

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE BACTERIAS
INDICADORAS DE PATÓGENOS EN UN SISTEMA DE TRATAMIENTO DE
EFLUENTES DE TAMBO**

por

**GARCIA MOSQUERA, Maria Victoria
POLLAK NIN, Maximiliano**



TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias

Orientación: Higiene, inspección, control y tecnología de los alimentos de origen animal; Producción Animal

MODALIDAD: Estudio de caso

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2011**



FV-29241

Página de Aprobación

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



Dra. Patricia Lagarmilla

Segundo miembro (Tutor):



Dra. Elena de Torres

Tercer miembro:

Dr. Eduardo Aguirre

Fecha:

17 de Octubre de 2011

Autores:



María Victoria García.



Maximiliano Pollak

29241

FACULTAD DE CIENCIAS

Aprobado con 10 (10/2) 

I

Agradecimientos

Elena de Torres

Alejandro La Manna

Silvana Masciadri

Angel Segura

Alejandro Perretta

Marcelo Pla

Virginia Diana

Carlos Lacava

Dedicatoria

A nuestros padres y hermanos:
José, Rosario, Laura y Virginia
Carlos, Laura y Valentina

A Marilina y Rodolfo

A Marti.

Lista de figuras

	Página
Figura 1: Esquema del sistema de tratamiento de efluentes del tambo INIA La Estanzuela mostrando los puntos de muestreo.....	18
Figura 2: Evolución de la temperatura ambiente y del efluente en los distintos días y puntos de muestreo.....	22
Figura 3: Correlación de la DBO ₅ mgO ₂ /L y DQO mgO ₂ /L	23
Figura 4: Evolución de la DBO ₅ mgO ₂ /L utilizando la mediana para los distintos puntos de muestreo.....	24
Figura 5: Correlación de Enterobacterias log UFC/ml y Coliformes totales log UFC/ml.....	25
Figura 6: Correlación de Enterobacterias log UFC/ml y Coliformes fecales log UFC/ml	25
Figura 7: Correlación de Coliformes totales log UFC/ml y Coliformes fecales log UFC/ml	25
Figura 8: Niveles de Enterobacterias log UFC/ml en el horario de la mañana y la tarde.....	26
Figura 9: Niveles de Coliformes totales log UFC/ml en el horario de la mañana y la tarde.....	26
Figura 10: Niveles de Coliformes fecales log UFC/ml el horario de la mañana y la tarde.....	26
Figura 11: Niveles de Enterobacterias log UFC/ml en los distintos punto de muestreo.....	27
Figura 12: Niveles de Coliformes totales log UFC/ml en los distintos puntos de muestreo.....	27
Figura 13: Niveles de Coliformes fecales log UFC/ml en los distintos puntos de muestreo.....	27

Lista de tablas

	Pagina
Tabla 1: Clasificación de los efluentes de tambo según su contenido de materia seca.....	5
Tabla 2: Sobrevivencia de patógenos en el medioambiente.....	12
Tabla 3: Parámetros establecidos por el decreto 253/79 para vertido de efluentes directo a cursos de agua o infiltración en terreno.....	15
Tabla 4: Diluciones realizadas para el análisis de DQO y cantidad de muestra en ml. tomada para análisis de DBO ₅	20
Tabla 5: Temperatura ambiente (°C) en los distintos días de muestreo.....	21
Tabla 6: Promedio, mínimo, máximo y desvío estándar de temperatura (°C) y pH en cada uno de los puntos de muestreo.....	21
Tabla 7: Promedio, mediana, mínimo, máximo y desvío estándar de DBO ₅ y DQO (mgO ₂ /L) en cada uno de los puntos de muestreo en ambos horarios de ordeño.....	23
Tabla 8: Promedio, mediana, mínimo, máximo y desvío estándar de microorganismos indicadores (log UFC/ml) en cada uno de los puntos de muestreo en ambos horarios de ordeño.....	24
Tabla 9: Porcentajes de remoción de DBO ₅ y de microorganismos indicadores en el estercolero, laguna y en todo el sistema de tratamiento.....	28

TABLA DE CONTENIDOS

	Página de aprobación.....	I
	Agradecimientos.....	II
	Dedicatoria.....	III
	Lista de Figuras.....	IV
	Lista de Tablas.....	V
1.	Resumen.....	1
2.	Summary.....	2
3.	Introducción.....	3
4.	Revisión Bibliográfica.....	5
4.1.	Efluentes en sistema de producción lechera.....	5
4.2.	Sistemas de tratamiento de efluentes de tambo.....	6
4.2.1.	Métodos físicos de separación previa de sólidos.....	7
4.2.1.1.	Cámara de retención de sólidos.....	7
4.2.1.2.	Pozo estercolero.....	7
4.2.2.	Sistema de tratamiento biológico de efluentes mediante lagunas.....	8
4.2.2.1.	Lagunas anaeróbicas.....	9
4.2.2.2.	Lagunas facultativas.....	9
4.2.2.3.	Lagunas aeróbicas.....	10
4.3.	Patógenos en aguas residuales.....	10
4.4.	Microorganismos indicadores.....	13
4.5.	Normativa para la protección de calidad de aguas.....	14
5.	Objetivos.....	16
5.1.	Objetivo general.....	16
5.2.	Objetivos específicos.....	16
6.	Materiales y métodos.....	17
6.1.	Descripción del sistema de producción.....	17
6.2.	Sistema de tratamiento de efluentes.....	17
6.3.	Parámetros analizados.....	17
6.4.	Colecta de muestras.....	18
6.5.	Análisis microbiológico.....	19
6.6.	Análisis de los parámetros físico - químicos.....	19
6.7.	Análisis de los parámetros orgánicos generales.....	19
6.8.	Determinación de la eficiencia de remoción.....	20
6.9.	Análisis estadístico.....	21
7.	Resultados.....	21
7.1.	Temperatura ambiente.....	21
7.2.	Temperatura y pH del efluente.....	21
7.3.	Temperatura ambiente - temperatura del efluente.....	21
7.4.	Demanda bioquímica de oxígeno y demanda química de oxígeno.....	22
7.5.	Microorganismos indicadores.....	24
7.6.	Porcentaje de remoción.....	28
7.6.1.	Demanda bioquímica de oxígeno.....	28
7.6.2.	Microorganismos indicadores.....	28
8.	Discusión.....	29
8.1.	Temperatura y pH.....	29

8.2.	Demanda bioquímica de oxígeno.....	29
8.3.	Microorganismos indicadores.....	30
9.	Conclusiones.....	32
10.	Propuestas.....	33
11.	Referencias bibliográficas.....	34

1. RESUMEN

La producción lechera ha presentado un importante grado de intensificación en los últimos veinte años. Esto determina el aumento de las cantidades de efluentes generados en las áreas de ordeño. La gestión de estos efluentes implica un desafío desde el punto de vista del riesgo sanitario ya que estos pueden contener diversos microorganismos patógenos, por lo que se deben generar mecanismos de monitoreo para prevenir posibles impactos en la salud pública y animal. El aislamiento de microorganismos indicadores de patógenos en los sistemas de tratamiento de efluentes son un mecanismo apropiado para tal fin. Este trabajo se realizó en el sistema de tratamiento de efluentes del tambo de INIA "La Estanzuela" en el invierno del año 2010. Este sistema consta de un estercolero (decantador de sólidos) y una laguna anaeróbica. Los microorganismos indicadores utilizados fueron Enterobacterias, Coliformes totales y fecales. Se comprobó que el sistema estudiado no fue eficiente en la remoción de microorganismos indicadores (90%). Los parámetros obtenidos de remoción no permiten el vertido a cursos de agua, para lo que se brindan algunas pautas generales para su reutilización en agricultura.

2. SUMMARY

Milk production has developed an important degree of intensification in the last twenty years. This determines the increase in quantity of effluents generated in milking areas. The management of these effluents implies a challenge from the point of view of sanitary risk, since these can contain diverse pathogenic micro-organisms, reason why, monitoring mechanisms are due to be generated in order to prevent possible impacts in human and animal health. The isolation of micro-organisms, pathogens indicators, in the effluents treatment systems is an appropriate mechanism for such aim. This work was made in the effluents treatment system of the INIA dairy farm "La Estanzuela" in winter 2010. This system consists of a solid decanter and an anaerobic lagoon. The used indicators micro-organisms were Enterobacterias, and total and faecal Coliforms. It was verified that the studied system was not efficient in the removal of indicators micro-organisms (90%). The obtained removal parameters do not allow the spilling to watercourses, so there are provided some general rules for his reusability in agriculture.

3. INTRODUCCIÓN

(-FAC)

La producción lechera en Uruguay representa un importante sector dentro de la producción agropecuaria nacional. A la misma se destina una superficie total de 849.000 hectáreas y el total de vacunos lecheros es de 744.000 cabezas. Según las últimas estadísticas oficiales existen 4.592 productores lecheros, de los cuales 3.474 remiten a planta, con una producción anual de 1.531 millones de litros (MGAP DIEA, 2010).

Este es un rubro que ha experimentado una gran intensificación en los últimos veinte años. La cual implica un aumento en la concentración de animales por unidad de superficie y un aumento en el uso de insumos extraprediales (Durán y col., 2009).

El aumento de carga en conjunto con la utilización de instalaciones que no fueron diseñadas para ese número de animales ha llevado a un aumento en la cantidad de heces y orina en dichas instalaciones. Esto se da no sólo por la mayor cantidad de animales sino también por mayor tiempo de espera en los corrales (La Manna com. pers.).

Los efluentes generados en los sistemas de producción lechera provienen de la limpieza de corrales de espera, sala y maquina de ordeño y lavado de pezones (Nosetti y col., 2002).

El volumen de agua utilizada para el lavado depende no sólo del número de vacas, sino también del área de la sala y el corral (MVOTMA, 2008).

Los efluentes originados en las áreas de ordeño contienen excretas, orina y agua de lavado de las instalaciones, además de restos de leche, detergentes y otros productos químicos utilizados. La composición del efluente es elevada en nutrientes, materia orgánica, material de los caminos es traído por los animales y microorganismos que son capaces de afectar el medioambiente que reciba esta descarga, sea un cuerpo de agua y/o suelo (Nosetti y col., 2002; MGAP, 2008; MVOTMA, 1998; Herrero y Gil, 2008). Es común que estos efluentes tienden a acumularse en áreas reducidas del terreno que no han sido diseñadas con este fin, siendo potencial fuente de contaminación orgánica, microbiológica y /o química (Herrero y Gil, 2008; MVOTMA, 1998).

Los efluentes han sido considerados además de gran valor como abono en agricultura y su uso con tal fin es una de las herramientas para controlar la contaminación ambiental e incrementar la producción agrícola (Botero y col., 2002). A pesar de ello, estos efluentes pueden constituir un riesgo sanitario, ya que pueden albergar una gran variedad de microorganismos patógenos capaces de causar enfermedades transmisibles a los animales y al hombre. Por lo tanto es importante realizar un eficiente tratamiento de los efluentes del tambo para reducir la contaminación ambiental y proteger la salud pública, animal y vegetal (Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001; Lepeuple y col., 2004; Aguirre y col., 2007; Poudel y col., 2010). Por lo dicho anteriormente la remoción de patógenos en los efluentes es un tema prioritario, por la posible difusión de las infecciones a

trabajadores del tambo y al ganado que pastorea en suelos mejorados con estos efluentes (Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001).

