

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencias Ambientales

Influencia del origen de fangos procedentes de estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas e industriales en sus características físico-químicas y microbiológicas

Influence of the origin of sludge from urban and industrial wastewater treatment plants on their physico-chemical and microbiological characteristics

Autora

Eva Ayesa Jimeno

Directora

Natividad Miguel Salcedo

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR

2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

El Trabajo de Fin de Grado que presento para su exposición y defensa es original y todas las fuentes utilizadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.

En Zaragoza, a 29 de noviembre de 2023.

ÍNDICE

Resumen y palabras clave	2
Abstract and keywords	2
Introducción y objetivos	3
Antecedentes	5
Aguas residuales: contaminantes	5
Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs)	6
Fangos de EDARs: características y usos	7
Materiales y métodos	8
EDARs objeto de estudio	8
Toma de muestras	8
Preparación de las muestras y determinación de sólidos totales y humedad	8
Análisis microbiológico	10
Análisis de los resultados microbiológicos	15
Resultados y discusión	18
Recopilación de características de las EDARs	18
Resultados de parámetros microbiológicos	19
Resultados de los análisis físico-químicos	22
Correlación de los resultados de parámetros microbiológicos	23
Influencia del origen de los fangos en los resultados de parámetros microbiológicos	24
Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con las características de las EDARs	29
Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con los parámetros físico-químicos	36
Conclusiones	40
Bibliografía	42
Anexo I: Criterios de calidad para fangos de depuradoras con usos agrícolas	44
Anexo II: Resultados de los análisis microbiológicos	45
Anexo III: Medias y desviaciones estándar para cada parámetro microbiológico y EDAR analizada	47
Anexo IV: Resultados de los análisis físico-químicos	50

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Conocer las características microbiológicas de las aguas residuales y los fangos de depuradoras (EDARs) es importante para garantizar una buena gestión de las aguas y un funcionamiento correcto de las EDARs. Algunos contaminantes presentes en aguas y fangos se pueden utilizar como indicadores de contaminación por lo que su presencia y concentración en estas matrices se puede relacionar con distintos factores. En este trabajo, se usan tres parámetros microbiológicos usados comúnmente para determinar si hay contaminación en aguas y fangos de EDARs: la presencia de coliformes (familia), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterococcus* sp.

Para determinar la presencia de estos tres parámetros, se realizó un análisis microbiológico de los fangos de 20 depuradoras urbanas y 5 depuradoras industriales. El análisis microbiológico se realizó como una adaptación del Método 9215C – Spread plate method (APHA, 2005). Tras obtener los datos microbiológicos, se analizaron determinando su posible relación con el origen de las muestras (urbano o industrial), las características de las depuradoras (tipo de depuradora, tipo de tratamiento biológico, población censada, caudal(m³/día)/población, Materia En Suspensión (MES) (mg/L), Demanda Química de Oxígeno (DQO) (mg/L) y Demanda Biológica de Oxígeno en 5 días (DBO5) (mg/L)) y los parámetros físico-químicos de las muestras (porcentajes de materia seca y humedad, pH, nitrógeno total (%N sms), fósforo (%P₂O₅ sms) y potasio (%K₂O sms)). Se ha podido demostrar que las características de las EDARs y los parámetros físico-químicos tienen una influencia en la concentración de las bacterias analizadas. También se ha comprobado que existe una influencia menor del origen de las muestras en los resultados microbiológicos obtenidos.

Palabras clave: contaminantes emergentes, contaminación de aguas, gérmenes patógenos, contaminación fecal, *Escherichia coli*, *E. Coli*, *Enterococcus* sp.

ABSTRACT AND KEYWORDS

Understanding the microbiological characteristics of wastewater and sludge from wastewater treatment plants (WWTPs) is essential to ensure proper water management and the correct operation of WWTPs. Some contaminants present in water and sludge can be used as indicators of pollution, so their presence and concentration in these matrices can be related to various factors. In this study, three commonly used microbiological parameters are employed to determine if there is contamination in the water and sludge of WWTPs: the presence of coliforms (family), *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Enterococcus* sp.

To determinate the presence of these three parameters, a microbiological analysis of 20 urban wastewater treatment plants and 5 industrial wastewater treatment plants was conducted. The Microbiological analysis was performed as an adaptation of Method 9215C – Spread plate method (APHA, 2005). After obtaining the microbiological data, they were analysed to determinate their possible relationship with the origin of the samples (urban or industrial), the characteristics of the WWTPs (type of plant, type of biological treatment, population served, flow rate (m³/day) per population, Total Suspended Solids (TSS) (mg/L), Chemical Oxygen Demand (COD) (mg/L) and 5-Day Biochemical Oxygen Demand (BOD5) (mg/L)), and the physicochemical parameters of the samples (percentages of dry matter and humidity, pH, total nitrogen (%N on dry matter basis), phosphorus (%P₂O₅ on dry matter basis) and potassium (%K₂O on dry matter basis)). It has been demonstrated that the characteristics of the WWTPs, and the physicochemical parameters have an impact on the concentration of the analysed bacteria. It has also been confirmed that the sample source has a minor influence on the microbiological results obtained.

Key words: emerging contaminants, water contamination, pathogenic germs, fecal contamination, *Escherichia coli*, *E. Coli*, *Enterococcus* sp.

INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso empleado constantemente, tanto a lo largo de la vida de una persona, como en numerosos sectores, (industrial, agrícola, recreativo...). Así, la calidad de la misma cambia, ya que se contamina debido a su uso (ONU, s.f.). En el momento en que el agua es usada, pasa a ser agua residual y necesita, en la mayoría de los casos, pasar por un tratamiento que adecúe su calidad antes de ser devuelta al ciclo hidrológico del agua.

El agua residual es tratada en Estaciones de Depuración de Aguas Residuales (EDAR). Una EDAR es “el conjunto de instalaciones que tiene por objeto la reducción de la contaminación de las aguas residuales hasta límites aceptables para el cauce receptor” (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, s.f.).

Dependiendo de la procedencia de las aguas residuales que se traten, se habla normalmente de dos tipos de EDARs: urbanas e industriales. Se hablará de aguas residuales urbanas y EDARs urbanas cuando los contaminantes presentes se generen como resultado de la actividad urbana, como puede ser el uso doméstico del agua, o de su mezcla con aguas residuales industriales asimilables a urbanas o agua pluvial. Por otro lado, se considerarán aguas residuales industriales y EDARs industriales cuando los contaminantes presentes se generen como resultado de actividades industriales, como un proceso de fabricación.

Las EDARs se centran en hacer pasar al agua residual por una serie de tratamientos capaces de eliminar los numerosos contaminantes que estas arrastran, como puede ser sólidos, materia orgánica, compuestos inorgánicos, etc. (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, s.f.). Sin embargo, en las aguas residuales hay más contaminantes que no son eliminados en su totalidad.

Algunos de ellos son los gérmenes patógenos, que son capaces de causar enfermedades. Dentro de los posibles gérmenes patógenos que se pueden encontrar, se encuentran entre otros las siguientes bacterias: coliformes (familia), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterococcus* sp. (García et al., 2007; George et al., 2002; Koivunen et al., 2003; López Martín et al., 2018; Ma et al., 2022; Quiñones Martínez-Aldama & López Martín, 2020; Rivera-Montero et al., 2023). Estos patógenos serán en los que se centre este trabajo.

Estas bacterias normalmente provienen de los desechos fecales de los seres humanos, al formar parte de la flora intestinal de los mismos (Ma et al., 2022; Rivera-Montero et al., 2023) y es por ello que acaban en las aguas residuales.

Al estar presentes en las aguas residuales, estas bacterias se pueden encontrar a lo largo de toda la línea de tratamientos de las EDARs (García et al., 2007; Koivunen et al., 2003; López Martín et al., 2018; Ma et al., 2022; Quiñones Martínez-Aldama & López Martín, 2020; Rivera-Montero et al., 2023) y por tanto también en los fangos que se producen en las mismas (Cruz Quijada, 2015; García et al., 2007; López Martín et al., 2018; Quiñones Martínez-Aldama & López Martín, 2020).

Los fangos de las EDARs se forman como producto de los diferentes tratamientos que tienen lugar y, normalmente, están formados por materias en suspensión biodegradables. Los fangos pueden tener varios destinos: uso agrícola, uso como materia prima en procesos de fabricación (ladrillos) o ser destinados a vertederos (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, s.f.). En cuanto a ser usados para realizar compost, estos tienen que pasar por un tratamiento previo de higienización para eliminar estas bacterias. Sin embargo, la gran mayoría de EDARs no cuentan con este tratamiento de fangos.

Cabe destacar que las concentraciones bacterianas en los fangos de depuradoras son muy variables, llegándose a encontrar en rangos de 10^5 – 10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por 100 mL de muestra (López Martín et al., 2018). Además, los análisis necesarios para determinar la concentración son muy costosos, sobre todo debido al tiempo que es necesario invertir en hacerlos (>18 horas) (Satoh et al., 2021; Shayan et al., 2023).

Es por lo anterior que nace la necesidad de conocer la influencia del origen de los fangos (urbano o industrial) en la presencia de coliformes (familia), *E. coli* y *Enterococcus* sp. Además del origen, también influyen en la presencia y concentración de estas bacterias los parámetros físico-químicos de las aguas (Tyagi et al., 2011).

Así, objetivo general del trabajo es determinar la influencia del origen de fangos de depuradoras urbanas e industriales en las propiedades microbiológicas y físico-químicas de los mismos.

Para cumplir con el objetivo principal, se van a alcanzar los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar análisis microbiológicos de fangos procedentes de diferentes depuradoras urbanas e industriales. En concreto, se analizará la presencia y concentración de *Escherichia coli* (*E. coli*), coliformes totales y *Enterococcus* sp.
2. Analizar los resultados sobre parámetros microbiológicos obtenidos y relacionarlos con el origen de los fangos teniendo en cuenta: tipo y procedencia de agua residual tratada, tratamiento de aguas aplicado en la depuradora y dimensiones de la misma.
3. Analizar los resultados sobre parámetros microbiológicos obtenidos y establecer una posible relación con los parámetros físicos y químicos de los fangos analizados.

Además, este trabajo va a contribuir a la promoción del desarrollo sostenible dentro del marco de la Agenda 2030 de la ONU, estando comprendido en los siguientes Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS):

- Objetivo 6: Agua limpia y Saneamiento. El objetivo general de este ODS es garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento de la misma para todos los seres humanos. Dentro del ODS 6, este trabajo contribuye para las metas:
 - Meta 6.2: De aquí a 2030, lograr el acceso a servicios de saneamiento e higiene adecuados y equitativos para todos y poner fin a la defecación al aire libre, prestando especial atención a las necesidades de las mujeres y las niñas y las personas en situaciones de vulnerabilidad.
 - Meta 6.3: De aquí a 2030, mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, eliminando el vertimiento y minimizando la emisión de productos químicos y materiales peligrosos, reduciendo a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar y aumentando considerablemente el reciclado y la reutilización sin riesgos a nivel mundial.

Este trabajo también está alineado en menor medida con los siguientes ODS:

- Objetivo 3: Salud y Bienestar. El objetivo general de este ODS es garantizar una vida sana y promover el bienestar en todas las edades. En concreto, se contribuye en la siguiente meta:
 - Meta 3.9: Para 2030, reducir sustancialmente el número de muertes y enfermedades producidas por contaminantes químicos peligrosos y la contaminación del aire, el agua y el suelo.

- Objetivo 11: Ciudades y Comunidades Sostenibles. El objetivo general de este ODS es lograr que las ciudades sean más inclusivas, seguras y sostenibles. Dentro de este ODS, se contribuye en la siguiente meta:
 - Meta 11.6: De aquí a 2030, reducir el impacto ambiental negativo per cápita de las ciudades, incluso prestando especial atención a la calidad del aire y a la gestión de los desechos municipales y de otro tipo.
- Objetivo 12: Producción y consumo responsables. El objetivo general de este ODS es garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles. En concreto, se contribuye en la siguiente meta:
 - Meta 12.4: De aquí a 2030, lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente.

ANTECEDENTES

Aguas residuales: contaminantes

La composición de las aguas residuales urbanas es muy variada. Esta depende en gran parte del origen de la misma, pudiendo incluir agua residual doméstica, industrial o aportaciones incontroladas como aguas pluviales (López Martín et al., 2018).

Los contaminantes que se encuentran habitualmente en las aguas residuales urbanas son los sólidos suspendidos, compuestos orgánicos biodegradables, microorganismos (algunos patógenos), nutrientes, compuestos orgánicos refractarios, metales pesados y sólidos inorgánicos disueltos (César Valdez & Vázquez González, 2003).

En cuanto a los microorganismos presentes en las aguas residuales urbanas, son principalmente de origen fecal. Dentro del grupo de microorganismos, podemos encontrar virus, hongos y levaduras, bacterias, algas, protozoos y parásitos (López Martín et al., 2018).

En las aguas residuales industriales también se pueden encontrar microorganismos, dependiendo del tipo de industria del que se hable (industrias relacionadas con la alimentación, ganadería...).

Dentro de todos los microorganismos que se pueden encontrar en las aguas residuales, este trabajo se va a centrar en las bacterias, en concreto, las comentadas con anterioridad: coliformes (familia), *E. coli* y *Enterococcus* sp. Esto es debido a que son microorganismos que se han usado habitualmente como indicadores de contaminación fecal, especialmente en el caso de la *E. coli* y *Enterococcus* sp. (Barrios-Hernández et al., 2020; Garcia et al., 2007; López Martín et al., 2018; Shayan et al., 2023).

La presencia de estos microorganismos en las aguas residuales indica que existe contaminación fecal en las mismas, la cual, de llegar a los ecosistemas naturales, puede ser muy dañina para el medio ambiente y los servicios ecosistémicos que nos ofrece (George et al., 2002; Satoh et al., 2021).

Además, las EDARs normalmente no cuentan con tratamientos de desinfección que eliminen estas bacterias de las aguas residuales, por lo que, aunque parte de las mismas se pueda eliminar con los tratamientos habituales, gran parte es vertida a los ríos (Rivera-Montero et al., 2023; Satoh et al., 2020, 2021).

Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs)

El esquema típico de una EDAR urbana se muestra en la *Figura 1* (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico):

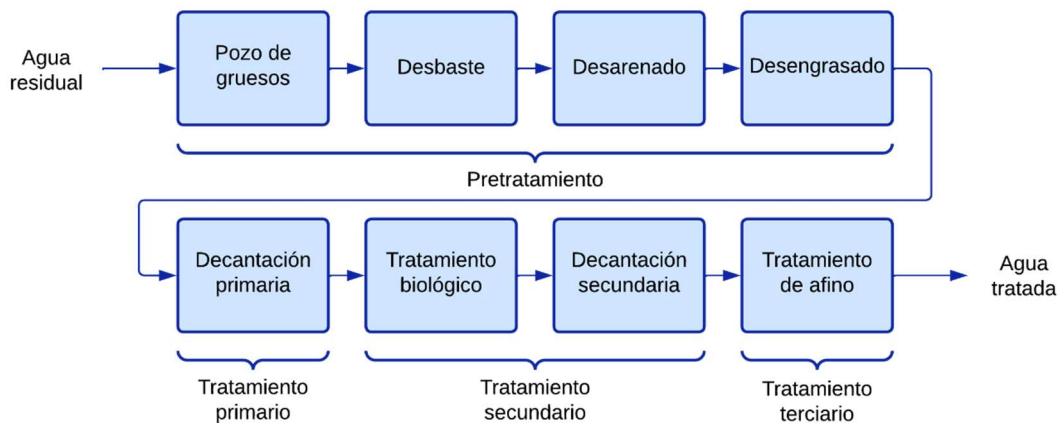


Figura 1: Esquema típico de una EDAR. Elaboración propia.

De forma general, todas las EDARs cuentan con los procesos que aparecen en el esquema anterior, con la excepción del tratamiento terciario, que tiende a ser opcional. En el pretratamiento se eliminan los sólidos gruesos, sólidos sedimentables y grasas del agua residual para evitar problemas en los tratamientos posteriores. En el tratamiento primario se eliminan los sólidos suspendidos y en el tratamiento secundario se eliminan los sólidos biodegradables disueltos. En el tratamiento terciario, de haberlo, se eliminan nutrientes como nitrógeno o fósforo.

En cuanto a las EDARs industriales, es más común que estas tengan más etapas, para eliminar contaminantes concretos que se produzcan en esa industria, o que algunas de las etapas desaparezcan al no hacer falta.

Como se puede observar en el esquema, en la EDAR típica no se aplica ningún tratamiento específico de eliminación de microorganismos. A pesar de ello, el tratamiento biológico es capaz de reducir la contaminación por microorganismos patógenos en parte. Por ejemplo, cuando la tecnología empleada en el tratamiento biológico son fangos activos, se puede llegar a disminuir la concentración entre 1 y 2 órdenes de magnitud de *E. coli* (Barrios-Hernández et al., 2020). Esta eliminación parcial de patógenos depende de muchos factores como el tipo de tratamiento, el tiempo de retención hidráulico, el oxígeno disuelto, el pH del agua, la temperatura... (Koivunen et al., 2003; Tyagi et al., 2011) por lo que la eficiencia de eliminación varía considerablemente. De hecho, en un estudio realizado en 2021 se comprobó que la liberación de aguas tratadas en EDARs con tecnología de fangos activados suponía un aumento de concentración de *E. coli* en el río de 1 a 2 órdenes de magnitud (Satoh et al., 2021).

El hecho de que en una EDAR típica no se apliquen tratamientos de eliminación de microorganismos es debido a que no hay obligación por ley. En el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se

establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas (legislación vigente en materia de depuración de aguas residuales urbanas) no se contemplan los microorganismos como parámetros a controlar.

