
COMPORTAMIENTO DE LOS FAGOS SOMÁTICOS EN MEZCLAS DE BIOSÓLIDO Y ÁRIDOS UTILIZADOS PARA LA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DE LA CANTERA SORATAMA, LOCALIDAD DE USAQUÉN, BOGOTÁ

A. León-Zapata, J. Trejos-Rivera, M. Cárdenas-Guzmán, C. Campos-Pinilla

*Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana
Carrera 7ª No. 43-82, Bogotá, Colombia.
campos@javeriana.edu.co*

RESUMEN

Los biosólidos se caracterizan por tener concentraciones importantes de materia orgánica y nutrientes, lo cual los hace aptos para ser utilizados como enmienda orgánica en la recuperación de terrenos disturbados por el hombre. Su aplicación se encuentra condicionada a la concentración de microorganismos patógenos presentes, los cuales generan un riesgo sanitario para las personas que lo manipulan o entran en contacto directo con ellos. La concentración de fagos somáticos en los biosólidos de la planta “El Salitre” es de 2.0×10^4 PFP/g de peso seco, superando los límites sugeridos por la EPA para aplicación sin restricción. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de los fagos somáticos como indicadores virales de contaminación fecal en mezclas de biosólido y árido en diferentes proporciones utilizadas para la restauración ecológica de la cantera “Soratama” en un período de 90 días. Se realizaron tres tratamientos (T1 8:1; T2 4:1 y T3 2:1, v/v de arena - biosólido) con tres réplicas cada uno y un control negativo, únicamente con estériles. Se utilizó la técnica de elusión descrita por Lasobras (1999) y el método para detección y cuantificación de fagos somáticos en aguas, descrito por ISO 10705-2 (1999). El porcentaje de reducción fue de 97,84% para T1, 91,38% para T2 y 98,05% para T3. Se observó que el factor de mayor influencia en la reducción de la concentración de fagos somáticos fue la humedad.

Palabras clave: biosólido, enmienda orgánica, fagos somáticos, restauración ecológica.

ABSTRACT

Biosolids have high concentrations of organic matter and nutrients. This is important because they can be used like organic amendment to recover disturbed areas. However, the application of biosolids is limited by the levels of pathogenic microorganisms. This fact produces a sanitary risk to person that handles it. Somatic phages concentration of biosolids produced in the wastewater treatment plant “El Salitre” have been estimated in 2.0×10^4 PFU/g DM. This value exceeding the limits established by EPA for applications without restrictions. The main objective of this study was to evaluate somatic phages behavior as indicators of faecal contamination in different mixtures of sand and biosolids used for the ecological restoration of “Soratama” quarry during 90 days. Three treatments (T1 8:1; T2 4:1 y T3 2:1, v/v sand - biosolid) with three replications were evaluated using elusion technique described by Lasobras (1999) and method for detection and quantification of somatic phages in water described by ISO 10705-2 (1999). The reduction of phage concentration was 97,84% for T1, 91,38% for T2 y 98,05% for T3. The moisture was the most important factor influencing concentration of somatic phages.

Key words: biosolid, ecological restoration, organic amendment, somatic phages.

INTRODUCCIÓN

En las zonas metropolitanas urbanas se requieren millones de toneladas de materiales de origen geológico para levantar edificios, tender pavimentos y rellenar depresiones del terreno con fines de urbanización. Estos sistemas de explotación para la obtención de materiales para construcción, han generado degradación en zonas suburbanas y periféricas con un gran número de canteras que generan un efecto negativo profundo sobre el ambiente, la estética y la calidad de vida (Antón, 2001). Según el artículo 112 del Código Colombiano de Minas, las canteras se definen como el sistema de explotación a cielo abierto que permite la extracción de rocas y minerales no disgregados, utilizados como materiales de construcción. Por tal razón, si después de extraer los minerales no se realiza un proceso de restauración, los terrenos abandonados quedan sin posibilidad de aprovechamiento y muy degradados (Hernández, 1996).