El sistema de tratamiento de aguas residuales por lagunas es el más utilizado en el mundo en los últimos 50 años. El mismo consiste en el intercalado de lagunas artificiales a lo largo del curso del efluente con la finalidad de reducir la carga de microorganismos, nutrientes y material sólido en suspensión, previo a su desembocadura en los cursos de agua naturales o su vertido en terreno. Esta es considerada una tecnología apropiada para disminuir el riesgo sanitario y la contaminación ambiental (Viñas y Gutiérrez, 2006; Pittamiglio, 2004).

La evaluación de la eficacia de un sistema de tratamiento en términos de calidad microbiológica debe basarse en el control de microorganismos patógenos. Sin embargo no es posible evaluar la presencia de todos estos microorganismos, debido a su elevado número y por no contar en todos los casos con técnicas específicas para su cuantificación o identificación. (Lepeuple y col., 2004; Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001). Por esta razón se utilizan microorganismos indicadores de la existencia de patógenos. La presencia de estos microorganismos se asocia con la contaminación fecal y sus condiciones de crecimiento son similares a los de numerosos agentes patógenos (Lepeuple y col., 2004; Morgan y col., 2008). La reducción de los indicadores y por tanto de los agentes patógenos en efluentes se ve influenciada por los métodos de tratamiento utilizados (Carrington y col., 2001; Deportes y col., 1998) y depende de la cantidad inicial de los agentes patógenos en los residuos orgánicos (Poudel y col. 2010).

En caso de que se proyecte reutilizar el efluente de las lagunas, siempre será conveniente realizar un análisis del contenido de coliformes fecales o microorganismos en general para verificar el riesgo de su uso (Pitamiglio, 2004; Viñas y Gutiérrez, 2006).

Este estudio de caso fue realizado en el sistema de tratamiento de efluentes del tambo de INIA “La Estanzuela” ubicado en el departamento de Colonia República Oriental del Uruguay.

El mismo se realizó debido a la necesidad de evaluar el riesgo sanitario del reuso del efluente en agricultura. Por lo que se hace necesario verificar si se ha logrado la mejora en la calidad microbiológica de los efluentes con el sistema utilizado en dicho tambo.

Se estudia la capacidad de remoción de ciertos microorganismos utilizados como indicadores de la eficiencia del sistema desde el punto de vista microbiológico.

Para la evaluar la eficiencia del sistema en cuanto a la reducción de materia orgánica se estudia la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Efluentes en sistemas de producción lechera

Los efluentes de tambo tienden a acumularse en áreas reducidas del terreno que no han sido diseñadas con este fin, o vertidos en cursos de agua, siendo un aporte importante de nutrientes al ambiente, así como también, fuente de contaminación orgánica, de microorganismos patógenos y de detergentes, antisépticos y antibióticos, entre otras drogas de uso veterinario (Herrero y Gil 2008; MGAP 2008; MVOTMA, 1998).

Si los efluentes no son manejados correctamente, pueden afectar la calidad de aguas superficiales y subterráneas, los suelos, y eventualmente la salud humana y animal (Aguirre y col., 2007; Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001; Lepeuple y col., 2004; MGAP, 2008; Poudel y col., 2010).

Los efluentes se clasifican según su contenido en materia seca (MS) como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1: Clasificación de los efluentes de tambo según su contenido de materia seca.

Tipos de efluentes	Materia seca.
Sólidos	13 a 18%
Semilíquidos	5 a 15%
Líquidos	Menos de 5%

Fuente: La Manna, 1995; MVOTMA, 1998

De acuerdo a cómo es realizada la limpieza de la sala de ordeño y corral de espera luego del ordeño se puede establecer una primera clasificación en el manejo de los efluentes:

- Separación de sólidos previo al lavado de los pisos. De esta forma se maneja una corriente sólida y otra líquida.
- Limpieza de las instalaciones por arrastre con agua. Manejo de una única corriente (MGAP, 2008), en esta última alternativa el contenido de sólidos es mayor.

En la mayor parte de los tambos en ROU se utiliza el esquema de lavado por arrastre con agua; decimos que el manejo de efluente es de una única corriente (MGAP, 2008; MVOTMA 2008). El agua utilizada para el lavado de pisos depende del número de vacas en ordeño, y también del área de la sala y el corral de espera (MVOTMA, 2008). Otro aspecto que influye en el agua utilizada en el lavado es la disponibilidad de la misma, a mayor disponibilidad mayor gasto de agua (Viñas y Gutiérrez, 2006).

Los efluentes de tambo contienen estiércol, orina, agua de lavado de corrales y sala de ordeño y material que los animales traen en sus patas. Por tanto, los

efluentes de tambo pueden ser considerados como líquidos o semilíquidos (La Manna, 1995; MVOTMA, 1998).

Este volumen de efluentes generado trae riesgos de contaminación de cursos de agua superficiales y aguas subterráneas para consumo humano y animal (Aguirre y col., 2007; Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001; Lepeuple y col., 2004; MGAP, 2008; Poudel y col., 2010).

4.2 Sistemas de tratamiento de efluentes de tambo

Estos efluentes pueden ser vertidos directamente al medio (con el impacto ambiental y sanitario que implica), o ser conducidos a un sistema de tratamiento o almacenamiento de los mismos (La Manna, 1995).

Los sistemas de tratamiento efectivos, deben permitir la aplicación en tierra de líquidos y/o sólidos de forma segura y sostenible. También deben permitir el almacenamiento de los efluentes hasta su disposición o su uso (MVOTMA, 1998).

Según MVOTMA 1998 cualquier sistema de tratamiento debe ser capaz de reducir o modificar:

- los sólidos suspendidos
- DBO₅
- nutrientes
- generación potencial de olor
- patógenos

La elección del sistema que se utilice para el tratamiento de efluentes va depender de los siguientes factores:

- clima
- consideraciones sobre preservación del medio ambiente
- topografía y características del suelo
- nutrientes que se quieran preservar
- número de vacas en ordeño
- tipo sistema de producción
- porcentaje de humedad del efluente
- tipo de instalaciones
- maquinaria y mano de obra disponible
- costos de inversión y operación

Métodos físicos y biológicos pueden ser usados en una combinación apropiada para lograr los objetivos del tratamiento de efluentes de tambo.

Los métodos físicos más usados son:

- rejilla separadora de sólidos
- cámara de retención de sólidos
- pozo estercolero

Según La Manna 1995 los sistemas de tratamiento biológico de estiércol en forma semilíquida o líquida pueden ser los siguientes:

- lagunas
- biodigestores
- bioesterqueras
- sistemas de canales o zanjas

4.2.1 Métodos físicos para la separación previa de sólidos

Con los métodos de tratamiento físico ocurre una reducción importante de la carga orgánica (25 % - 40 %). Pero igualmente el líquido sigue presentando una concentración elevada de materia orgánica (MVOTMA, 2008).

4.2.1.1 Cámara de retención de sólidos

Cumple la función de retener sólidos inorgánicos (como arenas, pedregullo, etc.) para evitar obstrucciones, asegurando la llegada del líquido hacia las unidades de retención de sólidos posteriores. Tiene una rejilla separadora de sólidos. Deben tener cierta pendiente. La existencia y correcto funcionamiento del sistema de retención de sólidos es indispensable para lograr un buen tratamiento del efluente de tambo, ya que éste presenta un elevado contenido de sólidos, que puede dificultar los tratamientos posteriores. Estas unidades son muy importantes ya que pueden generarse problemas de obstrucciones en las conducciones o colmatarse los sistemas posteriores de tratamiento (MVOTMA, 2008).

4.2.1.2 Pozo estercolero

El pozo estercolero cumple alguna de las siguientes 2 funciones: reducir el volumen de lagunas posteriores por la remoción efectiva previa de sólidos, o recuperar en parte los nutrientes que se retienen en los sólidos y que puedan colectarse y devolverse al campo como suplemento de fertilización (Viñas y Gutiérrez, 2006).

Los pozos estercoleros sirven como almacenamiento intermedio. Son anaeróbicos si tienen profundidad de 3 a 5 metros. La materia orgánica que se decanta en el fondo sufre un proceso de digestión. Tienen la función de separar sólidos de líquidos. Esta separación es mas efectiva en estiércol diluido como el que proviene de los corrales de ordeño (Vanderholm, 1984).

Para que esta unidad funcione correctamente se necesita un tiempo mínimo de retención para que decanten los sólidos. Por lo menos 30 minutos para estiércol diluido (Vanderholm, 1984). La limpieza debe ser cada 7 a 15 días en promedio (dependiendo del tamaño del pozo y del régimen de producción) (Pittamiglio, 2004).

4.2.2 Sistema de tratamiento biológico de efluentes mediante lagunas

Las lagunas son estructuras capaces de contener los efluentes, donde los residuos orgánicos son almacenados y/o estabilizados (Miner, 1971; MVOTMA, 1998).

El tratamiento de los efluentes de tambo mediante lagunas es un método económico e idóneo para mejorar la calidad del efluente, logrando calidades aceptables para vertido a terreno o a cursos de agua al reducir su materia orgánica disuelta y eliminar casi completamente sus sólidos en suspensión. También reducen el contenido de microorganismos en forma natural, logrando al final del tratamiento efluentes con bajo contenido de éstos (La Manna, 1995; MVOTMA, 1998; Viñas y Gutiérrez, 2006).

Los sistemas de lagunas se han usado para el tratamiento de aguas residuales por más de 50 años. Son hoy en día la opción elegida para el tratamiento de efluentes de tambo en muchas partes del mundo para la prevención de enfermedades y degradación ambiental, especialmente en aquellas regiones donde el clima es cálido y hay disponibilidad de terreno (Viñas y Gutiérrez, 2006).

Según MGAP 2008 refiriéndose al tipo de lagunas utilizadas para el manejo de efluentes de tambos, distingue esencialmente dos tipos de sistemas:

- a. las lagunas de almacenamiento, donde la función principal es retener el efluente un cierto periodo, para ser distribuido a terreno.
- b. las lagunas de tratamiento parcial, donde el efluente es parcialmente degradado, bajando de esta forma la carga contaminante.

Las lagunas están clasificadas respecto al tipo de actividad biológica que es llevada a cabo en ella. Los procesos microbiológicos que se desarrollan en las lagunas son de tipo anaeróbico, facultativo o aeróbico. Esto dependerá de las características de construcción de las lagunas y de las condiciones ambientales. La principal función de las lagunas es disminuir la carga orgánica y la posible remoción de microorganismos (Hermanson, 1975; MGAP, 2008; Miner, 1971; MVOTMA, 1998; MVOTMA, 2008).

Las lagunas anaeróbicas han sido utilizadas con éxito desde 1960 en los EEUU, para el tratamiento del estiércol (Safley y Westerman, 1992). Estos sistemas de lagunas son ampliamente utilizados en Australia y Nueva Zelanda. En Australia, el tratamiento de efluentes tiene un rol fundamental por la necesidad de reutilizar el agua (Viñas y Gutiérrez, 2006).

En Nueva Zelanda tuvo su auge en la década del 70 el tratamiento con un sistema de doble laguna (una laguna anaerobia en serie con una laguna facultativa) (Viñas y Gutiérrez, 2006).

Los sistemas de tratamiento con doble laguna (una laguna anaerobia en serie con una laguna facultativa), es la opción más utilizada en nuestro país para el tratamiento de los efluentes de tambo, luego de la remoción de sólidos (La

Manna, 1995; MVOTMA, 1998; MVOTMA, Pittamiglio, 2004; 2008 Viñas y Gutiérrez, 2006).