Fangos de EDARs: características y usos

Del tratamiento primario y secundario de las EDARs se obtiene un producto: fango. Los fangos de depuradoras se caracterizan por ser materias en suspensión biodegradables. Dentro de las EDARs, los fangos se utilizan en la etapa del tratamiento biológico, que aprovecha la presencia de microorganismos en los mismos para que estos mismos se encarguen de eliminar los sólidos biodegradables disueltos del agua residual. Posteriormente, en la decantación secundaria, los fangos y el agua se separan, y los fangos son o reutilizados en el tratamiento biológicos, o apartados para darles otro uso.

Los fangos, al estar en contacto con las aguas residuales y ser un producto derivado de las mismas, contienen los microorganismos mencionados con anterioridad.

A parte de su uso dentro de las propias depuradoras, los fangos también pueden ser destinados a ser usados como materias primas en procesos de fabricación, a tener un uso agrícola o a un vertedero. Para los usos agrícolas, se conoce que la presencia de patógenos en los fangos puede hacer que se limite su eficacia como enmienda orgánica (López Martín et al., 2018; Quiñones Martínez-Aldama & López Martín, 2020). En el Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario no se establecen límites en cuanto a parámetros microbiológicos. Sin embargo, en la Orden AAA/1072/2013, de 7 de junio, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario sí especifica que se debe informar de la concentración presente en los fangos de *E. Coli* y sobre la ausencia o presencia en 25g de muestra de *Salmonella sp.*

Si bien esto no es una regulación, la Unión Europea y la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos (US EPA) han creado normas o guías con el objetivo de reducir los microorganismos hasta un nivel aceptable para la aplicación de fangos a suelos agrícolas. Los criterios de calidad que se han creado en estas guías y normas se encuentran desarrollados en el Anexo I.

No es común que en los laboratorios de las EDARs se lleve a cabo un control microbiológico de las aguas o de los fangos, ya que son análisis que requieren invertir mucho tiempo y que además no son inmediatos. Es por ello que se derivan a laboratorios externos, y se hacen con un fin concreto, como conocer la presencia de patógenos para poder destinar el fango a hacer compost o enmiendas orgánicas agrícolas, realizando un tratamiento de higienización previo.

MATERIALES Y MÉTODOS

EDARs objeto de estudio y muestreos

Los análisis microbiológicos se realizaron a los fangos de 20 depuradoras urbanas y 5 depuradas industriales, durante el periodo de tiempo comprendido entre diciembre de 2022 y junio de 2023. Al final de este periodo, se analizaron un total de 68 muestras de fangos. De la mayoría de EDARs se recogieron muestras un total de 3 veces, sin embargo, algunas depuradoras sólo se pudieron analizar una muestra (una EDAR) o dos (tres EDARs).

Para poder analizar los resultados obtenidos en el análisis microbiológico, se realiza una recopilación de información de todas las EDARs. Los parámetros de los cuales se recopiló información fueron: tipo de depuradora, tipo de tratamiento biológico, población censada, caudal(m³/día)/población, MES (mg/L), DQO (mg/L) y DBO5 (mg/L). Las depuradoras urbanas siguen el esquema de una EDAR típica, sin tratamiento terciario, variando el tipo de tratamiento biológico empleado. Las características concretas de cada EDAR se concretan en el apartado de resultados de este trabajo. Sobre las EDARs industriales no se ha podido recabar información sobre los tratamientos empleados o características del agua.

Toma de muestras

Todas las EDARs objeto de estudio se encuentran en la Comunidad Foral de Navarra y vierten sus aguas en la cuenca del Ebro. Los muestreos de fangos fueron realizados por la empresa encargada de la gestión de las depuradoras, Navarra de Infraestructuras Locales S.A., NILSA, siguiendo la metodología estandarizada 1060 B – Toma de muestras (APHA et al., 1989a). Esta empresa se encargaba de recoger las muestras de fango y entregarlas en el laboratorio de investigación Agua y Salud Ambiental, del Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón, situado en la Escuela de ingeniería y Arquitectura de la Universidad de Zaragoza. En este laboratorio se realizaron los análisis microbiológicos, además de algunos análisis físico químicos (determinación de la humedad y los Sólidos Totales (ST) de las muestras) y en los laboratorios de NILSA se realizaron los análisis físico-químicos.

Preparación de las muestras y determinación de parámetros físico-químicos

Manejo de muestras y determinación de sólidos totales y humedad

Las muestras se deben tratar en un tiempo menor a 24 horas desde su recogida. Siempre que se traten las muestras para los diferentes pasos del análisis, se hará en atmósfera estéril y con material autoclavado para evitar su contaminación.

Para la determinación de ST, se sigue el método estándar 2540 G (APHA, 2018).

Para la determinación de ST y humedad, previamente se secan tantos vasos de precipitados como muestras a tratar a 105°C durante un mínimo de 2 horas. Una vez secos, se pesan vacíos y se vierten en ellos unos 10 gramos de cada muestra, y se apunta el peso. Los vasos se secan durante 24 horas a 105°C. Después de ello, se vuelven a pesar. De este modo se puede calcular la humedad de la muestra y los ST, valores necesarios posteriormente para expresar los resultados del análisis microbiológico.

Las fórmulas que se emplean para calcular los ST y la humedad son las siguientes:

$$\%ST\left(\frac{g}{100g}\right) = \left(\frac{(Masa\ del\ vaso\ seco\ (g) + Muestra\ seca\ (g)) - Masa\ del\ vaso\ seco\ (g)}{(Masa\ del\ vaso\ seco\ (g) + Muestra\ húmeda\ (g)) - Masa\ del\ vaso\ seco\ (g)}\right) \times 100$$

Para muestras líquidas (asumiendo que la densidad de la muestra es 1 g/mL):

$$ST\left(\frac{g}{mL}\right) = \left(\frac{\%ST\left(\frac{g}{100g}\right)}{100}\right) \times 1\left(\frac{g}{mL}\right)$$

$$Humedad = 1 - ST$$

Para fango deshidratado (realizando extracción):

$$ST\left(\frac{g}{mL}\right) = \frac{Muestra\ extraida\ (g) \times \frac{\%ST\left(\frac{g}{100g}\right)}{100}}{V\ de\ suero\ fisiológico(mL) + Muestra\ extraida\ (g) \times \left(1 - \frac{\%ST}{100}\right) \left(\frac{g_{H_2O}}{g}\right) \times 1\left(\frac{mL}{g_{H_2O}}\right)}$$

$$Humedad = 1 - ST$$

Determinación de otros parámetros físico-químicos

Los parámetros físico-químicos analizados en los fangos fueron: pH, nitrógeno total (%N sms), fósforo (%P₂O₅ sms) y potasio (%K₂O sms). Los resultados de estos análisis se concentran en el apartado de resultados de este trabajo.

El pH se determinó mediante el método estándar 4500-H⁺, la determinación de nitrógeno total se hizo siguiendo el método estándar 4500-N, el fósforo se determinó mediante el método estándar 4500-P y el potasio se determinó mediante el método estándar 4500-K (APHA et al., 1989b).

Extracción de muestras sólidas o semi-sólidas

Dependiendo de la EDAR y de la persona que tome la muestra, a veces las muestras de fangos vienen deshidratadas, es decir, sólidas. Para la determinación de coliformes totales, *E. coli* y *Enterococcus sp.* por el método de siembra en superficie, es necesario que la muestra esté en suspensión, para poder realizar diluciones seriadas.

El proceso de extracción de una muestra de fango deshidratado viene ilustrado en la *Figura 2*. Para ello, cuando las muestras de fango vienen deshidratadas, se pesan en un anaclín o recipiente estéril 10 g de muestra. Esta parte de la muestra se vierte en una bolsa filtrante estéril junto con 90 mL de solución NaCl 0,9% y se macera con un mortero durante 5 minutos. Una vez pasado el tiempo, la mezcla se devuelve al anaclín, filtrando los sólidos. Esta suspensión se considerará la dilución cero (D0) para el caso de las muestras deshidratadas.



Figura 2: Proceso de extracción de una muestra de fango deshidratada.

Análisis microbiológico

El análisis microbiológico de las muestras se realizó como una adaptación del Método 9215C – Spread plate method (APHA, 2005). Se analizaron un total de 68 muestras de fangos. De cada muestra de fango, se hicieron entre 4 y 6 diluciones seriadas para sembrar en medios de cultivo, y de cada dilución se hizo un duplicado para asegurar que el resultado fuera representativo.

Preparación de material y medios de cultivo

Todo el material que se emplea durante la preparación de medios de cultivo debe estar autoclavado, es decir, debe ser estéril. Para autoclarlo, el material, limpio y seco, se expone a 121°C y 1 bar durante 15 minutos. Además, todos los pasos se han de hacer cerca de una llama para asegurar una atmósfera estéril.

La preparación de los medios de cultivo se realiza según se detalla en los propios envases de los mismos. Para el recuento de coliformes totales y *E. coli* se utiliza el Chromogenic coliforms Agar (CCA) y para los *Enterococcus sp.* se utiliza el agar Slanetz & Bartkey (S&B).

El CCA se prepara en atmósfera estéril, es decir, en un radio de 25/30 cm desde una llama. Para preparar un litro de medio de cultivo, se pesan 29,45g de medio en polvo, que se añaden a un recipiente con un litro de agua destilada autoclavada y un imán. Este recipiente se tapa con papel de aluminio para asegurar que se mantenga la esterilidad y se pone sobre una placa agitadora y calefactora hasta que ebulle y se disuelva el medio por completo. Una vez ha sido preparado, se introduce en un frasco estéril para evitar que el medio de cultivo se enfríe rápidamente y se solidifique, hasta una temperatura de 50°C. Una vez alcanzada esta temperatura, se puede verter en las placas Petri.

En el caso del agar S&B, no hace falta hacer la primera parte de la preparación en atmósfera estéril, ya que es necesario que este medio de cultivo sea autoclavado. Así, para un litro de medio de cultivo, se pesan 44,4 g de medio en polvo y se añaden a un recipiente con un litro de agua destilada y un imán. El recipiente se coloca entonces en una placa agitadora y calefactora hasta que la disolución ebulle y se disuelva por completo. Una vez se ha disuelto todo, el medio de cultivo se introduce en un frasco con tapa y se autoclava. Una vez autoclavado, se debe controlar la temperatura hasta que se enfríe hasta los 50°C, ya que hay que añadir un aditivo al medio de cultivo que permite que las bacterias se colorean durante su crecimiento, y no puede añadirse a mayores temperaturas porque entonces no funcionaría. Este tinte se añade en atmósfera estéril, y una vez se ha mezclado bien el medio de cultivo con el tinte, este se vierte en placas Petri.

Las placas donde se vierte el medio de cultivo vienen estériles en paquetes de plástico, y se debe evitar en todo momento que se abran antes de que se vierta el medio en ellas, pues pierden su esterilidad. El vertido de medio se debe hacer en atmósfera estéril.

En cada placa Petri se vierten aproximadamente 10 mL de medio de cultivo, luego dicho medio se distribuye por la placa moviéndola cerrada y en círculos, evitando que el medio llegue a la tapa e intentando eliminar las posibles burbujas que se hayan formado. Una vez cerrada la placa y distribuido el medio, se puede dejar enfriando alejada de la llama hasta que se solidifique el medio. Una vez está el medio solidificado, se les da la vuelta a las placas, apoyándolas sobre su tapa, y se guardan en cajas de plástico en una nevera.

Los materiales necesarios para la preparación de medios de cultivo y el puesto de trabajo se puede ver en la *Figura 3*.



Figura 3: Materiales para la preparación de los medios de cultivo.

También se debe preparar suero fisiológico, necesario para hacer disoluciones seriadas. Este consiste en una disolución de agua destilada con NaCl al 0,9%, que se autoclava para que sea estéril.

Diluciones seriadas

Las diluciones seriadas se realizan para obtener concentraciones cada vez menores de bacterias, y asegurar que algunas de las placas preparadas se puedan contar.

Para hacer las diluciones se deben llenar tubos de ensayo con tapa y estériles con 9 mL de suero fisiológico. Para preparar la dilución -1 (D-1), se toma un 1 mL de la D0 y se diluye en 9 mL de suero fisiológico. En el caso de las muestras de fango líquidas, la D0 será la propia muestra, sin llevar a cabo ninguna extracción previa.

En el caso de la dilución -2 (D-2), se lleva a cabo el mismo procedimiento: se diluye 1 mL de la D-1 en 9 mL de suero fisiológico. Este proceso se hará hasta llegar a la dilución deseada, según la concentración de microorganismos presentes en la D0. Por norma general, se realizaron diluciones seriadas hasta la D-4, salvo en casos en los que la concentración de microorganismos fuera muy alta, llegando a hacer hasta la D-5 o D-6.

Siembra en placa difusa o siembra en superficie

Previamente a la siembra, los medios de cultivo que se vayan a emplear se sacan de la nevera para atemperarlos y secarlos, introduciéndolo en una cabina de flujo laminar (*Figura 4*), con aire y luz ultravioleta por dos ciclos de 15 minutos.



Figura 4: Cabina de flujo laminar en funcionamiento.

Una vez secas, las placas se nombran con la muestra y dilución que va a ser sembrada, junto con el nombre del medio. Además, se dividirá la placa en dos marcando con rotulador la mitad de la placa tal y como se muestra en la *Figura 5*, para poder realizar el duplicado de cada dilución en una misma placa.

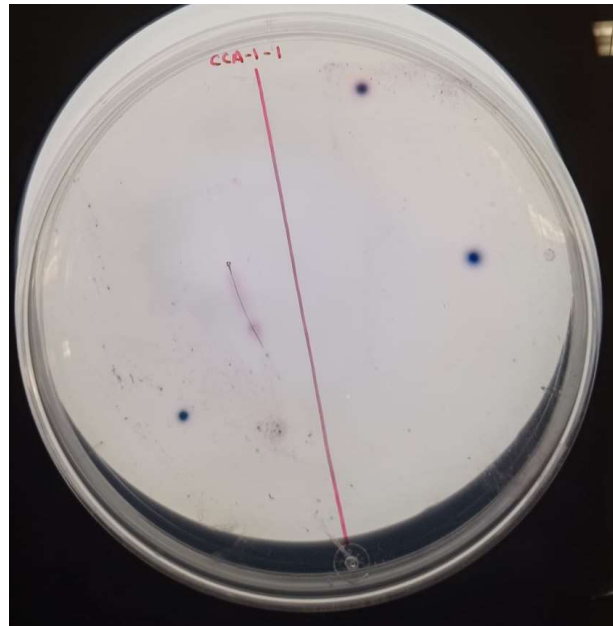


Figura 5: Medio de cultivo marcado y sembrado.

Con los medios ya preparados, se procede a adicionar 50 μL de dilución en cada mitad de la placa. La muestra adicionada se extiende por la superficie del medio con la ayuda de unas asas en forma de "L" que se hacen a partir de pipetas Pasteur de vidrio, como se puede observar en la *Figura 6*.

Para hacer estas asas, las pipetas se doblan con ayuda de la llama hasta que forma un ángulo de 90° aproximadamente, después se dobla la punta para que quede paralela al mango hacia arriba. Una vez se ha enfriado, para evitar matar las bacterias de la muestra, se puede extender la muestra por la superficie del medio, procurando no romper el medio y abriendo la placa lo menos posible.



Figura 6: Pipeta Pasteur original y con forma de asa para realizar la siembra.

Una vez se han sembrado las placas, se ponen con la tapa hacia abajo, para evitar que se abran y contaminen. En esta posición, se introducen en la estufa a una temperatura de 36°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Las placas de CCA se dejan entre 18 y 24 horas y las placas de S&B se dejan entre 40-48 horas (tiempo necesario para que se formen las colonias de bacterias).

Análisis de los resultados

Pasado el tiempo de incubación, se sacan las placas de las estufas para contabilizar las colonias. El rango óptimo para contar las colonias es de 30-300 unidades formadoras de colonias (UFC) por placa de 90 mm de diámetro. Además, se observa que los resultados guarden coherencia con las diluciones, es decir, que la dilución más concentrada tiene más UFC que la más diluida.

A la hora de realizar el conteo, hay que tener en cuenta que, en las placas de CCA, la *E. coli* estará teñida de color azul y el resto de coliformes de rojo o rosa. Esto se puede observar en la *Figura 7*. En las placas de S&B, todas UFC serán de *Enterococcus sp.*

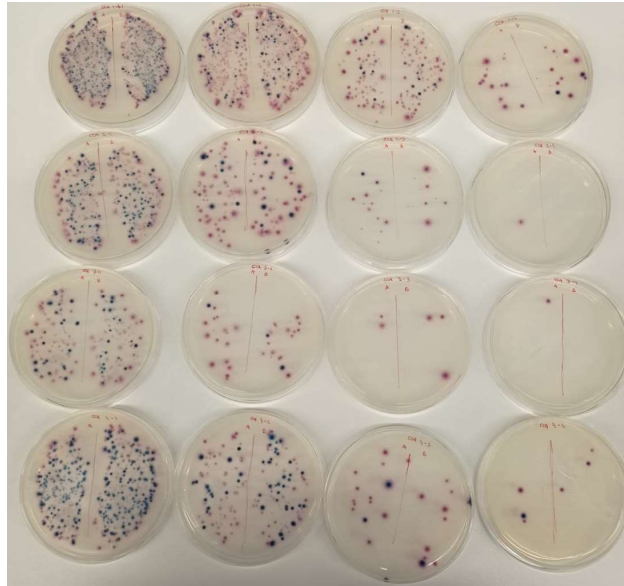


Figura 7: Placas de CCA de 4 muestras pasado el tiempo de incubación, de la D-1 a la D-4.

