		23	
0,125	0	0	0,0±0,0	20	20±0,0
	0	0		20	
	0	0		20	

En la Tabla 52 se encuentran las constantes de las isothermas, para las regresiones lineales no se tomaron los datos de 0.125 g de suelo/mL.

Tabla 52. Variables de las isothermas de adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AbMb

Constante	Freundlich	Langmuir	
		Tipo I	Tipo II
R^2	0.667	0.093	0.903
K	741.3	-0.9	-0.4
n	0.71	-	-
$Smáx$	-	-277.8	-714.3

En la figura 33 se presentan las regresiones lineales de las isotermas empleadas.

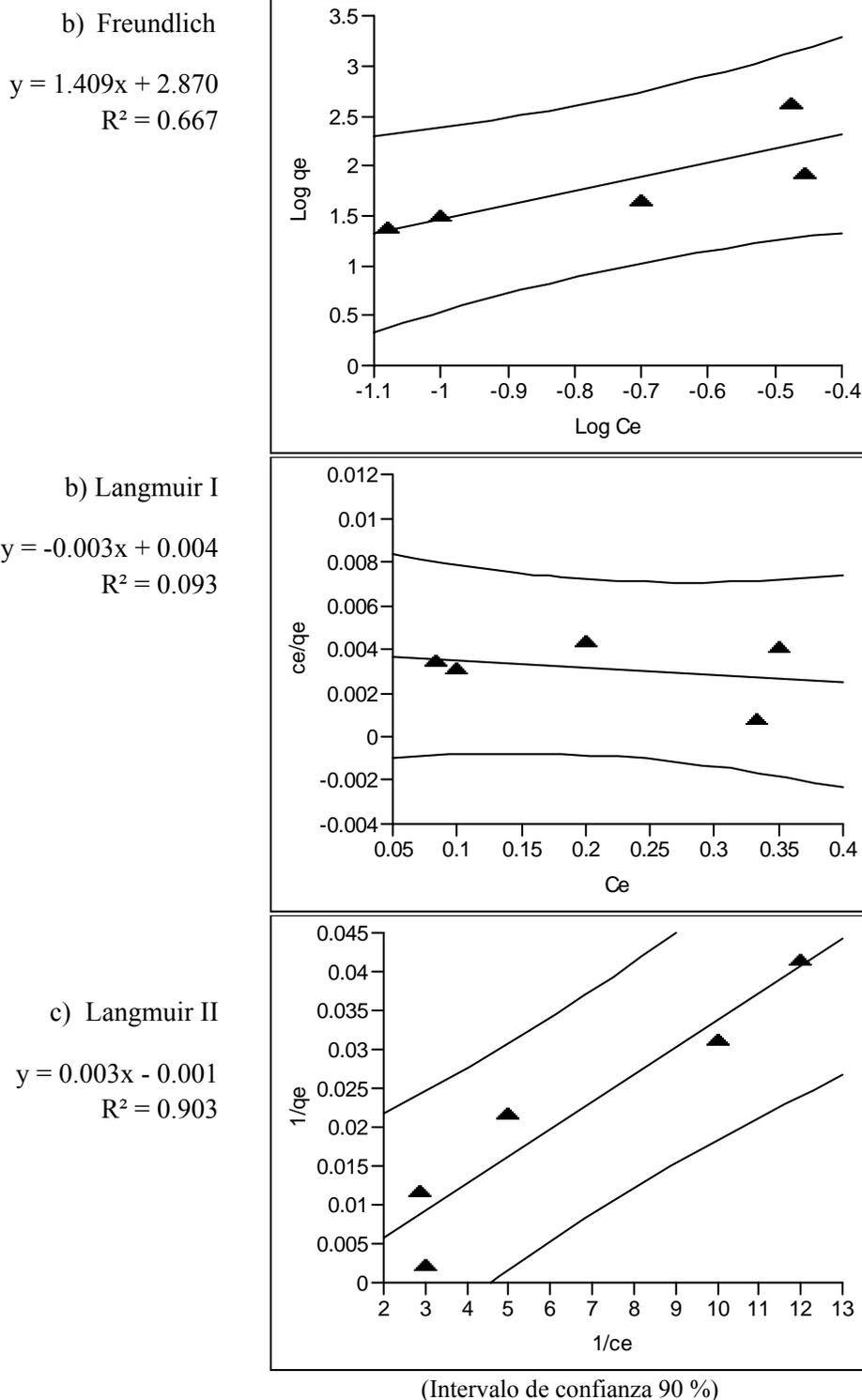


Figura 33. Ajustes lineales de adsorción de *Ascaris lumbricoides* en AbMb a) Isoterma de Freundlich; b) isoterma de Langmuir tipo I; c) isoterma de Langmuir tipo II