4.2.2.1 Lagunas anaeróbicas

Las lagunas anaerobicas son diseñadas entre 2.5 y 5 m de profundidad y deben tener un tiempo mínimo de retención de 120 días, para conseguir las condiciones anaeróbicas.

Se comportan como tanques sépticos abiertos. Desarrollan procesos de sedimentación, de degradación anaeróbicos de la materia orgánica, donde predominan los procesos reductores; lo que lleva a la formación de gases como proceso final de la reducción (Metano, Amonio, sulfhídrico, etc.). Su aplicación primaria es la remoción de la carga orgánica (típicamente expresada en términos de DBO₅) (La Manna, 1995; MGAP, 2008; MVOTMA, 1998).

El efluente es primero digerido por un grupo de bacterias que produce ácidos (fase acidogénica) y luego por otro grupo de bacterias que produce gas metano, dióxido de carbono y otros productos (fase metanogénicas). Esto es un proceso continuo que ocurre simultáneamente (La Manna, 1995; MVOTMA, 1998, MVOTMA, 2008).

Dentro de los factores ambientales que más afectan la actividad biológica en las laguna se encuentra la temperatura. Esta debe ser superior a 15 °C para que las lagunas funcionen correctamente.

El pH que debe tener el efluente en estás lagunas funcionando correctamente es entre 6.0 y 8.5, el rango óptimo está entre 7.0 y 7.2. Siendo el pH del efluente crudo entre 6.5 y 8.5 (Jones, 1980; MVOTMA, 2008).

El tratamiento anaeróbico logra la reducción de olores y de la concentración de sólidos y patógenos. Este tipo de lagunas tienen probada efectividad en la reducción de la contaminación potencial de las aguas residuales (en la medida de la reducción de la carga orgánica), pero tiene un desempeño inadecuado en la remoción de nutrientes (Viñas y Gutiérrez, 2006).

En la laguna anaeróbica se puede alcanzar una reducción de la carga orgánica del 50 % - 70 % si se encuentra en correcto funcionamiento. En cuanto a remoción de coliformes fecales, en las lagunas anaerobias ocurre una remoción de aproximadamente un orden de magnitud (MVOTMA, 2008).

4.2.2.2 Lagunas Facultativas

Las lagunas facultativas están construidas en grandes áreas superficiales, con pequeñas profundidades (1 a 2 m) y períodos de retención de 15 a 35 días.

En estas lagunas la capa de agua cercana a la superficie, tiene oxígeno disuelto debido a la aeración de la atmósfera y del oxígeno que proviene de la fotosíntesis de las alga. La presencia de estas es esencial para el funcionamiento de las lagunas facultativas. En presencia de luz solar, las algas utilizan el anhídrido carbónico del agua produciendo oxígeno por fotosíntesis, el

que es usado por las bacterias facultativas para la degradación del efluente (MGAP, 2008).

En la capa inferior de la laguna, el oxígeno presente es prácticamente nulo, lo que permite el desarrollo de organismos anaerobios (MGAP, 2008). Se desarrolla una relación simbiótica entre las bacterias anaeróbicas o facultativas que degradan el material sólido depositado en el fondo y el oxígeno producido por las algas de la superficie (La Manna, 1995).

Las lagunas facultativas permiten la remoción de patógenos y nutrientes. Teniendo una probada efectividad en la reducción de la contaminación potencial de las aguas residuales (MVOTMA, 2008; MVOTMA, 1998; Viñas y Gutiérrez, 2006).

Los mecanismos principales para la remoción de patógenos, incluyen el tiempo y la temperatura de estadía en las lagunas en condiciones de pH elevadas y en presencia de luz solar. El pH que debe tener el efluente en estas lagunas si éstas están funcionando correctamente es entre 7.5 y 9.5. Siendo el pH del efluente crudo entre 6.5 y 8.5 (MVOTMA, 2008).

4.2.2.3 Lagunas Aeróbicas

Estas lagunas deben tener poca profundidad (menor a 1,5 metros), a los efectos de permitir la penetración de luz solar, que facilite el desarrollo de algas que liberen oxígeno al medio líquido (MVOTMA, 1998). Además las condiciones climáticas (temperatura, luz y viento) deben promover la introducción de oxígeno y favorecer el crecimiento de las algas (La Manna, 1995; MVOTMA, 1998).

Las lagunas aeróbicas, se basan, en lograr un proceso de oxidación que logre la degradación de la materia orgánica. Esta descomposición ocurre cuando una mezcla de agua y estiércol se le provee oxígeno disuelto. La descomposición bacteriana del estiércol hace que se libere dióxido de carbono el cual promueve el crecimiento de algas (La Manna, 1995; MVOTMA, 1998).

No son una opción muy elegida ya que ocupan una gran superficie y el efluente llega cargado de sólidos, estos reducen la penetración de luz que es fundamental para la fotosíntesis que realizan las algas y causan una excesiva acumulación en el fondo de estas lagunas (La Manna, 1995).

Estas lagunas aireadas naturalmente son una opción para tratar efluentes diluidos, por ejemplo tratados por una laguna anaeróbica (La Manna, 1995).

4.3 Patógenos en aguas residuales

Las aguas residuales del tambo actúan como reservorio de diversos microorganismos (bacterias, helmintos, hongos, protozoarios y virus) pudiendo ser algunos de ellos patógenos (Dumontet y col., 2001; Deportes y col., 1998; Poudel y col., 2010) con potencial zoonótico (Acha y Szyfres, 2001; Strauch,

1991). Estas aguas residuales son la principal fuente de contaminación fecal de los ecosistemas acuáticos (Morgan y col., 2008).

El efluente del tambo puede actuar como una vía de contagio y dispersión de algunas patologías, debido a que los agentes causantes de muchas enfermedades infecciosas se excretan por la vía fecal y también con otras excreciones o secreciones del cuerpo, incluso en animales clínicamente sanos (Strauch, 1991).

El espectro de bacterias y virus que poseen estos cursos de agua depende de las condiciones epidemiológicas de la región de estudio y a su vez, la composición de los agentes patógenos depende del tipo de aguas residuales estudiados (Lepeupe y col., 2004).

Los niveles y la diversidad de patógenos en los efluentes del tambo varían también de acuerdo a factores como el tamaño de la población, las condiciones locales, la ubicación geográfica y la variación estacional (Lepeuple y col., 2004; Poudel y col. 2010). Otros factores que afectan el número real de patógenos son la edad de los animales, la dieta, el estrés y la época del año y (Lepeuple y col., 2004) y la sanidad del rodeo (García y col., 2009; MVOTMA, 2008).

Entre los microorganismos patógenos presentes en la materia fecal del ganado bovino a nivel mundial pueden citarse: *Listeria* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *E. coli* 0157, *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. (Acha, 2001; Lepeuple y col., 2004; Pell, 1997; Radostits y col., 1999). Estudios realizados en Europa han determinado que los patógenos de mayor importancia para humanos y animales recuperados en los lodos y residuos biológicos son *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Ascaris* spp. y *Aspergillus* spp. (Lepeuple y col., 2004). En Uruguay se halló *Salmonella* spp. y *Lysteria monocytogenes* en efluentes de tambo (Anchieri y col., 2000).

Otros posibles riesgos para la salud humana, animal y vegetal que acarrear este tipo de efluentes lo constituyen tanto las toxinas bacterianas y fúngicas como los microorganismos resistentes a la acción de los antimicrobianos (Young, 1993).

Otro potencial riesgo sanitario son las formas de resistencia de algunos agentes patógenos (esporas bacterianas, oquistes, etc.) que pueden hallarse en el efluente, ya que pueden fácilmente sobrevivir a los tratamientos empleados en la actualidad en los tambos y volver al estado vegetativo cuando los parámetros ambientales son favorables, pudiendo recuperarse la capacidad infectiva al final del sistema de tratamiento (Lepeuple y col., 2004; Dumontet y col., 2001).

La supervivencia de las bacterias y los parásitos en los sistemas de tratamiento están directamente asociada con el tipo de tratamiento, el tiempo de retención y la temperatura (Carrington, 2001) y depende de la cantidad inicial de los agentes patógenos en los residuos orgánicos (Poudel y col., 2010).

La supervivencia de los microorganismos en el suelo, agua, vegetales, y en el aire, varía desde días a semanas, incluso meses, dependiendo de: la humedad, la temperatura del medio, el tipo de organismo y la época del año. En este

sentido cabe destacar que si bien la mayoría de los microorganismos patógenos poseen una escasa sobrevivencia fuera del hospedero, existen algunos con elevada resistencia al medio ambiente, como se puede observar en la tabla 2.

Tabla 2: Sobrevivencia de patógenos en el medioambiente.

Microorganismo	Medio ambiente	Tiempo de supervivencia (días)
<i>Brucella</i> spp. ^{2,4}	Heces	30
	Suelo	125
Coliformes ^{3,4}	Suelo	38
	Pastura	14
<i>E. coli</i> ²	Heces	70
	Suelo	45-400
<i>Streptococcus</i> ³	Suelo superficial	32-38
<i>Leptospira</i> spp. ⁴	Suelo	35-65
	Aguas fecales	30
<i>Listeria</i> spp. ²	Heces	100-500
	Suelo	350
<i>M. paratuberculosis</i> ²	Heces	>350
	Suelo	350
<i>M. tuberculosis</i> ⁴	Suelo	60-180
	Pastura	10-14
<i>Salmonella</i> spp. ^{1,2,3,4}	Heces	165-190
	Heces secas	>900
	Suelo superficial	40-180
	Suelo profundo	70
<i>Shigella</i> ³	Pastura	<42
	Pastura	42

¹Dumontet y col., 2001; ²Herrero y Gil, 2008; ³Lepeuple y col., 2004; ⁴MVOTMA, 1998.

Numerosos agentes patógenos pueden estar presentes en el efluente crudo y en la leche. Sin embargo, el período de tiempo antes de la aplicación, el estado de salud del rodeo y el efecto de dilución del agua tienden a minimizar el riesgo de contaminación en el rodeo (MVOTMA, 2008).

Según MVOTMA 2008, para asegurar una reducción mayor del riesgo, se propone el siguiente manejo:

- animales jóvenes (menos de 1 año) no deben ingerir pasturas regadas con efluente
- no permitir la alimentación en potreros regados hasta 1 semana después de la aplicación en verano y varias en invierno
- emplear para la aplicación potreros recientemente usados, de modo de maximizar la incidencia de la luz solar y permitir la reducción de patógenos por esa vía.
- distribuir efluente durante los meses más cálidos para incrementar la velocidad de muerte de patógenos

4.4 Microorganismos Indicadores

De acuerdo a la situación planteada en los párrafos anteriores, hay un número importante y variado de patógenos que pueden estar presentes en aguas residuales. La evaluación de la eficiencia de saneamiento del tratamiento debe basarse en el control de microorganismos patógenos. Sin embargo, no siempre es posible analizar todos los microorganismos, ya sea por su elevado número o por no contar con técnicas específicas para su cuantificación y/o identificación (Botero y col., 2002; Dumontet y col., 2001; Lepeuple y col., 2004).