Una vez contabilizados, para cada duplicado de cada dilución, se calcula la concentración de microorganismos en UFC/g, unidad en la que se expresan los resultados:

$$\text{Concentración (UFC/g)} = \left(\frac{\text{UFC} \times \text{Factor de dilución}}{V \text{ de siembra (mL)}} \right) \div ST \left(\frac{g}{\text{mL}} \right)$$

Para cada muestra, se realizan entre 4 y 6 diluciones seriadas, y cada dilución seriada se siembra dos veces dentro de la misma placa. Esto significa que para cada dilución seriada, se obtienen dos valores de concentración de microorganismos (UFC/g). En el caso de realizar 4 diluciones seriadas y que se pudieran contar las 4, se obtendrían un total de 8 resultados de concentración (UFC/g). Con estos 8 resultados, haciendo la media de estos se obtiene el resultado final de concentración (UFC/g) para 1 muestra de fango. Este valor final de UFC/g se pasa a $\log_{10}(\text{UFC/g})$, para facilitar la comparación entre datos, al tratarse de órdenes de magnitud muy elevados. Este proceso se realiza para cada parámetro biológico medido en cada muestra.

Además de estos resultados de concentración de microorganismos por muestra, también se calculan las medias de concentración de microorganismos por depuradoras. Esto se hace en los casos en los que se analiza más de una muestra a lo largo del tiempo, calculando la media con los valores finales a los que se llegan para cada muestra. También se calculan las desviaciones estándar para estas medias.

Análisis de los resultados microbiológicos

Se analizan los resultados obtenidos y también la relación de los mismos con el origen de los fangos y las características de las EDARs y las aguas residuales a través del programa R commander.

Correlación de los resultados de parámetros microbiológicos

Lo primero que se analiza son los resultados de los análisis microbiológicos realizados, cuyos resultados se encuentran desglosados en el Anexo II. Para analizar estos resultados, se opta por estudiar la correlación de los mismos haciendo una matriz de correlación. Las correlaciones muestran las relaciones lineales entre variables del conjunto de datos que se esté estudiando (en este caso, los parámetros microbiológicos), y los valores de correlación pueden variar entre -1 y 1, donde 1 representa una correlación perfecta positiva, -1 una correlación perfecta negativa, y 0 indica falta de correlación.

Cuando la correlación entre dos variables sea mayor que 0,30 o menor que -0,30 se considerará que existe una relación entre ambas, en mayor o menor medida dependiendo de lo cerca de 1 que se encuentre el valor.

Si existe una correlación entre los parámetros microbiológicos se podrán plantear modelos de regresión lineal para estudiar el resto de relaciones entre los parámetros microbiológicos y el origen, las características de las EDARs y los parámetros físico-químicos.

Influencia del origen de los fangos en los resultados de parámetros microbiológicos

Para determinar la posible influencia del origen de los fangos en los resultados de parámetros microbiológicos se van a usar modelos de regresión lineal. Se realiza un modelo de regresión lineal por cada parámetro microbiológico analizado. Para realizar estos modelos se utilizarán las medias de concentración de microorganismos por depuradora en lugar de todos los resultados para facilitar el análisis de los resultados.

Así, en estos modelos de regresión lineal, la variable dependiente que se estudiará será la media de concentración de uno de los parámetros microbiológicos, y las variables independientes del modelo (a través de las cuales se intenta explicar la variabilidad de la variable dependiente) serán las medias de los otros dos parámetros microbiológicos y el tipo de EDAR (urbana o industrial).

En estos modelos de regresión lineal se obtienen numerosos parámetros. Aquellos que van a servir para explicar los resultados son:

- Valor de R-cuadrado múltiple: Es una medida que expresa cuánta variabilidad de la variable dependiente del modelo (en este caso, la media de concentración del parámetro biológico) puede ser explicada por las variables independientes incluidas en el modelo. Este parámetro puede variar entre valores de 0 y 1, y cuanto más se acerque al 1, significará que el modelo de regresión lineal puede explicar en mayor medida la variabilidad de la variable dependiente.

- Valor p del modelo: Este parámetro se utiliza para medir la significancia global del modelo. Es decir, evalúa si al menos una de las variables independientes del modelo tiene un efecto significativo. Cuanto menor sea el valor de p, se considera que el modelo tiene más significancia global. Cuando el valor p es $\leq 0,05$, se considerará que el modelo es significativo. Esto es debido a que este valor p evalúa si la hipótesis nula global del modelo (que todos los coeficientes de regresión son iguales a cero) es cierta o no. Cuando el valor p es $\leq 0,05$, se rechaza esta hipótesis.
- Coeficientes de regresión: Representan la relación entre cada variable independiente y la variable dependiente. Los coeficientes pueden ser positivos o negativos. Cuando el coeficiente sea mayor que 0,30 o menor que -0,30, significará que hay una relación entre las dos variables. En caso de tener signo positivo, significará que hay un efecto positivo de la variable independiente sobre la positiva, es decir, cuando la independiente aumenta, también lo hace la dependiente. De ser un coeficiente negativo, significará que el efecto es negativo, es decir, cuando la variable independiente aumenta, la dependiente disminuye. Eso se puede aplicar cuando las variables son cuantitativas, sin embargo, la variable de “tipo de EDAR” es cualitativa. Cuando el coeficiente de esta variable sea positivo, significará que cuando la EDAR es industrial la variable dependiente aumenta; y cuando tenga coeficiente negativo significará que cuando la EDAR es industrial la variable dependiente disminuye.
- Valor p de cada variable independiente: Indica la significancia que tiene cada variable independiente. Al igual que con el valor p del modelo, cuanto menor sea el valor de p, se considera que la relación entre las variables dependiente e independiente es más fuerte. Cuando el valor p es $\leq 0,05$, se considera que la relación es significativa, si es superior a 0,05 pero no mucho ($\leq 0,01$) se considera una significancia menos relevante. Si el valor p obtenido para una variable no indica una relación significativa, el coeficiente de regresión de esta variable no se tendrá en cuenta, ya que para que la relación exista debe ser significativa.

En las ocasiones en las que el modelo de regresión lineal no tenga la suficiente significancia global, o las variables independientes no tengan unos valores p lo suficientemente bajos, se realiza un modelo de regresión lineal seleccionando las variables que son realmente significativas para la variable dependiente. Esto se hace mediante el método de stepwise, que quita o añade variables para obtener mejores resultados a la hora de hacer modelos de regresión lineal. Los patrones que explican los modelos de regresión lineal con stepwise son los mismos que los explicados con anterioridad.

Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con las características de las EDARs

Para determinar la posible influencia de las características de las EDARs sobre los resultados de los análisis microbiológicos se usan también modelos de regresión lineal. Se realiza un modelo de regresión lineal por cada parámetro microbiológico analizado. Para realizar estos modelos se utilizarán las medias de concentración de microorganismos por depuradora en lugar de todos los resultados para facilitar el análisis de los resultados.

En este caso, en cada modelo, la variable dependiente será uno de los parámetros microbiológicos. Las variables independientes serán las características de las EDARs (tipo de tratamiento biológico, población censada, caudal($m^3/día$)/población, MES (mg/L), DQO (mg/L)

y DBO5 (mg/L)) y los otros dos parámetros microbiológicos analizados. Las características de las EDARs se agruparán para facilitar el análisis.

Los parámetros que se obtienen de estos modelos son los mismos que los explicados con anterioridad y tienen los mismos significados a excepción de uno. En cuanto a los coeficientes, su significado cambia al hablar de las características de las EDARs. Como ya se ha comentado, las características se agruparán para facilitar los análisis, y estos grupos se harán de menor a mayor cantidad en el caso de las variables cuantitativas (población censada, caudal(m³/día)/población, MES (mg/L), DQO (mg/L) y DBO5 (mg/L)) y en 3 grupos para el tratamiento biológico. En el caso de las variables cuantitativas, los valores de coeficientes funcionarán igual que se ha explicado anteriormente. Sin embargo, en el caso de los tipos de tratamientos biológicos, se han agrupado en tres grupos (“fangos activos”, “lecho biológico” y “lecho biológico +otro”). Cada grupo tendrá su propio coeficiente. En el caso de tener un coeficiente positivo, significaría que ese grupo ejerce una influencia positiva sobre las medias de concentraciones del parámetro microbiológico en cuestión. En caso de tener un coeficiente negativo, significaría que ejerce una influencia negativa.

También se realizan, cuando sean necesarios, modelos de regresión con stepwise.

Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con los parámetros físico-químicos

Al tener resultados de los parámetros físico-químicos para casi todas las muestras analizadas, se usarán los resultados totales en lugar de las medias. En los casos en los que no se tengan datos sobre los parámetros microbiológicos, se excluirán esas muestras del análisis para evitar errores.

Para comenzar la última parte del análisis de los resultados, se realiza una matriz de correlación con todos los parámetros microbiológicos y físico-químicos para obtener una visión general de las relaciones entre las variables. Cuando la correlación entre dos variables sea mayor que 0,30 o menor que -0,30 se considerará que existe una relación entre ambas, en mayor o menor medida dependiendo de lo cerca de 1 que se encuentre el valor.

Posteriormente, para obtener resultados más concretos, se optará por usar una vez más modelos de regresión lineales. Al igual que en los apartados anteriores, se realiza un modelo de regresión lineal por cada parámetro microbiológico analizado.

En este caso, en cada modelo, la variable dependiente será uno de los parámetros microbiológicos. Las variables independientes serán los parámetros físico-químicos (porcentajes de materia seca y humedad, pH, nitrógeno total (%N sms), fósforo (%P₂O₅ sms) y potasio (%K₂O sms)) y los otros dos parámetros microbiológicos analizados.

Los parámetros que se obtienen de estos modelos son los mismos que los explicados con anterioridad y tienen los mismos significados. También se realizan, cuando sean necesarios, modelos de regresión con stepwise.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recopilación de características de las EDARs

A continuación, se muestra la *Tabla 1*, que incluye todas las características de las EDARs urbanas objeto de estudio. Como ya se ha comentado con anterioridad, no se han podido obtener estos datos de las EDARs industriales de este trabajo.

Tabla 1: Características de las depuradoras urbanas. Fuente: NILSA, s. f.

EDAR	Tratamiento Biológico	Población censada	Caudal tratado (m ³ /día)	Caudal (m ³ /día)/ población	MES Entrada (mg/L)	DQO Entrada (mg/L)	DBO5 Entrada (mg/L)
EDAR A	Lecho bacteriano y lagunaje natural	1049	295	0,28	314	649	423
EDAR B	Lecho bacteriano	3781	1767	0,47	63	245	121
EDAR C	Lecho bacteriano	16346	4046	0,25	736	968	426
EDAR D	Lecho bacteriano	12261	9485	0,77	795	1356	540
EDAR E	Lecho bacteriano	10241	5421	0,53	272	1106	493
EDAR F	Lecho bacteriano	2045	935	0,46	486	1011	503
EDAR G	Lecho bacteriano	4251	742	0,17	295	734	320
EDAR H	Lecho bacteriano	8051	2316	0,29	299	1032	535
EDAR I	Lecho bacteriano	8220	1873	0,23	395	987	503
EDAR J	Fangos activados	3178	798	0,25	253	520	215
EDAR K	Lecho bacteriano y fangos activados	18795	5570	0,30	583	941	437
EDAR L	Lecho bacteriano	2081	635	0,31	316	1289	753
EDAR M	Lecho bacteriano	6131	3062	0,50	234	812	595
EDAR N	Lecho bacteriano	3505	1123	0,32	163	449	241
EDAR Ñ	Lecho bacteriano	3470	1974	0,57	421	792	371
EDAR O	Lecho bacteriano, balsa aeróbica MBBR y lagunaje natural	1477	462	0,31	641	1793	936
EDAR P	IFAS (Integrated Fixed-Film Activated Sludge)	14580	4925	0,34	291	552	248
EDAR Q	Lecho bacteriano	46101	21867	0,47	236	447	191
EDAR R	Lecho bacteriano y lagunaje natural	4717	3241	0,69	445	1195	649
EDAR S	Lecho bacteriano	2907	1226	0,42	485	1220	586

Posteriormente, estos datos se agruparán para facilitar el análisis de datos.

Resultados de parámetros microbiológicos

Los resultados de todos los análisis microbiológicos obtenidos en este trabajo se encuentran en el Anexo II.

A continuación, se van a mostrar una serie de gráficas con las medias y desviaciones estándar (DS) de los resultados obtenidos para cada bacteria y EDAR analizada. De la EDAR "A" a la "S" son las EDARs urbanas y el resto son las industriales. Se incluirán también unas tablas en el Anexo III que recojan estos mismos datos.

A continuación, en la *Figura 8* se muestran las medias de los resultados de las concentraciones de coliformes totales.

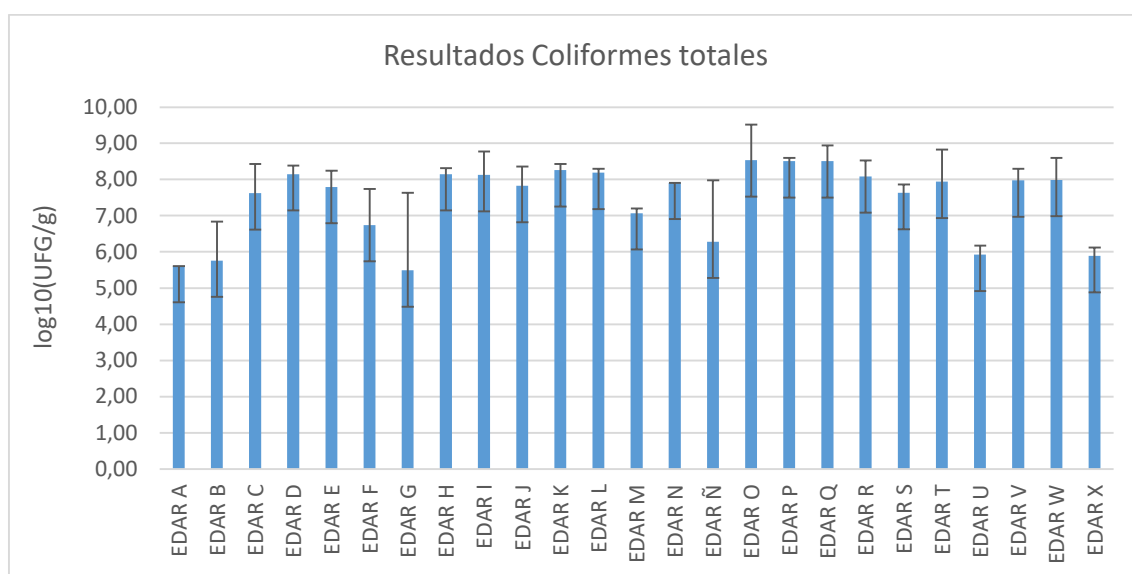


Figura 8: Concentraciones de coliformes totales en las EDAR objeto de estudio. Elaboración propia.

El rango de concentración que alcanzan los coliformes totales son entre 10^5 y 10^8 , concordando con lo que se ha encontrado en otros estudios similares. Todas las EDARs que superan los 8 \log_{10} (UFC/g) son EDARs urbanas.

Las medias más bajas se encuentran en las EDARs A, B, G, Ñ, U y X. En el caso de la EDAR G, esta es la EDAR con mayor DS en la media de concentración de coliformes totales. Al mirar las características de esta EDAR, aparentemente no destaca en nada, salvo que su ratio caudal ($\text{m}^3/\text{día}$)/población es el más bajo de todas las EDARs. Esto podría indicar que al tener menos caudal del esperable para la población censada para esta EDAR esto causa una mayor variación en la entrada de carga de gérmenes patógenos.

También, si observamos los porcentajes de materia seca que se obtuvieron en cada muestra analizada de esta EDAR varían mucho entre, lo que también podría haber influido en esta mayor DS. de En el caso de la EDAR A, no tiene DS, ya que de esa EDAR sólo se analizó una muestra, por lo que no se ha podido hacer una media de las concentraciones totales en ningún caso.

En la *Figura 9* se encuentra la gráfica para las medias de los resultados de las concentraciones de *E. Coli*.

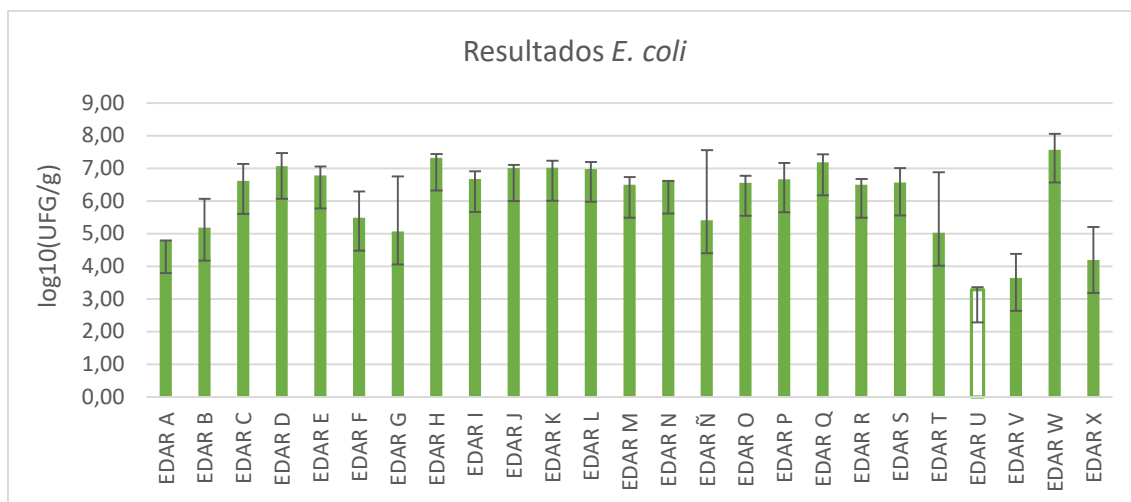


Figura 9: Concentraciones de *E. coli* en las EDARs objeto de estudio. Elaboración propia.

