



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**“EVALUACION DEL COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS ESCHERICHIA
COLI Y ENTEROCOCCUS SPP EN UN SISTEMA UV”**

Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Ingeniero Ambiental

AUTOR: FABIAN EMMANUEL LEMA CHACHA

TUTORA: ING. PAOLA JACKELINE DUQUE SARANGO

Cuenca - Ecuador
2022

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Fabian Emmanuel Lema Chacha con documento de identificación N° 0302912365, manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 03 de agosto del 2022

Atentamente,



Fabian Emmanuel Lema Chacha

0302912365

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Fabian Emmanuel Lema Chacha con documento de identificación N° 0302912365, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo Experimental: “Evaluación del comportamiento de las bacterias Escherichia Coli y Enterococcus Spp en un sistema UV”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero Ambiental, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 03 de agosto del 2022

Atentamente,



Fabian Emmanuel Lema Chacha

0302912365

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Paola Jackeline Duque Sarango con documento de identificación N° 1104257835, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACION DEL COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS ESCHERICHIA COLI Y ENTEROCOCCUS SPP EN UN SISTEMA UV, realizado por Fabian Emmanuel Lema Chacha con documento de identificación N° 0302912365, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 03 de agosto del 2022

Atentamente,



Ing. Paola Jackeline Duque Sarango

1104257835

Dedicatoria y agradecimiento

Le dedico este trabajo de titulación a mis padres y familia, y principalmente a Dios por darme la oportunidad de estudiar y la sabiduría para terminar la carrera, le agradezco a mi familia que siempre me han apoyado y acompañado en cada obstáculo que se ha presentado, especialmente a mis padres que nunca me han dejado solo, con sus consejos y su amor he podido llegar a cumplir muchos de mis objetivos, a lo largo de este camino me han enseñado a nunca rendirme, con sus palabras y amor, he superado muchos obstáculos que se me han presentado.

De manera especial expreso mi gratitud a mi tutora de tesis, Ing. Paola Duque quien brindó su paciencia, experiencia, dedicación y tiempo para hacer posible que el presente proyecto de tesis termine de la mejor manera posible en cada momento que se nos presentaba una duda sobre el desarrollo de esta.

Resumen

La contaminación y escasez del agua es un problema local, regional y mundial, que ha ido en aumento como consecuencia del cambio climático, con ello el desarrollo de nuevas tecnologías de desinfección para ayudar al planeta y proporcionar agua más limpia es esencial. El trabajo de investigación actual se centra en el proceso de desinfección UV, utilizando un reactor de lámpara UV de baja presión de un solo paso, con el objetivo de estudiar el comportamiento de las bacterias como son la cepa de *Escherichia Coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp. Las cinéticas de inactivación se investigaron mediante pruebas repetibles y comparables de los reactores, así como la cinética de reparación en la oscuridad y la fotoactivación posterior al tratamiento y su relación con la dosis.

También se encontró que la turbidez tiene influencia en la inactivación de las bacterias dependiendo de la concentración de turbidez y del especies que se esté tratando, se encontró que con *Escherichia Coli* ATCC 8739 los procesos de inactivación son casi similares en rangos de turbidez de 0 a 32 NTU, con las diferentes concentraciones de turbidez, mientras que en la bacteria *Enterococcus* sp, si influye la turbidez en los procesos de inactivación, esta mientras más alta es menor es la eficiencia de inactivación.

Sobre la base de las pruebas experimentales realizadas, se concluyó que para eliminar aproximadamente $-4,5 \text{ Log(s)}$ de *Escherichia Coli* ATCC 8739 se necesitan; $13,8 \text{ mJ/cm}^2$ con una turbidez de 0 FTU, 17 mJ/cm^2 con una turbidez de 12 NTU, y $18,5 \text{ mJ/cm}^2$ cuando se tiene un turbidez de 32 FTU en el agua de experimentación. Para la bacteria *Enterococcus* sp, se necesita $13,8 \text{ mJ/cm}^2$ para eliminar aproximadamente -3 Log(s) cuando la turbidez es de 0 FTU, mientras que para inactivar lo mismo, pero con una turbidez de 11 FTU, se

necesita aproximadamente 19 mJ/cm^2 de dosis y para una turbidez de 32 FTU, se necesita aproximadamente $18,5 \text{ mJ/cm}^2$ para eliminar alrededor de $-1,90 \text{ Log(s)}$, no logrando una disminuyendo como las otras concentraciones de turbidez, concluyendo que la bacteria *Enterococcus* en combinación con la turbidez es mucho más resistente a que la bacteria *Escherichia Coli ATCC 8739*.

Palabras claves: Desinfección UV, *E. coli ATCC 8739*, *Enterococcus sp*, turbidez.

Summary

Water pollution and scarcity is a local, regional and global problem, which has been increasing as a result of climate change, thus the development of new disinfection technologies to help the planet and provide cleaner water is essential. The current research work focuses on the UV disinfection process, using a single-step low-pressure UV lamp reactor, with the aim of studying the behavior of bacteria such as the *Escherichia Coli* ATCC 8739 strain and *Enterococcus* sp. . Inactivation kinetics were investigated by repeatable and comparable tests of the reactors, as well as dark repair kinetics and post-treatment photoactivation and their relationship to dose.

It was also found that turbidity has an influence on the inactivation of bacteria depending on the concentration of turbidity and the species being treated, it was found that with *Escherichia Coli* ATCC 8739 the inactivation processes are almost similar in turbidity ranges from 0 at 32 NTU, with the different concentrations of turbidity, while in the bacteria *Enterococcus* sp, if the turbidity influences the inactivation processes, the higher the turbidity, the lower the inactivation efficiency.

Based on the experimental tests performed, it was concluded that approximately -4.5 Log(s) of *Escherichia Coli* ATCC 8739 are needed to remove; 13.8 mJ/cm² with a turbidity of 0 FTU, 17 mJ/cm² with a turbidity of 12 NTU, and 18.5 mJ/cm² with a turbidity of 32 FTU in the experimental water. For the bacterium *Enterococcus* sp, it takes 13.8 mJ/cm² to remove approximately -3 Log(s) when the turbidity is 0 FTU, while to inactivate the same, but with a turbidity of 11 FTU, it takes approximately 19 mJ/cm² dose and for a turbidity of 32 FTU, approximately 18.5mJ/cm² is needed to eliminate around -1.90 Log(s), not achieving a decrease like the other turbidity concentrations, concluding that the *Enterococcus* bacteria in combination with the

turbidity it is much more resistant to the bacteria Escherichia Coli ATCC 8739.

Keywords: UV disinfection, E. coli ATCC 8739, Enterococcus sp, turbidity.

Índice General

Capítulo I.....	17
1. Introducción	17
1.1. Problema	18
1.2. Justificación	19
1.3. Delimitación	21
1.4. Explicación del problema.....	22
Capítulo II	23
2. Objetivos del proyecto.....	23
2.1. Objetivo General	23
2.2. Objetivos específicos	23
Capítulo III.....	24
3. Fundamento Teórico	24
3.1. Contaminación del agua.....	24
3.2. Enfermedades producidas por la contaminación del agua	24
3.3. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos	27
3.4. Microorganismos indicadores de contaminación de aguas	28
3.4.1. Bacteria Escherichia coli.....	29
3.4.2. Bacteria Enterococcus spp.	31
3.5. Desinfección	31
4. Desinfección mediante radiación ultravioleta (UV)	33
4.1. Ventajas y desventajas al utilizar el proceso de desinfección ultravioleta	33
4.2. El cloro Desinfección vs. Desinfección UV.....	34

4.3. Lámparas de Hg de desinfección UV	35
4.4. Reactores de laboratorio de desinfección UV.	35
4.5. Cinéticas de inactivación	36
4.6. Mecanismos de reparación	38
4.6.1. Fotoreactivación	39
4.6.2. La turbidez en la eficiencia del tratamiento de desinfección con UV	40
4.7. Método de filtración de membrana	41
4.8. Desinfección Ultravioleta para el tratamiento de aguas residuales	42
4.9. Coliformes como indicador de contaminación fecal.....	43
4.10. Relación Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp en los ambientes acuáticos estudiados	44
Capítulo V.....	46
5. Materiales y Métodos	46
5.1. Reactor UV	46
5.2. Agua utilizada	49
5.3. Reactivación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp	49
5.3.1. Obtención de las bacterias.....	49
5.4. Preparación del caldo nutritivo Tryptone Soya Broth (TSB)	50
5.5. Preparación del medio de cultivo para bacteria Escherichia coli ATCC 8739.....	51
5.6. Bacteria Enterococcus spp.	53

5.7. Separación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp.....	54
5.8. Parámetros bioquímicos del agua residual.....	55
6. Pruebas iniciales y ajustes hidráulicos	56
6.1. Disposición de la cepa certificada y tierra de diatomeas para turbidez.....	56
6.2. Recolección de la muestra.....	57
6.3. Medición del caudal en los ensayos.....	57
6.4. Cálculo de la longitud de la lámpara descubierta	57
6.5. Cálculo del radio externo de la funda de cuarzo.....	58
6.6. Cálculo de la dosis suministrada a diferentes caudales ..	58
6.7. Diluciones de las muestras de agua tratada	59
6.8. Técnica de filtración por membrana	60
6.9. Recuento de colonias.....	61
6.10. Estudiar los procesos de reactivación	62
6.11. Evaluación cuantitativa de fotoreactivación y reparación en oscuridad.....	62
Capítulo VII.....	64
7. Resultados y discusión.....	64
7.1. Análisis bioquímicos del agua residual.....	64
7.2. Resultado de los ensayos de inactivación de la cepa Escherichia coli ATCC 8739	65
7.3. Resultado de los ensayos de inactivación de la cepa Enterococcus sp.....	67
7.4. Ajuste de los datos a los modelos teóricos de inactivación bacteriana	70

7.4.1. Modelos experimentales de ajustes	71
7.4.2. Descripción de los modelos de ajustes y sus ecuaciones en el estudio de la inactivación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp.....	74
7.5. Modelos de inactivación para la bacteria Escherichia coli ATCC 8739 y parámetros necesarios del estudio	75
7.6. Modelos de inactivación para la bacteria Enterococcus sp y parámetros necesarios del estudio	76
7.7. Resultados de la inactivación de la bacteria Escherichia coli ATCC 8739 y reactivación a luz y oscuridad	77
7.7.1. Comparación de todas las 3 variantes de turbidez en la inactivación de Escherichia coli ATCC 8739	80
7.8. Resultados de la inactivación de la bacteria Enterococcus sp y reactivación a luz y oscuridad	81
7.8.1. Comparación de todas las 3 variantes de turbidez en la inactivación de Enterococcus sp	84
Discusión.....	86
Conclusiones	87
Recomendaciones	89
Bibliografía.....	90
Linkografía	98
Anexos	99

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Porcentaje de enfermedades a nivel mundial. Fuente. Organización de las Naciones Unidas (ONU).....	27
Ilustración 2. E. coli en una gota de agua de un antiguo grifo de la calle.....	30
Ilustración 3. Bacteria Enterococcus spp microscópica	31
Ilustración 4. Comparación del espectro de acción de la inactivación del E. Coli.....	38
Ilustración 5. Esquema de desinfección ultravioleta utilizada en el laboratorio	46
Ilustración 6. Diseño experimental para estudiar la inactivación de bacterias E. por desinfección UV	47
Ilustración 7. Medio Merck Coliformes Agar Acc. Chromocult®	52
Ilustración 8. Medio M Enterococos Agar, de la marca ALPHA	54
Ilustración 9. Tubos para centrifugar.....	54
Ilustración 10. Equipo de filtración por membrana.....	60
Ilustración 11. Contador de colonias	61
Ilustración 13. Contador de colonias	66
Ilustración 14. Bacterias Escherichia Coli ATCC 8739 distribuidas por muestras.....	67
Ilustración 15. Bacteria Enterococcus sp.....	69
Ilustración 16. Bacterias Escherichia Coli ATCC 8739 distribuidas por muestras.....	70
Ilustración 17. Comparación de la bacteria Enterococcus sp a diferentes concentraciones de turbidez.	71
Ilustración 18. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria Enterococcus sp con 0 FTU.....	72

Ilustración 19. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria <i>Enterococcus</i> sp con 12 FTU.	72
---	----

Ilustración 20. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria <i>Enterococcus</i> sp con 22 FTU.	73
---	----

Índice de Tablas

Tabla 1. Parametros necesarios para calcular la dosis UV	48
Tabla 2. Especificaciones de las características del cuarzo y lampara y del reactor	49
Tabla 3. Identificación de color a bacteria.....	53
Tabla 4. Ensayos válidos	64
Tabla 5. Resultados de Iso ensayos de inactivación de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	65
Tabla 6. Resultados de los ensayos de inactivación de la cepa <i>Enterococcus</i> sp.....	68
Tabla 7. Modelo de inactivación y parámetros	75
Tabla 8. Modelo de inactivación y parámetros de la bacteria <i>enterococcus</i>	76

Índice de Figuras

Figura 1. Resultado de la inactivación de la bacteria <i>escherichia coli</i> ATCC8739 a 0 FTU	77
Figura 2. Inactivación de la bacteria <i>Escherichia Coli</i> ATCC 8739 a 11 FTU de turbidez	78
Figura 3. Inactivación de la bacteria <i>Escherichia Coli</i> ATCC 8739 a 32 FTU de turbidez	79
Figura 4. Comparación con las diferentes concentraciones de turbidez a la bacteria <i>Escherichia Coli</i> ATCC 8739.....	80

Figura 5. Comparación con las diferentes concentraciones de turbidez a la bacteria Escherichia Coli ATCC 8739.....	81
Figura 6. Inactivación de la bacteria Enterococcus sp a 0 FTU de turbidez.....	82
Figura 7. Inactivación de la bacteria Enterococcus sp a 12 FTU de turbidez.....	83
Figura 8. Inactivación de la bacteria Enterococcus sp a 32 FTU de turbidez.....	84
Figura 9. Comparación a diferentes concentraciones de turbidez	85
Figura 10. Comparación de la bacteria Enterococcus sp a diferentes concentraciones de turbidez	86

Capítulo I.