Sólo hay un escaso número de microorganismos en los que la cuantificación de la población es posible, a saber: *Salmonella* spp., algunos virus entéricos, ooquistes de protozoarios y huevos de helmintos. Para otros microorganismos, se utilizan criterios cualitativos, como la presencia o ausencia (Lepeuple y col., 2004). Frecuentemente se utilizan microorganismos indicadores para la evaluación de la eficacia de los diferentes tratamientos en términos de calidad microbiológica (Botero y col., 2002; Deportes y col., 1998; Dumontet y col., 2001).

Los microorganismos indicadores de patógenos se definen como microorganismos cuyas características de crecimiento (temperatura, pH, formación de esporas) son similares a las de determinados agentes patógenos. Además, los indicadores son microorganismos endógenos de las muestras estudiadas (aguas residuales) y por lo general provienen del tracto digestivo de animales de sangre caliente (para que compartan el hábitat con los patógenos buscados y puedan llegar al agua por la misma vía que ellos). Por esta última razón, la presencia de estos microorganismos indicadores se asocia con la contaminación fecal (Deportes y col., 1998; Lepeuple y col., 2004; Mariñelarena, 2007; Morgan y col., 2008; MVOTMA 2008).

Según diversos autores, para ser considerado como indicador, los microorganismos además deben cumplir con otros criterios:

- deben ser cuantificados o identificados de forma simple, fiable, precisa y por técnicas de análisis de bajo costo
- deben presentar una alta resistencia a los tratamientos
- su concentración y crecimiento tienen que estar correlacionadas con las de la población del patógeno
- deben estar presentes en número suficiente para garantizar un análisis cuantitativo preciso
- deben ser capaces de soportar desinfectantes y el estrés ambiental al mismo nivel que los patógenos potencialmente presentes

Es de resaltar el hecho de que es imposible elegir un único microorganismo a modo de indicador "universal" que permita predecir la presencia de todos los patógenos, razón por la cual se emplean varios microorganismos indicadores al mismo tiempo (Lepeuple y col., 2004).

Si bien existe cierta controversia en lo que refiere al empleo de indicadores para la detección de microorganismos patógenos en efluentes de tambo, varios autores destacan la eficacia de Coliformes (totales y fecales), *Salmonella* spp.,

Enterococcus spp., Enterobacterias y *Clostridium* spp. ya que indican la presencia de materia fecal y por ende la eficiencia del proceso de tratamiento (Deportes y col., 1998; Lepeuple y col., 2004).

Los microorganismos indicadores más frecuentemente utilizados en la región son Coliformes totales y fecales (Aguirre y col., 2007; Charlón y col., 2007; Chuchón y Aybar, 2008; Cruz y col., 2004; Soares y col., 2001). Además, otros autores han utilizado como indicadores enterobacterias, estreptococos fecales, enterococos, heterótrofos, colifagos de *E.coli* y hongos (Botero y col., 2002; Iramain y col., 2001).

En nuestro país los indicadores microbiológicos que se emplean y para los que hay estándares tanto para vertimientos como para calidad de aguas son los coliformes fecales o termotolerantes (MGAP, 2008; MVOTMA, 2008).

Como parámetros de la eficacia de los sistemas de tratamiento en la remoción microbiológica, se toman como referencia los coliformes porque tienen capacidad de resistencia mayor que otros microorganismos entéricos patógenos, razón por la cual se utilizan como indicadores. Los coliformes totales como indicador ambiental. Los coliformes fecales como indicadores de la presencia de contaminación fecal y, en consecuencia, de microorganismos potencialmente patógenos (MVOTMA, 1998; MVOTMA, 2008).

4.5 Normativa para la protección de calidad de aguas

En los países en vías de desarrollo se tiende a aceptar los estándares para vertido de efluentes establecidos por los países en desarrollo, si bien la OMS recomienda que cada nación conozca su realidad y adecue a ella las normas existentes, ya que las condiciones poblacionales, económicas, geográficas y sanitarias son diferentes para cada país (Botero y col., 2002).

En nuestro país, el régimen jurídico de uso y protección de las aguas, se centra en el código de aguas. Con la aprobación de este código en el año 1978 se designó al Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, (MVOTMA) a través de DINAMA para la aplicación de este código.

Posteriormente a través del Decreto 253/979- se aprueban normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de las aguas. Este decreto estableció los criterios de clasificación de los cuerpos receptores según sus usos preponderantes (artículo 3º), así como estándares de calidad de los cursos de agua (artículo 5º) y los estándares de vertido del efluente (artículo 11).

En el artículo 11 se establecen los parámetros que deben cumplir los efluentes para el desagüe directo a cursos de agua e infiltración en el terreno. En la tabla 3 se resumen los estándares para temperatura, pH, DBO y coliformes fecales.

Tabla 3: Parámetros establecidos por el decreto 253/79 para vertido de efluentes directo a cursos de agua o infiltración en terreno.



Desagües directos a cursos de agua	
Parámetro	Estándar
TEMPERATURA	Máx 30°C, pero no podrá elevar la temperatura del cuerpo receptor más de 2°C
pH	Entre 6,0 y 9,0
DBO ₅	Máx 60 mg/L
COLIFORMES FECALES	Máx 5000 UFC 100 ml

Desagües que se disponen por infiltración al terreno	
Parámetro	Estándar
TEMPERATURA	Máx 35°C
pH	Entre 5,5 a 9

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la capacidad de remoción de bacterias indicadoras de patógenos en el sistema de tratamiento de efluentes del tambo de INIA “La Estanzuela”

5.2 Objetivos Específicos

- Cuantificar las bacterias indicadoras de patógenos en el efluente
- Determinar la DBO₅ y DQO del efluente como indicadores de la eficiencia del tratamiento

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Descripción del sistema de producción

El estudio se realizó en el sistema de tratamiento de efluentes del tambo de la Estación Experimental INIA “La Estanzuela”, durante los meses de agosto y setiembre del año 2010.

La Estación Experimental de INIA “La Estanzuela”, tiene un área de 215 há. Se ordeñan un promedio de 275 vacas por día y la producción de leche es de 23,5 litros por vaca en ordeño por día (L.VO-1.d-1). El rodeo de ordeño se alimenta en base a pasturas, con suplemento de concentrado, ensilaje y heno según la época del año.

En el tambo se realizan dos ordeños uno matutino (AM) y otro vespertino (PM). Cada uno de los ordeños tiene una duración aproximada de 3 horas. Luego del ordeño se realiza el lavado de las instalaciones con una duración de 45 a 60 minutos, este se realiza mediante arrastre con agua a presión. El gasto estimado de agua por vaca en ordeño es de 60 (L.VO-1.d-1).

6.2 Sistema de tratamiento de efluentes

Los efluentes originados en el área de ordeño son líquidos o semilíquidos y contienen excretas, orina, material de los caminos que las vacas traen en sus patas y agua de lavado de las instalaciones, además de restos de leche, detergentes y otros productos químicos utilizados.

El sistema de tratamiento de efluentes de tambo de INIA “La Estanzuela” está compuesto por un sistema de canaletas con rejilla separadora de sólidos groseros en el tambo. Luego el efluente es conducido por gravedad mediante un canal a un pozo estercolero de decantación, donde se realiza una separación primaria de sólidos. El pozo estercolero es un pozo de hormigón cuadrado de 4m de lado y 2m de profundidad. La salida del estercolero cuenta con un sifón para evitar el drenaje de los sólidos flotantes. Los sólidos se extraen del pozo estercolero con una frecuencia promedio de 45 días empleando para ello una bomba estercolera y una pala retroexcavadora. Los efluentes son dirigidos posteriormente por una cañería de 110mm de diámetro de 80 metros de largo, a la laguna anaeróbica de 1700m³ de volumen y 2,8 m promedio de profundidad. Esta laguna tiene un tiempo de retención hidráulica aproximado entre 100 y 110 días.

En el trayecto del caño que conduce los efluentes a la laguna se encuentran 3 cámaras de limpieza en caso de obstrucciones. En la primer cámara desembocan las aguas pluviales que provienen de los techos de las instalaciones del tambo.

6.3 Parámetros analizados

Los parámetros considerados fueron: temperatura ambiente, temperatura del efluente, pH, cuantificación de microorganismos indicadores y análisis de DBO₅ y DQO en los puntos de muestreo.

6.4 Colecta de muestras

Las muestras se colectaron de acuerdo a lo establecido por el Manual de Procedimientos Analíticos para Muestras Ambientales de DINAMA (DINAMA, 2009).

Se tomaron muestras en 3 puntos del sistema de tratamiento luego del ordeño de la mañana (7am) y del de la tarde (5pm) durante 4 semanas desde el 11 de agosto al 9 de setiembre de 2010.

Los puntos de muestreo fueron:

(A) entrada al pozo estercolero (afluente crudo)

(B) entrada de la laguna anaerobia

(C) salida de la laguna anaerobia

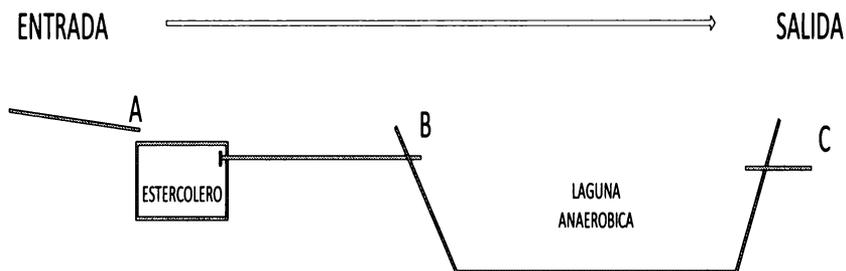


Figura 1: Esquema del sistema de tratamiento de efluentes del tambo INIA La Estanzuela mostrando los puntos de muestreo.

En cada uno de los puntos, se tomaron 2 muestras del efluente: una para análisis microbiológico y otra para análisis de los parámetros orgánicos generales (DBO₅ y DQO). Obteniendo un total de 24 muestras para análisis microbiológico y 24 para parámetros orgánicos generales.

En el punto A el muestreo se hizo durante el lavado de las instalaciones, con una recipiente de un 1000 ml, cada dos minutos (45 a 60 minutos aproximadamente). El efluente se colocó en un recipiente de 100 litros, de donde se tomaron luego de homogeneizado 2 muestras de 300 ml. Este procedimiento se realizó en cada uno de los ordeños (MVOTMA, 2008).

Las muestras en los puntos B y C fueron tomadas una vez finalizado el lavado de las instalaciones, en frascos de 300 ml directamente de los caños de entrada y salida de la laguna (ver figura 1).

Las muestras recolectadas fueron conservadas a una temperatura 4 °C, se transportaron al laboratorio en recipientes isotérmicos, y se procesaron dentro de las 24 hs de colectadas (DINAMA, 2009).

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio Veterinario de Diagnóstico Primario de la Asociación Rural de San José y la determinación de los parámetros DBO₅ y DQO se realizó en el Laboratorio de la Intendencia Municipal de San José.

6.5 Análisis microbiológicos

Las muestras se colectaron en frascos estériles de polipropileno de 300 ml. En el laboratorio la cuantificación se realizó a través del método de 3M® Petrifilm® (3M EUA) Los kits 3M® Petrifilm® utilizados en este trabajo están aprobados por la Association of Official Analytical Chemist (AOAC) de los Estados Unidos. Los microorganismos indicadores considerados fueron: Enterobacterias, Coliformes totales y Coliformes fecales.

Debido a la alta concentración de los efluentes enviados al laboratorio se debieron realizar diluciones previas al análisis. Los microorganismos se pudieron cuantificar en una dilución de 10⁻⁶.