Las medias de concentración de *E. Coli* obtenidas oscilan entre un rango de 10^3 y 10^7 . Las medias de concentraciones de *E. Coli* que superaron los 7 órdenes de magnitud se obtuvieron en las EDARs H, Q y W. Las dos primeras son EDARs urbanas, mientras que la EDAR W es una EDAR de una industria dedicada a la gestión de derivados de mataderos, carnicerías, salas de despiece, etc. La labor realizada en la EDAR W podría explicar su elevada concentración de *E. Coli*. Estas EDARs además cuentan con una DS de la media de concentración de *E. Coli* baja, como se puede observar en la gráfica. En cuanto a las EDARs H y Q, no cuentan con ninguna característica destable a simple vista que pudiera explicar por qué tienen una mayor media de concentración de *E. Coli*.

Por otro lado, las EDARs son menor media de concentración de *E. Coli* son tres EDARs industriales (U, V y X). Cabe destacar el caso de la EDAR U, cuya media de concentración de *E. Coli* es $<3,29 \log_{10}(\text{UFG/g})$ porque no se detectaron colonias en ninguna dilución, en ninguna de las muestras analizadas. El método de análisis indica que cuando ocurra eso, se considerará que hay 1 UFC en la dilución 0, y con eso se hacen los cálculos. Al hacerlo así, se debe indicar que en realidad, en la muestra, hay menor concentración de la que indican los cálculos.

Las EDARs urbanas con menos concentración de *E. Coli* fueron la A, B, G y Ñ, coincidiendo también con los resultados más bajos de concentración de coliformes totales. Esto es debido a que la *E. Coli* es una bacteria coliforme, por tanto existe esta relación entre ambos parámetros.

En la *Figura 10* se encuentra la gráfica para las medias de los resultados de las concentraciones de *Enterococcus sp.*

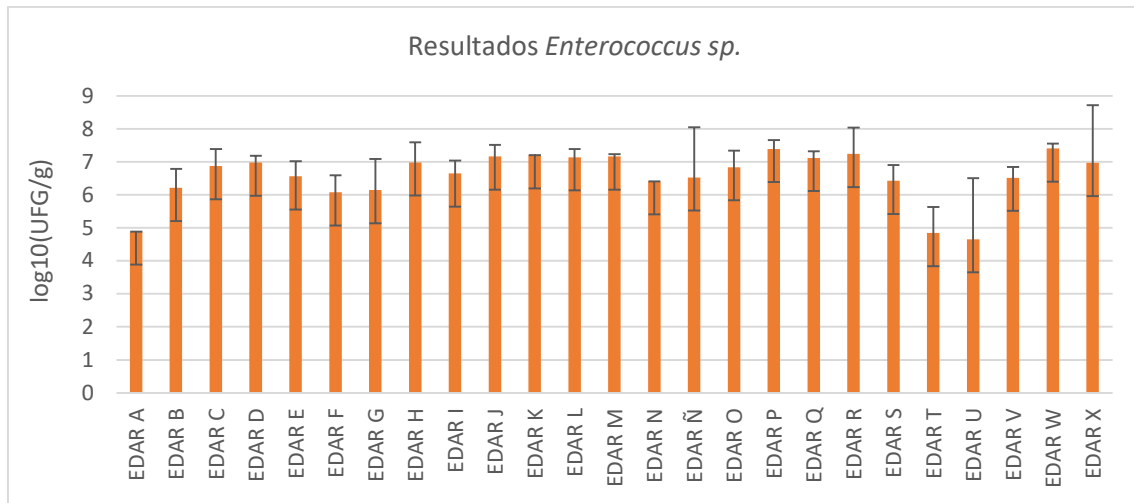


Figura 10: Concentraciones de *Enterococcus sp.* en las EDARs objeto de estudio. Elaboración propia.

El rango de concentración que alcanza *Enterococcus sp.* está entre 10^4 y 10^7 .

Como se puede observar en la gráfica, las medias de concentración de *Enterococcus sp.* varían menos entre ellas en general en comparación con las anteriores gráficas.

Los valores más bajos se encuentran en las EDARs A, T y U. Las dos últimas son EDARs industriales, mientras que la primera es urbana. En el caso de la EDAR U, su DS es tan alta debido a que se analizaron dos muestras, y solo en una de ellas se detectaron UFC. Sin un análisis más profundo, no hay ninguna razón aparente para que estas sean las muestras con medias más bajas.

Como se puede observar a lo largo de todas las tablas y gráficas, los resultados para coliformes totales, *E. coli* y *Enterococcus sp.* varían en función de la EDAR de la que hablemos, sin ningún patrón aparente a simple vista. Sí que se puede afirmar que las concentraciones más bajas de *E. coli* se encontraron en 3 de las 5 depuradoras industriales.

Resultados de los análisis físico-químicos

A continuación, se incluye la *Tabla 2* con las medias y desviaciones estándar de los resultados de los análisis físico-químicos realizados por el laboratorio de NILSA. En el Anexo IV se encuentran todos los resultados desglosados.

Tabla 2: Medias de los parámetros físico-químicos de las muestras de fangos analizadas. Fuente: Laboratorio de NILSA

EDAR	Media % Materia seca	Media % Humedad	Media pH	Media N (%N sms)	Media P (%P ₂ O ₅ sms)	Media K (%K ₂ O sms)
EDAR A	3,26 ± 0	96,74 ± 0	7,86 ± 0	3,11 ± 0	2,06 ± 0	0,60 ± 0
EDAR B	2,95 ± 0,87	97,05 ± 0,87	7,54 ± 0,44	4,62 ± 1,00	1,40 ± 0,19	0,43 ± 0,02
EDAR C	23,60 ± 19,07	76,40 ± 19,07	6,94 ± 0,31	3,79 ± 1,91	1,29 ± 0,93	1,05 ± 0,33
EDAR D	28,15 ± 3,52	71,85 ± 3,52	6,22 ± 0,63	4,15 ± 0,35	2,25 ± 0,78	0,41 ± 0,01
EDAR E	2,34 ± 1,20	97,66 ± 1,20	7,79 ± 0,38	7,33 ± 1,37	1,93 ± 0,31	0,70 ± 0,10
EDAR F	5,05 ± 0,30	94,95 ± 0,30	6,70 ± 0,91	3,90 ± 1,05	1,93 ± 0,94	0,79 ± 0,33
EDAR G	3,68 ± 3,23	96,32 ± 3,23	6,44 ± 0,45	5,21 ± 0,41	1,87 ± 0,37	0,48 ± 0,24
EDAR H	1,33 ± 0,93	98,67 ± 0,93	6,43 ± 0,24	4,19 ± 0,21	1,93 ± 0,17	0,44 ± 0,05
EDAR I	2,55 ± 0,37	97,45 ± 0,37	6,46 ± 0	4,71 ± 0	3,24 ± 0	0,55 ± 0
EDAR J	3,53 ± 1,46	96,47 ± 1,46	6,13 ± 0,69	13,73 ± 16,09	2,61 ± 0,41	0,73 ± 0,04
EDAR K	21,89 ± 1,92	78,11 ± 1,92	6,68 ± 0,44	6,05 ± 1,48	3,16 ± 0,40	0,56 ± 0,23
EDAR L	1,43 ± 1,15	98,57 ± 1,15	6,57 ± 0,52	6,86 ± 0,14	2,32 ± 0,09	0,73 ± 0,01
EDAR M	2,41 ± 0,11	97,59 ± 0,11	5,62 ± 0,18	4,53 ± 0,95	1,65 ± 0,26	0,44 ± 0,01
EDAR N	4,24 ± 0	95,76 ± 0	-	-	-	-
EDAR Ñ	3,67 ± 1,45	96,33 ± 1,45	6,58 ± 1,00	4,45 ± 0,85	2,20 ± 0,86	0,57 ± 0,11
EDAR O	3,31 ± 1,74	96,69 ± 1,74	6,31 ± 0,84	4,77 ± 0,96	2,08 ± 0,20	0,77 ± 0,02
EDAR P	20,09 ± 2,03	79,91 ± 2,03	6,27 ± 0,42	8,19 ± 0,88	3,28 ± 0,35	0,68 ± 0,05
EDAR Q	3,06 ± 0,28	96,94 ± 0,28	7,04 ± 0,17	3,27 ± 0,81	2,45 ± 1,07	0,46 ± 0,10
EDAR R	27,42 ± 1,35	72,58 ± 1,35	6,41 ± 0,75	4,36 ± 0,91	1,48 ± 0,07	0,51 ± 0,12
EDAR S	2,14 ± 0,70	97,86 ± 0,70	7,24 ± 0,30	6,07 ± 0,63	2,75 ± 0,22	0,75 ± 0,06
EDAR T	13,09 ± 1,94	87,58 ± 2,22	6,43 ± 0,98	2,63 ± 0,41	1,50 ± 0,68	0,40 ± 0,13
EDAR U	1,04 ± 0,18	98,96 ± 0,18	7,88 ± 0,03	5,04 ± 0,47	1,50 ± 0,08	1,09 ± 0,30
EDAR V	12,07 ± 0,42	87,93 ± 0,42	6,58 ± 0	9,33 ± 0	4,13 ± 0	2,02 ± 0
EDAR W	14,96 ± 1,06	85,04 ± 1,06	6,81 ± 0	4,03 ± 0	1,26 ± 0	0,31 ± 0
EDAR X	0,58 ± 0,13	99,42 ± 0,13	7,43 ± 0,03	5,60 ± 0,68	3,85 ± 1,38	2,03 ± 0,44

Como se puede observar en la *Tabla 2*, los valores de cada parámetro varían entre las EDARs. Por norma general, los porcentajes de materia seca oscilan entre 0,5 y 28%, dependiendo de si las muestras son deshidratadas o no. De la misma manera ocurre con el porcentaje de humedad, con porcentajes elevados que varían entre 70 y 99%. Por otro lado, el pH se encuentra entre 6 y 7,9, manteniéndose por lo general neutro.

En cuanto al nitrógeno, los valores de %N sms se encuentran entre 2,50 y 13,80. Sin embargo, la EDAR con un porcentaje de N sms tiene una desviación estándar alta (16,09), debido a que solo una de las 3 muestras analizadas mostró un pico de nitrógeno (32,30 %N sms). Por otro lado, en el caso del fósforo, los valores de %P₂O₅ sms se encuentran entre 1,20 y 3,90. Por último, en el caso del potasio, los valores de %K₂O sms se encuentran entre 0,30 y 2,10.

Algunas de las muestras no tienen análisis físico-químicos realizados, como el caso de la EDAR N, ya que el laboratorio encargado de realizarlas no las hizo. Hay otras EDARs a las que no se realizaron estos análisis a todas las muestras estudiadas. Para el estudio de la influencia de estos

parámetros que se realiza en el siguiente apartado se excluirán estas muestras del conjunto de datos para evitar errores.

Correlación de los resultados de parámetros microbiológicos

A continuación, se analizan los resultados con la ayuda del programa de R commander. Para ello, se empieza por analizar los resultados de los análisis microbiológicos desglosados, presentes en el Anexo II.

En R commander se estudia la correlación de los datos obtenidos haciendo una matriz de correlación.

La matriz de correlación obtenida se encuentra en la *Figura 11*:

```
> correlaciones
      Coliformes      EColi Enterococcus
Coliformes  1.0000000  0.6626464  0.4997982
EColi       0.6626464  1.0000000  0.5924009
Enterococcus 0.4997982  0.5924009  1.0000000
```

Figura 11: Matriz de correlación de los datos microbiológicos.

Como se puede ver, los coliformes totales tiene una correlación positiva moderada con *E. Coli* (0,66) y *Enterococcus sp.* (0,5). Esto nos indica que a medida que los resultados de coliformes totales son más altos, los de *E. Coli* y *Enterococcus sp.* también aumentan, y viceversa. La correlación entre *E. Coli* y *Enterococcus sp.* también es moderadamente positiva (0,59), por lo que también indica una relación directa entre los dos indicadores microbiológicos.

Los resultados de esta matriz muestran que los análisis microbiológicos se realizaron correctamente, ya que estos indicadores microbiológicos guardan relación directa entre ellos. Es más, se puede confirmar que estos análisis y la correlación entre los datos es correcta, y que la *E. Coli* es un tipo de bacteria coliforme.

También se comprueban las relaciones entre las medias de los resultados obtenidos de la misma manera que en el caso anterior, usando una matriz de correlación.

Esto se hace para asegurar que se obtienen resultados similares al apartado anterior y comprobar que se pueden usar las medias como representación de los resultados. La matriz de correlación para comprobar esto se encuentra en la *Figura 12*.

```
> correlaciones.obs
      Media_Coliformes DS_Coliformes Media_E_coli DS_E_coli Media_Enterococcus DS_Enterococcus
Media_Coliformes  1.0000000 -0.5212871  0.6779420 -0.5207926  0.4690639 -0.6938089
DS_Coliformes    -0.5212871  1.0000000 -0.2579274  0.7428309 -0.2870118  0.3452640
Media_E_coli      0.6779420 -0.2579274  1.0000000 -0.4710840  0.6896288 -0.7037797
DS_E_coli         -0.5207926  0.7428309 -0.4710840  1.0000000 -0.3848031  0.4717970
Media_Enterococcus 0.4690639 -0.2870118  0.6896288 -0.3848031  1.0000000 -0.5150614
DS_Enterococcus  -0.6938089  0.3452640 -0.7037797  0.4717970 -0.5150614  1.0000000
```

Figura 12: Matriz de correlación de las medias y desviaciones estándar de los resultados microbiológicos.

Esta matriz de correlación da resultados muy similares a la realizada con anterioridad. Se obtiene que la media de coliformes totales tiene una correlación fuerte con la media de *E. Coli* (0,68) y también una correlación moderada con la media de *Enterococcus sp.* (0,47). También se ve que la media de *E. Coli* tiene también una correlación fuerte con la media de *Enterococcus sp.* (0,69).

Esto podría indicar que la concentración de *Enterococcus sp.* está más relacionada con la de *E. Coli* que con la de coliformes totales. Además, cuando anteriormente se comprobó la correlación

entre todos los resultados del análisis microbiológico, también se obtuvo mayor correlación entre *E. Coli* y *Enterococcus sp.* que entre coliformes totales y *Enterococcus sp.*

Al haber comprobado la relación entre los resultados de los parámetros microbiológicos y entre las medias de los mismos, se puede proceder con la determinación de la posible influencia de diferentes factores en estos resultados.

Influencia del origen de los fangos en los resultados de parámetros microbiológicos

Para realizar este análisis, se toman las medias de los resultados microbiológicos para facilitarlos. Para estudiar el origen, se hará referencia a los tipos de EDARs, que en este caso son dos: urbanas e industriales. Se cuentan con 20 depuradoras urbanas y 5 industriales. De la letra “A” a la “S” son depuradoras urbanas, el resto son industriales.

Para determinar la influencia del origen en las medias de los resultados obtenidos se realizan modelos de regresión lineal. Estos modelos describen las relaciones entre las variables que se incluyen en los mismos.

Influencia del origen de los fangos en las medias de concentración de coliformes totales

Primero se realiza el modelo de regresión lineal para las medias de coliformes totales para estudiar la influencia del origen. El modelo de regresión lineal para las medias de coliformes totales se encuentra en la *Figura 13*.

En este modelo, la variable dependiente son las medias de coliformes totales, y las variables independientes son las medias de *E. Coli* y *Enterococcus sp.* y el tipo de EDAR (urbana o industrial).

```
> summary(modelo_COLIFORMES)

Call:
lm(formula = Media_Coliformes ~ Tipo_EDAR + Media_E_coli + DS_E_coli +
    Media_Enterococcus + DS_Enterococcus, data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.10017 -0.27460  0.02004  0.35107  0.85373

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    5.53332    1.81103   3.055  0.00681 **
Tipo_EDAR[I.2]  0.74092    0.41138   1.801  0.08847 .
Media_E_coli    0.44667    0.21283   2.099  0.05021 .
DS_E_coli      -0.28717    0.27109  -1.059  0.30346
Media_Enterococcus -0.05044    0.26656  -0.189  0.85205
DS_Enterococcus -0.71971    0.38550  -1.867  0.07828 .
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6466 on 18 degrees of freedom
(1 observation deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.6445, Adjusted R-squared:  0.5458
F-statistic: 6.528 on 5 and 18 DF, p-value: 0.001255
```

Figura 13: Modelo de regresión lineal para la influencia del origen en las medias de concentración de coliformes totales.

Este modelo de regresión lineal tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,6445, lo que significa que alrededor de un 64,45% de la variabilidad de la media de concentración de coliformes totales puede ser explicada mediante las variables incluidas en el modelo. Además, este modelo tiene un valor p de 0,001255, por lo que es estadísticamente significativo ($\leq 0,05$).

En este modelo se encuentran dos variables de interés para este trabajo que son significativas para la media de concentración de coliformes totales: el tipo de EDAR y la media de concentración de *E. Coli*. En ambos casos el valor p de la variable es ligeramente superior a 0,05, por lo que tienen una influencia menor a la deseable. Sus coeficientes en ambos casos son positivos. En el caso de media de concentración de *E. Coli*, esto significa que cuando esta media aumenta, también aumenta la media de concentración de coliformes totales. En el caso de tipo de EDAR, el grupo 2 de tipo de EDAR (EDAR industrial) tiene una influencia positiva sobre la media de coliformes totales, es decir, el conjunto de EDARs industriales estudiadas tienen una concentración de coliformes totales mayor que el conjunto de EDARs urbanas.