1. Introducción

A medida que crece la población, la condición del agua se ha visto comprometida y se ha convertido en una preocupación a nivel mundial, ya que, el crecimiento de las actividades industriales y agrícolas. La amenaza constante del cambio climático está provocando cambios significativos en el ciclo hidrológico. El agua limpia es escasa y aumentara más a medida que progresa el cambio climático (ONU-Agua, 2019).

Con frecuencia, los patógenos como (virus, bacterias y protozoos) son los principales responsables de las enfermedades del tracto digestivo humano, y el 50 % de las enfermedades gastroenteritis se deben a beber agua contaminada con heces humanas y animales, que se otorgan a toxinas de producción propia (Rosario & Anderson. et al., 2005).

Los conteos de bacterias o conjuntos de bacterias indicativos de contaminación fecal se utilizan para evaluar la calidad higiénica de sedimentos, agricultura, fabricas y agua para consumo humano, y son recomendados por la 'OMS' como indicadores de son las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, ya que el primero es uno de los indicadores más sensibles de los niveles de contaminación cerca de los drenajes, los *Enterococos* por su parte viven más tiempo en las aguas residuales, imitando mejores las características de supervivencia (Borrego Arrabal & Romero. et al., 1982).

Una alternativa al cloro que no produce efectos nocivos para el medio ambiente es la radiación UV, la turbidez juega un papel significativo para medir la calidad del agua, ya que cuando se presenta una alta turbidez, los microorganismos que se encuentran presentes quedan protegidos de la desinfección, lo que estimula la proliferación de bacterias. (Mousati, 2011).

De esta forma, este trabajo de grado analizó el efecto de la concentración de sólidos en suspensión, medida por la turbidez en ensayos controlados en laboratorio, para evaluar como esta influye en los procesos de inactivación de las bacterias, específicamente en *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp que pasan por un reactor UV que contiene una lámpara UV de baja presión, y de este modo ofrecer una opción frente la contaminación al agua.

1.1. Problema

Es considerable que una de las mayores preocupaciones globales y locales es la calidad del agua, con el ciclo hidrológico amenazado por varios factores que contienen la enorme expansión de las actividades agrícolas e industriales, la sobrepoblación, la expansión de actividades y la amenaza del cambio climático. Por lo tanto, el agua limpia es escasa y será aún más escasa a medida que avance el cambio climático dentro del mundo entero. (ONU-Agua, 2019)

El Banco Nacional de Brasil (Social, 1998) y el Desarrollo Económico, muestra que el 65% de niños, menores de 10 años están hospitalizados y carecen de higiene básica. En los países más desarrollados se pronostica que el 80% de las enfermedades y más de la tercera parte de las muertes están relacionadas con el uso y consumo de agua contaminada. (Galal-Gorchev., 1996)

Si bien es cierto que las bacterias el *E. coli* y *Enterococcus* sp están presentes en el agua en varios sectores dentro de Ecuador. La bacteria *Escherichia coli* se encontró en el 20,7 % de las pruebas de calidad tomadas en 4.400 hogares de todo el país, según un estudio del INEC sobre agua potable, y en las zonas rurales la situación empeoró: el 50 % del agua estaba contaminada (UNICEF, 2021)

El impacto ambiental que puede tener el cloro, pues si bien es un poderoso desinfectante, también llega a ser un químico peligroso que

debe manejarse con cuidado. Por esto su acción con los compuestos fenólicos puede afectar negativamente al medio ambiente, e incluso a los humanos. Esto se debe a que se ha comprobado que la cloración provoca trihalometanos como el tricloruro de metilo (CH_3Cl) al reaccionar con compuestos orgánicos en el agua. Estos compuestos se conocen como carcinógenos porque son dañinos para los organismos que conviven en el suelo y el agua, y debido a que están presentes en concentraciones tan bajas como 0,1ppm, pueden afectar negativamente a estos organismos. Por lo tanto, la cloración del agua es un problema ambiental importante debido a la variedad de compuestos latentemente tóxicos producidos durante dichos tratamientos (Mousati, 2011).

La forma típica de desinfección con cloro ha sido discutida y cuestionada en los últimos años, especialmente debido a los niveles inaceptables de formación de trihalometanos y varios carcinógenos, lo que resulta en una desinfección por productos. llamados DBP (acrónimo de Disinfection By-Products), resultando estos nocivos para la salud pública de unos 200 a 320 nm (Sanchez, 2008).

La turbidez, por otro lado, representa un vehículo potencial para que las bacterias penetren las barreras de tratamiento del agua, contaminen el agua potable y marquen la salud posterior. Se ha demostrado que la turbidez afecta a través de múltiples mecanismos, englobando la dispersión y la absorción de la luz ultravioleta incidente, y otro mecanismo importante mediante el cual puede ejercer un efecto protector sobre los microbios, los virus y las bacterias, , lo que afecta la eficiencia de la inactivación de la luz ultravioleta. (Borrego Arrabal & Romero. et al., 1982).

1.2. Justificación

La mayoría de las actividades y procesos productivos, el agua utilizada se contamina y se devuelve al cauce, en donde la calidad suele

deteriorarse con los usos posteriores, incluido el riego. Dependiendo del grado de contaminación, las aguas residuales en algunos de los casos llegan a ser dañinas para la vida, y el medio ambiente como, por ejemplo, ocasionando la muerte peces. En ciertas ocasiones puede liberar compuestos volátiles que causan sabor y olor y pueden causar inconvenientes en operaciones de tratamiento de agua y alcantarillado. (J.R. Guimarães, 2001)

El control de calidad sanitaria de los recursos ambientales suele evaluarse mediante el conteo de bacterias indicadoras de contaminación fecal. (Bachoon DS, 2010). Estas bacterias se pueden utilizar para evaluar la calidad de los sedimentos, los alimentos y el agua para el consumo humano, la agricultura y la industria, y no existen métricas universales, por lo que se deben elegir las que mejor se adapten a la situación específica en estudio. (Luby SP, 2008) Los indicadores para la evaluación de contaminación fecal más empleados son los termotolerantes y coliformes totales, *Escherichia coli* y *Enterococcus*. (Rossen A, 2008)

Una alternativa al método habitual de desinfección con cloro es el uso de radiación UV con longitudes de onda en el rango germicida (200-320 nm). Entendiéndose que cuando se realiza una desinfección con radiación ultravioleta (UV) se dice que es un desinfectante físico libre de residuos que ha logrado eliminar exitosamente a los microorganismos de las aguas residuales industriales y domésticas para ser reutilizados. (Cairns, Luz Ultravioleta, 2008). Después del tratamiento, las aguas residuales pueden reutilizarse o utilizarse para fines específicos

La radiación ultravioleta inmoviliza los microorganismos por deterioro fotoquímico directo a los ácidos nucleicos. Actualmente, la radiación ultravioleta es una de la tecnología más factible para inactivar

patógenos en aguas residuales o agua potable (Bolton & Linden. et al., 2003)

En función de su destino, existen restricciones máximas admisible para ser reutilización en los distintos ámbitos como por ejemplo el riego, el paisajismo, el consumo humano o el consumo animal. (Quek, 2008). La única alternativa rentable que no genera y a su vez tampoco desprende subproductos cancerígenos al medio ambiente es la luz ultravioleta. También la desinfección ultravioleta es un esterilizante efectivo contra protozoos tolerantes al cloro como *Cryptosporidium* y *Giardia*. (USEPA, 1999).

El grado de efectividad de una desinfección con UV tiende a depender de la turbiedad del agua tratada y de la transmisión resultante de la luz UV a través del agua. Por lo tanto, es necesario comprender el efecto que causa la turbidez a diferentes concentraciones en la inactivación de la radiación UV. (Acosta, 2015)

1.3. Delimitación

Para sustituir la desinfección habitual con cloro, se han creado los métodos con desinfección ultravioleta (UV), que transfieren energía electromagnética desde unas lámparas que contienen vapor de mercurio al material genético (ADN o ARN) de un organismo. Una vez que la radiación ultravioleta ingresa a las paredes celulares de un organismo, interrumpe la capacidad de reproducción de las células (USEPA, 1999).

El problema que surge al contar y verificar todos los patógenos que se encuentran presentes en el agua es demasiado lento y costoso, dada la gran diversidad de indicadores microbianos y sus pequeñas concentraciones (Quek, 2008).

Debido a la complejidad, el costo y el tiempo requerido para obtener resultados, las pruebas para un patógeno específico a menudo se

limitan a la validación, es decir, verificar si un tratamiento u otro proceso es eficiente para eliminar los microorganismos. El estudio, dado que las cepas de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus* fueron utilizadas como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales, se determinó la capacidad depurativa de las cepas a través de un proceso de radiación ultravioleta (Acosta, 2015)

La experimentación se ejecutó a nivel de laboratorio, concretamente en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca-Ecuador, donde se utilizó un reactor UV para su funcionamiento que contiene una lámpara ultravioleta de baja presión de la marca Hidrotek, con una potencia de 6W y una longitud de onda de 254nm, cuyo objetivo fue estudiar la inactivación de las bacterias *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp a diferentes concentraciones de turbidez.

1.4. Explicación del problema

La desinfección del agua tiene como objetivo provocar la muerte de todos los organismos que provocan diversas enfermedades o patógenos. Como método de desinfección ideal, se debe garantizar una alta destrucción de microorganismos patógenos sin efectos adversos, como subproductos tóxicos o cambios en el medio ambiente. (Alcalde L., 1968). Así como también se menciona que es importante estudiar la inactivación con la turbidez ya que podría minimizar la inactivación de las bacterias.

En este caso, una alternativa de compromiso para minimizar la contaminación del agua y garantizar una desinfección ideal, es estudiar los procesos de desinfección UV se plantea realizar ensayos de inactivación de las bacterias *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp a diferentes concentraciones de turbidez, en esta tesis

se plantea la siguiente hipótesis: "La turbidez tiene un gran efecto a concentraciones altas en la radiación UV"

Capítulo II

2. Objetivos del proyecto

2.1. Objetivo General

Estudiar los procesos de desinfección UV, mediante un sistema experimental de laboratorio para microorganismos cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* spp.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar ensayos de inactivación de bacterias cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp, utilizando agua potable real a distintas concentraciones de sólidos suspendidos.

- Realizar ensayos de reactivación ante procesos consecutivos de oscuridad y luz, mediante el estudio de las cinéticas de ajuste a los modelos

- Comparación estadística de la eficiencia de inactivación de las variantes ensayadas.

Capítulo III

3. Fundamento Teórico

3.1. Contaminación del agua

El agua es el medio a través del cual la sociedad puede observar muchos de los efectos de la crisis climática, entre otras cosas, porque presenta varios riesgos para los diferentes sectores como son de energía, agricultura, salud y transporte. Estos se ven afectados por interacciones con factores no climáticos, como el crecimiento demográfico, la migración, el desarrollo económico, la urbanización, los cambios en el entorno natural y el paisaje, o factores que amenazan la sostenibilidad de los recursos debido al uso de la tierra. Por ende, reducen el suministro de agua o aumentan la demanda de agua. (Ramirez. et al., 2011)

Hay varios desafíos dentro de la implementación de sistemas de calidad del agua y defensa de los ecosistemas, incluida la necesidad de mejorar el acceso a la infraestructura física y financiera, la creación de capacidad institucional y el cumplimiento para desarrollar y monitorear estándares y regulaciones, para con ello mejorar la calidad del agua y la contabilidad limitada para la protección del ecosistema. Mediante información y experiencia (escala, datos, validación y relevancia de campo, valor agregado en la toma de decisiones, valoración monetaria), y planificación del uso del suelo y del agua (Ramirez. et al., 2011)

3.2. Enfermedades producidas por la contaminación del agua

“El agua es la sustancia más importante y común en planeta, y su disponibilidad siempre ha sido el factor más crítico para la existencia y supervivencia en el desarrollo de todas las formas de vida en la Tierra” (Hazen & Fuentes, 1988).