6.6 Análisis de los parámetros físico-químicos

La temperatura ambiental se relevó a través de registros llevados por la estación meteorológica ubicada en INIA “La Estanzuela”. En los tres puntos de muestreo se registro temperatura del efluente por medio de termómetro de mercurio. El pH se determino con un pH-metro digital marca Cole Parmer® (modelo 59002-00).

La temperatura y pH, se tomaron in situ de cada muestra de efluente.

6.7 Análisis de parámetros orgánicos generales

Para la evaluación de estos parámetros (DBO₅ y DQO), las muestras se colectaron en frascos estériles de polipropileno de 300 ml, de boca ancha. El frasco se lleno hasta el borde sin dejar cámara de aire (DINAMA, 2009).

Para la determinación de DQO se utilizó el método espectrofotométrico reflujos cerrado, técnica descrita en el Manual de Procedimientos Analíticos para Muestras Ambientales de DINAMA (APHA, 2005).

Se utilizó el método electrométrico para la determinación de DBO₅, técnica descrita en el Manual de Procedimientos Analíticos para Muestras Ambientales de DINAMA (APHA, 2005).

Debido a la alta concentración de los efluentes enviados al laboratorio estos debieron ser diluidos antes de su análisis. En la tabla 4 se presentan los procedimientos previos al análisis de las muestras.

Tabla 4: Diluciones realizadas para el análisis de DQO y cantidad de muestra en ml. tomada para análisis de DBO₅.

Punto de muestreo	DQO	DBO ₅
Punto A	1/5	0,5 ml
Punto B	2/5	1,0 ml
Punto C	2/5	3,0 ml

6.8 Determinación de la eficiencia de remoción

Con los resultados de la cuantificación de microorganismos indicadores y DBO₅ se calculó el porcentaje de remoción para el estercolero (punto A – punto B), para la laguna (punto B – punto C) y para el sistema en su conjunto (punto A – punto C) (Figura 1).

La formula de cálculo utilizada es la sugerida por Chuchón y Aybar, 2008. Se utilizó la mediana pues es un valor robusto a valores extremos (Zar, 1999), como es esperable en mediciones de este tipo.

$$\% \text{ Remoción} = 100 \left[\frac{[INICIAL] - [FINAL]}{[INICIAL]} \right]$$

Donde: [] representa la concentración de la variable analizada.

6.9 Análisis estadístico

Se evaluó la correlación entre las variables DBO₅ y DQO, de las Enterobacterias con Coliformes totales y con Coliformes fecales y de los Coliformes totales con los Coliformes fecales utilizando el método estadístico de Pearson. Se analizaron si existieron diferencias significativas entre la mañana (AM) y la tarde (PM) para cada una de las variables, y como las variables no fueron normales y no hubo homocedasticidad, se utilizó el test pareado de wilcoxon.

Se comparó entre puntos de muestreo mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Se escogió un alfa nominal de 5% para la aceptación o rechazo de las hipótesis estadísticas. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el software libre Past versión 1.94b.

7. RESULTADOS

7.1 Temperatura ambiente

En la tabla 5 se muestran las temperaturas ambientales que fueron registradas por la estación meteorológica de INIA “La Estanzuela” durante el periodo de muestreo.

Tabla 5: Temperatura ambiente (°C) en los distintos días de muestreo.

Días de muestreo	11/8 PM	12/8 AM	18/8 PM	19/8 AM	1/9 PM	2/9 AM	8/9 PM	9/9 AM
Temp. ° C	18,5	8,5	13,9	11,2	13,6	13,2	21,8	11,1

La temperatura ambiente presento un valor máximo de 21,8 °C y un valor mínimo de 8,5 °C.

7.2 Temperatura y pH del efluente

Como se observa en la tabla 6 la temperatura del efluente presentó un valor máximo de 17 °C y un valor mínimo de 10 °C. Teniendo un promedio de 14 °C para el punto A y de 13 °C para los puntos B y C. El pH del efluente presentó un valor máximo de 8,78 en el punto C y un valor mínimo de 7,41 en el punto A (ver figura 1).

Tabla 6: Promedio, mínimo, máximo y desvío estándar de temperatura (°C) y pH en cada uno de los puntos de muestreo.

		Temperatura	pH
Punto A	Promedio	14	7,91
	Mínimo	11	7,41
	Máximo	17	8,44
	Desv. Est.	2,26	0,33
Punto B	Promedio	13	8,07
	Mínimo	16	7,7
	Máximo	16	8,42
	Desv. Est.	1,83	0,24
Punto C	Promedio	13	8,20
	Mínimo	10	7,45
	Máximo	16	8,78
	Desv. Est.	2,03	0,46

7.3 Temperatura ambiente – temperatura del efluente

En la figura 2 se puede observar como la temperatura del efluente presenta un patrón similar en cuanto a sus variaciones en relación a la temperatura ambiente. Sin embargo las variaciones de la temperatura del efluente son menos pronunciadas que las correspondientes a la temperatura ambiente.

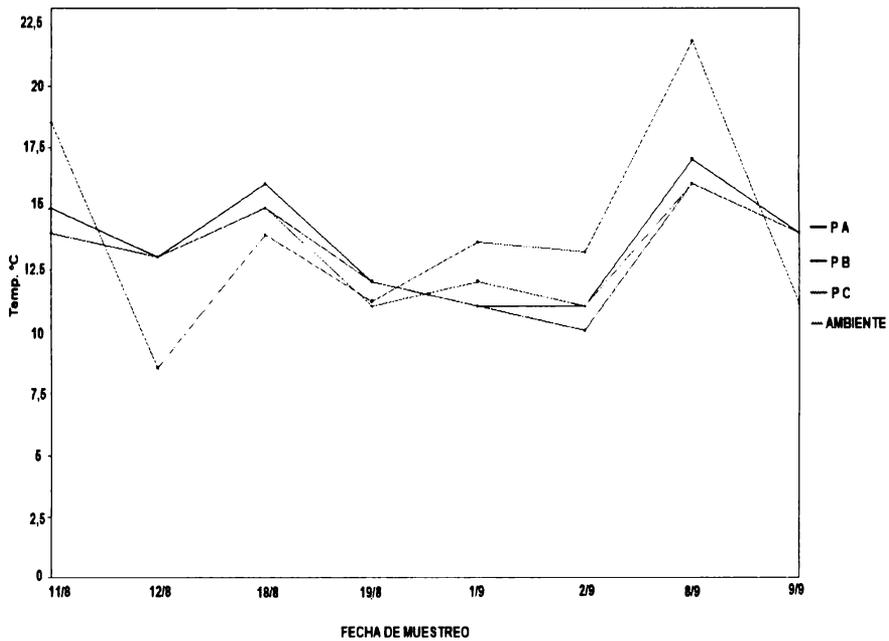


Figura 2: Evolución de la temperatura ambiente y del efluente en los distintos días y puntos de muestreo.

7.4 Demanda bioquímica de oxígeno y demanda química de oxígeno

Como se observa en la tabla 7 la DBO_5 del efluente presentó a la entrada del sistema un valor máximo de 3060 mgO_2/L y un valor mínimo de 980 mgO_2/L con una mediana de 1885 mgO_2/L , mientras que a salida presentó un valor máximo de 1290 mgO_2/L y un valor mínimo de 210 mgO_2/L con una mediana de 630 mgO_2/L .

También en la tabla 7 se puede observar que en el caso de DQO el efluente a la entrada del sistema presentó un valor máximo de 5355 mgO_2/L y un valor mínimo de 2190 mgO_2/L con una mediana de 4273 mgO_2/L , y a la salida presentó un valor máximo de 2000 mgO_2/L y un mínimo de 760 mgO_2/L con una mediana de 1020 mgO_2/L .

Tabla 7: Promedio, mediana, mínimo, máximo y desvío estándar de DBO₅ y DQO (mgO₂/L) en cada uno de los puntos de muestreo en ambos horarios de ordeño.

		DBO ₅	DQO
Punto A	Promedio	1965 ^a	3913 ^a
	Mediana	1885 ^a	4273 ^a
	Mínimo	980	2190
	Máximo	3060	5355
	Desv. Est.	826	1304
Punto B	Promedio	961 ^b	1858 ^b
	Mediana	950 ^b	2010 ^b
	Mínimo	150	680
	Máximo	1640	2845
	Desv. Est.	422	656
Punto C	Promedio	683 ^b	1199 ^b
	Mediana	630 ^b	1020 ^b
	Mínimo	210	760
	Máximo	1290	2000
	Desv. Est.	352	401

En la misma columna letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$)

En la figura 3 podemos observar una fuerte relación entre la DBO₅ y la DQO ($r = 0,96$ $p < 0,01$, $N = 24$). Como existe una alta correlación entre la DBO₅ y DQO y la normativa nacional refiere a DBO₅ tomaremos esta variable como indicador de la eficiencia del sistema.

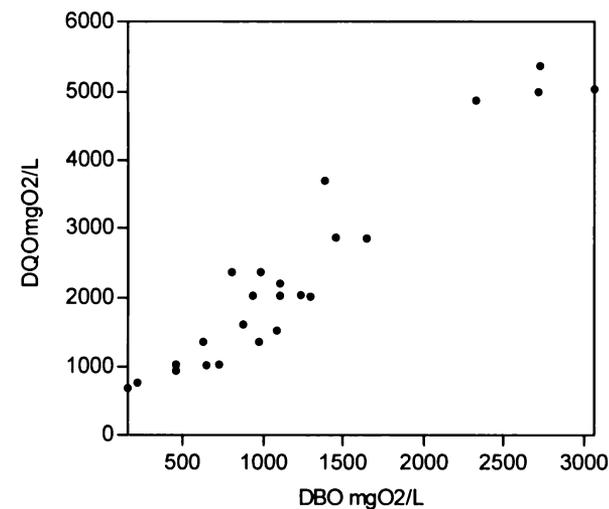


Figura 3: Correlación de la DBO₅ mgO₂/L y DQO mgO₂/L

La DBO₅ no presentó diferencias significativas en la mediana entre la tarde (PM=925 mgO₂/L) y la mañana (AM =1090 mgO₂/L) ($W=51$; $p > 0,05$; $N=12$). Por lo que se tomaron los resultados de ambos horarios de muestreo como replicas de muestras.

Existen diferencias significativas entre puntos de muestreo ($H=12,05$; $p < 0,05$ $N=24$). Se observaron diferencias significativas en los valores de la DBO₅ entre la entrada del sistema de tratamiento y la salida del mismo (puntos A y C;

$p < 0,05$). Existieron diferencias significativas entre la entrada al estercolero y la entrada a la laguna (puntos A y B; $p < 0,05$), no existiendo diferencias significativas entre la entrada y la salida de la laguna (puntos B y C $p > 0,05$).

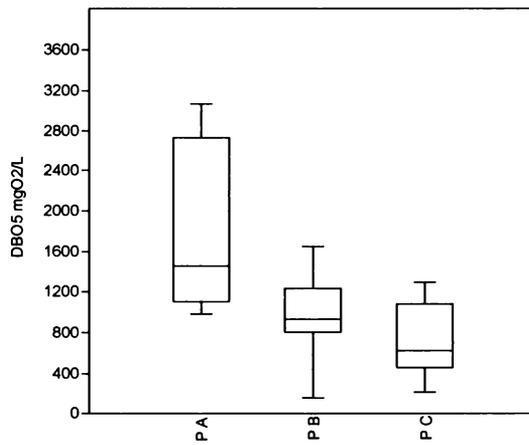


Figura 4: Evolución de la DBO₅ mgO₂/L utilizando la mediana para los distintos puntos de muestreo.