Como los valores p obtenidos no son todo lo bajos (son superiores a 0,05) que se desearía, se realiza un modelo de regresión lineal seleccionando las variables que aportan de verdad al análisis mediante el método de stepwise. El modelo de regresión lineal con stepwise para las medias de concentración de coliformes totales se encuentra en la *Figura 14*.

```
> summary(modelo_COLIFORMES_stepwise)

Call:
lm(formula = Media_Coliformes ~ Tipo_EDAR + Media_E_coli + DS_Enterococcus,
    data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.15716 -0.19048  0.04143  0.36045  0.92102

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    4.9191     1.2851   3.828  0.00105 **
Tipo_EDAR[T.2]  0.7702     0.4015   1.918  0.06944 .
Media_E_coli    0.4726     0.1797   2.630  0.01606 *
DS_Enterococcus -0.8071     0.3672  -2.198  0.03990 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6324 on 20 degrees of freedom
(1 observation deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.6222, Adjusted R-squared:  0.5655
F-statistic: 10.98 on 3 and 20 DF,  p-value: 0.0001777
```

Figura 14: Modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia del origen en las medias de concentración de coliformes totales.

Este modelo es más significativo estadísticamente que el anterior (valor p de 0,0001777). El valor de R-cuadrado múltiple es 0,6222, lo que indica que aproximadamente el 62,22% de la variabilidad de la media de concentración de coliformes totales se puede explicar con las variables incluidas en el modelo (las medias de concentración de *E. Coli* y los tipos de EDAR).

En este caso, se obtienen resultados más exactos que en el anterior modelo. De las variables que se han estudiado, siguen siendo significativas las mismas que en el caso anterior, pero ahora sus valores p dan mejores resultados. De hecho, la media de concentración de *E. Coli* ha pasado a tener una significancia moderada, con un valor p menor que 0,05. En el caso del tipo de EDAR, la significancia sigue siendo menos relevante, pero ha disminuido su valor p.

De este modelo se puede concluir que las medias de concentración de coliformes totales tienen una relación con las medias de concentración de *E. Coli*, y que también tiene una relación menos significativa con el tipo de EDAR del que proceda la muestra. En cuanto al origen de la muestra, en este caso las medias de concentración de coliformes totales aumentan cuando proceden de EDARs industriales. Es decir, el origen de los fangos sí influye en las concentraciones de coliformes totales, aunque no de forma muy significativa (valor p <0,01).

Influencia del origen de los fangos en las medias de concentración de *E. Coli*

A continuación, se realiza un modelo de regresión lineal para las medias de concentración de *E. Coli* para estudiar la posible influencia del origen. En este modelo, la variable dependiente son las medias de concentración de *E. Coli*, y las variables dependientes son las medias de concentración de coliformes totales y *Enterococcus sp.* y el tipo de EDAR (urbana o industrial).

Este modelo se encuentra en la *Figura 15*.

```
> summary(modelo_ECOLI)

Call:
lm(formula = Media_E_coli ~ Tipo_EDAR + Media_E_coli + DS_E_coli +
    Media_Enterococcus + DS_Enterococcus, data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.91449 -0.33820  0.04882  0.26403  1.29953

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      3.0253     1.8247   1.658  0.1137
Tipo_EDAR[T.2]  -0.8248     0.4010  -2.057  0.0537 .
DS_E_coli        -0.2044     0.2884  -0.709  0.4872
Media_Enterococcus  0.5804     0.2546   2.280  0.0344 *
DS_Enterococcus  -0.8323     0.3691  -2.255  0.0361 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.697 on 19 degrees of freedom
(1 observation deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.7126, Adjusted R-squared:  0.6521
F-statistic: 11.78 on 4 and 19 DF,  p-value: 0.00005568
```

Figura 15: Modelo de regresión lineal para la influencia del origen en las medias de concentración de *E. Coli*.

Este modelo tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,7126, lo que implica que aproximadamente un 71,26% de la variabilidad en las medias de concentración de *E. Coli* se puede explicar con las variables incluidas en el modelo. Además, el valor p del modelo es bajo (0,00005568), por lo que es un modelo estadísticamente significativo.

De las variables significativas y que interesan para el trabajo, hay dos: las medias de concentración de *Enterococcus sp.* y el tipo de EDAR. En el caso de las medias de concentración de *Enterococcus sp.*, el coeficiente es positivo, por lo que muestra una relación positiva con las medias de concentración de *E. Coli*. En cuanto al tipo de EDAR, se obtiene un coeficiente negativo para el grupo 2, lo que implica una relación negativa: en las EDARs industriales las medias de concentración de *E. Coli* son menores.

Como se podrían obtener valores de significancia mejores para las variables independientes, se realiza un modelo de regresión lineal con stepwise para las medias concentración de *E. Coli* y la influencia del origen. Este modelo para las medias de concentración de *E. Coli* se encuentra en la *Figura 16*.

```

> summary(modelo_ECOLI_stepwise)

Call:
lm(formula = Media_E_coli ~ Tipo_EDAR + Media_Enterococcus +
    DS_Enterococcus, data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.96645 -0.36480  0.09289  0.24824  1.25470

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    2.7417      1.7579   1.560  0.1345
Tipo_EDAR[T.2] -0.8254      0.3960  -2.084  0.0502 .
Media_Enterococcus  0.6130      0.2473   2.479  0.0222 *
DS_Enterococcus  -0.9198      0.3435  -2.678  0.0145 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6882 on 20 degrees of freedom
(1 observation deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.705, Adjusted R-squared:  0.6608
F-statistic: 15.93 on 3 and 20 DF,  p-value: 0.00001578

```

Figura 16: Modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia del origen en las medias de concentración de *E. Coli*.

En este modelo se obtiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,705, lo que sugiere que aproximadamente el 70,5% de la variabilidad de las medias concentración de *E. Coli* se puede explicar a través de las variables incluidas en el modelo (las medias de *Enterococcus sp.* y el tipo de EDAR). Además, se obtiene un valor p menor que en el modelo anterior (0,00001578).

Las variables significativas son las mismas que en el modelo anterior, pero esta vez se obtienen mejores valores p. En el caso de las medias de concentración de *Enterococcus sp.* se obtiene el mismo nivel de significancia que anteriormente. Sin embargo, esta vez la significancia del tipo de EDAR está muy próxima a ser importante (valor p de 0,0502).

Este modelo indica que al aumentar las medias de concentración de *Enterococcus sp.*, también aumentan las medias concentración de *E. Coli*. Además, al tener un coeficiente negativo el grupo de EDARs industriales, esto quiere decir que en las depuradoras industriales se obtienen medias concentración de *E. Coli* menores que en las depuradoras urbanas. Es decir, el origen de los fangos sí influye en las concentraciones de *E. Coli*, aunque no de forma muy significativa (valor p <0,01).

Influencia del origen de los fangos en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

Para finalizar esta parte del análisis, se realiza un modelo de regresión lineal para las medias de concentración de *Enterococcus sp.* para estudiar la influencia del origen. En este modelo, la variable dependiente a explicar son las medias de concentración de *Enterococcus sp.* y las variables independientes son las medias de coliformes totales y *E. Coli* y los tipos de EDAR. Este modelo se encuentra en la *Figura 17*.

```

> summary(modelo_ENTEROCCUS)

Call:
lm(formula = Media_Enterococcus ~ Tipo_EDAR + Media_E_coli +
    DS_E_coli + Media_Enterococcus + DS_Enterococcus, data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.35975 -0.24728  0.04377  0.16049  1.16253

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  2.982256   1.217644   2.449  0.02366 *
Tipo_EDAR    0.165571   0.363758   0.455  0.65389
Media_E_coli  0.541037   0.144956   3.732  0.00131 **
DS_E_coli    0.007355   0.242515   0.030  0.97611
DS_Enterococcus 0.195827   0.325189   0.602  0.55381
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.5932 on 20 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.5077, Adjusted R-squared:  0.4092
F-statistic: 5.156 on 4 and 20 DF,  p-value: 0.005085

```

Figura 17: Modelo de regresión lineal para la influencia del origen en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

En este modelo se obtiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,5077, lo que indica que aproximadamente el 50,77% de la variabilidad de las medias concentración de *Enterococcus sp.* se puede explicar a través de las variables incluidas en el modelo. Además, se obtiene un valor p de 0,005085, lo que sugiere que este modelo es estadísticamente significativo ($>0,05$).

Sin embargo, al ver las variables significativas en el modelo, se puede observar que sólo obtienen un valor p significativo las medias concentración de *E. Coli*.

Con el objetivo de comprobar si se obtienen mejores resultados eliminando variables que no interesan, se hace un modelo de regresión lineal con stepwise para las medias concentración de *Enterococcus sp.* y la influencia del origen. Así, el modelo resultante se encuentra en la *Figura 18*.

```

> summary(modelo_ENTEROCCUS_stepwise)

Call:
lm(formula = Media_Enterococcus ~ Media_E_coli, data = TiposEDAR)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.2582 -0.2310  0.0401  0.1949  1.2471

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value  Pr(>|t|)
(Intercept)  3.81219    0.59833   6.371 0.00000168 ***
Media_E_coli  0.45527    0.09685   4.701 0.00009808 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.563 on 23 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.49, Adjusted R-squared:  0.4678
F-statistic: 22.1 on 1 and 23 DF,  p-value: 0.00009808

```

Figura 18: Modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia del origen en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

Sin embargo, al hacer el modelo con stepwise para ver solo las variables significativas, el modelo sólo se hace con las medias concentración de *E. Coli*.

Por lo tanto, podemos concluir que no existe una influencia del origen de la muestra en las medias concentración de *Enterococcus especie*.

Conclusiones de la influencia del origen de fangos en los resultados de parámetros microbiológicos

Con la ayuda de los modelos de regresión lineal, se ha estudiado la posible influencia del origen de fangos en las medias de concentraciones de los parámetros microbiológicos analizados.

Se han alcanzado las siguientes conclusiones:

- El origen de los fangos influye en las concentraciones de coliformes totales y *E. Coli*, pero no en las de enterococos
- La influencia es mayor en el caso de la *E. Coli*, y se ha encontrado que cuando se tratan de fangos procedentes de EDAR industriales, estos tienen menor media de concentración de *E. Coli* que cuando proceden de EDARs urbanas.
- En el caso de los coliformes totales, la influencia del origen es menos significativa e indica que cuando los fangos provienen de EDARs industriales, la concentración de coliformes totales es mayor.

Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con las características de las EDARs

Para realizar este análisis, se toman las medias de los resultados microbiológicos para facilitarlos. Además, solo se pueden analizar las relaciones entre las características de las EDARs y los resultados microbiológicos para las EDARs urbanas, ya que no se han podido obtener estos datos de las EDARs industriales. Las características concretas de cada EDAR se encuentran en el apartado "Recopilación de características de las EDARs". Además, para esta parte del análisis, se realizaron las siguientes agrupaciones de las características de las EDARs para facilitar el análisis:

- Tratamiento biológico:
 - Fangos activos
 - Lecho bacteriano
 - Lecho bacteriano + otro tratamiento
- Población censada:
 - <2000
 - 2000-10000
 - 10000-40000
 - >400000
- Caudal (m³/día)/ Población:
 - <0,3
 - 0,3-0,5
 - >0,5
- MES entrada (mg/L):
 - <300
 - 300-500
 - >500

- DQO Entrada (mg/L):
 - <500
 - 500-1000
 - >1000
- DBO5 Entrada (mg/L):
 - <200
 - 200-500
 - >500

Estas agrupaciones aplicadas a las EDARs urbanas objeto de estudio se muestran en la *Tabla 3*.

Tabla 3: Agrupaciones de las características de las EDARs para hacer el análisis de datos.

EDAR	Tratamiento Biológico	Población censada	Caudal (m ³ /día)/ Población	MES entrada (mg/L)	DQO Entrada (mg/L)	DBO5 Entrada (mg/L)
EDAR A	Lecho bacteriano + otro	<2000	<0,3	300-500	500-1000	200-500
EDAR B	Lecho bacteriano	2000-10000	03-0,5	<300	<500	<200
EDAR C	Lecho bacteriano	10000-40000	<0,3	>500	500-1000	200-500
EDAR D	Lecho bacteriano	10000-40000	<0,5	>500	>1000	>500
EDAR E	Lecho bacteriano	10000-40000	<0,5	<300	>1000	200-500
EDAR F	Lecho bacteriano	2000-10000	03-0,5	300-500	>1000	>500
EDAR G	Lecho bacteriano	2000-10000	<0,3	<300	500-1000	200-500
EDAR H	Lecho bacteriano	2000-10000	<0,3	<300	>1000	>500
EDAR I	Lecho bacteriano	2000-10000	<0,3	300-500	500-1000	>500
EDAR J	Fangos activos	2000-10000	<0,3	<300	500-1000	200-500
EDAR K	Lecho bacteriano	10000-40000	03-0,5	>500	500-1000	200-500
EDAR L	Lecho bacteriano	2000-10000	03-0,5	300-500	>1000	>500
EDAR M	Lecho bacteriano	2000-10000	<0,5	<300	500-1000	>500
EDAR N	Lecho bacteriano	2000-10000	03-0,5	<300	<500	200-500
EDAR Ñ	Lecho bacteriano	2000-10000	<0,5	300-500	500-1000	200-500
EDAR O	Lecho bacteriano + otro	<2000	03-0,5	>500	>1000	>500
EDAR P	Lecho bacteriano	10000-40000	03-0,5	<300	500-1000	200-500
EDAR Q	Lecho bacteriano	>40000	03-0,5	<300	<500	<200
EDAR R	Lecho bacteriano + otro	2000-10000	<0,5	300-500	>1000	>500
EDAR S	Lecho bacteriano	2000-10000	03-0,5	300-500	>1000	>500

Para comprobar la posible influencia/relación entre las características de las EDARs y los resultados microbiológicos se realizan modelos de regresión lineal. Estos modelos describen las relaciones entre las variables que se incluyen en los mismos.

Influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de coliformes totales

Para comenzar, se hace un modelo de regresión lineal para las medias de concentración de coliformes totales (*Figura 19*). En este modelo, la variable dependiente son las medias de concentración de coliformes totales, y las variables independientes son todas las características

de las EDARs que se encuentran en la *Tabla 3*, además de las medias de concentración de *E. Coli* y *Enterococcus sp.*

```
> summary(modelo_Coliformes)
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      0.75740    2.02042   0.375   0.772
Tratamiento_Biologico[T.2] -0.46834    0.47229  -0.992   0.503
Tratamiento_Biologico[T.3]  0.19144    0.87963   0.218   0.864
Poblacion_Censada[T.2]    -1.08852    0.77037  -1.413   0.392
Poblacion_Censada[T.3]     0.24824    0.82208   0.302   0.813
Poblacion_Censada[T.4]    -0.37303    0.95914  -0.389   0.764
Caudal[T.2]             0.15447    0.43432   0.356   0.782
Caudal[T.3]            -0.30525    0.28816  -1.059   0.482
MES_Entrada[T.2]         0.42368    0.34548   1.226   0.436
MES_Entrada[T.3]        -0.60057    0.34293  -1.751   0.330
DQO_Entrada[T.2]        -1.01507    0.62952  -1.612   0.353
DQO_Entrada[T.3]        -1.36079    0.61237  -2.222   0.269
DBO5_Entrada[T.2]       0.87447    0.63645   1.374   0.401
DBO5_Entrada[T.3]       1.55162    0.88767   1.748   0.331
Media_E_coli            1.04540    0.58424   1.789   0.324
DS_E_coli               0.07853    0.80170   0.098   0.938
Media_Enterococcus      0.11856    0.61075   0.194   0.878
DS_Enterococcus         0.31360    0.98741   0.318   0.804

Residual standard error: 0.257 on 1 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9957, Adjusted R-squared:  0.9217
F-statistic: 13.47 on 17 and 1 DF,  p-value: 0.2115
```

Figura 19: Resultados del modelo de regresión lineal para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de coliformes totales.

Este modelo tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,9957, lo que sugiere que aproximadamente el 99,57% de la variabilidad de las medias de concentración de coliformes totales se puede explicar mediante las variables incluidas en el modelo. En este caso, el valor de R-cuadrado múltiple nos sale tan alto por contar con muchas variables, ya que este valor aumenta conforme añadimos variables. Sin embargo, el valor p es de 0,2115, lo que indica que el modelo en su totalidad no es estadísticamente significativo (>0,05).

Como este modelo no es estadísticamente significativo y no se encuentran variables con una relación significativa con la media de concentración de coliformes totales, se realiza otro modelo de regresión lineal seleccionando las variables que aportan de verdad al análisis mediante el método de stepwise (*Figura 20*).

```
> summary(modelo_coliformes_stepwise)
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.0966     0.9080   1.208   0.3137
Tratamiento_Biologico[T.2] -0.4914     0.2741  -1.792   0.1710
Tratamiento_Biologico[T.3]  0.2043     0.3332   0.613   0.5831
Poblacion_Censada[T.2]    -0.9767     0.3497  -2.793   0.0683 .
Poblacion_Censada[T.3]     0.3605     0.3769   0.957   0.4094
Poblacion_Censada[T.4]    -0.2253     0.4709  -0.479   0.6650
Caudal[T.2]             0.2476     0.1664   1.488   0.2336
Caudal[T.3]            -0.2508     0.1223  -2.050   0.1327
MES_Entrada[T.2]         0.3643     0.1617   2.253   0.1097
MES_Entrada[T.3]        -0.5895     0.1625  -3.628   0.0360 *
DQO_Entrada[T.2]        -0.9145     0.2904  -3.149   0.0513 .
DQO_Entrada[T.3]        -1.3450     0.3624  -3.712   0.0340 *
DBO5_Entrada[T.2]       0.8580     0.2899   2.960   0.0596 .
DBO5_Entrada[T.3]       1.5805     0.4861   3.251   0.0475 *
Media_E_coli            1.0840     0.1042  10.403   0.0019 **
DS_Enterococcus         0.4613     0.2943   1.567   0.2150

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1541 on 3 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9953, Adjusted R-squared:  0.9719
F-statistic: 42.47 on 15 and 3 DF,  p-value: 0.005107
```

Figura 20: Resultados del modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de coliformes totales.