La restauración ecológica consiste en la aplicación de técnicas y estrategias para el restablecimiento total o parcial de la estructura y función de ecosistemas disturbados, tomando como punto de referencia los ecosistemas alterados, con el fin de llevarlos a un estado igual o similar al original (Salamanca y Camargo, 2000). Para mejorar las características físicas y químicas de estos suelos erosionados se requiere de enmiendas orgánicas que aceleren el proceso de restauración. Una enmienda orgánica se puede definir como el material compuesto fundamentalmente por sustancias ricas en sustratos como carbono, nitrógeno y fósforo, los cuales son mineralizados, bajo la acción de la microflora del suelo. Los tipos de enmiendas más utilizados en la actualidad son el compostaje, estiércol y los biosólidos. El aprovechamiento de biosólidos como enmiendas del suelo parece ser uno de los usos más adecuados para este resi-

duo orgánico, sobre todo en países donde los suelos son escasos en materia orgánica. Por otra parte, la alta producción de lodos, permite la disposición de éstos para diferentes usos como el aprovechamiento agrícola, enmienda para suelos, incineración con recuperación energética y el depósito en vertederos.

Los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales domésticas, tienen una alta concentración de materia orgánica y de microorganismos patógenos. Estos últimos constituyen uno de los inconvenientes más importantes para la utilización y disposición de este producto (Ward & Ashley, 1978). La Norma 503 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (1995), define dos tipos de biosólidos con respecto a la concentración de agentes patógenos: Clase A, (para enterovirus la concentración límite es <1 PFP/4g PS) y clase B (superan la concentración para clase A).

A pesar de las ventajas que poseen los biosólidos éstos pueden generar un riesgo sanitario, debido a la concentración de microorganismos patógenos que pueden ser transmitidos al hombre. La identificación de los microorganismos patógenos requiere desde un gran número de muestras, laboratorios especializados en el caso de los virus y un tiempo prolongado de análisis. Debido a esto se ha planteado el uso de microorganismos indicadores de contaminación fecal, los cuales tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a concentración, sensibilidad frente a factores ambientales y barreras artificiales, pero resultan más fáciles, económicos y rápidos de identificar. En el caso de los virus, se han propuesto los bacteriófagos como indicadores de contaminación viral (IAWPRC, 1991; Ackermann, 1992). Dentro de los bacteriófagos propuestos como indicadores se encuentran los colifagos somáticos, los fagos F-específicos y los

bacteriófagos que infectan *Bacteroides fragilis*.

El comportamiento de los virus en el suelo está influenciado por diversos factores, tales como el tipo de virus, la clase de suelo, y los factores ambientales presentes (Sobsey & Meschke, 2003). La temperatura es uno de los factores que determinan la supervivencia del virus y su persistencia; ésta última puede ser afectada por temperaturas elevadas a través de varios mecanismos, que incluyen la desnaturación de las proteínas, daño del material genético y cambios en la actividad enzimática (Deng & Cliver, 1995). La inactivación de fagos expuestos a la luz solar ocurre cuando la radiación daña la cápside y/o el genoma (Bitton *et al.*, 1979). El pH tiene efectos en la supervivencia del virus, puede influir directamente en la modificación de la estructura de las proteínas de la cápside e indirectamente, en la adsorción del virus y elusión de otras partículas (Bitton *et al.*, 1984). La adsorción de virus generalmente aumenta cuando disminuye el pH (Gerba & Bitton, 1984). De igual forma, la supervivencia del virus está relacionada con la humedad en el sólido. Como regla general, los patógenos sobreviven por más tiempo bajo condiciones favorables de humedad. En algunos estudios la inactivación de poliovirus, echovirus, y enterovirus en sólidos ha mostrado ser dependiente de la pérdida de humedad. En períodos de sequía la inactivación de los virus es creciente (Hurst *et al.*, 1980). De la misma manera, la lluvia es un factor determinante tanto en la concentración como en la supervivencia de los fagos, debido a que las lluvias alteran la carga superficial del suelo y los virus generando un proceso de desorción. Quanrud *et al.* (2003), en un estudio sobre la movilización de fagos en dos tipos de sólidos (arena del río y arena de construcción), encontraron que la disminución de poliovirus tipo 1 fue supe-

rior a la de los colifagos. La retención de colifagos fue significativamente más eficaz en arena de río con un porcentaje del (93%) que en arena de construcción con un porcentaje de (76%). Se observó que la movilización de estos colifagos ocurrió durante un período de lluvia simulada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Parcelas

Zona de estudio: la cantera "Soratama", localizada al nororiente de Bogotá, dejó de explotarse desde hace más de 7 años. Se encuentra localizada en la parte alta del barrio Soratama en la localidad de Usaquén.