7.5 Microorganismos indicadores

Como se observa en la tabla 8 las enterobacterias a lo largo del sistema de tratamiento presentaron un valor máximo (en log) de 6,26 UFC/ml en el punto A y un valor mínimo de 4,15 UFC/ml en el punto C. Los Coliformes totales presentaron un máximo de 6,20 UFC/ml en el punto A y un mínimo de 4,08 UFC/ml en el punto C. Para Coliformes fecales el valor máximo fue de 6,09 UFC/ml en el punto B y un valor mínimo de 3,90 UFC/ml en el punto C.

Tabla 8: Promedio, mediana, mínimo, máximo y desvío estándar de microorganismos indicadores (log UFC/ml) en cada uno de los puntos de muestreo en ambos horarios de ordeño.

		Enterobacterias	Coliformes totales	Coliformes fecales
Punto A	Promedio	5,80 ^a	5,53 ^a	5,43 ^a
	Mediana	5,73 ^a	5,42 ^a	5,34 ^a
	Mínimo	5,46	5,11	5,11
	Máximo	6,26	6,20	5,90
	Desv. Est.	0,30	0,41	0,32
Punto B	Promedio	5,67 ^a	5,43 ^a	5,38 ^a
	Mediana	5,76 ^a	5,36 ^a	5,29 ^a
	Mínimo	4,90	4,78	4,70
	Máximo	6,19	6,09	6,09
	Desv. Est.	0,38	0,41	0,42
Punto C	Promedio	4,54 ^b	4,44 ^b	4,39 ^b
	Mediana	4,54 ^b	4,50 ^b	4,39 ^b
	Mínimo	4,15	4,08	3,90
	Máximo	4,92	4,71	4,71
	Desv. Est.	0,26	0,23	0,26

En la misma columna letras diferentes presentan diferencias significativas ($p < 0,05$).

Como se muestra en las figuras 5, 6, y 7 se determinó una fuerte relación entre enterobacterias, coliformes totales y coliformes fecales. Se observó una fuerte correlación entre Enterobacterias y coliformes totales ($r=0,96$, $p < 0,01$, $N=24$) entre Enterobacterias y Coliformes fecales ($r=0,97$, $p < 0,01$, $N=24$) y entre coliformes totales y Coliformes fecales ($r=0,99$ $p < 0,01$, $N=24$).

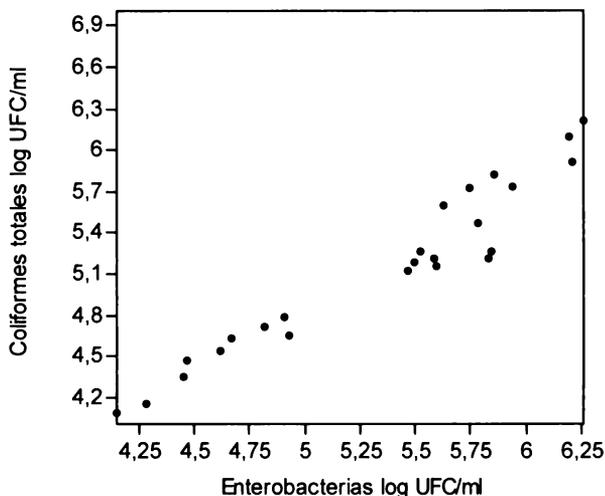


Figura 5: Correlación de Enterobacterias log UFC/ml y Coliformes totales log UFC/ml

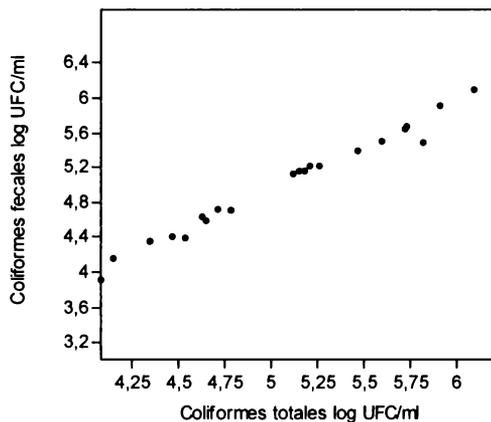
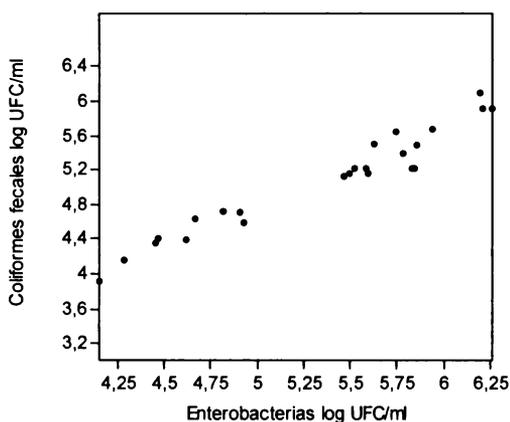
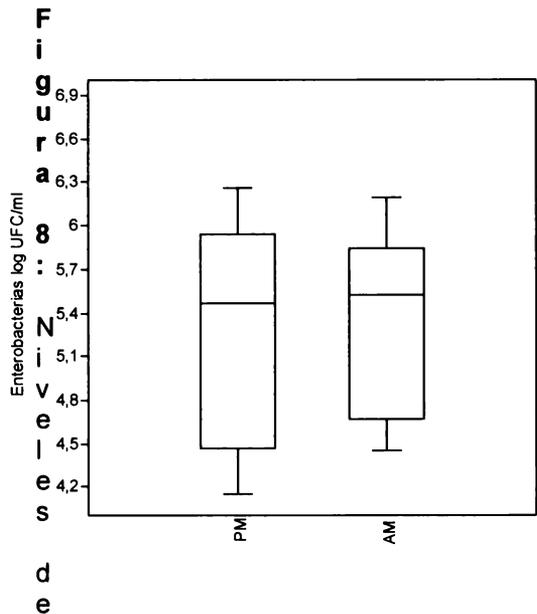


Figura 6: Correlación de Enterobacterias log UFC/ml y Coliformes fecales log UFC/ml

Figura 7: Correlación de Coliformes totales log UFC/ml y Coliformes fecales log UFC/ml

Al igual que para DBO₅ para todos los microorganismos estudiados, se demostró que no hubo diferencias significativas entre la mañana y la tarde, según la

prueba de Wilcoxon para Enterobacterias ($W=42$; $p>0,05$; $N=12$), para coliformes totales ($W=46,5$; $p>0,05$; $N=12$) y para Coliformes fecales ($W=48$; $p>0,05$; $N=12$). Por lo que se tomaron los resultados de ambos horarios de muestreo, como replicas de muestras. En los gráficos 6, 7 y 8 se muestran los niveles de los distintos microorganismos indicadores en los horarios de la mañana y la tarde.



Enterobacterias log UFC/ml en el horario de la mañana y la tarde

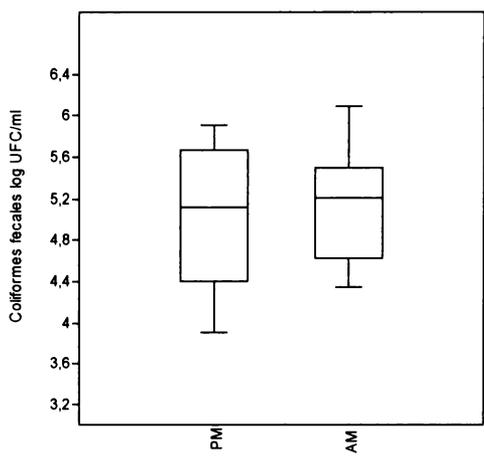
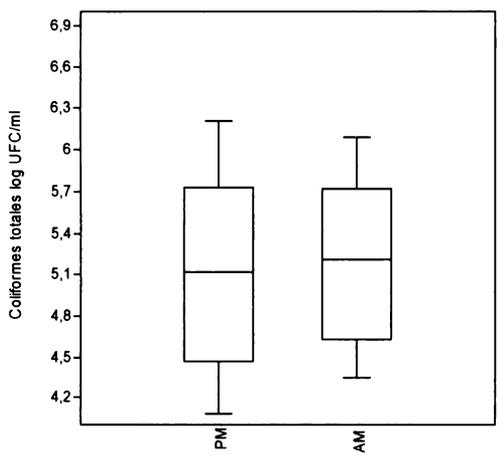


Figura 9: Niveles de Coliformes totales log UFC/ml en el horario de la mañana y la tarde

Figura 10: Niveles de Coliformes fecales log UFC/ml el horario de la mañana y la tarde

En las figuras 11, 12 y 13 se observa que el nivel de todas las bacterias estudiadas presentaron diferencias significativas entre los puntos (para Enterobacterias H= 15,1; $p < 0,01$; N=24; para Coliformes totales H=15,4; $p < 0,01$ N=24; para Coliformes fecales H=14,89, $p < 0,01$, N=24).

El nivel de todos los microorganismos indicadores en los puntos A y B no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$).

Se observa que para todas los microorganismos indicadores, solo a la salida del sistema (punto C) hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) con la entrada al estercolero y la entrada a la laguna (A y B respectivamente).

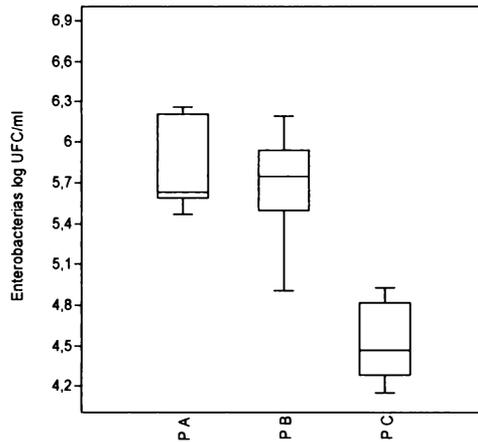


Figura 11: Niveles de Enterobacterias log UFC/ml en los distintos puntos de muestreo

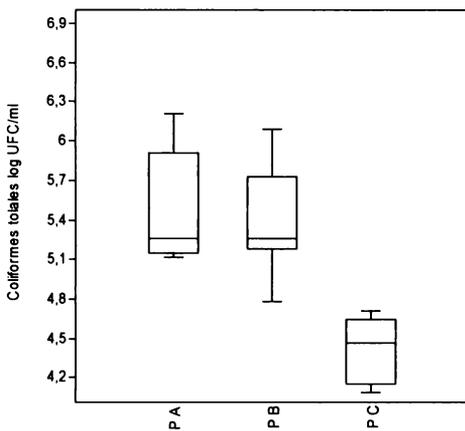


Figura 12: Niveles de Coliformes totales log UFC/ml en los distintos puntos de muestreo

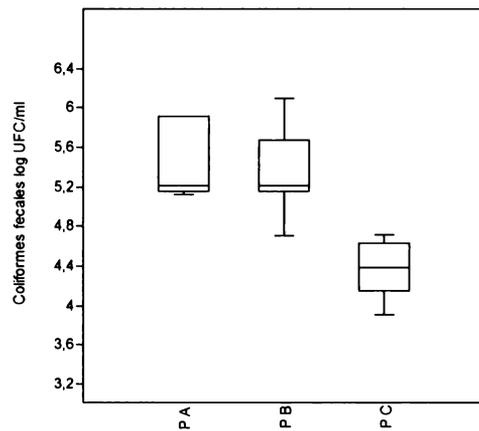


Figura 13: Niveles de Coliformes fecales log UFC/ml en los distintos puntos de muestreo

7.6 Porcentaje de remoción

Los porcentajes de remoción se calcularon para el estercolero (A y B), para la laguna anaerobia (B y C) y para el sistema de tratamiento en su conjunto (A y C) (Figura 1).