El valor de R-cuadrado múltiple para este modelo es de 0,9953, lo que significa que aproximadamente el 99,53% de la variabilidad de las medias de concentración de coliformes totales se puede explicar mediante las variables incluidas en el modelo. Además, el valor p de este modelo es de 0,005107, que indica que el modelo en su totalidad es estadísticamente significativo.

En este modelo, varias variables muestran relaciones significativas con la media de concentración de coliformes totales. La variable más relacionada con la media de concentración de coliformes totales es la media de *E. Coli*, con un coeficiente positivo (1,0840) que sugiere una relación positiva entre las variables, cuando hay más concentración de *E. Coli*, también hay más de coliformes totales. Esto ya se ha explicado con anterioridad que es correcto ya que la *E. Coli* es un tipo de bacteria coliforme.

Las concentraciones de materia en suspensión (MES), DQO y DBO5 a la entrada de la EDAR también tienen coeficientes significativos, negativos para la MES y DQO, lo que indica una relación negativa con la media de concentración de coliformes totales; y positivo para la DBO5, que indica lo contrario. Es decir, cuando las concentraciones de MES y DQO a la entrada de la EDAR aumentan, la media de concentración de coliformes totales disminuye, y a la inversa con la DBO5. En este caso, los valores p de estas variables son superiores que los de la media de concentración de *E. Coli*, pero siguen siendo menores que 0,05, por lo que son significativos.

Con el caso de la población censada ocurre lo mismo, se obtiene un coeficiente negativo que sugiere una relación negativa con la media de concentración de coliformes totales, sin embargo su p valor es superior a 0,05, lo cual indica que no es menos significativo que los parámetros anteriores. Esta relación negativa se presenta en los grupos de población censada más pequeños, por lo que indica que, a menor población censada, menor es la media de concentración de coliformes totales.

El resto de variables no son significativas para las medias de concentración de coliformes totales.

En resumen, este modelo muestra que la variable más relacionada con la media de concentración de coliformes totales es la media de concentración de *E. Coli*. Además, también se obtiene que la concentración de MES, DQO, DBO5 también influyen en la media de concentración de coliformes totales, pero en menor medida. Por otro lado, la población censada influye de forma muy poco significativa.

Influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *E. Coli*

Para continuar con este análisis, se hace un modelo de regresión lineal para la media de concentración de *E. Coli* (Figura 21). En este modelo, la variable dependiente son las medias de concentración de *E. Coli*, y las variables independientes son todas las características de las EDARs que se encuentran en la Tabla 3, además de las medias de concentración de coliformes totales y *Enterococcus sp.*

```

> summary(modelo_Ecoli)
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.837555    2.406990    0.763   0.585
Tratamiento_Biologico[T.2]  0.349610    0.295303    1.184   0.447
Tratamiento_Biologico[T.3] -0.200281    0.354483   -0.565   0.673
Poblacion_Censada[T.2]     0.230154    0.769708    0.299   0.815
Poblacion_Censada[T.3]    -0.689897    0.537827   -1.283   0.422
Poblacion_Censada[T.4]     0.128506    0.561195    0.229   0.857
Caudal[T.2]             -0.426362    0.260242   -1.638   0.349
Caudal[T.3]             0.009085    0.250674    0.036   0.977
MES_Entrada[T.2]        -0.125658    0.295948   -0.425   0.744
MES_Entrada[T.3]         0.498079    0.194842    2.556   0.237
DQO_Entrada[T.2]         0.660979    0.524976    1.259   0.427
DQO_Entrada[T.3]         1.052492    0.497826    2.114   0.281
DBO5_Entrada[T.2]       -0.514464    0.456809   -1.126   0.462
DBO5_Entrada[T.3]       -1.171745    0.638081   -1.836   0.317
DS_Coliformes          -0.433872    0.352484   -1.231   0.434
Media_Coliformes        0.606556    0.302080    2.008   0.294
Media_Enterococcus      0.053924    0.339196    0.159   0.900
DS_Enterococcus        -0.294461    0.316019   -0.932   0.522

Residual standard error: 0.1529 on 1 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9972, Adjusted R-squared:  0.95
F-statistic: 21.13 on 17 and 1 DF,  p-value: 0.1696

```

Figura 21: Resultados del modelo de regresión lineal para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *E. Coli*.

Al igual que con el caso del modelo de regresión lineal para la media de coliformes totales, este modelo tiene un valor de R-cuadrado alto (0,9972) debido a que se analizan muchas variables. Sin embargo, el valor p del modelo es alto (>0,05), lo que indica que el modelo no es estadísticamente significativo en su totalidad. Debido a esto, se realiza un modelo de regresión lineal para la media de *E. Coli* con stepwise (Figura 22).

```

> summary(modelo_ecoli_stepwise)
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.8789    1.7133    1.097   0.3872
Tratamiento_Biologico[T.2]  0.3536    0.2107    1.679   0.2352
Tratamiento_Biologico[T.3] -0.1788    0.2347   -0.762   0.5257
Poblacion_Censada[T.2]     0.3095    0.4196    0.738   0.5376
Poblacion_Censada[T.3]    -0.6489    0.3379   -1.920   0.1948
Poblacion_Censada[T.4]     0.1789    0.3315    0.540   0.6435
Caudal[T.2]           -0.4023    0.1516   -2.654   0.1175
Caudal[T.3]           0.0335    0.1419    0.236   0.8353
MES_Entrada[T.2]       -0.1580    0.1537   -1.028   0.4119
MES_Entrada[T.3]         0.5116    0.1255    4.075   0.0553 .
DQO_Entrada[T.2]         0.7268    0.2313    3.142   0.0881 .
DQO_Entrada[T.3]         1.0996    0.2864    3.839   0.0616 .
DBO5_Entrada[T.2]       -0.5597    0.2557   -2.189   0.1600
DBO5_Entrada[T.3]       -1.2204    0.4008   -3.045   0.0931 .
DS_Coliformes          -0.4306    0.2519   -1.709   0.2296
Media_Coliformes        0.6372    0.1666    3.824   0.0621 .
DS_Enterococcus        -0.2836    0.2210   -1.284   0.3279
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1095 on 2 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9972, Adjusted R-squared:  0.9744
F-statistic: 43.79 on 16 and 2 DF,  p-value: 0.02255

```

Figura 22: Resultados del modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *E. Coli*.

Este modelo de regresión lineal para las medias de concentraciones de *E. Coli* tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,9972, lo que indica que alrededor del 99,72% de la variabilidad de las medias de concentraciones de *E. Coli* se explica con las variables incluidas en el modelo. Además, el valor p del modelo es de 0,02255, lo que sugiere que el modelo es estadísticamente significativo en su conjunto.

Así, varias variables muestran relaciones significativas con las medias de concentraciones de *E. Coli*. Sin embargo, no son relaciones muy significativas, pues sus valores p son superiores a 0,05

(inferiores a 0,1). De estas variables, las más significativas son las concentraciones de MES, DQO y DBO5 en la entrada de las EDARs, que tienen los valores p más bajos. Las dos primeras variables muestran relaciones positivas con las medias de concentraciones de *E. Coli*, es decir, cuando una aumenta, la otra también. Se puede observar que estas dos variables funcionan al revés en *E. Coli* y en coliformes totales, cuando las concentraciones de MES Y DQO aumenta, las de *E. Coli* también aumentan, y las de coliformes totales disminuyen. Por otro lado, la concentración de DBO5 muestra una relación negativa, conforme más concentración de DBO5 hay, menor es la media de concentración de *E. Coli*.

La otra variable significativa con las medias de concentraciones de *E. Coli* son las medias de concentración de coliformes totales, que ya se ha explicado anteriormente su relación.

El resto de variables no influyen significativamente en las medias de concentraciones de *E. Coli*.

En resumen, este modelo muestra que las concentraciones de MES, DQO, DBO5 en la entrada de las EDARs influyen en las medias de concentraciones de *E. Coli*, aunque con poca relevancia, al ser sus valores p superiores a 0,05 e inferiores a 0,1.

Influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

Para finalizar esta parte del análisis, se hace otro modelo de regresión lineal para las medias de *Enterococcus sp.* (Figura 23). En este modelo, la variable dependiente son las medias de concentración de *Enterococcus sp.*, y las variables independientes son todas las características de las EDARs que se encuentran en la Tabla 3, además de las medias de concentración de coliformes totales y *E. Coli*.

```
> summary(modelo_Enterococcus)
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.39159      8.19282   0.170   0.893
Tratamiento_Biologico[T.2] -0.10087      1.00755  -0.100   0.936
Tratamiento_Biologico[T.3]  0.63718      1.07910   0.590   0.660
Poblacion_Censada[T.2]     1.00909      2.00110   0.504   0.703
Poblacion_Censada[T.3]     0.72517      1.70033   0.426   0.743
Poblacion_Censada[T.4]     0.64594      1.43536   0.450   0.731
Caudal[T.2]             0.32002      0.94576   0.338   0.792
Caudal[T.3]             0.22330      0.76829   0.291   0.820
MES_Entrada[T.2]        -0.41494      0.78674  -0.527   0.691
MES_Entrada[T.3]         0.02251      1.23051   0.018   0.988
DQO_Entrada[T.2]         0.87842      1.72711   0.509   0.700
DQO_Entrada[T.3]         0.48960      2.33961   0.209   0.869
DBO5_Entrada[T.2]       -0.67184      1.32514  -0.507   0.701
DBO5_Entrada[T.3]       -0.57197      2.50639  -0.228   0.857
DS_Coliformes          -0.13089      1.51739  -0.086   0.945
Media_Coliformes        0.25081      1.54784   0.162   0.898
Media_E_coli            0.37434      2.20833   0.170   0.893
DS_E_Coli               0.38928      0.82810   0.470   0.720

Residual standard error: 0.4175 on 1 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9419, Adjusted R-squared:  -0.04641
F-statistic: 0.953 on 17 and 1 DF,  p-value: 0.68
```

Figura 23: Resultados del modelo de regresión lineal para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

Al igual que con modelos de regresión lineal anteriores, este modelo tiene un valor de R-cuadrado alto (0,9419) debido a que se analizan muchas variables. Sin embargo, el valor p del modelo es alto (>0,05), lo que indica que el modelo no es estadísticamente significativo en su totalidad. Debido a esto, se realiza un modelo de regresión lineal para las medias de concentración de *Enterococcus sp.* con stepwise (Figura 24).

```

> summary(modelo_enterococcus_stepwise)
Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      0.8788     1.7244   0.510  0.6454
Tratamiento_Biologico[T.2] -0.2158     0.4206  -0.513  0.6433
Tratamiento_Biologico[T.3]  0.7561     0.4798   1.576  0.2132
Poblacion_Censada[T.2]      0.8399     0.5457   1.539  0.2214
Poblacion_Censada[T.3]      0.9062     0.5626   1.611  0.2056
Poblacion_Censada[T.4]      0.5273     0.7209   0.732  0.5174
Caudal[T.2]             0.4190     0.2030   2.064  0.1310
Caudal[T.3]             0.1846     0.2114   0.873  0.4468
MES_Entrada[T.2]        -0.3211     0.2203  -1.458  0.2410
MES_Entrada[T.3]        -0.1741     0.2828  -0.616  0.5817
DQO_Entrada[T.2]         0.6184     0.4788   1.292  0.2870
DQO_Entrada[T.3]         0.1174     0.5405   0.217  0.8420
DBO5_Entrada[T.2]       -0.4879     0.4183  -1.167  0.3277
DBO5_Entrada[T.3]       -0.1831     0.6446  -0.284  0.7948
Media_E_coli            0.7517     0.2351   3.198  0.0494 *
DS_E_coli               0.4413     0.3452   1.278  0.2911
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2446 on 3 degrees of freedom
(6 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.9401, Adjusted R-squared:  0.6406
F-statistic: 3.139 on 15 and 3 DF, p-value: 0.1882

```

Figura 24: Resultados del modelo de regresión lineal con stepwise para la influencia de las características de las EDARs en las medias de concentración de *Enterococcus sp.*

Al realizar el modelo de regresión lineal con stepwise para las medias de concentración de *Enterococcus sp.*, se obtiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,9401, lo que podría indicar que alrededor del 94,01% de la variabilidad de las medias de concentraciones de *Enterococcus sp.* se explica con las variables incluidas en el modelo. Sin embargo, el valor p del modelo es mayor a 0,05, por lo que el modelo no es significativo estadísticamente.

Para las medias de concentraciones de *Enterococcus sp.*, la única variable con una relación significativa son las medias de concentraciones de *E. Coli* (0,7517), que al ser positiva indica una influencia positiva en las medias de concentraciones de *Enterococcus sp.* Conforme aumentan las medias de concentraciones de *E. Coli*, también lo hacen las de *Enterococcus sp.*

Podemos decir, entonces, que en las medias de concentraciones de *Enterococcus sp.* no existe una influencia de las características de las EDARs.

Conclusiones de la influencia de las características de las EDARs en los resultados de parámetros microbiológicos

Gracias al estudio de la posible influencia de las características de las EDARs sobre los resultados de parámetros microbiológicos se han alcanzado las siguientes conclusiones:

- Las siguientes características no tienen influencia sobre los resultados de los parámetros microbiológicos: tipo de tratamiento biológico y caudal.
- En el caso de las medias de concentración de *Enterococcus sp.*, ninguna de las características de las EDARs estudiadas ha mostrado influencia sobre las mismas.
- Las concentraciones de MES y DQO influyen de forma negativa sobre las medias de concentración de coliformes totales. Por otro lado, la DBO5 influye de forma positiva en las medias de concentración de coliformes totales. La población censada también influye, aunque con menor significancia, de forma negativa en las medias de concentración de coliformes totales (a menor población, menor media de concentración de coliformes totales).

- Las concentraciones de MES, DQO influyen de forma positiva sobre las medias de concentración de *E. Coli*, pero con poca relevancia. La DBO5 también influye con poca relevancia sobre las medias de concentración de *E. Coli*, pero en este caso de forma negativa.

Análisis de los resultados microbiológicos y su relación con los parámetros físico-químicos

Correlación entre parámetros microbiológicos y parámetros físico-químicos

Para comenzar con este análisis de datos, se realiza otra matriz de correlación incluyendo los parámetros físico-químicos de las muestras (*Figura 25*), para obtener una visión general de la influencia de los parámetros físico-químicos en los resultados microbiológicos. Se obtiene lo siguiente:

```
> correlaciones.obs
      Coliformes      EColi Enterococcus MateriaSeca      Humedad      pH      Ntotal      P
Coliformes  1.00000000  0.72289348  0.59047571  0.31399909 -0.31135813 -0.16497931  0.12207492  0.21724328
EColi      0.72289348  1.00000000  0.68453847  0.18433200 -0.19252531 -0.11526715  0.11147593  0.06355348
Enterococcus 0.59047571  0.68453847  1.00000000  0.26356161 -0.26904142 -0.21304725  0.16139485  0.25390955
MateriaSeca 0.31399909  0.18433200  0.26356161  1.00000000 -0.99964808 -0.19789467 -0.10952234 -0.06870519
Humedad    -0.31135813 -0.19252531 -0.26904142 -0.99964808  1.00000000  0.19312329  0.10682085  0.06784937
pH         -0.16497931 -0.11526715 -0.21304725 -0.19789467  0.19312329  1.00000000 -0.01069329  0.03297451
Ntotal     0.12207492  0.11147593  0.16139485 -0.10952234  0.10682085 -0.01069329  1.00000000  0.33650363
P          0.21724328  0.06355348  0.25390955 -0.06870519  0.06784937  0.03297451  0.33650363  1.00000000
K          -0.08208245 -0.37456807 -0.03326589 -0.03055973  0.02875847  0.25899994  0.12818967  0.40878337
      K
Coliformes  -0.08208245
EColi      -0.37456807
Enterococcus -0.03326589
MateriaSeca -0.03055973
Humedad     0.02875847
pH          0.25899994
Ntotal     0.12818967
P          0.40878337
K          1.00000000
```

Figura 25: Matriz de correlación de los datos microbiológicos y los parámetros físico-químicos.

Al realizar esta matriz se observan varias cosas. En primer lugar, el porcentaje de materia seca de la muestra guarda una correlación positiva moderada con los resultados de coliformes totales (0,31), lo que sugiere una relación directa moderada.

En el caso del porcentaje de humedad, este obtiene correlaciones contrarias a las del porcentaje de materia seca. Respecto a los valores de pH, Nitrógeno total, fósforo y potasio, estos muestran correlaciones no relevantes con los resultados microbiológicos, por norma general. Sin embargo, en el caso de los resultados de *E. Coli* y los valores de potasio, estos tienen una correlación negativa moderada (-0,37), lo que sugiere una relación inversa entre los mismos.

El resto de resultados de correlaciones no son relevantes (no son mayores que 0,30 o menores que -0,30).

A continuación, se realizan los modelos de regresión lineales para poder explicar la influencia/relación entre las variables que están siendo estudiadas.