Preparación de las mezclas: la preparación de las mezclas se realizó en el frente de explotación utilizando los áridos presentes en la cantera. Al finalizar las mezclas se determinaron las concentraciones de carbono orgánico en cada tratamiento: Tratamiento 1 (T1) concentración al 0,2% (p/p) de carbono orgánico: para este tratamiento se mezclaron 8 partes de estériles por 1 parte de biosólido. Tratamiento 2 (T2) concentración al 0,4% (p/p) de carbono orgánico: Se mezclaron 4 partes de estériles por 1 parte de biosólido. Tratamiento 3 (T3), concentración al 0,8% de carbono orgánico: La proporción de la mezcla fue de 2 partes de estériles por 1 parte de biosólido. Control (C) suelo estéril, concentración del 0,09% (p/p) de carbono orgánico.

Toma de muestras: las muestras se tomaron por medio de un tubo de PVC de 10 cm de longitud y terminación en forma de pico de flauta, para facilitar la entrada al suelo.

Simulación de lluvias

Una vez obtenidos los resultados del experimento de las parcelas, se encontró que la concentración inicial de fagos somáticos

en el biosólido no era la esperada (1.9×10^2 PFP/g PS), con respecto a la concentración encontrada por Guzmán (2002) en la planta “El Salitre” (2.0×10^4 PFP/g PS). Estas bajas concentraciones hicieron pensar que el período de almacenamiento del biosólido había influido en la concentración de los fagos somáticos. Una vez se revisaron las condiciones meteorológicas de este período, se consideró que la lluvia podía influir en dicha disminución ya que por estudios encontrados en la literatura, se sabe que éstas determinan procesos de adsorción y desorción de los fagos. Con base en esta hipótesis se diseñó un experimento de simulación con el fin de determinar si la lluvia podía explicar la disminución de los fagos en el biosólido, durante el período de almacenamiento. Para este propósito se tuvieron en cuenta las condiciones de almacenamiento del biosólido durante el período de llegada a la cantera el día 9 de octubre, hasta el día de montaje del experimento, el día 11 de noviembre, intentando que las condiciones ambientales que sufrió el biosólido fueran las más parecidas, y teniendo en cuenta la tendencia de lluvias en el año para determinar los meses del montaje.

Montaje del experimento: se realizó durante los meses de abril y mayo, cuando se esperaban niveles altos de precipitación, uno de prueba y otro de control. En el montaje de prueba se dejó el biosólido expuesto a las lluvias. El control, se cubrió únicamente en el momento que se presentaron precipitaciones con un plástico transparente para evitar que la lluvia lo afectara. Para este estudio se utilizaron aproximadamente 200 kg de biosólido para cada uno de los ensayos, los cuales se dispusieron en forma de pila en dos camas de lámina a las cuales se les aplicó un anticorrosivo. Las camas tenían una longitud de 80 cm de ancho x 110 cm de largo; una de las camas tenía en el centro de uno de los extremos, pequeños huecos para tomar muestra del lixiviado.

Toma de muestras: para este experimento, se tomaron muestras de cada montaje (control y prueba) de la parte superficial y de la profundidad de la pila. Además, se tomó una muestra del lixiviado proveniente de la cama expuesta a la lluvia, en un frasco estéril de 500 mL. Adicionalmente, se tomó la temperatura introduciendo el termómetro a 10 cm de profundidad aproximadamente.

Para evaluar la influencia de factores ambientales como temperatura, radiación solar y precipitación, se obtuvieron datos del período de evaluación, de la estación meteorológica ubicada en la cantera “Sorata”, perteneciente a la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá.

Cuantificación de coliformes fecales: durante el período de simulación se realizó un recuento de coliformes fecales para determinar si estos microorganismos estaban sufriendo cambios en cuanto a su concentración. Ya que en esta población se encuentran las células hospedero de los fagos. La toma de muestras para el análisis de estos microorganismos se realizó los días 4 y 10 de mayo de 2004.

Análisis de las muestras

Cuantificación de fagos somáticos y coliformes fecales: la técnica utilizada para la determinación de fagos somáticos, es la técnica de elusión descrita por Lasobras *et al.* (1999), y el método para detección y cuantificación de colifagos somáticos en aguas, descrito por la ISO 10705-2 (1999). La técnica utilizada para la cuantificación de coliformes fecales es el método de recuento en placa mediante filtración por membrana según la EPA/625/R92/013.