7.6.1 Demanda bioquímica de oxígeno

Como se muestra en la tabla 8, el porcentaje de remoción de DBO_5 en el estercolero fue de 49 %. En el caso de la laguna el porcentaje de remoción fue de 33,7 %. Para el conjunto del sistema de tratamiento se obtuvo un porcentaje de remoción total de 66,6%.

7.6.2 Microorganismos indicadores

En la tabla 8 se muestra el porcentaje de remoción para los microorganismos indicadores. La remoción en el estercolero fue de -3,6 % para las Enterobacterias, 17,5 % para los coliformes totales y de 13,0 % para Coliformes fecales. El mayor porcentaje de remoción para todos los microorganismos ocurrió en la laguna, con una remoción de 93,9 % para las Enterobacterias, 86,6 % para coliformes totales y 87,7 % para coliformes fecales. La eficiencia de remoción total del sistema fue entre 88 y 94 % para los distintos microorganismos estudiados.

Tabla 9: Porcentajes de remoción de DBO_5 y de microorganismos indicadores en el estercolero, laguna y en todo el sistema de tratamiento.

Parámetro	Mediana %
DBO5	
Estercolero	49.6
Laguna	33.7
Total	66,6
ENTEROBACTERIAS	
Estercolero	-3,6
Laguna	93,9
Total	93,7
COLIFORMES TOTALES	
Estercolero	17,5
Laguna	86,6
Total	88,9
COLIFORMES FECALES	
Estercolero	13,0
Laguna	87,7
Total	89,3

8. DISCUSIÓN

8.1 Temperatura y pH

La temperatura ambiental y la temperatura del efluente presentan el mismo patrón de oscilación, sin embargo la temperatura ambiental presenta marcadas fluctuaciones, en comparación con la temperatura del efluente. Esto se corresponde con lo observado por Safley y Westerman (1992) y Carro (2011). El MGAP (2008) indica que para el correcto funcionamiento desde el punto de vista microbiológico de las lagunas anaeróbica y facultativa se precisan temperaturas superiores a 15 °C. En nuestro trabajo las temperaturas del efluente no superaron en promedio los 13 °C en la laguna. Esto podría explicar, como veremos posteriormente, los bajos niveles de remoción de los microorganismos indicadores en la misma.

Según nuestras observaciones el pH del efluente crudo tuvo un promedio de 7,91 lo cual corresponde al rango de pH para efluente crudo que presenta MGAP (2008). Los valores de pH en la laguna oscilaron entre 8,07 y 8,20. A pesar de los bajos porcentajes de remoción de microorganismos en el sistema los valores de pH observados son óptimos para la actividad microbiana de las lagunas según indican Charlón y col. (2007) y MGAP (2008).

8.2 Demanda Bioquímica de Oxígeno

El valor de la mediana de DBO₅ en el efluente crudo hallado en nuestro estudio fue de 1885 mgO₂/L. Estos valores son menores a los hallados por Charlón y col. (2007) y García y col. (2009) (3092,4 mgO₂/L y 2959,5 mgO₂/L respectivamente) en la entrada al sistema de tratamiento de efluentes de INTA Rafaela en Argentina. En el estudio presentado por Nosseti y col. (2002) en varios tambos de la provincia de Bs.As, se observaron valores menores (611 mgO₂/L) que los hallados en nuestro trabajo.

Viñas y Gutiérrez en su informe realizado para el mismo tambo de nuestro estudio en el año 2004, reveló datos de DBO₅ mayores (4030 mgO₂/L) a los hallados en nuestro trabajo.

Las diferencias encontradas en cuanto a los niveles de materia orgánica en los efluentes crudos de los distintos estudios se podrían explicar ya que la carga orgánica que presentan los efluentes crudos de tambo está influenciada por diversos factores como: la cantidad de animales en ordeño, el tiempo de permanencia en el tambo, el volumen de agua utilizado para el lavado, la alimentación y la edad de los animales (Nosseti y col., 2002; Viñas y Gutiérrez, 2004).

La capacidad de remoción de DBO₅ en el estercolero fue de 49.6%. Estudios realizados en INTA Rafaela por Charlón y col. (2007) y García y col. (2009) reportaron datos de remoción del decantador de 62,6% y 28,7% respectivamente. Según valores reportados por MVOTMA (2008), los métodos físicos de tratamiento funcionando correctamente deben remover entre un 25 y

40 % de materia orgánica. Esto hace suponer que el estercolero está funcionando correctamente.

La remoción de DBO_5 de la laguna del sistema estudiado fue de 33,6%. En estudios realizados en INTA Rafaela por los mismos autores mencionados anteriormente, la DBO_5 en las lagunas presentan porcentajes de remoción de 56,9 % y 73 %, siendo estos valores mayores a los de nuestro estudio. Diversos autores como MVOTMA (2008) y MGAP (2008), mencionan que una laguna anaerobia funcionando correctamente debe remover entre el 50% y el 90%.

El valor de DBO_5 a la salida del sistema de tratamiento estudiado fue de 630 mgO_2/L . A nivel nacional Viñas y Gutierrez (2004), presentan valores medios a la salida de lagunas aneróbicas de 400 mgO_2/L (entre 260 y 650 mgO_2/L). También MVOTMA, 2008, reporta valores de DBO_5 entre 60 y 250 mgO_2/L . Estos últimos resultados fueron obtenidos en sistemas de tratamiento similares al de nuestro estudio. Estos valores hallados a nivel nacional son sensiblemente menores a los observados en nuestro trabajo.

Si comparamos, los valores obtenidos en nuestro estudio de DBO_5 a la salida del sistema y los porcentajes de remoción obtenidos en la laguna, con los datos obtenidos a nivel regional y nacional mencionados anteriormente, se puede concluir que esta laguna no se encuentra funcionando correctamente. Esto puede deberse a que nunca se realizaron limpiezas de la laguna desde su construcción, encontrándose ésta colmatada.

La remoción de DBO_5 total del sistema de tratamiento estudiado fue de 66%. Este resultado de remoción es difícilmente comparable con otros estudios que presentan sistemas de tratamiento más complejos. Estudios realizados por Charlón y col. (2007) y García y col. (2009) en el sistema de tratamiento de efluentes de INTA Rafaela en Argentina, observaron porcentajes de remoción de DBO_5 de 93% en ambos casos, siendo mayores a los obtenidos en nuestro estudio. Esto se debe a que el sistema de tratamiento estudiado por los autores mencionados anteriormente consiste en un decantador de sólidos con tres lagunas en serie, la primera anaeróbica y las otras dos facultativas.

El valor de la mediana de DBO_5 obtenido en nuestro estudio a la salida del sistema de tratamiento fue de 630 mgO_2/l , este valor no logra cumplir con los valores máximos establecidos en la normativa nacional para vertido de efluentes a cursos de agua e infiltración al terreno (60 mg/L ver tabla 3).

8.3 Microorganismos indicadores

Los tres microorganismos indicadores estudiados en este trabajo presentan una alta correlación entre ellos, por tanto, dichos microorganismos se comportaron de manera similar en este sistema de tratamiento.

En nuestro estudio el mayor porcentaje de remoción de microorganismos indicadores se produjo en la laguna con valores entorno al 90 %. Según diversos autores este valor no es suficiente ya que se considera que un sistema de tratamiento debería remover un 99.9% de los microorganismos del efluente, para que se alcancen valores que posibiliten su vertidos a cursos de agua o

puedan ser reutilizados. Nuestra reglamentación vigente establece parámetros para verter a cursos de agua e infiltración en el terreno pero no para el reuso con otros fines (ej: riego).

En nuestro estudio la disminución de DBO₅ indica que la eficiencia global del sistema no fue adecuada para lograr los valores establecidos en la normativa nacional, por tanto es lógico pensar que la remoción de microorganismos lograda por el sistema de tratamiento tampoco fuera la requerida por la misma reglamentación.

Debemos considerar además que la temperatura y el pH del efluente tienen influencia en el porcentaje de remoción de microorganismos. Como mencionamos anteriormente, para el correcto funcionamiento desde el punto de vista microbiológico de las lagunas anaeróbicas se precisan temperaturas superiores a 15 °C. En nuestro trabajo las temperaturas del efluente no superaron en promedio los 13 °C, lo que contribuye además al bajo porcentaje de remoción. A pesar de que el pH fue óptimo para el funcionamiento de la laguna, la remoción de microorganismos fue baja.

La eficiencia de remoción total del sistema fue entre 88 y 94 % para los distintos microorganismos estudiados. Los valores de Coliformes fecales a la salida de sistema de tratamiento son de 14000 UFC/ml (con un porcentaje de remoción del 88,9 %) y el valor máximo que exige la normativa nacional para vertido a cursos de agua es de 50 UFC/ml. En cuanto a la infiltración en el terreno no se establecen limitantes.

Morgan y col. (2008), en un trabajo en EUA, en un sistema diferente al nuestro (reactores anaerobios en serie y humedales) obtuvo valores de un 99 % de remoción de coliformes totales y *E. coli*.

En los trabajos de Charlón y col. (2007) y Nosetti y col. (2002) realizados en Argentina, se mencionan valores de remoción superiores a los obtenidos en nuestro estudio, 99% y 93 % respectivamente. Sin embargo estos sistemas de tratamiento evaluados son diferentes al sistema de tratamiento estudiado por nosotros. Charlón y col. (2007) realizó su trabajo en INTA Rafaela que tiene un sistema con una laguna anaeróbica y dos facultativas, a diferencia de nuestro caso donde el sistema tiene un estercolero y una sola laguna anaeróbica. Por lo que es lógico pensar que la remoción de microorganismos mejore por la incidencia de rayos UV, principal factor para la destrucción de microorganismos.

9. CONCLUSIONES

Los resultados de remoción de los tres microorganismos (Enterobacterias, coliformes totales y coliformes fecales) estudiados presentan una alta correlación, por tanto de acuerdo a los resultados de este estudio, cualquiera de ellos podría usarse como microorganismo indicador de la presencia de patógenos. En función de que los microorganismos utilizados como parámetro en la normativa son los coliformes fecales, se recomienda la utilización de este para siguientes evaluaciones.

La eficiencia de remoción total de microorganismos del sistema (88 a 94%) no fue suficiente para llegar a los valores establecidos en la normativa nacional para vertido del efluente a cursos de agua.

La baja remoción de DBO_5 , sumado a las bajas temperaturas del efluente concuerdan con los bajos niveles de remoción de microorganismos indicadores.

Teniendo en cuenta que este trabajo fue realizado en meses invernales (bajas temperaturas), se puede suponer que durante los meses más cálidos se mejoraría la eficiencia de tratamiento del sistema y con esto los porcentajes de remoción de microorganismos indicadores.