Por lo tanto, se cree que, en el desarrollado de la historia humana, siempre se han establecido en áreas con abundante abastecimiento de agua dulce y, a medida que aumenta la población, el abasto natural de

agua se vuelve limitado. tecnología y sistemas. Introducir nuevos embalses (como cavar pozos y construir acueductos) y distribuir agua para regar cultivos, alimentar animales y ellos mismos. Las entidades en desarrollo inicialmente hallaron grandes problemas con la obtención y distribución de agua potable adecuada. Pero pronto, otras complicaciones en áreas densamente pobladas, como el aumento de desechos, aguas residuales y otros ejemplos de contaminación, también se convirtieron en factores de riesgo para el agua potable (Chung, Kim, Shadchehr, Garrido, & Macgregor, 1979).

Una vaga comprensión de la necesidad de salvaguardar las fuentes de agua de los desechos y aguas residuales está documentada en registros históricos como la Biblia. En la Europa medieval, sin embargo, se olvidó una gran cantidad de conocimientos prácticos, por lo que los desechos orgánicos y efluentes de las ciudades fueron mal tratados. Se reputa que los inicios periódicos de enfermedades diarreicas y cólera están relacionados con las circunstancias atmosféricas locales más que con el agua residual. (Rossen, y otros, 2008).

Se considera también en cuanto a las directrices y la legislación recientes de la OMS establecen que los microorganismos patógenos en el agua potable deben contener solo pequeñas cantidades de microorganismos patógenos para mantener el problema de infecciones provocadas por ingerir agua por debajo de los límites aceptables (Chung, Kim, Shadchehr, Garrido, & Macgregor, 1979)

El desempeño de estas necesidades exige la conservación de los recursos y un manejo estricto del agua cruda, así como un exhaustivo control de calidad del proceso. Por lo tanto, la supervisión del comportamiento de los patógenos en el agua potable también es fundamental como base para futuros procesos de tratamiento mejorados

y nuevas regulaciones (Chung, Kim, Shadchehr, Garrido, & Macgregor, 1979)

La calidad del agua que se entiende de confianza para el consumo humano tiene, a nivel químico y microbiológico, algunas de las características especificadas en las Guías para la Calidad del Agua Potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2006). En general, para que el agua se considere certera para beber, no debería contener sustancias tóxicas y patógenos para los humanos (USEPA, 2002)

Se pronostica que el 4% de todas las muertes en el mundo están vinculadas con la calidad del agua, y el saneamiento. (ONU-Agua, 2019) En el Caribe y América Latina , la enfermedad diarreica aguda es una de las 10 principales causas de muerte cada año por inconvenientes de calidad del agua, especialmente por el mal manejo de las aguas residuales (D. Valbuena).

Un estudio publicado en Water Research en enero de 2018 observo que la concentración de coliformes fecales en el agua está estrechamente vinculada con la densidad de población aguas, mientras que el volumen de aguas residuales per cápita de las poblaciones urbanas en los ríos es aproximadamente 100 veces el de las poblaciones rurales. (Organizacion Mundial de la Salud, s.f.).

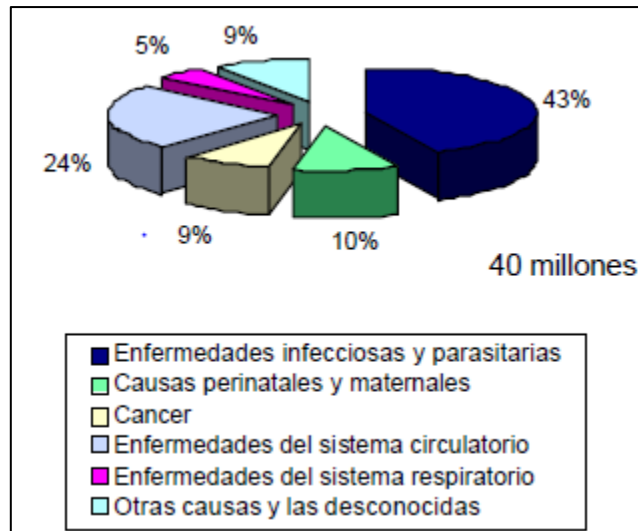


Ilustración 1. Porcentaje de enfermedades a nivel mundial. Fuente. Organización de las Naciones Unidas (ONU).

Fuente: (ONU-Agua, 2019)

3.3. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos

Estos parámetros proporcionan una amplia información sobre las variedades químicas del agua y sus propiedades físicas, pero no sobre sus efectos acuáticos; los métodos biológicos ofrecen esta información, pero no dicen nada sobre los contaminantes que contienen, por lo que diversos científicos sugieren usar ambos métodos al evaluar los recursos hídricos (Jornada de jóvenes investigadores, 2018).

“La transmitancia es una medida expresada como el porcentaje de luz incidente por centímetro de la cubeta (%/cm), si la transmitancia es del 100%, significa que se transmite toda la luz, por lo que la absorbancia será del 0%” (IANAS, 2019).

“En parámetros como la turbidez, es una medida de la pérdida de claridad del agua por la presencia de partículas en suspensión, es decir, a más sólidos en la suspensión, más contaminación y por tanto mayor turbidez” (Samboni Ruiz, 2007).

La conductividad es la aptitud que tiene una sustancia de conducir una corriente eléctrica mediante los iones presentes en el agua y obviamente depende de su concentración, propiedades, temperatura de la solución y viscosidad, también hay que considerar que es lo contrario de la eléctrica. Resistencia (Samboni Ruiz, 2007).

Todos los productos clorados producen ácido hipocloroso (HClO-) cuando reaccionan con el agua. Como es de nuestro conocimiento, la cantidad de ácido hipocloroso se ve muy afectada por el pH. Estas dos formas de cloro están en equilibrio en el agua, aunque esto depende del pH.

3.4. Microorganismos indicadores de contaminación de aguas

Los indicadores microbianos de la calidad del agua son organismos con conductas parecidas a los microorganismos patógenos, su presencia determina la presencia de patógenos y se pueden comparar sus respuestas a los cambios de pH y temperatura o la aplicación de métodos físicos o químicos de desinfección, con la ventaja de ser más fáciles de cultivar o identificar y económicamente viables. Demandan la identificación y cuantificación de microorganismos mediante un índice de diversidad ajustado a un intervalo que define la calidad del agua, y si bien la información microbiana obtenida de su análisis no puede reemplazar el análisis fisicoquímico, reduce costos y brinda información para el monitoreo de la calidad del agua (Liberti, 2002).

La contaminación microbiana o microbiológica es un problema generalizado en todo el mundo, y el agua es uno de los portadores más importantes de dicha contaminación, lo que contribuye a la propagación de bacterias, virus, hongos, esporas, protozoos y más. Las enfermedades provocadas por estas bacterias pueden transmitirse a través de la absorción de agua sin tratar o tratada de manera inadecuada, la deglución de especies acuáticas infectadas, el contacto de la piel con agua

contaminada y aguas residuales que no se desinfectan adecuadamente cuando se reutiliza dicha agua. (Liberti, 2002). Para controlar adecuadamente los contaminantes biológicos, especialmente los microorganismos perjudiciales, presentes en las aguas contaminadas, es útil utilizar indicadores biológicos de contaminación, como coliformes fecales, coliformes totales y *Escherichia coli*.

El uso de indicadores microbiológicos reduce el problema de analizar todos los patógenos que se encuentran en el agua ya que son numerosos y se encuentran en muy pequeñas concentraciones. Por otro lado, reduce el riesgo de exposición del analista a microorganismos patógenos y permite obtener resultados microbiológicos en un menor tiempo ya que los métodos microbiológicos disponibles asociados a la detección de patógenos son muy extensos (Liberti, 2002).

3.4.1. Bacteria *Escherichia coli*

En la década de 1960, los coliformes termotolerantes fueron seleccionados como el principal indicador debido a su mejor correlación con las fuentes fecales, principalmente la *Escherichia coli* que es un subgrupo de coliformes termoestables. La USEPA propone establecer un nuevo estándar para *E. coli* (63 % de concentración de coliformes termotolerantes) como la calidad base del agua para brindar el mismo nivel de protección contra los patógenos presentes en el agua (USEPA, 2002).

Es una bacteria anaeróbica facultativa, Gramnegativa de la familia Enterobacteriaceae, que se halla frecuentemente en el intestino de los mamíferos, incluidos los humanos, y por lo tanto en las aguas residuales. En organismos sanos, es parte de la flora intestinal y ayuda en la filtración de nutrientes. Estas bacterias tienen membranas y paredes celulares que son objetivos bien definidos para cualquier desinfectante en el entorno extracelular; sin embargo, estas capas son estructuras

complejas con múltiples capas de lipopolisacáridos A y dos bicapas de fosfolípidos. *E. coli* se usa ampliamente como microorganismo indicador debido a su disposición de crecimiento y detección en el laboratorio. (Quek, 2008), así como su origen esencialmente fecal y están incluidos en todas las normas de agua.



Ilustración 2. *E. coli* en una gota de agua de un antiguo grifo de la calle.

Fuente: <https://www.condalab.com/blog/retrospectiva-de-la-importancia-de-escherichia-coli-en-la-salud-humana-n15>

La mayoría de las bacterias *E. coli* son inocuas, aunque algunas llegan a causar enfermedades que van desde diarrea simple, diarrea con sangre, artritis y arteriosclerosis hasta síndrome urémico hemolítico, infecciones del sistema nervioso central y, en última instancia, la muerte. Es más posible que estos problemas ocurran en niños y adultos con sistemas inmunitarios debilitados. Las cepas más virulentas son O157:H7 y O104:H4. Este último condujo a una epidemia en Alemania en 2011, que afectó a miles y en algunos casos causó la muerte (Jeny Adina Larrea-Murrell, 2013).

“Las desviaciones de las condiciones óptimas de crecimiento, el daño a los componentes celulares y la pérdida de respuestas celulares pueden ocurrir con este microorganismo en cualquier situación estresante, como durante la esterilización” (Quek, 2008).

3.4.2. Bacteria *Enterococcus* spp.

Es una bacteria (cocos Grampositivos) que se presenta en pares o en cadenas cortas. Los miembros de este género se clasificaron como estreptococos del grupo D hasta 1984. Los enterococos son parte del microbiota normal del tracto gastrointestinal humano. Las especies más comunes en los aislamientos fueron *E. faecalis* y *E. faecalis*. La Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. recomendó el uso de *Enterococcus* como indicador de contaminación fecal en aguas recreativas en 1986 debido a su alta resistencia a las condiciones salinas.

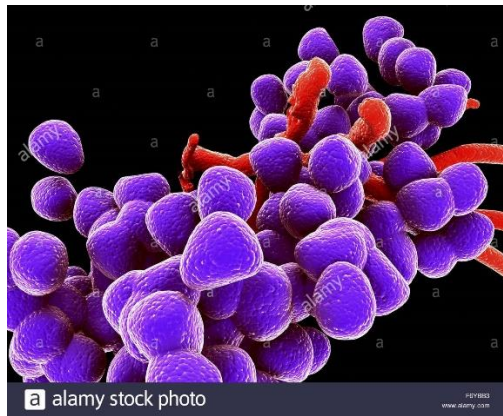


Ilustración 3. Bacteria *Enterococcus* spp microscópica

Fuente: <https://espanol.medscape.com/verarticulo/5907823>

Está directamente relacionado con gastroenteritis, enfermedades respiratorias, conjuntivitis, dermatitis, etc., y es ampliamente aceptado como un indicador muy útil para analizar la calidad de los microorganismos del agua, ya que siempre están vigentes en las heces de los animales de sangre caliente incapaz de reproducirse en el agua y sobrevivir a largo plazo en condiciones naturales adversas (A. Del Puerto, 1999)

3.5. Desinfección

“Este proceso es importante para la reutilización de aguas residuales porque la operación segura de los sistemas de reutilización

depende de la esterilización de las aguas residuales, el método de tratamiento más utilizado para proteger la salud pública” (Gómez, 2006). y se define como el mecanismo por el cual los organismos patógenos son inactivados o destruidos mediante el uso de agentes mecánicos, químicos y/o físicos.

La finalidad principal de la desinfección es impedir que el agua se convierta en una fuente de enfermedades. Para que cualquier desinfectante funcione de manera efectiva, las aguas residuales deben ser previamente tratadas adecuadamente, ya que un alto porcentaje de los microbios intestinales se eliminan en los tratamientos de depuración primaria y secundaria (Gómez, 2006).

Todos estos microorganismos exhiben estructuras organizativas complejas, poseen medios de reproducción (ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN)) y llevan a cabo procesos bioquímicos complejos. Las excepciones son los virus, que tienen ADN o ARN (nunca ambos) y no tienen procesos bioquímicos, por lo que se ven obligados a convertirse en parásitos intracelulares. Por el contrario, si las bacterias tienen una fuente adecuada de nutrientes, pueden crecer y reproducirse de forma independiente (Morató, 2003).