Análisis estadístico

Se efectuaron tres réplicas de cada tratamiento y cuatro muestreos y para la simu-

lación dos experimentos y seis muestreos. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para buscar diferencias significativas en cuanto a la concentración de fagos somáticos entre los tratamientos y los montajes de la simulación ($p < 0.05$).

Para determinar la influencia de los factores ambientales como temperatura ambiente, radiación solar, precipitaciones y humedad en la concentración de fagos somáticos, se realizó un análisis estadístico de regresión lineal para los dos experimentos ($p < 0.1$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parcelas. Las parcelas fueron construidas un mes después de la disposición de los biosólidos en la cantera. Aunque inicialmente se tenía planeado muestrear en los días 0, 8, 15, 30 y 90 días, este último análisis no se realizó ya que la concentración de fagos un mes después de iniciado el muestreo era muy baja. En la tabla 1 se observa la concentración promedio de fagos somáticos en cada uno de los tratamientos, en los diferentes días de muestreo.

De acuerdo con el análisis estadístico (ANOVA), esta reducción no fue significa-

tiva ($p > 0.05$). Es importante anotar que la concentración inicial de estos microorganismos en el biosólido en el momento de construir las parcelas fue baja (1.9×10^2 PFP/g PS), comparados con los valores encontrados por Guzmán (2002) (2.0×10^4 PFP/g PS) y continuó disminuyendo en los diferentes tratamientos al realizar las mezclas con los estériles provenientes de la cantera, posiblemente por el tiempo que estuvo el biosólido expuesto a la lluvia antes de montar las parcelas. La concentración final en cada uno de los tratamientos fue de $<1.1 \times 10^0$ PFP/g PS para T1, $<1.1 \times 10^0$ PFP/g PS para T2 y 1.7×10^0 PFP/g PS para T3. El control fue negativo para la presencia de fagos somáticos tal y como se esperaba. Para evaluar la reducción o aumento de los fagos somáticos a través del tiempo, se determinó el porcentaje de reducción entre muestreos y el porcentaje de reducción final comparado con la concentración inicial encontrándose una reducción en la concentración de fagos durante los días 0 y 8 (97,82% para T1, 88,04% para T2 y 40,57% para T3) y posteriormente hubo un aumento. Al final del experimento, se observó que los porcentajes de reducción de indicadores virales fueron superiores al 90% y el tratamiento 3 fue el que presentó mayor disminución en la con-

Tabla 1
Concentración promedio de fagos somáticos en los tratamientos a través del tiempo

TRATAMIENTO	FAGOS SOMÁTICOS PFP/g PS			
	DÍA 0	DÍA 8	DÍA 15	DÍA 30
T1	5.1×10^1	$<1.1 \times 10^0 *$	2.0×10^0	$<1.1 \times 10^0 *$
T2	7.2×10^0	1.4×10^0	2.1×10^0	$<1.1 \times 10^0 *$
T3	7.4×10^1	1.9×10^1	2.4×10^0	1.7×10^0
C	$<1.1 \times 10^0 *$	$<1.1 \times 10^0 *$	$<1.1 \times 10^0 *$	$<1.1 \times 10^0 *$

PFP/g PS: Partículas formadoras de placa por gramo de peso seco * Límite de detección de la técnica. T1: Tratamiento 1, concentración al 0,2% (p/p) de carbono orgánico; 8:1 estériles y biosólido (v/v). T2: Tratamiento 2, concentración al 0,4% (p/p) de carbono orgánico; 4:1 estériles y biosólido (v/v). T3: Tratamiento 3, concentración al 0,8% (p/p) de carbono orgánico; 2:1 estériles y biosólido (v/v). C: Control, concentración del 0,09% (p/p) de carbono orgánico.

centración de fagos somáticos con un 98,05%. En el control no se observó presencia de fagos somáticos, debido a que se utilizaron los estériles de la cantera de “Soratama”, libres de contaminación de origen fecal. Zhuang y Jin (2003), estudiaron las diferentes formas de influencia de la materia orgánica en la retención y transporte de dos fagos (MS2 y φ174) en columnas de arena y suelo, indicando que la materia orgánica en las partículas de suelo puede proporcionar cargas negativas adicionales que pueden repeler los virus, disminuyendo las interacciones electrostáticas entre los virus y las partículas de suelo. Como se ob-

servó en este estudio y en las parcelas, la textura del suelo derivada de las mezclas fue arenosa y por lo tanto, la retención de fagos somáticos fue baja, además el porcentaje de carbono orgánico es igualmente bajo, lo que indica que posiblemente las interacciones electrostáticas entre los virus y las partículas del suelo fueron débiles, por lo que se pudo presentar un fenómeno de desorción. Para evaluar la influencia de factores ambientales como humedad, temperatura, radiación solar y lluvias se tomaron datos durante el período de evaluación. Dichos valores se observan en las tablas 2 y 3.