Influencia de los parámetros físico-químicos en las concentraciones de coliformes totales

En primer lugar, se hace un modelo de regresión lineal para los resultados de coliformes totales. En este modelo, la variable dependiente a explicar son los resultados de concentración de coliformes totales, y las variables independientes son los parámetros físico-químicos (Tabla 2), además de las concentraciones de *E. Coli* y *Enterococcus sp.* El modelo se encuentra en la Figura 26.

```
> summary(modelo_coliformes)
Call:
lm(formula = Coliformes ~ ., data = datos)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.1306 -0.3195 -0.0234  0.2636  1.8831

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -182.394604   37.694414  -4.839 0.00001341720 ***
EColi        0.850798    0.112564   7.558 0.00000000091 ***
Enterococcus -0.022352    0.158113  -0.141  0.88816
MateriaSeca  1.857522    0.372288   4.989 0.00000802041 ***
Humedad      1.841081    0.373154   4.934 0.00000970331 ***
pH           -0.057442    0.138049  -0.416  0.67915
Ntotal       0.006424    0.024314   0.264  0.79272
P            0.101286    0.127335   0.795  0.43020
K            0.845565    0.305366   2.769  0.00792 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6696 on 49 degrees of freedom
(10 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.7425, Adjusted R-squared:  0.7004
F-statistic: 17.66 on 8 and 49 DF,  p-value: 4.854e-12
```

Figura 27: Resultados del modelo de regresión lineal para los resultados de coliformes totales.

De este modelo se sacan varias conclusiones. Para empezar, este modelo tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,7425, lo que significa que alrededor del 74,25% de la variabilidad de los resultados de coliformes totales se explica por el resto de variables incluidas en el modelo. El valor p del modelo es muy bajo ($4,854 \times 10^{-12}$), lo que indica que el modelo es estadísticamente significativo y que al menos una de las variables está relacionada con los resultados de coliformes totales.

Las variables que muestran una relación significativa (valor $p \leq 0,05$) con los resultados de coliformes totales son los resultados de *E. Coli*, el porcentaje de materia seca y humedad, y la concentración de potasio. Al ser el coeficiente de regresión positivo en el caso de los resultados de *E. Coli* (0,851), esto nos indica que están relacionadas de forma directa (al aumentar los resultados de coliformes totales también lo hacen los resultados de *E. Coli*). En el caso del porcentaje de materia seca y humedad encontramos también una relación positiva, por lo que indica una relación directa. En el caso de la concentración de potasio, también tiene un coeficiente positivo alto (0,846) lo que sugiere que un aumento en la concentración de potasio provoca un aumento en la presencia de coliformes totales.

En cuanto al resto de variables (resultados de *Enterococcus sp.* y los valores de pH, nitrógeno total y fósforo) no parecen estar relacionadas de forma significativa con los resultados de coliformes totales. Esto se confirma al observar los valores p para estas variables, todos superiores a 0,05, en especial en el caso de los resultados de *Enterococcus sp.* El que estos valores p sean superiores a 0,05 indica que no hay evidencia de una relación significativa entre las variables y los resultados de coliformes totales.

En resumen, los resultados de este modelo de regresión lineal nos indica que en el caso de los resultados de coliformes totales, el porcentaje de materia seca y humedad, y la concentración de potasio, estas son variables significativas e influyen en la concentración de coliformes totales que vamos a encontrar en la muestra a analizar.

Influencia de los parámetros físico-químicos en las concentraciones de *E. Coli*

Se realiza a continuación un modelo de regresión lineal para los resultados de *E. Coli*. En este modelo, la variable dependiente a explicar son los resultados de concentración de *E. Coli*, y las variables independientes son los parámetros físico-químicos (*Tabla 2*), además de las concentraciones de coliformes totales y *Enterococcus sp.* El modelo se encuentra en la *Figura 28*.

```
> summary(modelo_ecoli)
Call:
lm(formula = EColi ~ ., data = datos)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.7890 -0.1786  0.0711  0.3153  0.9003

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 158.4199741  32.3934504   4.890 0.00001125065 ***
Coliformes   0.6326950   0.0837082   7.558 0.00000000091 ***
Enterococcus 0.4498178   0.1202884   3.739  0.000483 ***
MateriaSeca -1.6057281   0.3206459  -5.008 0.00000753204 ***
Humedad     -1.5981463   0.3207286  -4.983 0.00000820430 ***
pH           0.1201872   0.1180141   1.018  0.313484
Ntotal       0.0006824   0.0209823   0.033  0.974189
P            -0.0210462   0.1104736  -0.191  0.849698
K            -1.1883439   0.2266617  -5.243 0.00000334719 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.5774 on 49 degrees of freedom
(10 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.8356, Adjusted R-squared:  0.8087
F-statistic: 31.12 on 8 and 49 DF,  p-value: < 2.2e-16
```

Figura 28: Modelo de regresión lineal para los resultados de *E. Coli*.

El modelo para los resultados de *E. Coli* tiene un valor de R-cuadrado múltiple de 0,8356, por lo que aproximadamente el 83,56% de la variabilidad en los resultados de *E. Coli* se puede explicar por las variables incluidas en el modelo. Este modelo también tiene un p-valor muy bajo ($<2,2 \times 10^{-16}$), por lo que el modelo en su conjunto es altamente significativo y al menos una de las variables está relacionada con los resultados de *E. Coli*.

De todas las variables incluidas en el modelo, aquellas que tiene coeficientes significativos son los resultados de coliformes totales y *Enterococcus sp.*, el porcentaje de materia seca y el de humedad y la concentración de potasio.

En el caso de los resultados de coliformes totales, estos tienen un coeficiente positivo (0,6327), por lo que existe una relación positiva directa con los resultados de *E. Coli*. Ocurre de igual manera con los resultados de *Enterococcus sp.* (0,4498). En cuanto a los porcentajes de materia seca y humedad, estos tienen coeficientes negativos, lo que sugiere una relación negativa con los resultados de *E. Coli* (cuando estos aumentan, la concentración de *E. Coli* disminuye, y viceversa). En el caso de la concentración de potasio, esta también tiene un coeficiente negativo (-1.1883), lo que indica una relación negativa con los resultados de *E. Coli*.

El resto de variables no son significativas en este caso (valor $p > 0,05$).

En resumen, este modelo muestra que los resultados de coliformes totales y *Enterococcus sp.*, los porcentajes de materia seca y humedad y la concentración de potasio son variables que influyen en los resultados obtenidos de *E. Coli*.

Influencia de los parámetros físico-químicos en las concentraciones de *Enterococcus sp.*

Para finalizar con esta parte del análisis de los resultados, se realiza un tercer modelo de regresión lineal, en este caso para los resultados de *Enterococcus sp.* En este modelo, la variable dependiente a explicar son los resultados de concentración de *Enterococcus sp.*, y las variables independientes son los parámetros físico-químicos (Tabla 2), además de las concentraciones de coliformes totales y *E. Coli*. El modelo se encuentra en la Figura 29.

```
> summary(modelo_enterococcus)
Call:
lm(formula = Enterococcus ~ ., data = datos)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.88516 -0.39680  0.00304  0.36476  1.71922

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) -1.255538   41.393398  -0.030 0.975926
Coliformes  -0.018239    0.129021  -0.141 0.888159
EColi        0.493583    0.131992   3.739 0.000483 ***
MateriaSeca  0.066960    0.412874   0.162 0.871831
Humedad      0.056642    0.412317   0.137 0.891298
pH           -0.209032    0.121302  -1.723 0.091152 .
Ntotal       0.005039    0.021968   0.229 0.819520
P            0.123898    0.114405   1.083 0.284119
K            0.539105    0.286472   1.882 0.065800 .
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.6049 on 49 degrees of freedom
(10 observations deleted due to missingness)
Multiple R-squared:  0.5864, Adjusted R-squared:  0.5189
F-statistic: 8.686 on 8 and 49 DF,  p-value: 0.0000002736
```

Figura 29: Modelo de regresión lineal para los resultados de *Enterococcus sp.*

El modelo de regresión lineal para los resultados de *Enterococcus sp.* no obtiene tan buenos resultados como los anteriores, pero sigue siendo significativo. El valor de R-cuadrado múltiple es de 0,5864, por lo que aproximadamente el 58,64% de la variabilidad en los resultados de *Enterococcus sp.* se puede explicar con las variables incluidas en el modelo. Además, el valor p del modelo es significativo, ya que es menor a 0,05, lo que indica que el modelo es relevante.

De todas las variables estudiadas en este modelo, las que son significativas para explicar la variabilidad de los resultados de *Enterococcus sp.* son los resultados de *E. Coli*, el pH y la concentración de potasio. Los resultados de *E. Coli* tienen un coeficiente positivo (0,4936) lo que sugiere una relación positiva con los resultados de *Enterococcus sp.*, al igual que en el caso de la concentración de potasio (0,5391). En el caso del pH, la influencia es contraria, ya que tiene un coeficiente negativo (-0,2090). Sin embargo, tanto en el caso de la concentración de potasio como en el pH, el valor p es ligeramente superior a 0,05, por lo que esto nos indica menos significancia.

En resumen, este modelo muestra que los resultados de *E. Coli* están relacionados con los de *Enterococcus sp.* Además, en menor medida, el pH y la concentración de potasio también son variables que influyen en los resultados de *Enterococcus sp.*

Conclusiones de la influencia de los parámetros físico-químicos en los resultados de parámetros microbiológicos

Gracias al estudio de la posible influencia de las características de las EDARs sobre los resultados de parámetros microbiológicos se han alcanzado las siguientes conclusiones:

- El nitrógeno total y el fósforo no han mostrado una influencia sobre los resultados de parámetros microbiológicos.
- El porcentaje de humedad y materia seca y la concentración de potasio influyen de forma significativa en los resultados de concentración de coliformes totales y *E. Coli*. En el caso de los coliformes totales, estos influyen de forma positiva, y en el caso de la *E. Coli*, influyen de forma negativa.
- En los resultados de *Enterococcus sp.* influye el pH y la concentración de potasio, aunque no de forma muy significativa. El pH influye de forma negativa, y la concentración de potasio de forma positiva.

CONCLUSIONES

El objetivo de este trabajo era determinar la influencia del origen urbano o industrial de los fangos de depuradoras en sus características microbiológicas y sus parámetros físico-químicos, haciendo hincapié en lo primero.

Para ello, a lo largo de este trabajo de fin de grado se han realizado numerosas actividades y análisis.

Gracias a los análisis microbiológicos se han podido determinar las concentraciones de *Escherichia coli* (*E. coli*), coliformes totales y *Enterococcus sp.* en fangos de depuradoras. Se ha podido comprobar que son análisis que requieren invertir una cantidad considerable de tiempo y esfuerzo, pues dependen de muchos factores como la campaña de recogida de muestras, la calidad y tipo de muestras, la preparación regular de material de laboratorio, tiempos de incubación de las bacterias... A pesar de ser análisis que requieren este tiempo y esfuerzo, resultan muy interesantes para conocer las características microbiológicas de los fangos de depuradoras. Si bien es debido a este tiempo y esfuerzo necesario que no se hacen con frecuencia, estos análisis proporcionan información muy útil para la buena gestión de las EDARs y las propias aguas residuales.

Después de analizar los resultados obtenidos, se han alcanzado varias conclusiones.

La primera y gracias a la cual se han obtenido resultados válidos, es que los análisis se realizaron con éxito, ya que se obtuvieron resultados coherentes con las características de las bacterias analizadas. Se han podido establecer también las relaciones entre las propias bacterias al analizar los resultados.

Se ha comprobado que cuanto más presencia hay de coliformes totales, mayor es la presencia de *E. Coli*. Además, por norma general, las concentraciones de *E. Coli* y *Enterococcus sp.* están relacionados: cuando uno aumenta, el otro también. Debido a esto, se podría plantear para futuros estudios el uso de una única bacteria como indicadora de contaminación microbiológica en fangos.

Se ha determinado la influencia de las características de las EDARs en las concentraciones de *Escherichia coli* (*E. coli*) y coliformes totales. En el análisis de los resultados junto con estas características, se ha llegado a la conclusión de que, en las depuradoras urbanas, la concentración de MES, DQO y DBO5 influyen (no de forma muy significativa) en las medias de concentración de coliformes totales y *E. Coli*, y por tanto también en los propios resultados. También influye ligeramente la población censada en las medias de concentración de coliformes totales. En cuanto a las medias de concentración de *Enterococcus sp.* se ha encontrado que las características de las depuradoras no influyen en sus resultados.

En cuanto a los parámetros físico-químicos de las muestras, se ha encontrado que sí existe una influencia en los resultados microbiológicos. El parámetro físico-químico que afecta a las concentraciones de todas las bacterias es la concentración de potasio. En el caso de los coliformes totales y *Enterococcus sp.*, una mayor concentración de potasio provoca una mayor concentración de estas bacterias (si bien el efecto en *Enterococcus sp.* es menos significativo). Por otro lado, en el caso de la *E. Coli*, una mayor concentración de potasio provoca que disminuya la concentración de *E. Coli*. Debido a que el efecto del potasio no es el mismo en los tres parámetros microbiológicos, se descarta que pueda ser utilizado para relacionar su concentración con una mayor/menor concentración bacteriana.

Encontramos también que el porcentaje de materia seca y humedad influye en los resultados de coliformes totales y *E. Coli* de forma inversa. Un mayor porcentaje de materia seca y humedad provoca un aumento de concentración de coliformes totales y una disminución de concentración de *E. Coli*.

En cuanto a los niveles de pH, se ha visto que estos sólo afectan ligeramente a la concentración de *Enterococcus sp.*

Para finalizar, tenemos la influencia del origen. Al analizar los resultados teniendo en cuenta el origen, se ha obtenido que la influencia no es muy grande. Se ha determinado que en el caso de la concentración de coliformes totales, esta era mayor en las depuradoras industriales. Por otro lado, la concentración de *E. Coli* ha resultado llevar una dirección opuesta, donde mayores concentraciones encontramos es en las depuradoras urbanas. Por otro lado, la concentración de *Enterococcus sp.* parece no estar influenciada por el origen de la muestra.

Si bien estos han sido los resultados obtenidos, caben destacar varias cosas.

En primer lugar, no se ha podido analizar la influencia de las características de las EDARs industriales en los resultados de los análisis microbiológicos, pues no se contaba con esos datos. Debido a eso, sólo se puede decir que estas características influyen en el caso de las depuradoras urbanas.

En cuanto a los parámetros físico químicos, sí que podemos concluir que los resultados son determinantes para todas las muestras analizadas, pues se obtuvieron estos datos de la mayoría de muestras, independientemente del origen.

Finalmente, cabe destacar que la influencia del origen debería ser estudiada más a fondo, dado que no se han obtenido resultados muy significativos en esa parte del análisis. Sería de interés realizar estos análisis contando con más depuradoras industriales, pues sólo se analizaron muestras de 5. Además, estas depuradoras pertenecen cada una a sectores diferentes, por lo que tienen características distintas que habría sido de interés conocer.

Para finalizar, gracias a este trabajo se ha podido confirmar la importancia de realizar análisis microbiológico, pues proporcionan información muy valiosa. Además, se ha podido comprobar que existe una influencia de los parámetros físico-químicos en la concentración de *E. coli*, coliformes totales y *Enterococcus sp.*; y de las características de las depuradoras en la concentración de *E. coli* y coliformes totales.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, AWWA, & WPCF. (1989a). 1060 B. Toma de muestras. En *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales* (pp. 38-45).
- APHA, AWWA, & WPCF. (1989b). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales* (17.^a ed.).
- Barrios-Hernández, M. L., Pronk, M., Garcia, H., Boersma, A., Brdjanovic, D., van Loosdrecht, M. C. M., & Hooijmans, C. M. (2020). Removal of bacterial and viral indicator organisms in full-scale aerobic granular sludge and conventional activated sludge systems. *Water Research X*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2019.100040>
- César Valdez, E., & Vázquez González, A. B. (2003). *Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales*. Fundación ICA.
- Cruz Quijada, L. G. (2015). *Optimización de la aplicación de lodos de depuración de aguas residuales al abonado o mejora de suelos* [Universidad Politécnica de Madrid]. <https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39429>
- García, S., Wade, B., Bauer, C., Craig, C., Nakaoka, K., & Lorowitz, W. (2007). The Effect of Wastewater Treatment on Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* and *Enterococcus sp.* *Water Environment Research*, 79(12), 2387-2395. <https://doi.org/10.2175/106143007X183826>
- George, I., Crop, P., & Servais, P. (2002). Fecal coliform removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. En *Water Research* (Vol. 36).
- Koivunen, J., Siitonen, A., & Heinonen-Tanski, H. (2003). Elimination of enteric bacteria in biological-chemical wastewater treatment and tertiary filtration units. En *Water Research* (Vol. 37).
- López Martín, A., Ormad Melero, M. P., & Mosteo Abad, R. (2018). *Evaluación de tecnologías en el tratamiento de aguas y fangos en EDARs, para la reducción de microorganismos con riesgo sanitario y ambiental* [Universidad de Zaragoza]. <https://zagan.unizar.es/record/69213>
- Ma, C. Y., Sugie, Y., Yu, Z., Okuno, Y., Tanaka, H., & Ihara, M. (2022). Occurrence of *E. coli* and antibiotic-resistant *E. coli* in the southern watershed of Lake Biwa, including in wastewater treatment plant effluent and inflow rivers. *Chemosphere*, 301. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134372>
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. (s. f.). *Estación depuradora de aguas residuales (EDAR)*. Recuperado 6 de octubre de 2023, de <https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/saneamiento-depuracion/sistemas/edar.html>

- NILSA. (s. f.). *Depuradoras* . Recuperado 14 de noviembre de 2023, de <https://www.nilsa.com/es/que-hacemos/saneamiento-y-depuracion/depuradoras/>
- ONU. (s. f.). *Water Quality and Wastewater*. Recuperado 5 de octubre de 2023, de <https://www.unwater.org/water-facts/water-quality-and-wastewater>
- Quiñones Martínez-Aldama, C., & López Martín, A. (2020). *Estudio de aprovechamiento agrícola de fangos de EDAR y de compost procedente de la fracción orgánica de residuos urbanos*. [Escuela de Ingeniería y Arquitectura. Universidad de Zaragoza]. <https://zaguan.unizar.es/record/90133>
- Rivera-Montero, L., Acuña, G., Barrantes, K., Rojas-Jimenez, K., & Chacón, L. (2023). Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Costa Rican Domestic Wastewater Treatment Plants Maintains Horizontal Transfer Capacity of Resistance Determinants in Effluents. *Water, Air, and Soil Pollution*, 234(6). <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06401-w>
- Satoh, H., Katayose, Y., & Hirano, R. (2021). Simple enumeration of *Escherichia coli* concentrations in river water samples by measuring β -D-glucuronidase activities in a microplate reader. *Water Science and Technology*, 83(6), 1399-1406. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.072>
- Satoh, H., Kikuchi, K., Katayose, Y., Tsuda, S., Hirano, R., Hirakata, Y., Kitajima, M., Ishii, S., Oshiki, M., Hatamoto, M., Takahashi, M., & Okabe, S. (2020). Simple and reliable enumeration of *Escherichia coli* concentrations in wastewater samples by measuring β -D-glucuronidase (GUS) activities via a microplate reader. *Science of the Total Environment*, 715. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136928>
- Shayan, M. N. M., Tanaka, Y., Hirano, R., Nakaya, Y., & Satoh, H. (2023). A simple and rapid method for detecting fecal pollution in urban rivers by measuring the intrinsic β -D-glucuronidase activity of *Escherichia coli*. *Water Research*, 246, 120689. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120689>
- Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 2540 solids In: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.030>
- Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 9215 heterotrophic plate count In: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.188>
- Tyagi, V. K., Sahoo, B. K., Khursheed, A., Kazmi, A. A., Ahmad, Z., & Chopra, A. K. (2011). Fate of coliforms and pathogenic parasite in four full-scale sewage treatment systems in India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 181(1-4), 123-135. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1818-4>

ANEXO I: CRITERIOS DE CALIDAD PARA FANGOS DE DEPURADORAS CON USOS AGRÍCOLAS

En la *Tabla 4* se recogen los criterios de calidad propuestos relacionados con este trabajo por la Unión Europea y la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos (US EPA) para la aplicación de fangos a suelos agrícolas.