Para lograr una buena remoción de microorganismos y poder cumplir con la normativa nacional, se debería anexar al sistema de tratamiento actual otro sistema de tratamiento posterior a la laguna anaeróbica, ya que en las lagunas anaeróbicas no hay penetración de rayos UV, principal factor de destrucción de microorganismos.

De acuerdo a los valores obtenidos en nuestro estudio, estos efluentes no se pueden verter a cursos de agua, por lo que se debe considerar la posibilidad de poder reutilizar estos efluentes como fertiriego. Tampoco es recomendable su reutilización para el lavado de instalaciones si no existe un sistema previo de desinfección.

10. Propuestas

Si bien los valores de coliformes fecales que se obtuvieron a la salida del sistema no lograron cumplir con los valores establecidos en la normativa nacional para vertido en cursos de agua, se podría recomendar el uso del efluente tratado para fertiriego. Para asegurar una reducción del riesgo sanitario por el reuso de los efluentes generados, se recomiendan las siguientes medidas de manejo:

- Aplicar el efluente generado del sistema de tratamiento en potreros laboreados, de modo de maximizar la incidencia de la luz solar y permitir la reducción de patógenos por esa vía.
- Aplicar el efluente como fertiriego de cultivos agrícolas.
- Si se utilizan para fertiriego de pasturas, se debería distribuir el efluente durante los meses más cálidos en potreros recientemente pastoreados, para incrementar la velocidad de muerte de patógenos por el efecto de la desecación y mayor incidencia de luz solar. No introducir animales a las pasturas, antes de los 30 días de regada la pastura.
- Aún en los meses más cálidos, no introducir animales jóvenes (menores de un año) en las pasturas regadas con el efluente.

En nuestro país la normativa establece condiciones para el vertido de efluentes en cursos de agua e infiltración al terreno. Siendo esta última incompleta ya que no hace referencia a los niveles de DBO_5 ni coliformes fecales. Además no existe reglamentación vigente para el uso de efluentes para el riego de pasturas. Por lo antes expuesto se hace necesario complementar la legislación actual en lo referido a infiltración al terreno y la introducción de reglamentaciones para el uso en riego de pasturas.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(-FACU)

1. Acha, P.N., Szyfres, B. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales. 3^a.ed. Washington, OPS, 398p.
2. Aguirre, N. J., Mejía, R., Múner, M. C. (2007). Variación nictemeral de la calidad del agua en las lagunas de estabilización del municipio de La Ceja, Antioquia. Rev. Fac. Ing. 40:22- 40.
3. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. Washington DC APHA, AWWA WWCW, 2005.
4. Anchieri, D., De Torres, E., Lagarmilla, P. (2000). Riesgo sanitario en el reuso de efluentes. Seminario Internacional Medio Ambiente y Producción Lechera, Montevideo, Uruguay, p.74-75.
5. Botero, L, Zambrano, J.L, Oliveros, C., León, D., Sarcos, M., Martínez, M. (2002). Calidad Microbiológica del agua de un sistema de lagunas de estabilización a ser empleada en irrigación. Rev. Fac Agron. 19(4): 1-13.
6. Carrington E.G. (2001). Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction. European Commission DG Environment, Final report, sept 2001, Office for official publications of the European communities, Luxembourg, 44p.
7. Carro, I. Eficiencia de un humedal construido para el tratamiento de efluentes domiciliarios durante la fase invernal, en Uruguay. Disponible en: http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/UY04103_Carro.pdf. Fecha de consulta 28/7/2011.
8. Charlón, V., Cuatrin, A., Taverna, M., Walter, E. (2007) Evaluación del funcionamiento de un sistema de tratamiento de efluentes de instalaciones de ordeño. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/Rafaela/info/documentos/anuarios/anuario2006/tecnologia-ordenio-calidad-leche-09.pdf>. Fecha de consulta 14/7/2011.
9. Chuchón, S.A., Aybar, C.A. (2008). Evaluación de la capacidad de remoción de bacterias coliformes fecales y demanda bioquímica de oxígeno de la planta de tratamiento de aguas residuales "la totora", Ayacucho, Perú. Eco. Apl, 7(1,2): 171.
10. Cruz, E., Martínez, V., Naranjo, R., Sosa, R. (2004). Evaluación microbiológica del efluente anaerobio de un biodigestor de cúpula fija. Rev. Comp. Prod. Porc. 11(2): 90- 92.
11. Déportes, J.L., Benoit-Guyod, D., Zmirou., Bouvier, M.C. (1998). Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) Composity Journal of Appl. Microbiol. 85: 238- 246.
12. Dirección Nacional de Medio Ambiente (2009). 2008UY Determinación de

demanda bioquímica de oxígeno en efluentes líquidos domésticos e industriales, aguas contaminadas y naturales. En: DINAMA. Departamento Laboratorio Ambiental. Manual de Procedimientos Analíticos para Muestras Ambientales. Montevideo, DINAMA, 13 p.

13. Dirección Nacional de Medio Ambiente (2009). 2009UY Determinación de demanda química de oxígeno en efluentes líquidos domésticos e industriales, aguas contaminadas y naturales. En: DINAMA. Departamento Laboratorio Ambiental. Manual de Procedimientos Analíticos para Muestras Ambientales. Montevideo, DINAMA, 8 p.
14. Dumontet, S., Scopa, A., Kerje, S., Krovacek, K. (2001). The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge. *J. Air Wast. Manag. As.* 51: 848-860.
15. Duran, H. ; Alles, G.; La Manna A. ; Ravagnolo, O.; Lopez Villalobos, N. (2009). Modelo de simulación en tambos 1. Consumo de pasturas y suplementos. *Rev. Argentina Prod. Anim.*, v.: 29 1 : 376 p.
16. García, K., Charlón, V., Cuartín, A., Taberna, M., Walter, E. Determinación de las eficiencias de remoción de contaminantes logradas por un sistema de tratamiento de efluentes generados en tambos. Disponible en: [www.inta.gov.ar/rafaela/info.../2009/pa_sistema_S01 htm](http://www.inta.gov.ar/rafaela/info.../2009/pa_sistema_S01.htm). Fecha de consulta: 26 de julio de 2011.
17. Hermanson, R.E. (1975). Lagoons for livestock and poultry waste. Pullman, Washington State University, Collage of Agriculture, Cooperative Extension Service. Extension Bulletin 655. 14p.
18. Herrero, M. A.; Gil, S. (2008) Consideraciones ambientales de la intensificación en producción animal. *Ecol. Aust.* 18:273-289.
19. Iramain, M.S; Nosetti, L; Herrero, M.A; Maldonado May, V; Flores, M; Carbó, L. (2001). Evaluación del uso y manejo del agua en establecimientos lecheros de la provincia de Bs AS. Gobierno de Chile; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura; Agua, Vida y Desarrollo. Santiago de Chile, IICA, oct. 2001. p.1-11.
20. Jones (1980), P. W. Health hazards associated with the handling of animal wastes. *Vet. Rec.* 106:4-7.
21. La Manna, A. (1995). Manejo de residuos orgánicos en Tambo. 2ª ed. Montevideo, Uruguay, INIA La Estanzuela, 41p. (Boletín de Divulgación N° 53).
22. Lepeuple, A, S., Gaval, G., Sovic, M., De Roubin, M.R (2004). Literature review on levels of pathogens and their abatement in sludges, soil and treated biowaste. *Anjou Recherche. Horizontal Project*, 50 p.

23. Mariñelarena, A.J. (2007). Tratamiento biológico de efluentes. En: Stanchi, N.O. (eds.) Microbiología veterinaria. Buenos Aires, Intermédica, p547-551.
24. Miner, J. (1971). Farm animal – waste management. Ames. Iowa. Agricultura and home economics Experiment Station. Iowa State University of Science and Technology. North Central Regional publication 206. 44p.
25. MGAP – DIEA. (2010) Anuario Estadístico Agropecuario. Disponible en: www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2010/DIEA-Anuario-2010w.pdf. Fecha de consulta: 16/9/2011.
26. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (Uruguay) (2008). Manual para el manejo de efluentes de tambo. Disponible en: <http://www.cebra.com.uy/presponsable/2008/06/05/manual-de-manejo-de-efluentes-de-tambo/>. Fecha de consulta 13/7/2011.
27. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, Facultad de Veterinaria, Conaprole (Uruguay) (1998). Manejo de Efluentes en Predios Lecheros. Montevideo, MVOTMA. 51p.
28. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, Facultad de Ingeniería, Conaprole (2008). Guía de gestión integral de aguas en establecimientos lecheros. Diseño, operación y mantenimiento de sistemas de tratamiento de efluentes. Montevideo, MVOTMA. 231p.
29. Morgan, J. A., Hoet, A. E., Wittum, T. E., Monahan, C.M., Martin, J.F. (2008). Reduction of Pathogen Indicator Organisms in Dairy Wastewater Using an Ecological Treatment System. *Env. Qual.* 37:272–279.
30. Nosetti, L., Herrero, M.. A., Pol, M.; Maldonado May, V., Korol, S., Rossi, S., Gemini, V., Flores, M. (2002). Cuantificación y caracterización de agua y efluentes en establecimientos lecheros II. Calidad de efluentes y eficiencia de los procesos de tratamiento. *Rev. InVet.*, 4(1): 45-54.
31. Pell, A.N. (1997), 'Manure and Microbes: Public and Animal Health Problem?' *J. Dairy Sci.*, 80(10): 2673–2681.
32. Pittamiglio, M. (2004). Guía de diseño y operación de sistemas de tratamiento de efluentes de tambo. Montevideo, DINAMA. 88p.
33. Poudel, R.C., Joshi, D.R., Nawa Raj Dhakal, Karki, A.B. (2010). Anaerobic digestion of sewage sludge mixture for the reduction of indicator and pathogenic microorganisms. *Sci. World* 8(8): 47-50.
34. Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff K. W. (1999). Medicina Veterinaria Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9ª ed. Madrid, Mc Graw Hill, vol.1, 1206p.
35. Safley, L.M., Westerman, P.W. (1992). Performance of a dairy Manure

36. Soares, A.M.E; Von Sperling, M.; Chernicharo, C.A.L; Brito, L.H.N.C; Zerbini, A.M.; Melo, M.C.; Barcellos, F.N.M. (2001). Avaliação da remoção de patógenos em duas lagoas de polimento com diferentes relações geométricas tratando efluente de um reator UASB compartimentado. Col. Trab. Téc. 2: 87-96.
 37. Strauch D. (1991). Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 10 (3): 813 – 846.
 38. Uruguay. Ley nº 14859 (1978). Decreto 253/79. Uruguay Código de aguas. Disponible en: www.dinama.gub.uy/profesionales/downloads/dec_253_79.pdf. 14p. Fecha de consulta: 16/9/2011.
 39. Vanderholm, D. (1984). Properties of agricultural wastes. En: Vanderholm, D. (eds.) Agricultural waste Manual. Canterbury, New Zealand. NZAEI Project Report Nº 32. p. 2-1 – 2-8.
 40. Viñas, M., Gutierrez, S., Cabrera, N., La Manna, A (2006). Estimación de los parámetros nacionales y básicos para el procesamiento y utilización de los residuos sólidos y líquidos de tambos. Informe Final. Proyecto INIA. PTA Nº138. Montevideo, INIA 200 p.
 41. Young, H.K. (1993). Antimicrobial resistance spread in aquatic environments. J. Antimicrob Chemother. 31(5): 627-635.
- Zar JH (1999). Biostatistical analysis, 4ª ed., New Jersey, Prentice-Hall, 663 p.