Tabla 2
Resultados promedio de humedad en los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO	% HUMEDAD			
	DÍA 0	DÍA 8	DÍA 15	DÍA 30
T1	9.73%	11.18%	9.44%	8.57%
T2	12.35%	15.01%	11.29%	10.75%
T3	20.08%	31.36%	15.06%	13.84%
C	7.04%	8.32%	5.81%	6.97%

T1: Tratamiento 1, concentración al 0,2% (p/p) de carbono orgánico; 8:1 estériles y biosólido (v/v). T2: Tratamiento 2, concentración al 0,4% (p/p) de carbono orgánico; 4:1 estériles y biosólido (v/v). T3: Tratamiento 3, concentración al 0,8% (p/p) de carbono orgánico; 2:1 estériles y biosólido (v/v). C: Control, concentración del 0,09% (p/p) de carbono orgánico.

Tabla 3
Temperatura ambiente, radiación solar y precipitaciones promedio presentadas durante el período de evaluación

TIEMPO	Radiación Solar [Wm ²]	Temperatura [°C]	Precipitación [mm]
DÍA 0	209.7	13.1	0.0
DÍA 8	145.6	12.3	0.8
DÍA 15	193.0	12.8	0.0
DÍA 30	219.5	12.8	1.2

Fuente: Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, 2004.
°C: grados centígrados, mm: milímetros de lluvias, Wm²: Watts metro cuadrado.

El análisis de regresión lineal, muestra que la humedad, la temperatura ambiente y la radiación solar influyen significativamente en la concentración de fagos somáticos ($p < 0.1$); mientras que las precipitaciones por el contrario no presentan influencia significativa ($p > 0.1$). Estos resultados, en los que se observa que el porcentaje de humedad fue bajo (6-14%) para T1 y T2, y medio (14-31%) para T3, concuerdan con los datos reportados por Moe (1982) citado por Sobsey y Meschke (2003), los cuales muestran que los virus se ven afectados por la humedad que presenta el medio donde se encuentren. La radiación solar presentó una influencia significativa en la concentración de fagos somáticos en las mezclas. Además del aumento de temperatura que generan los rayos del sol, la acción de la luz UV ayuda a disminuir la concentración de microorganismos al alterar su material genético. De acuerdo al análisis estadístico, la temperatura ambiente influyó significativamente en la concentración de fagos somáticos en las parcelas; sin embargo, la variación de temperatura ambiente que se presentó durante el período de muestreo no fue mayor a 1°C. Los anteriores resultados, evidencian que la concentración de los fagos somáticos no se define por el efecto de un sólo factor ambiental sino por la acción e interacción de varios de ellos.

Simulación. En la tabla 4 se pueden observar las concentraciones de los fagos somáticos durante el período de evaluación.

No se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), en la disminución de la concentración de fagos somáticos durante el período de simulación. Por otro lado, se evaluó el porcentaje de reducción de los fagos en cada una de las muestras analizadas comparándolo con la concentración inicial.

En las muestras de prueba superficie y profundidad el porcentaje de reducción final fue de 14,47 y 8,52% respectivamente; para las muestras de control superficie y profundidad la reducción final fue de 36,75 y 26,07% respectivamente. Los datos de porcentaje de humedad se observan en la tabla 5.