Tabla 4: Criterios de calidad relacionados con la reducción de microorganismos en fangos de EDARs para uso agrícola. Fuente: López Martín et al., 2018

Referencia	Indicador microbiológico	Valor	Unidades	Tratamiento
Documento de trabajo, UE, 2000	E. Coli	Reducción 6 log hasta $<5 \times 10^2$	UFC/g base húmeda	Tratamiento avanzado
	E. Coli	Reducción 2 log	50 g base húmeda	Tratamiento convencional
Propuesta de directiva, UE, 2003	E. Coli	$<1 \times 10^3$ o reducción 99,99% reducción	UFC/g base húmeda	Tratamiento avanzado
	E. Coli	$<5 \times 10^5$	UFC/g base húmeda	Tratamiento convencional
Documento de trabajo, UE, 2010	E. Coli	$<5 \times 10^5$	UFC/g base húmeda	No especificado
US EPA, 2003	Coliformes fecales	$<1 \times 10^3$	NMP/g base seca	Procesos para reducir patógenos mayormente (PFRP)
	Coliformes fecales	$<2 \times 10^6$ o reducción de 2 log	NMP o CFU/g base seca	Procesos que reducen patógenos significativamente (PSRP)

ANEXO II: RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Tabla 5: Resultados de los análisis microbiológicos completos. Elaboración propia.

EDAR	Fecha muestreo	Coliformes totales [log10(UFG/g)]	E. Coli [log10(UFG/g)]	Enterococcus [log10(UFG/g)]
EDAR A1	20/12/2022	5,61	4,80	4,89
EDAR B1	14/12/2022	5,48	5,13	5,63
EDAR B2	18/04/2023	6,95	6,10	6,79
EDAR B3	02/05/2023	4,85	4,31	6,21
EDAR C1	14/12/2022	6,71	6,01	6,40
EDAR C2	27/03/2023	7,89	6,99	6,78
EDAR C3	30/05/2023	8,27	6,84	7,44
EDAR D1	20/12/2022	8,22	7,20	6,75
EDAR D2	14/02/2023	7,87	6,62	7,15
EDAR D3	08/05/2023	8,35	7,39	7,05
EDAR E1	18/04/2023	7,28	6,63	6,18
EDAR E2	02/05/2023	7,96	6,61	6,43
EDAR E3	16/05/2023	8,14	7,10	7,08
EDAR F1	23/01/2023	7,89	6,41	6,47
EDAR F2	18/04/2023	6,09	4,91	5,49
EDAR F3	16/05/2023	6,25	5,13	6,28
EDAR G1	12/04/2023	3,61	3,43	5,66
EDAR G2	25/04/2023	5,02	4,95	5,55
EDAR G3	16/05/2023	7,83	6,81	7,23
EDAR H1	20/12/2022	8,02	7,45	6,29
EDAR H2	23/01/2023	8,08	7,29	7,22
EDAR H3	20/03/2023	8,34	7,23	7,44
EDAR I1	20/12/2022	7,90	6,53	6,33
EDAR I2	20/02/2023	8,86	6,95	7,09
EDAR I3	20/03/2023	7,62	6,54	6,52
EDAR J1	20/12/2022	8,13	6,89	6,76
EDAR J2	18/04/2023	8,14	7,10	7,30
EDAR J3	24/05/2023	7,20	7,03	7,43
EDAR K1	07/02/2023	8,17	6,94	7,21
EDAR K2	25/04/2023	8,46	7,27	7,19
EDAR K3	30/05/2023	8,15	6,83	7,20
EDAR L1	28/02/2023	8,06	6,74	6,88
EDAR L2	08/03/2023	8,21	7,03	7,39
EDAR L3	28/03/2023	8,29	7,18	7,14
EDAR M1	06/03/2023	6,97	6,66	7,11
EDAR M2	11/04/2023	7,16	6,32	7,22
EDAR N1	20/12/2022	7,91	6,62	6,41

Tabla 5: Resultados de los análisis microbiológicos completos. Elaboración propia. (Continuación)

EDAR	Fecha muestreo	Coliformes totales [log10(UFG/g)]	E. Coli [log10(UFG/g)]	Enterococcus [log10(UFG/g)]
EDAR Ñ1	11/04/2023	7,14	6,67	7,46
EDAR Ñ2	25/04/2023	4,32	<2,92	4,77
EDAR Ñ3	02/05/2023	7,38	6,63	7,36
EDAR O1	20/12/2022	8,06	6,58	6,33
EDAR O2	20/02/2023	9,67	6,76	7,33
EDAR O3	20/03/2023	7,87	6,32	6,85
EDAR P1	31/01/2023	8,58	6,12	7,31
EDAR P2	08/05/2023	8,39	7,12	7,16
EDAR P3	05/06/2023	8,54	6,75	7,69
EDAR Q1	23/01/2023	8,55	7,40	7,02
EDAR Q2	27/02/2023	8,92	6,90	6,98
EDAR Q3	05/06/2023	8,04	7,25	7,35
EDAR R1	14/02/2023	8,23	6,56	6,38
EDAR R2	25/04/2023	8,44	6,64	7,36
EDAR R3	05/06/2023	7,59	6,28	7,98
EDAR S1	14/12/2022	7,62	6,75	6,97
EDAR S2	20/12/2022	7,87	6,06	6,04
EDAR S3	08/05/2023	7,40	6,89	6,26
EDAR T1	20/03/2023	6,92	5,01	5,20
EDAR T2	24/05/2023	8,49	<3,17	5,39
EDAR T3	28/06/2023	8,42	6,90	3,93
EDAR U1	13/06/2023	6,10	<3,34	<3,34
EDAR U2	28/06/2023	5,74	<3,23	5,97
EDAR V1	21/03/2023	8,08	<3,20	6,79
EDAR V2	06/06/2023	7,61	4,50	6,15
EDAR V3	28/06/2023	8,24	3,23	6,61
EDAR W1	21/03/2023	8,67	8,14	7,38
EDAR W2	06/06/2023	7,47	7,24	7,57
EDAR W3	28/06/2023	7,82	7,34	7,27
EDAR X1	13/06/2023	5,72	<3,48	5,73
EDAR X2	28/06/2023	6,05	4,91	8,21

ANEXO III: MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR PARA CADA PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO Y EDAR ANALIZADA

A continuación, en las *Tablas 6, 7 y 8* se incluyen las medias y desviaciones estándar correspondientes de los resultados de cada parámetro microbiológico analizado.

Tabla 6: Resultados de los análisis de coliformes totales. Elaboración propia

EDAR	Media Coliformes totales [log10(UFG/g)]	DS Coliformes totales [log10(UFG/g)]
EDAR A	5,61	0,00
EDAR B	5,76	1,08
EDAR C	7,62	0,81
EDAR D	8,15	0,24
EDAR E	7,79	0,45
EDAR F	6,74	1,00
EDAR G	5,49	2,15
EDAR H	8,15	0,17
EDAR I	8,13	0,65
EDAR J	7,82	0,54
EDAR K	8,26	0,17
EDAR L	8,19	0,12
EDAR M	7,07	0,13
EDAR N	7,91	0,00
EDAR Ñ	6,28	1,70
EDAR O	8,53	0,99
EDAR P	8,50	0,10
EDAR Q	8,51	0,44
EDAR R	8,09	0,45
EDAR S	7,63	0,24
EDAR T	7,94	0,89
EDAR U	5,92	0,25
EDAR V	7,98	0,33
EDAR W	7,99	0,61
EDAR X	5,89	0,23

Tabla 7: Resultados de los análisis de *E. coli*. Elaboración propia

EDAR	Media <i>E. coli</i> [log10(UFG/g)]	DS <i>E. coli</i> [log10(UFG/g)]
EDAR A	4,80	0,0
EDAR B	5,18	0,89
EDAR C	6,61	0,53
EDAR D	7,07	0,40
EDAR E	6,78	0,28
EDAR F	5,48	0,81
EDAR G	5,07	1,69
EDAR H	7,32	0,12
EDAR I	6,67	0,24
EDAR J	7,01	0,11
EDAR K	7,01	0,23
EDAR L	6,98	0,22
EDAR M	6,49	0,24
EDAR N	6,62	0,00
EDAR Ñ	5,41	2,15
EDAR O	6,55	0,22
EDAR P	6,66	0,50
EDAR Q	7,18	0,25
EDAR R	6,50	0,19
EDAR S	6,57	0,44
EDAR T	5,03	1,86
EDAR U	<3,29	0,08
EDAR V	3,64	0,75
EDAR W	7,57	0,49
EDAR X	4,19	1,01

Tabla 8: Resultados de los análisis de *Enterococcus sp.* Elaboración propia

EDAR	Media Enterococcus [log10(UFG/g)]	DS Enterococcus [log10(UFG/g)]
EDAR A	4,89	0,00
EDAR B	6,21	0,58
EDAR C	6,87	0,52
EDAR D	6,98	0,21
EDAR E	6,56	0,47
EDAR F	6,08	0,52
EDAR G	6,15	0,94
EDAR H	6,98	0,62
EDAR I	6,65	0,39
EDAR J	7,16	0,36
EDAR K	7,20	0,01
EDAR L	7,14	0,26
EDAR M	7,16	0,08
EDAR N	6,41	0,00
EDAR Ñ	6,53	1,53
EDAR O	6,84	0,50
EDAR P	7,39	0,27
EDAR Q	7,12	0,20
EDAR R	7,24	0,80
EDAR S	6,42	0,49
EDAR T	4,84	0,79
EDAR U	2,98	4,22
EDAR V	6,52	0,33
EDAR W	7,41	0,15
EDAR X	6,97	1,75

ANEXO IV: RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

A continuación, en la *Tabla 9*, se encuentran todos los resultados de los parámetros físico-químicos de las muestras. Como se puede observar, hay algunas muestras que no tienen resultados para los parámetros pH, N total (%N sms), P (%P₂O₅ sms) y K (%K₂O sms). Esto es debido a que el laboratorio que se encargaba de hacer el análisis físico-químico no pudo hacerlo por diversas causas.

Tabla 9: Parámetros físico-químicos de las muestras de fangos analizadas. Fuente: Laboratorio de NILSA

EDAR	% Materia Seca	% Humedad	pH	N total (%N sms)	P (%P ₂ O ₅ sms)	K (%K ₂ O sms)
EDAR A1	3,26	96,74	7,86	3,11	2,06	0,60
EDAR B1	2,79	97,21	8,04	3,79	1,19	0,42
EDAR B2	2,18	97,82	7,36	5,73	1,56	0,41
EDAR B3	3,89	96,11	7,22	4,34	1,43	0,45
EDAR C1	28,20	71,80	7,29	4,27	1,97	1,05
EDAR C2	2,66	97,34	6,82	5,41	1,67	0,72
EDAR C3	39,95	60,05	6,71	1,68	0,23	1,39
EDAR D1	25,12	74,88	5,77	3,90	1,69	0,42
EDAR D2	32,02	67,98	-	-	-	-
EDAR D3	27,32	72,68	6,66	4,40	2,80	0,40
EDAR E1	1,89	98,11	8,07	8,88	1,70	0,60
EDAR E2	3,70	96,30	7,36	6,27	2,28	0,71
EDAR E3	1,43	98,57	7,95	6,83	1,82	0,79
EDAR F1	4,94	95,06	7,19	3,17	2,93	0,74
EDAR F2	4,82	95,18	5,65	5,10	1,08	0,50
EDAR F3	5,39	94,61	7,25	3,43	1,78	1,14
EDAR G1	7,40	92,60	6,68	4,74	1,45	0,29
EDAR G2	1,61	98,39	5,93	5,41	2,14	0,40
EDAR G3	2,02	97,98	6,72	5,47	2,02	0,75
EDAR H1	0,28	99,72	6,59	4,03	1,80	0,40
EDAR H2	2,06	97,94	6,54	4,42	2,12	0,50
EDAR H3	1,65	98,35	6,16	4,11	1,88	0,43
EDAR I1	2,17	97,83	-	-	-	-
EDAR I2	2,58	97,42	-	-	-	-
EDAR I3	2,90	97,10	6,46	4,71	3,24	0,55
EDAR J1	4,45	95,55	5,35	3,94	2,33	0,72
EDAR J2	1,85	98,15	6,42	32,30	3,08	0,78
EDAR J3	4,30	95,70	6,63	4,94	2,43	0,71
EDAR K1	20,19	79,81	7,19	7,76	3,62	0,44
EDAR K2	23,97	76,03	6,36	5,15	2,94	0,41
EDAR K3	21,51	78,49	6,50	5,25	2,92	0,82
EDAR L1	2,70	97,30	6,94	6,96	2,38	0,72
EDAR L2	0,45	99,55	-	-	-	-
EDAR L3	1,15	98,85	6,20	6,76	2,25	0,73
EDAR M1	2,33	97,67	5,74	3,86	1,47	0,46
EDAR M2	2,49	97,51	5,49	5,20	1,83	0,43
EDAR N1	4,24	95,76	-	-	-	-

Tabla 9: Parámetros físico-químicos de las muestras de fangos analizadas. Fuente: Laboratorio de NILSA
(Continuación)

EDAR	% Materia Seca	% Humedad	pH	N total (%N sms)	P (%P2O5 sms)	K (%K2O sms)
EDAR Ñ1	3,37	96,63	7,16	5,26	2,73	0,63
EDAR Ñ2	2,40	97,60	5,43	3,56	1,20	0,45
EDAR Ñ3	5,25	94,75	7,15	4,52	2,66	0,64
EDAR O1	4,76	95,24	6,72	5,34	2,14	0,75
EDAR O2	1,38	98,62	6,87	5,31	1,86	0,75
EDAR O3	3,79	96,21	5,34	3,67	2,24	0,79
EDAR P1	22,00	78,00	6,75	7,91	3,50	0,69
EDAR P2	17,96	82,04	5,99	9,18	3,46	0,72
EDAR P3	20,32	79,68	6,08	7,48	2,87	0,62
EDAR Q1	3,10	96,90	6,93	4,16	1,93	0,45
EDAR Q2	2,77	97,23	7,24	2,57	1,75	0,57
EDAR Q3	3,32	96,68	6,95	3,08	3,68	0,37
EDAR R1	28,93	71,07	7,12	4,03	1,45	0,63
EDAR R2	27,03	72,97	6,49	3,66	1,44	0,39
EDAR R3	26,31	73,69	5,63	5,39	1,56	0,51
EDAR S1	1,94	98,06	7,52	6,06	2,82	0,81
EDAR S2	2,92	97,08	7,28	5,44	2,50	0,74
EDAR S3	1,56	98,44	6,93	6,70	2,92	0,70
EDAR T1	11,11	88,89	7,12	2,92	1,02	0,30
EDAR T2	13,17	88,83	5,74	2,34	1,98	0,49
EDAR T3	14,99	85,01	-	-	-	-
EDAR U1	0,91	99,09	7,90	5,37	1,56	1,30
EDAR U2	1,17	98,83	7,86	4,70	1,45	0,88
EDAR V1	12,43	87,57	6,58	9,33	4,13	2,02
EDAR V2	12,16	87,84	-	-	-	-
EDAR V3	11,61	88,39	-	-	-	-
EDAR W1	16,09	83,91	6,81	4,03	1,26	0,31
EDAR W2	14,80	85,20	-	-	-	-
EDAR W3	13,98	86,02	-	-	-	-
EDAR X1	0,67	99,33	7,45	6,08	4,82	2,34
EDAR X2	0,49	99,51	7,41	5,12	2,87	1,72