Los principios activos de la desinfección. Según (Morató, 2003) los mecanismos de inactivación de patógenos son:

- Destruye o altera la organización estructural de las células al atacar la mayoría de los componentes celulares.
- Interfiere con el metabolismo energético y desactiva las enzimas.
- Interfiere con el desarrollo y la biosíntesis al impedir la síntesis normal de proteínas, ácidos nucleicos y coenzimas o la síntesis de la pared celular

4. Desinfección mediante radiación ultravioleta (UV)

Los efectos germicidas de la radiación UV del sol se conocieron en el período XIX, pero se utilizaron por primera vez en el siglo XX con el desarrollo de lámparas de mercurio y tubos de cuarzo como fuentes artificiales de luz ultravioleta. Comienza la radiación ultravioleta. Más concretamente, la originaria aplicación de la radiación UV fue la desinfección del agua potable en Marsella en 1910 (Hijnen. et al., 2006). Aunque se ha utilizado como técnica de desinfección desde principios de la década de 2000, no ha tenido mucho éxito debido al elevado costo y la poca seguridad del equipo utilizado, especialmente debido a las ventajas económicas del cloro como desinfectante.

Sin embargo, a medida que se sabe más sobre “la formación de subproductos oxidativos peligrosos, la exposición a los rayos UV durante la cloración y la ozonización ha recibido una atención cada vez mayor” (Hijnen. et al., 2006). Actualmente, la desinfección UV es la técnica más adecuada para inactivar muchos patógenos en el agua para consumo humano y las aguas residuales.

“La importancia de la radiación UV como proceso de desinfección es que inactiva bacterias, virus, esporas bacterianas y la etapa de esporas de quistes o protozoos” (Abbaszadegan, 1997).

4.1. Ventajas y desventajas al utilizar el proceso de desinfección ultravioleta

Ventajas

Comparado con otros desinfectantes, la técnica de desinfección UV inactiva la totalidad de los virus, esporas, quistes y toma menos tiempo.

La luz ultravioleta es la única opción rentable que no produce ni libera subproductos cancerígenos en el medio ambiente.

Sin efectos residuales que provoquen efectos a los seres humanos o cualquier otra vida acuática. (Landy & Romeo, 2014).

Desventajas

“Algunos microbios alcanzan contrarrestar los efectos dañinos de la luz ultravioleta por medio de un mecanismo de reparación llamado "fotoactivación", que es menos económico que la desinfección con cloro” (Landy & Romeo, 2014).

La turbidez y los sólidos suspendidos totales (TSS) en las aguas residuales hacen que la desinfección UV sea menos eficiente. Para efluentes secundarios con niveles de SST superiores a 30 mg/L, el uso de lámparas UV de baja presión es ineficaz.

4.2. El cloro Desinfección vs. Desinfección UV.

El uso de luz ultravioleta para la desinfección de aguas residuales ha aumentado elocuentemente en las últimas décadas. Actualmente, más del 20 por ciento de las 'EDAR' en América del Norte utilizan esta tecnología ecológica. Miles de ciudades han cambiado de desinfectantes químicos como el cloro a la luz ultravioleta debido a los significativos beneficios de protección para las comunidades, los operadores de plantas y los suministros de agua locales. Además, la luz UV también es un desinfectante eficaz contra los protozoos tolerantes al cloro, como *Cryptosporidium* y *Giardia* (Koivunen, 2005)

Si no se tratan estos protozoos dañinos libres en las aguas residuales, podrían ingresar a las tomas de agua potable ubicadas aguas abajo de las plantas de tratamiento de aguas residuales. El sistema para el tratamiento UV de aguas residuales ha superado las pruebas de validación de campo biométricas, presenciadas por un tercero, lo que garantiza que el sistema cumpla con los requisitos reglamentarios. (Koivunen, 2005)

4.3. Lámparas de Hg de desinfección UV

Los mecanismos principales del sistema de desinfección ultravioleta son lámparas de vapor de mercurio, reactores y balastos electrónicos (USEPA, 2006).

Las lámparas que producen este tipo de radiación suelen contener mercurio en su interior y juegan un papel fundamental en la desinfección de aguas residuales a través de la radiación UV.

“En los últimos años, la desinfección ultravioleta se ha aplicado al tratamiento del agua, utilizando principalmente lámparas ultravioletas de media y baja presión como fuente de luz” (Otaki, 2003). A continuación, se describen cada uno de ellos.

Lámparas UV de baja presión. Por lo general o tradicionalmente, las lámparas UV de baja presión han sido las más utilizadas en el tratamiento del agua. La baja presión (<10 Torr) aplicada al gas mercurio dentro de la lámpara produce una línea de emisión a 254nm, por lo que este tipo de lámpara se considera monocromática (Zimmer, 2002). Hay muchos estudios que muestran que dichas lámparas se desactivan después de la exposición a la luz ultravioleta, pero luego se reparan por el daño microbiano.

Lámparas UV de media presión. “Son aquellas lámparas que tienen una intensidad germicida más alta que las lámparas anteriores porque producen un rango de longitud de onda que varía entre el ultravioleta lejano (185 nm) y el infrarrojo (1320 nm)” (Zimmer, 2002). Por eso tiene una mayor penetración, lo que resulta en una desinfección más rápida.

4.4. Reactores de laboratorio de desinfección UV.

Por otro lado, según USEPA (1999), existen dos tipos de configuraciones de reactores para sistemas de desinfección UV, de

contacto y sin contacto. En ambos casos, el agua residual puede fluir perpendicular o paralelamente a las lámparas

El contacto con el reactor. La lámpara de mercurio se sumerge en el agua a esterilizar y se cubre con una manga de cuarzo para minimizar el efecto de enfriamiento del agua residual. El reactor sin contacto. En este caso, la lámpara está suspendida fuera del tubo transparente, que lleva el agua residual a esterilizar. En ambos tipos de reactores, el balasto o caja de control se utiliza para regular y proporcionar el voltaje de arranque necesario para la lámpara y mantener una corriente continua (USEPA, 1999).

4.5. Cinéticas de inactivación

A diferencia de los tratamientos químicos como el ozono o el cloro, donde la radiación UV inactiva los microorganismos al causar daño a los ácidos nucleicos, impidiendo su replicación, los desinfectantes químicos inactivan los microorganismos destruyendo o destruyendo sus componentes celulares, interfiriendo con el metabolismo e inhibiendo la biosíntesis y el crecimiento de los microorganismos vivos. Es importante destacar los ensayos ejecutados para medir la inactivación de los microorganismos y cuantificar su capacidad de reproducción. (Jagger, 1967).

Para alcanzar el mecanismo de acción de la radiación UV, primero es necesario definir las características básicas de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), que subyacen a la función de los microorganismos en las aguas residuales. Los ácidos nucleicos son macromoléculas compuestas por bases nitrogenadas, grupos fosfato y azúcares tipo pentosa que repiten unidades funcionales básicas llamadas nucleótidos. Las bases nitrogenadas pueden ser del tipo purina (adenina, guanina) o del tipo pirimidina (timina, citosina y uracilo) (Cairns, LUZ ULTRAVIOLETA, 1998).

Las bases nitrogenadas del ADN son adenina, guanina, timina y citosina, y el azúcar es del tipo desoxirribosa, mientras que las bases nitrogenadas del ARN son adenina, guanina, citosina y uracilo, y el azúcar es la ribosa. El mecanismo de inactivación comienza cuando un sistema de desinfección UV transfiere energía electromagnética de una lámpara de vapor de mercurio al material genético de un organismo (ADN o ARN) las bases pirimidínicas del ADN o ARN (en ADN), timina y citosina en el ARN y citosina y uracilo en el ARN) provocan una reacción fotoquímica en la que se forma un dímero químico entre las dos bases. Los dímeros inhiben la formación de nuevas hebras de ADN (o ARN) durante la replicación celular (mitosis), lo que provoca la inactivación (incapacidad para replicarse) de los microorganismos afectados por los rayos UV (Bolton & Linden. et al., 2003).

“Todas las purinas y pirimidinas absorben la luz ultravioleta, pero las pirimidinas tienen una mayor tasa de daño inducido por los rayos ultravioleta” (Jagger, 1967). Los rayos UV absorbidos por los microorganismos pueden causar seis tipos de daño a los microorganismos, que son: hidratos de pirimidina, roturas de cadena simple y doble, y entrecruzamiento ADN-ADN (ocurre solo en dosis muy altas, superiores a las aplicadas durante la desinfección), dímeros de pirimidina, enlaces cruzados de proteínas y ADN, y fotoproductos (USEPA, 2006), pero solo tres de estos contribuyen a la inactivación bacteriana, como se indica a continuación:

Un dímero de pirimidina formado por enlaces covalentes entre pirimidinas adyacentes en la misma cadena de ARN o ADN expuesta a la radiación ultravioleta. Estos dímeros son los daños más comunes causados por la desinfección UV. De los dímeros de pirimidina que se pueden formar en el ADN, como la timina, la citosina-citosina y la timina-citosina, los dímeros de timina son los más frecuentes. Los dímeros de uracilo-uracilo o citosina-citosina se forman en el ARN.

Los fotos productos de pirimidinona pirimidinona (6-4) son similares a los descritos anteriormente y también se forman en el ADN y el ARN.

Los enlaces cruzados proteína-ADN son enlaces covalentes entre proteínas y hebras de ADN que pueden ser importantes en los mecanismos de desinfección de ciertos microorganismos.

4.6. Mecanismos de reparación

Los virus no tienen mecanismos de reparación para revertir el daño causado por la luz ultravioleta. La capacidad fotorreparadora de las bacterias y otros microorganismos está directamente relacionada con el grado de daño UV, la exposición a la luz activadora entre 300 y 500 nm, y el pH y la temperatura del agua. La efectividad de un sistema de desinfección UV depende de las condiciones del agua residual, la intensidad de la radiación, el tiempo de exposición de los microorganismos a la radiación y la configuración del reactor (Ramírez, 2013).

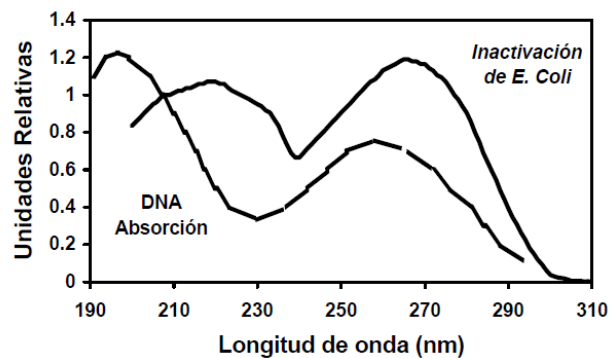


Ilustración 4. Comparación del espectro de acción de la inactivación del E. coli.

Fuente: (Ramírez, 2016).

4.6.1. Fotoreactivación

La fotoactivación es un proceso enzimático que cataliza directamente la reparación del ADN y sucede en 2 etapas. En la inicial se forma un complejo entre la enzima y el dímero, el cual no requiere luz, sino que depende del pH y la fuerza iónica, para la etapa 2 ocurre la monomerización activada por la luz visible, permitiendo la formación de nuevos complejos activados por la luz cosa. Dosis altas permiten la aplicación de fenómenos de fotoactivación, pero dosis insuficientes favorecen la proliferación de microorganismos y no permiten la aplicación de procesos de reactivación (Oviedo, 2018).

La aplicación de radiación produce fotoproductos que provocan cambios estructurales en el ADN. Estos fotoproductos dan lugar a la aparición de dímeros de ciclobutanopirimidina (CPD), pirimidinas y otras sustancias encargadas de inhibir la replicación y transcripción del ADN, desencadenando una serie de mutaciones, además de interrumpir el ciclo celular y, en última instancia, conducir a la muerte (Oviedo, 2018).

“Este daño mutagénico es revertido por un proceso llamada fotoactivación, comienza con Una fotoliasa que consta de un par de cromóforos. Reciben un fotón y usan esa energía para revertir los efectos de la dimerización” (Cardona & Marin, 2015). Para la reactivación, los microbios utilizan luz ultravioleta cercana (de 310 a 480nm) y la enzima fotoliasa, sin embargo, este tipo de UV también tiene efectos letales en los organismos inactivados.

Además, la capacidad de ejecutar el proceso de la fotoactivación o fotoreactivación varía según la especie de bacteria a estudiar. Se sabe que la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp, tienen mecanismos específicos para reparar dímeros, mientras que otros organismos tienen la capacidad de reactivar ciertos fotoproductos. Esto

es esencial para el bienestar y la salud pública, ya que se consideran bioindicadores clave de la contaminación (Oguma et al., 2002).

4.6.2. La turbidez en la eficiencia del tratamiento de desinfección con UV

Es un parámetro esencial para predecir la calidad del agua potable, ya que cuando se presenta una alta turbiedad, los microorganismos presentes quedan protegidos de la desinfección, lo que estimula el crecimiento bacteriano y aumenta la demanda de cloro (Brockerhoff & Hewett. et al., 2000).