Los resultados muestran que la humedad no influyó significativamente en la concentración de fagos somáticos ($p < 0.1$). En el experimento de prueba de superficie y profundidad se observó que la humedad disminuyó desde el día 0 al día 28 hasta 55,09 y 66,27% respectivamente. En las muestras control se observó que en la superficie la humedad disminuyó hasta 47,72%, siendo esta muestra la que presentó mayor porcentaje de reducción y en el control profundidad se presentó una dis-

Tabla 4
Concentración promedio de fagos somáticos durante el período de simulación

Prueba	FAGOS SOMÁTICOS PFP/g PS						
	DÍA 0	DÍA 4	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 14	DÍA 21	DÍA 28
P. S.	1.30×10^4	2.3×10^4	1.2×10^5	7.2×10^5	1.1×10^6	3.1×10^7	3.3×10^7
P. P.	1.30×10^4	7.7×10^3	8.5×10^3	6.6×10^3	8.4×10^3	2.1×10^3	5.8×10^3
C. S.	1.30×10^4	1.7×10^4	8.1×10^3	5.5×10^3	1.5×10^4	4.5×10^3	4.0×10^2
C. P.	1.30×10^4	1.8×10^4	3.3×10^3	3.4×10^3	4.6×10^3	1.8×10^3	1.1×10^3
Lx.	N.D	1.6×10^4	3.2×10^3	2.5×10^3	1.8×10^3	3.8×10^3	4.0×10^2

PFP/g: Partículas formadoras de placa por gramo de PS N.D: No Determinado. P. S. Prueba Superficie, P. P. Prueba Profundidad, C. S. Control Superficie, C. P. Control Profundidad, Lx. Lixiviado.

Tabla 5
Porcentaje de humedad del biosólido durante el experimento de simulación

PRUEBA	% HUMEDAD						
	DÍA 0	DÍA 4	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 14	DÍA 21	DÍA 28
P. S.	67.82%	65.86%	59.71%	59.49%	58.78%	55.09%	55.09%
P. P.	67.82%	68.81%	68.16%	68.28%	67.72%	67.43%	66.27%
C. S.	67.82%	66.12%	55.66%	55.67%	55.88%	50.88%	47.72%
C. P.	67.82%	67.33%	66.62%	67.55%	74.33%	66.68%	58.56%

P. S. Prueba Superficie, P. P. Prueba Profundidad, C. S. Control Superficie, C. P. Control Profundidad.

minución de la humedad hasta 67,56%. La estadística muestra que la humedad presente en el biosólido no influye de manera significativa en las muestras de prueba y control, posiblemente porque a pesar de estas variaciones, los valores son adecuados para que los microorganismos se desarrollen óptimamente. Sin embargo, se observó que a medida que la humedad disminuye la concentración de fagos se reduce.

Por otra parte, se midió el pH de las muestras en cada uno de los experimentos. De acuerdo al análisis estadístico, el pH no influyó significativamente en la concentración de los fagos ($p > 0.1$). En las muestras de prueba superficie y profundidad el pH disminuyó hasta 7.13 y 7.81 respectivamente. En la muestra control superficie el pH disminuyó hasta 6.9, esta muestra fue donde se presentó mayor reducción del pH. Schulze-Makuch *et al.* (2003), encontraron que varios procesos están implicados en el control del destino y transporte de virus en agua subterránea: el transporte, la dispersión, la adsorción, la desorción, filtración, y la inactivación. Asimismo el pH del agua afecta procesos químicos y biológicos, tales como adsorción e inactivación, pero no procesos físicos, tales como filtración y transporte.

La temperatura disminuyó de 25 hasta 15°C entre el día 0 al 28; la temperatura promedio fue de 16.8°C. En las muestras del control se observó que la temperatura estuvo

entre 19°C y 25°C con un promedio de 20.8°C. Según los resultados observados en la simulación, la temperatura se encontró entre 15 y 21°C, sin presentarse cambios extremos durante el período de estudio. De acuerdo con el análisis estadístico, la temperatura que se presentó en el control influyó significativamente en el comportamiento de los fagos somáticos durante el experimento. Debido al aumento en la concentración de fagos somáticos observado entre los días 10 y 14, se realizó un análisis durante los días 21 y 28 para verificar la presencia de coliformes fecales, ya que más del 90% de este grupo está conformado por *Escherichia coli* que puede servir como hospedero para la replicación de los fagos. Esto podría explicar la permanencia de concentraciones importantes de fagos en el biosólido a pesar de la pérdida por el proceso de desorción tal y como se observó en el lixiviado.