“En concreto, el control de la turbidez es especialmente importante porque está íntimamente relacionado con la eficacia del proceso de desinfección, ya sea química (cloro u otros germicidas) o física (radiación ultravioleta)” (Cantwell R. E., 2010).

Es bien sabido que los cambios en la absorbancia ultravioleta (UV) o las concentraciones significativas de sólidos biológicos amorfos de aguas residuales en la matriz acuosa pueden afectar el rendimiento de la desinfección UV. Sin embargo, se sabe poco sobre los efectos de las bajas concentraciones de partículas de agua potable (turbidez) y algas sobre la eficacia de la desinfección UV (Brockerhoff & Hewett. et al., 2000).

“Se sabe que la presencia de partículas reduce la eficacia de la desinfección ultravioleta (UV) al proteger a los microorganismos objetivo de la exposición a los rayos UV” (Kerim Kollu, 2012). En un estudio realizado por Kerim Kollo y B. Ormerci, encontraron que para los niveles de inactivación de *E. coli* medidos en presencia de partículas eran más inferiores que los medidos en ausencia de partículas. A dosis bajas de UV (<9 mJ/cm²), tanto el tamaño de las partículas como el grado de floculación tuvieron un efecto expresivo en la inactivación de *E. coli*. Solo a altas dosis de UV (80 mJ/cm²) el tamaño de las

partículas tuvo un efecto revelador en la inactivación de *E. coli*, con partículas más grandes como 3,2 y 11 μm en comparación con partículas más pequeñas como 3,2 y 11 μm . 25 μm) para una mayor protección contra las bacterias).

“La turbidez puede afectar la inactivación UV a través de una variedad de mecanismos, como la absorción y dispersión de la luz UV incidente, y al proteger bacterias, protozoos y virus de suficientes dosis de radiación UV para inactivar patógenos” (Huber et al., 2011).

“Lo que conlleva entre la relación y entre la turbidez y la dosis de radiación se utiliza a menudo como método para estimar la tasa de descomposición dinámica en modelos hidrodinámicos de bacterias indicadoras fecales” (Cantwell R.H., 2008). Los datos presentados aquí demuestran que la turbidez afecta significativamente la supervivencia de las bacterias fecales expuestas a la radiación UV incidente. Por lo tanto, maximizar UVT y minimizar la turbidez de alto riesgo se consideran clave para lograr una alta eficiencia de extinción de UV y reducir los peligros para la salud pública (Koivunen, 2005).

4.7. Método de filtración de membrana

Es un método que está totalmente aceptado y aprobado como procedimiento para monitorear la calidad del agua en varios países. Consta en la separación física que de partículas de diferentes tamaños y propiedades (Sánchez, 2016).

Definida de manera simple, la filtración por membrana es el flujo a través de un sistema de membrana, dividiéndolo en dos flujos: permeado y retenido. La membrana que los separa es una barrera física con propiedades muy específicas, por lo que solo pueden atravesarla determinadas sustancias seleccionadas del flujo (Brockhoff & Hewett. et al., 2000).

En particularidad, el método consta en:

Pasar la muestra de agua a través de un filtro de membrana (tamaño de poro de 0,45 μm y 47 mm de diámetro).

Trasladar al filtro con las bacterias asidas a la superficie de un medio sólido (con agar) o un soporte absorbente que contenga el medio líquido deseado (sin agar).

Detección rápida del microbio en estudio utilizando el medio adecuado

Añadidura de sustratos fluorescentes y cromogénicos a los medios de cultivo (sólidos o líquidos) para revelar la actividad enzimática de coliformes totales, especies de *E. coli* y *Enterococcus*, lo que provee una mayor sensibilidad y velocidad para estimar la contaminación microbiana en el agua. En comparación con el método clásico, beber. (Sánchez, 2016).

4.8. Desinfección Ultravioleta para el tratamiento de aguas residuales

Una de las mayores preocupaciones globales y locales es la calidad del agua, y el ciclo hidrológico se ve amenazado por una serie de factores, incluida la expansión masiva de las actividades agrícolas e industriales, la superpoblación, el aumento de la actividad y la amenaza del cambio climático. El agua limpia es escasa y será aún más escasa a medida que avance el cambio climático (ONU-Agua, 2019).

Dado que los patógenos (virus, bacterias y protozoos) son las principales causas de las enfermedades del tracto digestivo en los seres humanos, el 50% de los casos de gastroenteritis son causados por la contaminación fecal humana y animal del agua potable, que se atribuye a las toxinas de producción propia (Rosario & Anderson. et al., 2005)

Durante la mayoría de las actividades y procesos productivos, el agua utilizada se contamina y se devuelve al cauce del río, cuya calidad suele deteriorarse con el uso posterior, incluido el riego. Dependiendo del nivel de contaminación, las aguas residuales pueden ser dañinas para la vida. También puede liberar compuestos inestables que produzcan olor y sabor y pueden causar problemas en las operaciones de tratamiento de agua nueva y aguas residuales (J.R. Guimarães, 2001).

La limpieza por radiación ultravioleta (UV) es un desinfectante físico libre de residuos que ha demostrado eliminar eficazmente los microorganismos de las aguas residuales caseras e industriales para su reutilización. Las aguas residuales tratadas pueden reutilizarse o utilizarse para fines específicos. Entre los muchos usos de las aguas residuales tratadas, las aplicaciones agrícolas y su reutilización en la industria son las más destacadas. Desde este punto de vista, las aguas residuales tratadas pueden ser utilizadas para riego de cultivos y riego urbano (Gómez, 2006).

4.9. Coliformes como indicador de contaminación fecal

El microbiota coliforme es adecuado como indicador de contaminación fecal porque es parte del microbiota normal en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente y está presente en abundancia. Los microorganismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo con una amplia diversidad de géneros y especies. Todos los coliformes pertenecen a la familia Enterobacteriaceae (Santiago R, y otros, 2012).

Los coliformes totales dan una conceptualización en que como bacterias corineformes gramnegativas que fermentan lactosa a temperaturas entre 35 y 37°C y producen ácido y gas (CO₂) en 24 horas, aeróbicas o anaeróbicas facultativas, enzimas oxidativas negativas, no forman esporas y actividad enzimática β-galactosidasa Entre ellos se

encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Carrillo & Lozano, 2008).

El experimento más relevante para la detección de coliformes es la hidrólisis de lactosa. La descomposición de este disacárido es catalizada por la β -D-galactosidasa. Para la determinación de β -D-galactosidasa, utilice un medio cromogénicos como Chromocult Agar for Coliformes. (Marchand, 2002).

Los coliformes termotolerantes (CTE) se denominan así porque pueden soportar temperaturas de hasta 45° C y contienen cantidades muy pequeñas de microorganismos que son un indicador de calidad por su origen. Principalmente representado por *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* son menos comunes. Estos últimos forman parte de los coliformes termotolerantes, pero su origen suele ser el medio ambiente (agua, vegetación y suelo) y solo ocasionalmente forman parte del microbioma normal (Santiago R, y otros, 2012).

Los coliformes termotolerantes forman parte de los coliformes totales, pero se diferencian de estos últimos en que son indoles positivos, tienen un amplio rango de temperaturas óptimas de crecimiento (hasta 45°C) y tienen un mejor índice de higiene de los alimentos y el agua. La presencia de estos microorganismos indica contaminación fecal de origen humano o animal, ya que las heces contienen coliformes termotolerantes presentes en el microbiota intestinal, de los cuales *Escherichia coli* es el más representativo, representando el 90-100% (Carrillo & Lozano, 2008).

4.10. Relación *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp en los ambientes acuáticos estudiados

A partir de que la USEPA recomendó *Enterococcus* como indicador de contaminación fecal en 1986, pocos estudios han reportado la correlación entre este indicador y *Escherichia coli* en diferentes

ecosistemas. El tiempo de supervivencia de *E. coli* en agua de mar es de aproximadamente 0,8 días, mientras que el tiempo de supervivencia de *Enterococcus* es de 2,4 días. El uso de proporciones de *Escherichia coli*/*Enterococcus* (EC/E) se puede utilizar para determinar el origen humano o animal de la contaminación fecal. Se ha sugerido que las cantidades de coliformes termotolerantes y *E. faecalis* excretadas por humanos difieren significativamente de las excretadas por animales (Tchobanoglous, Burton, & Stensel, 2003).

Capítulo V

5. Materiales y Métodos

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios de la UPS (Universidad Politécnica Salesiana) sede Cuenca, a continuación, se describe los materiales, equipos y los pasos a que se ha seguido en la investigación.

5.1. Reactor UV

El reactor UV de experimentación se restauró en el laboratorio “Ciencias de la vida” de la UPS, de la ciudad de Cuenca, en la siguiente ilustración 5 se aprecia el esquema del reactor UV para su funcionamiento. Contiene una lámpara UV de baja presión de la marca Hidrotek, con una potencia de 6W y una longitud de onda de 254nm, contenida en una carcasa de cuarzo y provisto de un sistema de bombeo a través de la bomba centrífuga, con un tacho para almacenar 20 litros de agua.



Ilustración 5. Esquema de desinfección ultravioleta utilizada en el laboratorio

Fuente: Autor Propio

El diseño experimental que se siguió obedece según la figura siguiente:

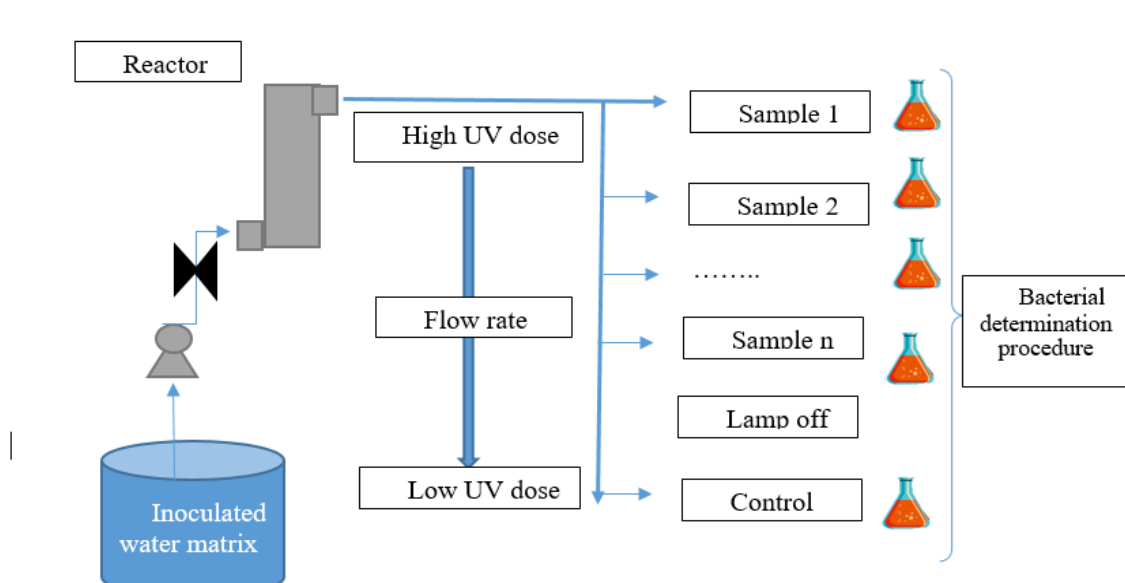


Ilustración 6. Diseño experimental para estudiar la inactivación de bacterias E. coli por desinfección UV

Fuente: Autor Propio

La bacteria junto con el agua destilada fue dispuesta en el tanque de conexión hacia el reactor. Los ensayos fueron controlados mediante el caudal de paso, que es una llave, que determinará el tiempo de exposición y por ende la dosis UV aplicada

Las muestras tratadas y controles obtenidos fueron sometidos al mismo procedimiento de análisis microbiológico. Se determinó la concentración de bacterias viables existentes en las muestras a partir del recuento de unidades formadoras de colonias (CFU) y el volumen filtrado correspondiente.

En la tabla 1 se especifica los parámetros que se calculó para poder aplicar la fórmula de la dosis UV.

Tabla 1. Parametros necesarios para calcular la dosis UV

Parámetro	Determinación
Dosis UV	$D = I_m \cdot R$
Intensidad media	$I_m = \frac{P254 \cdot TQ^e}{2L\pi^2 \cdot (rR^2 - rQ^2)} \iint_{rQ}^{rR} \frac{TW^{r-rQ}}{r} \cdot dx dy$
Transmitancia de agua	Tw (medida experimental)
Tiempo de Retención Teórico	$TRT = \frac{V_r}{Q}$
Volumen expuesto	$V_R = L \cdot \pi (r_R^2 - r_Q^2)$
Tasa de flujo	Q (experimentación variable)

Fuente: (Martinez, 2015).

Con la base de datos obtenidos previamente se procedió a representar gráficamente para poder analizar la eficacia de los ensayos, las representaciones gráficas y el cálculo de la dosis ultravioleta se utilizará el software interactivo GInaFiT que es un complemento de software gratuito para Microsoft © Excel, que resulta ser una herramienta muy útil para la simulación y modelización de microorganismos prediciendo su supervivencia microbiana en datos experimentales específicos del usuario que relacionan la evolución de la población microbiana con el tiempo.

Tabla 2. Especificaciones de las características del cuarzo y lampara y del reactor

Características	Valor
P254: Potencia de la lampara a 25nm (w)	6w
L: Longitud lampara(cm)	18,9 cm
e: Grosor del cuarzo (mm)	1,6 mm
rR: Radio del reactor	2,55
TQ: % Transmitancia a 254 nm del cuarzo	0,94
l: Longitud de la lampara descubierta (cm)	7,3 cm
rQ: Radio externo de la funda de cuarzo
TW: % Transmitancia a 254nm del agua tratada
Q: Caudal del agua tratada
Base de soporte	Metal
Recipiente de plástico	20 lt

Fuente: Propio Autor

5.2. Agua utilizada

El agua que se utilizó en todos los ensayos fue agua destilada que se encontraban en los laboratorios de Ciencias de la vida, en la universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, en la provincia del Azuay

5.3. Reactivación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp

5.3.1. Obtención de las bacterias

Las cepas bacterianas conseguidas se colocaron en formato de suspensión en agua-glicerol para ser conservadas en refrigeración contenidas en tubos tipo eppendorf de 1ml. Las cepas bacterianas *E. coli* ATCC 8739 fueron provistas por la Colección Española de Cultivos Tipo

(Universidad de Valencia, España) en formato liofilizado. Los liófilos de ambas cepas fueron reactivados empleando medios de cultivos determinados para cada microorganismo; (Vélez-Colmenares, 2011), Tryptic Soy Broth (Scharlab, Sentmenant, España) para *E. coli* (ATCC 8739). Mientras que la sepa *Enterococcus* sp fue obtenida del laboratorio de Microbiología.

5.4. Preparación del caldo nutritivo Tryptone Soya Broth (TSB)

Para la reactivación de las bacterias, se utilizó el caldo nutritivo Tryptone Soya Broth (TSB), con una cantidad de 100ml necesario para reactivar la bacteria, siguiendo las instrucciones del fabricante del producto, de esta forma se tomaron los datos descritos en el envase para calcular la cantidad requerida necesaria para los dos primeros días de ensayos.



Ilustración 6. Caldo nutritivo Tryptone Soya Broth (TSB)

Fuente: Autor Propio

$$\text{Datos del envase: } \begin{array}{l} 30 \text{ gr} \rightarrow \\ x \end{array} \quad \begin{array}{l} 1000 \text{ ml} \\ 100 \text{ ml} \end{array} = 3 \text{ gr}$$

Para su preparación el TSB que fue de forma granulada, por lo cual primero hubo que pesar la cantidad obtenida de x y disolverla en un volumen de agua destilada, consecutivamente este debió ser autoclavado a una atmosfera de presión, por 15 min. Además, los materiales a utilizarse (matraz Erlenmeyer, luna de reloj, varilla, y espátula) debieron autoclavarse previamente para evitar contaminación.

- Reactivación día 1, 'Sub1'

De los 100 ml de TSB preparados anteriormente se tomó 50ml y se colocaron en un frasco estéril, junto con la bacteria *E. coli ATCC 8739* o *Enterococcus sp*, que se encuentran en refrigeración según el ensayo a realizarse. Para su reactivación se debe dejar 24 horas esta solución asignada con el nombre de Sub1, en una estufa eléctrica a 37°C para promover el crecimiento de la bacteria.

- Reactivación día 2, 'Sub2'

De los 50ml restantes de TSB se colocó en un nuevo frasco estéril junto con 1ml que se obtuvo del ensayo del sub1 con una micropipeta, se denominó sub2. Al igual que el día 1 esta se dejó en una estufa eléctrica a 37°C, para incentivar el crecimiento exponencial de la bacteria por 24 horas

Y esta será la bacteria que se dispondrá en el volumen de ensayo de 20 L, en el reactor.

5.5. Preparación del medio de cultivo para bacteria *Escherichia coli ATCC 8739*

El medio utilizado fue Merck Coliformes Agar Acc. Chromocult®, el cual para su preparación se siguió las instrucciones del fabricante, para calcular la cantidad necesaria, se utilizó placas petri pequeñas que podían contener 5 gr aproximadamente del medio de cultivo, y con ello se preparó para el numero necesario.

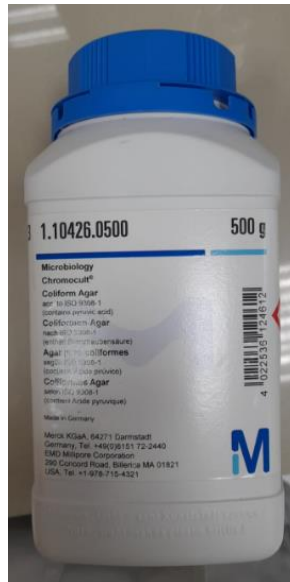


Ilustración 7. Medio Merck Coliformes Agar Acc. Chromocult®

Fuente: Autor Propio

Datos del envase:

$$26,5 \text{ gr} \rightarrow 1\ 000\text{ml}$$

$$x \rightarrow 180\text{ml}$$

Se pesó en una balanza analítica con la ayuda de una luna de reloj y una espátula los gramos necesarios, dependiendo el número de placas a utilizarse y el ensayo, después se disuelven en agua destilada previamente autoclavada. Se movió esta solución con una varilla, y se llevó a una cocineta hasta su punto de ebullición. Este debió enfriarse y se procedió a llevarlo a la cámara de flujo laminar, donde se dispensó en cada caja Petri.

Es importante tener los materiales estériles y también el lugar donde se realizará para evitar contaminaciones al medio, se debe dejar que el medio se solidifique correcta y posteriormente, cada caja se debe sellar con parafilm y se guardar en bolsas ziploc.

Tabla 3. Identificación de color a bacteria

Bacterias	Color
Escherichia coli	Colonias de azul a violeta
Coliformes	Colonias de rosa salmón a rojo
Otras bacterias	Colonias sin color, principalmente: grandes negativos

Fuente: (Merck Millipore 2014)

5.6. Bacteria Enterococcus spp.

Para el proceso de crecimiento y cultivo se utilizó el medio selectivo de M Enterococos Agar, de la marca ALPHA, y la cepa de la bacteria Enterococcus spp, disponible actualmente en los laboratorios de Ciencias de la Vida. Se disolvió 43.5 g de medio en 1 litro de agua destilada del medio, se calentó, agitando, hasta ebullición para su total homogeneización. Evitando el excesivo calentamiento y se enfrió rápidamente. No fue necesario introducir a la autoclave. El color final del medio es incoloro-paja. El medio rojo indicó que ha sufrido exceso de calor (ISO 9308-1, 2016).

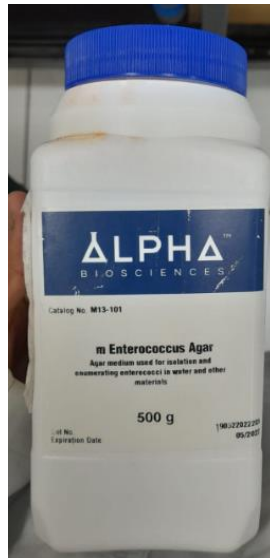


Ilustración 8. Medio M Enterococos Agar, de la marca ALPHA

Fuente: Autor Propio

5.7. Separación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp

De la solución sub2, se procedió a colocar 5ml con ayuda de una micropipeta en 10 tubos de tendón, aptos para ser centrifugados. Subsiguientemente estos tubos se llevaron a centrifugar por 10 minutos a 300 rpm para lograr que la bacteria se precipite.



Ilustración 9. Tubos para centrifugar

Fuente: Autor Propio

A continuación, se preparó la solución tampón donde se prepararon 250 ml de agua destilada autoclavada donde se colocó 5ml de buffer. Misma que ayudó a que las bacterias se adapten mejor y no sufra un shock por el cambio de condiciones después de desechar el sobrenadante.

En los mismos tubos de centrifuga se colocaron 5ml de solución tampón y se llevó esta disolución a un vortex para lograr una mezcla homogénea entre la bacteria y el buffer. Finalmente se transfirió esta mezcla a un nuevo frasco estéril conteniendo una cantidad de 50 ml de bacteria, para llevarla posteriormente al reactor UV, según el ensayo a realizarse.

Este proceso se llevó a cabo para las dos bacterias a estudiar, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus* sp, dependiendo el estudio que se requería, teniendo una duración de una semana para cada ensayo.

5.8. Parámetros bioquímicos del agua residual

Turbidez

Para determinar este parámetro se utilizó el equipo turbidímetro portátil de la marca LaMatte

Procedimiento

Se dejó el equipo encendido unos 5 minutos para que se estabilice, se procedió a hacer dos muestras en los frascos (vial), una con agua destilada, que fue nuestro blanco, y otro con el agua con la bacteria y turbidez preparada, primero se ajustó el blanco y luego se procedió a poner la muestra, así se midió cada ensayo y para cada caudal

Para la obtención de una turbidez aproximada a la necesaria para el estudio se realizó ensayos previos con agua destilada y tierra de diatomea, que es la que se utilizó para dar la turbidez.

Transmitancia

Para poder conocer el porcentaje de transmitancia del agua de ensayo se utilizó el espectrofotómetro UV (FTIR) a una longitud de onda de 254nm

Procedimiento

Se encendió el espectrofotómetro UV, y lo deje encendido por 20 minutos para que se estabilice, en una cubeta procedimos a separar las muestras a medir y nuestro blanco que fue agua destilada, seleccionamos el parámetro a medir, el cual es la transmitancia y modificamos la longitud de onda, procedimos a colocar el blanco y luego la muestra, repetimos el procedimiento con todas las muestras.

6. Pruebas iniciales y ajustes hidráulicos

6.1. Disposición de la cepa certificada y tierra de diatomeas para turbidez

En 20 litros de agua, se inyectó el sub2 de bacteria preparada, según el ensayo a realizarse, se dejó que la bacteria se estabilice con el agua residual en un tiempo aproximado de 10 a 15 minutos, para después proceder a colocar la cantidad exacta de tierra de diatomeas anteriormente pesada, para adaptar el agua en las condiciones de turbidez que necesitan ser analizadas, y con una pipeta se procede a mover por un periodo de 5 minutos aproximadamente, luego se procede a hacer circular por el reactor experimental. Al encender la bomba de agua, el agua residual empieza a circular en el reactor UV, donde se debe seguir moviendo el agua para evitar que la tierra de Diatomea vaya a precipitar al fondo y varíe la turbidez que se desea estudiar, la cantidad de agua que circula son controlados a través de las llaves de paso. Estas llaves de paso permiten regular cinco o más caudales de agua, el agua contaminada ingresa a la lámpara de baja presión para su desinfección.

6.2. Recolección de la muestra

Se recogieron diferentes muestras de aguas residuales en recipientes estériles previamente rotulados. La primera muestra de agua recolectada fue el control, es decir, una muestra de agua residual no se irradió con luz ultravioleta, y las otras muestras de agua residual se recolectaron después del tratamiento con luz ultravioleta, dependiendo del caudal, anteriormente ya calculado y adaptado por llaves.

6.3. Medición del caudal en los ensayos

Para lograr calcular los 5 diferentes caudales de agua residual a estudiar, que ingresa a la lámpara UV para su desinfección, se utilizó la formula del caudal, nos ayudamos una probeta de 1000 ml , donde se midió el tiempo que se demora en llenar dicha probeta, con la ayuda de un cronometro, a diferentes velocidades con la ayuda de una llave para su control, con la información del volumen y del tiempo se procedio a calcular el caudal del agua que ingresa a la lámpara para su desinfección, para ulteriormente proceder a determinar la dosis UV generada en cada caudal.

Formula del caudal

$$Q = v/t$$

Donde:

- Q=Caudal del agua (l/seg)
- v=Volume (l)
- t= tempo (min)

6.4. Cálculo de la longitud de la lampara descubierta

La longitud de la lámpara es de 18,9 cm, se cubrió un 35% que equivale a 6,7 cm de lámpara cubierta con aluminio, para poder saber la longitud de la lámpara descubierta se aplicó la siguiente fórmula:

$$l = L - LAL$$

Donde:

l : Longitud de la lámpara descubierta sin aluminio (cm).

L : Longitud total de lámpara (cm).