En la tabla 6 se observa que las concentraciones de coliformes fecales se encontraban entre 10^4 a 10^6 UFC/g PS. En las muestras de control superficie el día 21 la concentración fue mayor (1.4×10^7 UFC/g de PS) comparado con las otras muestras, pero en el día 28 se observó que su concentración disminuyó 2 unidades logarítmicas (3.8×10^5 UFC/g de PS), lo cual puede ser una de las causas por las cuales se presentó mayor concentración de fagos somáticos en la muestra de control superficie ya que al disminuir la concentración de la bacte-

Tabla 6
Concentración de coliformes fecales en el día 21 y 28 durante el período de simulación

PRUEBA	COLIFORMES FECALES UFC/g PS	
	DÍA 21	DÍA 28
P. S.	5.1×10^6	1.6×10^6
P. P.	1.2×10^6	8.9×10^5
C. S.	1.4×10^7	3.8×10^5
C. P.	7.2×10^4	1.1×10^5
Lixiviado	9.8×10^3	3.0×10^3

UFC/g PS: Unidades formadoras de colonia/gramo de PS, P. S. Prueba Superficie, P. P. Prueba Profundidad, C. S. Control Superficie, C. P. Control Profundidad.

ría hospedero las posibilidades de replicación de los fagos disminuía en comparación con las otras muestras. Estos resultados coinciden de igual forma con la disminución en la concentración de fagos en las muestras de lixiviado al final del experimento. El promedio de las lluvias que se presentaron en los meses de abril y mayo durante la simulación, fue de 154 mm, observándose que durante este tiempo las precipitaciones fueron mayores a las que se presentaron en los meses de octubre y noviembre, (35.1 mm), período de almacenamiento de los biosólidos en la cantera antes de la construcción de las parcelas. Según el análisis de regresión lineal, este factor no influyó en la reducción de fagos somáticos ($p > 0.1$). Sin embargo, es posible que la alta pluviosidad que se presentó durante el período de evaluación de la simulación pudiera mantener la humedad en un porcentaje elevado, lo cual puede favorecer por una parte el crecimiento de la bacteria hospedero y tanto la replicación y por otro lado la permanencia de las partículas virales en el biosólido. Dicha replicación permitiría la recuperación de los fagos perdidos por desorción que se encontraban en el lixivio-

do. Este fenómeno de desorción por lluvias fue observado por Nicosia *et al.*, (2001), Schwartzbrod (1995) y Landry *et al.* (1980), quienes realizaron un estudio sobre la efectividad en la remoción de virus en tiempo de invierno. En los resultados que obtuvieron se observó que la lluvia aumenta la desorción de éstos en los primeros 10 días del estudio. La inactivación, dilución y/o dispersión fueron los posibles mecanismos principales que contribuyeron a la atenuación del virus. Al comparar los porcentajes de humedad en la simulación con la humedad presente en las parcelas en el momento que se realizaron las mezclas, se observó la diferencia de los porcentajes de humedad: 74,33 y 47,72% en la simulación y 31,36 y 5,81% en las mezclas. El bajo porcentaje de humedad presente en las mezclas podría también explicar la baja concentración de fagos al inicio del experimento.

CONCLUSIONES

- No se presentó una diferencia estadísticamente significativa en la reducción de fagos somáticos entre los tratamientos, durante el período de análisis. El tratamiento que presentó mayor disminución en la concentración de fagos somáticos fue T3, aunque no presenta mayor diferencia en relación a los tratamientos T1 y T2.
- No se puede concluir si el comportamiento o concentración de los fagos somáticos en las parcelas se deben a la influencia de un solo factor (temperatura, radiación solar y porcentaje de humedad), sino que por el contrario, todos estos factores y posiblemente otros que no se evaluaron, pueden influir directamente en la concentración de los fagos somáticos.
- En la prueba de simulación no se observó diferencia significativa en la reducción de fagos somáticos entre el

experimento control y el experimento con biosólido expuesto a las lluvias. La temperatura, la humedad y el pH en el biosólido expuesto a la lluvia y el control no influyeron en la inactivación de los fagos somáticos. Sin embargo, en el caso del porcentaje de humedad se observó que cuando éste disminuyó, la concentración de fagos también se redujo.

- El porcentaje de humedad se presenta como uno de los factores ambientales más importante en la concentración de fagos presente en los biosólidos y las mezclas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Departamento Técnico y Administrativo del Medio Ambiente, quienes financiaron este trabajo.