L_{AL} : Longitud de la lámpara cubierta de aluminio (cm).

$$l = 18,9\text{cm} - 6,7\text{cm} = 12,2\text{ cm}$$

6.5. Cálculo del radio externo de la funda de cuarzo

$$r_Q = r_{\text{reactor}} - r_{\text{inte.cuarzo.}}$$

Donde:

r_Q = radio externo de la funda de cuarzo (cm)

r_{reactor} = radio del reactor (cm)

$r_{\text{inte.cuarzo.}}$ = radio interno del cuarzo (cm)

$$r_Q = 2,55\text{cm} - 0,984\text{cm} = 1,56\text{ cm}$$

6.6. Cálculo de la dosis suministrada a diferentes caudales

Considerando las recomendaciones de la USEPA (Romero-Martínez et al. 2019), se realizó el cálculo de la dosis donde los programas informáticos como Excel favorecieron el trabajo de cálculo, a continuación, la ecuación empleada

$$\text{Dosis UV} = \frac{VR}{Q} * \frac{P_{254} * TQ^e}{2L\pi^2 * (rR^2 - rQ^2)} \iint_{rQ}^{rR} \frac{TW^{r-rQ}}{r} * dx dy$$

Donde:

- P_{254} : Potencia de la lámpara a 254 nm, en lámparas nuevas 1/3 de la potencia (mWs/cm²).
- e : Grosor del cuarzo (mm).
- L : Longitud lámpara (cm).
- l : Longitud descubierta si se cubre una parte de la lámpara (cm).

- rR: Radio del reactor (cm).
- rQ: Radio externo de la funda del cuarzo (cm).
- TQ: % Transmitancia a 254nm del cuarzo (generalmente 0,94).
- TW: % tramitación a 254nm del agua tratada.
- Q: Caudal del agua que circula en el reactor.

6.7. Diluciones de las muestras de agua tratada

El proceso de diluir es cuando se combina dos o más sustancias perfectamente homogéneas, al realizar esto ambos componentes pierden sus características individuales. Para las muestras de los diferentes caudales se realizó de la siguiente manera:

- $Q_1 = 1/10$
- $Q_2 = 1/10$
- $Q_3 = 1/100$
- $Q_4 = 1/100$
- $Q_5 = 1/1000$
- Control = 1/1000

En donde por ejemplo para el caudal 1 y 2, en un tubo de ensayó se colocó 9 ml de agua destila y 1 ml de la muestra de agua desinfectada con radiación UV, y así sucesivamente para las demás muestras.

Para el caudal 3 y 4, en un tubo de ensayó se coloca 9 ml de agua destila y 1 ml de la muestra de agua desinfectada con radiación UV, y nuevamente repetimos el proceso colocando la muestra preparada de 1 ml a los 9 ml de agua destilada, para obtener la disolución de 1/100

Para el caudal 5 y la muestra del blanco (sin radiación UV), en un tubo de ensayó se coloca 9 ml de agua destila y 1 ml de la muestra de agua desinfectada con radiación UV, y repetimos el proceso dos veces más para obtener la disolución de 1/1000.

6.8. Técnica de filtración por membrana

Se utilizó el método de filtración por membrana de acuerdo con la norma UNE EN ISO 7899-2: 2001, para la detección de las bacterias antes mencionadas, esta técnica consiste en colocar sobre un soporte de filtración una membrana estéril y sobre ésta un embudo de filtración. El sistema de filtración de membrana está constituido de una bomba de vacío que está conectado a un matraz kitasato, esto a su vez está unido conjunto de rampas de filtración, permitiendo filtrar varias muestras en mismo momento.



Ilustración 10. Equipo de filtración por membrana

Fuente: Autor propio

La membrana de filtración fue de tipo:

- Estéril, de marca millipore, con un diámetro de 47 mm, color blanco y tamaño de poros de 0,45 μm con cuadrícula

Posteriormente, se filtró un volumen conocido de la muestra previamente homogeneizada. Después de la filtración de la muestra, se retirará el embudo del filtro y se depositará la membrana en una placa de petri que contiene medio con la ayuda de unas pinzas estériles. Posteriormente, las placas se cerraron y se colocaron en una estufa para permitir la temperatura y el tiempo óptimos para el crecimiento de cada microorganismo estudiado (USEPA, 2006).

Se colocó en perspectiva invertida las cajas petri en la estufa de secado, a una temperatura y tiempo óptico de crecimiento de la bacteria. Para que la bacteria *Escherichia coli* certificada ATCC 8739, y *Enterococos sp*, se desarrolle adecuadamente, se recomienda que la estufa de cultivo debe estar una temperatura de 35°C a 37°C por un tiempo de 18 a 24 horas (Becton Dickinson BD 2013).

6.9. Recuento de colonias

Una vez transcurrido el tiempo, se contará el número de colonias que crecen sobre la membrana. Los resultados se expresan como unidades formadoras de colonias (UFC) por 100 ml de muestra y se calculan mediante la siguiente expresión:

$$\frac{\text{UFC}}{100 \text{ ml}} = \frac{\text{Numero de colonias}}{\text{Volumen filtrado (ml)}} * (\text{factor de dilución } 100)$$

En el contador de colonias se realizó el recuento de las bacterias que han crecido en la membrana millipore, teniendo en cuenta la normativa: UNE-EN ISO 8199; 2008, las muestras/disoluciones aceptables son aquellas que generen de 10 a 200 colonias (UNE 2019)



Ilustración 11. Contador de colonias

Fuente: Autor propio

6.10. Estudiar los procesos de reactivación

Al mismo tiempo, se investigó el proceso de reactivación de bacterias nativas seleccionadas después de 1 día. Porque se ha demostrado que otra fuente de radiación óptica conduce al crecimiento de poblaciones microbianas tras la irradiación con luz ultravioleta. Además, en los sistemas naturales, el agua está constantemente expuesta a la luz y la oscuridad, y la combinación de estos dos procesos puede conducir a investigaciones interesantes.

Luego de pasar por el reactor se tomó un total de 12 muestras más, correspondientes a los 5 caudales de estudios y el blanco, tanto para luz y oscuridad, se colocó en diferentes frascos de vidrios, los 6 transparentes y los otros 6 cubiertos con aluminio para adoptar las condiciones de oscuridad, con ello se llevó en la cámara adhesiva y se dejó reposar durante 24 horas. Finalmente, se volvió a realizar el mismo proceso de filtración por membrana sobre el inóculo de estas nuevas muestras, y se contaron las bacterias que sobrevivieron en estas condiciones.

Con todo ello, se procura realizar la validación estadística de una serie de resultados experimentales, ajustados según modelos matemáticos establecidos en la literatura, consiguiendo conclusiones veraces de Desinfección UV (Hijnen. et al., 2006)

6.11. Evaluación cuantitativa de fotoreactivación y reparación en oscuridad

Para evaluar el efecto de la fotoreactivación de las bacterias estudiadas se utilizó la ecuación de Lindenauer y Darby del año 1994.

$$\% \text{ fotorreactivacion} = \frac{N_t - N}{N_o - N} * 100\%$$

Donde:

N: Número de bacterias inmediatamente después de la irradiación UV (CFU/ml)

Nt: Numero de bacterias después de la reactivación durante un periodo de tiempo ultravioleta (CFU/ml)

No: Numero de bacterias antes de la irradiación ultravioleta (CFU/ml)

Solo aquellas bacterias que fueron inactivadas son capaces de reactivarse, para saber la tasa de supervivencia de la bacteria certificada en relación con el tiempo se utilizó la siguiente formula:

Capítulo VII

7. Resultados y discusión

Previo a llegar a los ensayos finales, se experimentaron en múltiples ensayos previos para poder tener claro la experticia de experimentación. De tal forma que al final se logró obtener ensayos válidos, comparables y replicables. Los resultados se detallan a continuación

7.1. Análisis bioquímicos del agua residual

Los resultados válidos se encuentran detallados en la siguiente tabla:

Tabla 4. Ensayos válidos

Ensayos	Fecha	Microrganismo	Reactor	Postratamiento	Turbidez
Ensayo 1	21/04/2 2	E. coli ATCC 8739	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	0 FTU
Ensayo 2	27/04/2 2	E. coli ATCC 8739	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	0 FTU
Ensayo 3	11/05/2 2	E. coli ATCC 8739	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	30-35 FTU
Ensayo 4	01/06/2 2	E. coli ATCC 8739	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	10 – 15 FTU
Ensayo 5	09/06/2 2	Enterococos sp	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	0 FTU
Ensayo 6	30/06/2 2	Enterococos sp	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	0 FTU

Ensayo 7	06/07/2 2	Enterococos sp	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	10 – 15 FTU
Ensayo 8	13/07/2 2	Enterococos sp	Reactor UV	Fotoreactivación y reactivación en oscuridad	30 – 35 FTU

Fuente: Autor Propio

7.2. Resultado de los ensayos de inactivación de la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739

En la siguiente tabla se muestran los distintos ensayos experimentales realizados en el reactor UV de lámpara de baja presión, se detalla el volumen, el tiempo, el caudal y la dosis UV suministrada por la lámpara en los diferentes caudales

Tabla 5. Resultados de los ensayos de inactivación de la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739

Agua residual + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Regulación de llave paso	Volumen (ml)	Q agua pasa lampara Uv (L/h)	Dosis UV aplicada (Mj cm2)
Ensayo 1 21/04/22	Control	-----	-----	-----
	Abierto 1	1000	67,9	24
	Abierto 2	1000	120	13,58
	Abierto 3	1000	171,4	9,51
	Abierto 4	1000	300	5,43
	Abierto 5	1000	720	2,26
	max			
Ensayo 2 27/04/22	Control	-----	-----	-----
	Abierto 1	1000	61	26,50
	Abierto 2	1000	144	11,23
	Abierto 3	1000	225	7,19
	Abierto 4	1000	360	4,49
	Abierto 5	1000	720	2,25
	max			
Ensayo 3 11/05/22	Control	-----	-----	-----
	Abierto 1	1000	78,3	18,30

	Abierto 2	1000	120	11,93
	Abierto 3	1000	180	7,96
	Abierto 4	1000	300	4,77
	Abierto 5	1000	900	1,59
	max			
Ensayo 4	Control	-----	-----	-----
01/06/22	Abierto 1	1000	85,7	19,01
	Abierto 2	1000	133,3	12,22
	Abierto 3	1000	240	6,79
	Abierto 4	1000	300	5,43
	Abierto 5	1000	450	3,62
	max			

Fuente: Propio Autor

En la siguiente ilustración se puede visualizar el crecimiento de las bacterias, se observa la presencia de colonias de Escherichia coli ATCC 8739 representadas de color azul a violeta.

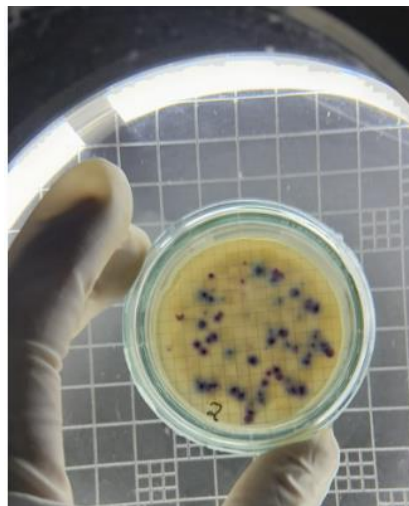


Ilustración 12. Contador de colonias

Fuente: Autor propio

La eficiencia del reactor UV en inactivar y eliminar se encuentra reflejado en las siguientes imágenes, mayor efectividad cuando el reactor de lámpara de baja presión trata caudales pequeños, se visualiza

menor crecimiento de bacterias, en cambio menor efectividad cuando trata caudales grandes, se produce mayor desarrollo de bacterias

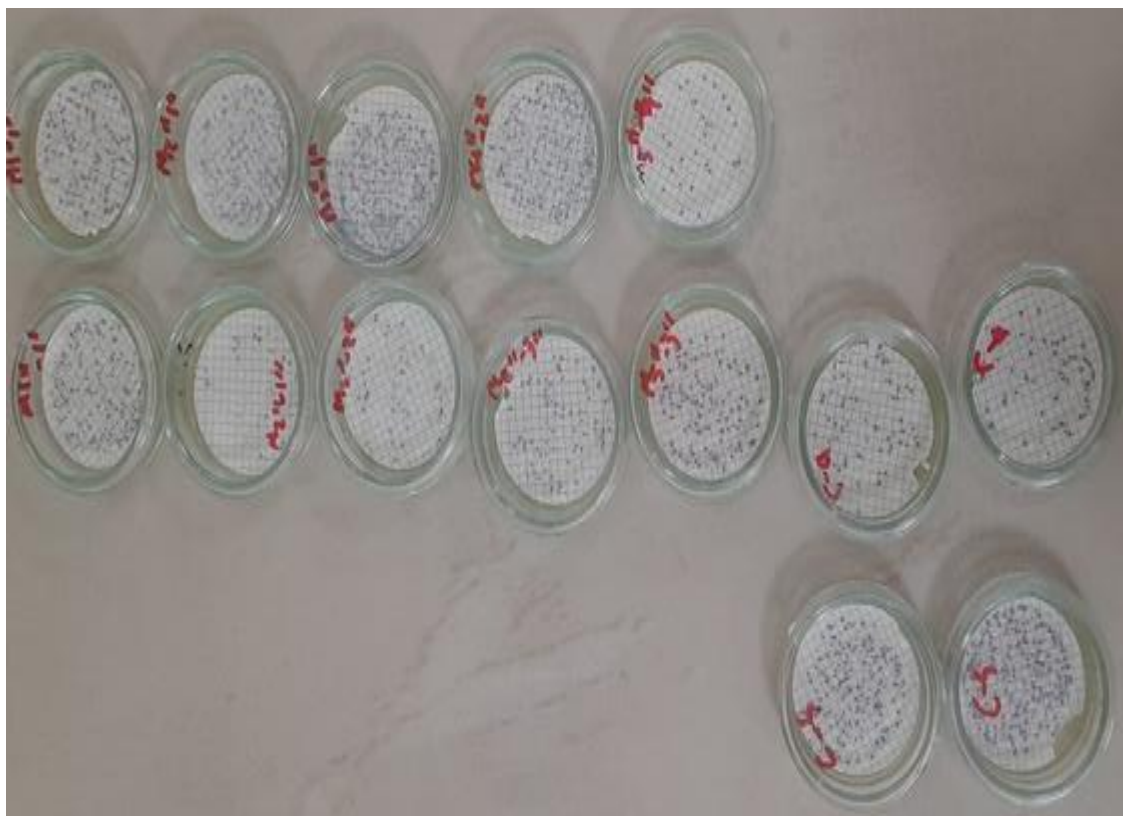


Ilustración 13. Bacterias Escherichia coli ATCC 8739 distribuidas por muestras

Fuente: Autor propio

7.3. Resultado de los ensayos de inactivación de la cepa Enterococcus sp

En la siguiente tabla se muestran los distintos ensayos experimentales realizados en el reactor UV de lámpara de baja presión, se detalla el volumen, el tiempo, el caudal y la dosis UV suministrada por la lámpara en los diferentes caudales