LITERATURA CITADA

- ACKERMANN, H. 1992. *Bacteriophages*. Encyclopedia of Microbiology. Academic Press. Laval University, 1: 203-215.
- America Public Health Association. 2000. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 20th ed. CD-ROM.
- ANTÓN, D. 2001. Impactos ambientales de tajos y canteras. *Revista mensual sobre actualidad ambiental*. 96: 52-54.
- BITTON, G.; FRAXEDAS, R. & GIFFORD, G. 1979. Effect of solar radiation on poliovirus: preliminary experiments. *Water Research*. 13: 225-228.
- BITTON, G.; PANCORBO, O. & FARRAH, S. 1984. Virus transport and survival after land application of sewage sludge. *Applied Environmental Microbiology* 47(5): 905-909.
- DENG, M. & CLIVER, D. 1995. Persistence of inoculated hepatitis a virus in mixed human and animal wastes. *Applied and Environmental Microbiology*. 61 (1): 87-91.
- Environmental Protection Agency. 1995. Parte 503 Biosolids Rule. Uso y disposición de lodo municipal. Cincinnati, Ohio. USA. 177 pp.
- GERBA, C.P. & BITTON, G. 1984. Microbial Pollutants, their Survival and Transport Pattern to Groundwater. Groundwater Pollution Microbiology, C.P. Gerba, Ed. John Wiley and Sons, NY. 65-88.
- GUZMÁN, C. 2002. *Indicadores de contaminación fecal en lodos y biosólidos producidos en una planta depuradora de aguas residuales domésticas*. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. 151 pp.
- HERNÁNDEZ, T. 1996. *Programa de restauración y usos futuros de terrenos afectados por labores mineras*. Explotación de canteras y medio ambiente. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Bogotá. Colombia. 20 pp.
- HURST, C.; GERBA, C.; LANCE, J. & RICE, R. 1980. Survival of enteroviruses in rapid infiltration basins during the land application of wastewater. *Applied and environmental microbiology*. 40 (2): 192-200.
- IAWPRC. 1991. Bacteriophages as model viruses in water quality control. *Water Research*. 25 (5): 529-545.
- ISO/DIS 10705-2. 1999. *Water quality detection and enumeration of*

- bacteriophages*. Part 2: Enumeration of Somatic Coliphages. Geneva; Switzerland.
- LANDRY, E.; VANGHN, J. & PENELLO, W. 1980. Poliovirus retention in 75 cm soil cores after sewage and rainwater application. *Applied and Environmental Microbiology*. 40: 1032-1038.
- LASOBRAS, J.; DELLUNDE, J.; COFRE, J. & LUCENA, F. 1999. Ocurrente and levels of phages proponed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges. *Journal of Applied Microbiology* 86: 723-729.
- NICOSIA, L.; ROSE, J.; STARK, L. & STEWART, M. 2001. A field study of virus removal in septic tank drainfields. *Ground Water Quality*. 30: 1933-1939.
- QUANRUD, D.; CARROLL, M.; GERBA, C. & ARNOLD, R. 2003. Virus removal during simulated soil-aquifer treatment. *Water Research*. 37: 753-762.
- SALAMANCA, B. & CAMARGO, G. 2000. Protocolo Distrital de Restauración Ecológica. Guía para la restauración de los ecosistemas nativos en las áreas rurales de Santa Fe de Bogotá. Departamento Administrativo del Medio Ambiente y Fundación Estación Biológica Bachaqueros. Bogotá. 164-170.
- SCHULZE-MAKUCH, D.; GUAN, H. & PILLAI, S. 2003. Effects of pH and Geological Medium on Bacteriophage MS2 Transport in a Model Aquifer. *Geomicrobiology Journal*. 20: 73-84.
- SCHWARTZBROD, L. 1995. Effect of human viruses on public health associated with the use of wastewater and sewage sludge in agriculture and aquaculture. World Health Organization. WHO (collaborating center for microorganism in wastewater) Universite De Nancy (France). 178 pp.
- SOBSEY, M.D. & MESCHKE, J.S. 2003. Virus survival in the environment with special attention to survival in sewage droplets and other environmental media of fecal or respiratory origin. International Association of Plumbing and Mechanical Officials. World Health Organization. Roma, Italia. 87 pp.
- WARD, R. & ASHLEY, C. 1978. Heat inactivation of enteric viruses in dewatered wastewater sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 36 (6): 898-905.
- ZHUANG, J. & JIN, Y. 2003. Virus retention and transport as influenced by different forms of soil organic matter. *Journal of Environmental Quality*. 32: 816-823.
- Recibido: 30-11-2006
Aprobado: 15-05-2007