Tabla 6. Resultados de los ensayos de inactivación de la cepa *Enterococcus* sp

Agua residual + Enterococcus sp	Regulación llave de paso	Volumen (ml)	Q agua pasa lampara Uv (L/h)	Dosis aplicada (Mj cm2)	UV
Ensayo 5 09/06/2022	Control	-----	-----	-----	
	Abierto 1	1000	55,4	30,41	
	Abierto 2	1000	78,3	21,52	
	Abierto 3	1000	100	16,84	
	Abierto 4	1000	133,3	12,63	
	Abierto 5 max	1000	276,9	6,08	
Ensayo 6 30/06/22	Control	-----	-----	-----	
	Abierto 1	1000	51,4	33	
	Abierto 2	1000	128,6	13,20	
	Abierto 3	1000	200	8,49	
	Abierto 4	1000	300	5,66	
	Abierto 5 max	1000	514,86	3,30	
Ensayo 7 06/07/22	Control	-----	-----	-----	
	Abierto 1	1000	61,01	25,21	
	Abierto 2	1000	83,72	18,37	
	Abierto 3	1000	120	12,81	
	Abierto 4	1000	163,63	9,40	
	Abierto 5 max	1000	257,14	5,98	
Ensayo 8 13/07/22	Control	-----	-----	-----	
	Abierto 1	1000	90	17,09	
	Abierto 2	1000	120	12,82	
	Abierto 3	1000	240	6,41	
	Abierto 4	1000	400	3,85	
	Abierto 5 max	1000	600	2,56	

Fuente: Autor Propio

En la siguiente ilustración se puede visualizar el crecimiento de las bacterias, se observa la presencia de colonias de *Enterococcus* sp representadas de color rojizo.

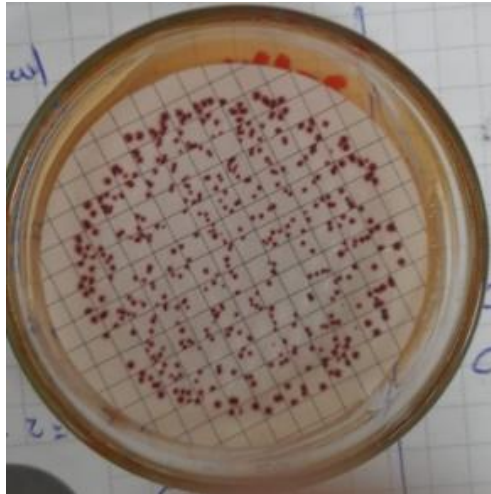


Ilustración 14. Bacteria *Enterococcus* sp

Fuente: Autor Propio

La eficiencia del reactor UV en inactivar y eliminar se encuentra reflejado en las siguientes imágenes, mayor efectividad cuando el reactor de lámpara de baja presión trata caudales pequeños, se visualiza menor crecimiento de bacterias, en cambio menor efectividad cuando trata caudales grandes, se produce mayor desarrollo de bacterias

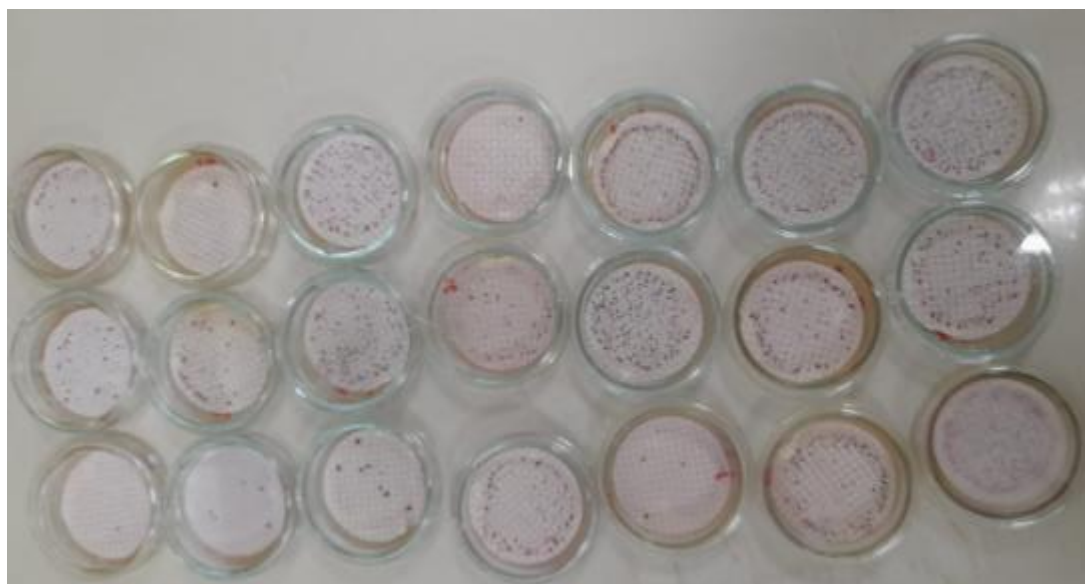


Ilustración 15. Bacterias *Escherichia coli* ATCC 8739 distribuidas por muestras

Fuente: Autor Propio

7.4. Ajuste de los datos a los modelos teóricos de inactivación bacteriana

Los estudios de inactivación de *E. coli* ATCC 8739 demuestran la relación entre la reducción de unidades logarítmicas bacterianas y el tiempo de exposición a los rayos UV a través de un modelo ajustado a partir de los datos presentados en las secciones anteriores. Para ello se utilizó el programa Excel y el software GInaFiT, cuyo funcionamiento se describe brevemente a continuación.

El software GInaFiT fue desarrollado por los autores (Geeraerd et al., 2005) en el año 2005, para ayudar a la industria alimentaria a desarrollar modelos predictivos para nueve tipos diferentes de análisis de supervivencia microbiana. Sin embargo, el software ha extendido su aplicación a otros campos científicos. La ilustración 17 muestra la forma de las curvas para los diferentes modelos.

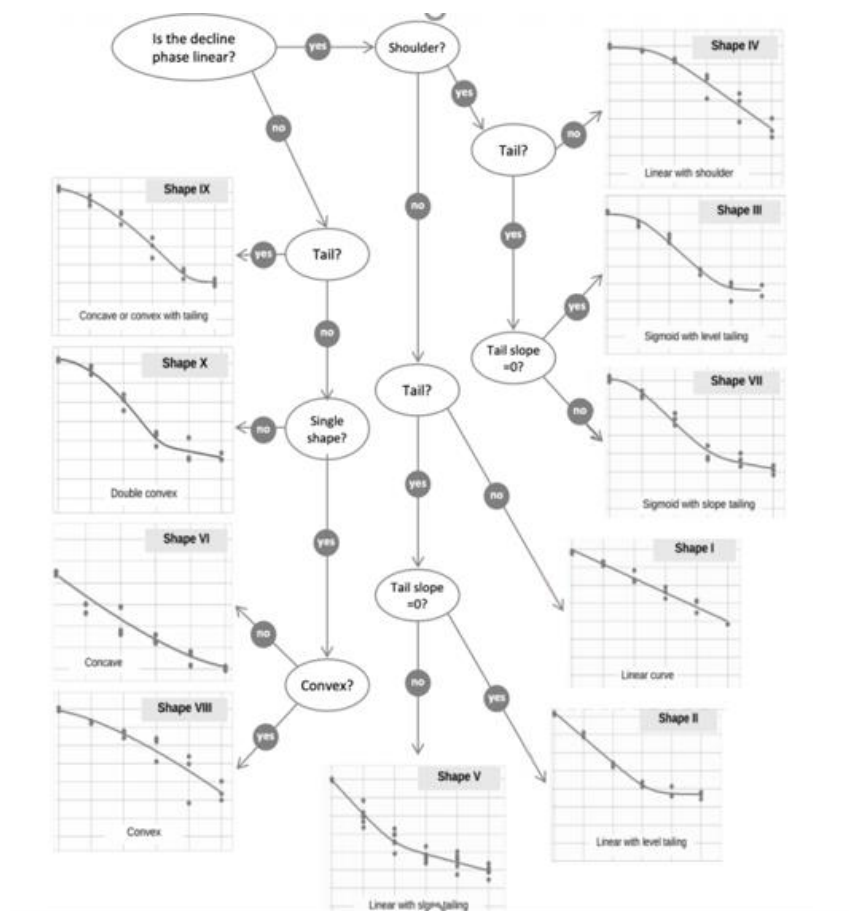


Ilustración 16. Comparación de la bacteria *Enterococcus* sp a diferentes concentraciones de turbidez.

Fuente: (Geeraerd , Valdramidis, & Van Impe, 2005).

7.4.1. Modelos experimentales de ajustes

En base a las ilustraciones 18 y 19, se encontró que el modelo más óptimo para el ajuste de los datos experimentales en todos los ensayos fueron el modelo “Log Linear-Regression” y el modelo “Linear with level tailing (Shape II)”, es decir, la inactivación de bacterias es más pronunciada al comienzo de la prueba y es significativa debido a todos los factores inhibitorios están trabajando rápidamente. Sin embargo, la formación de la cola indica que hay un punto en el que esta reducción se vuelve estática, el proceso de síntesis bacteriana cesa y, por lo tanto, el

número de unidades logarítmicas eliminadas de la concentración bacteriana alcanza un nivel relativamente constante.

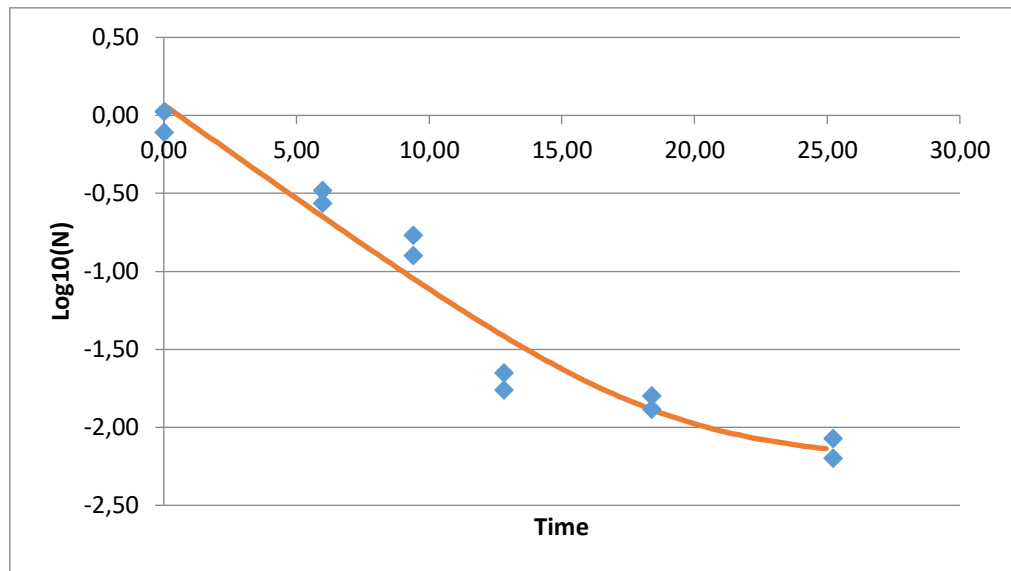


Ilustración 17. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria *Enterococcus* sp con 0 FTU

Fuente: Autor Propio

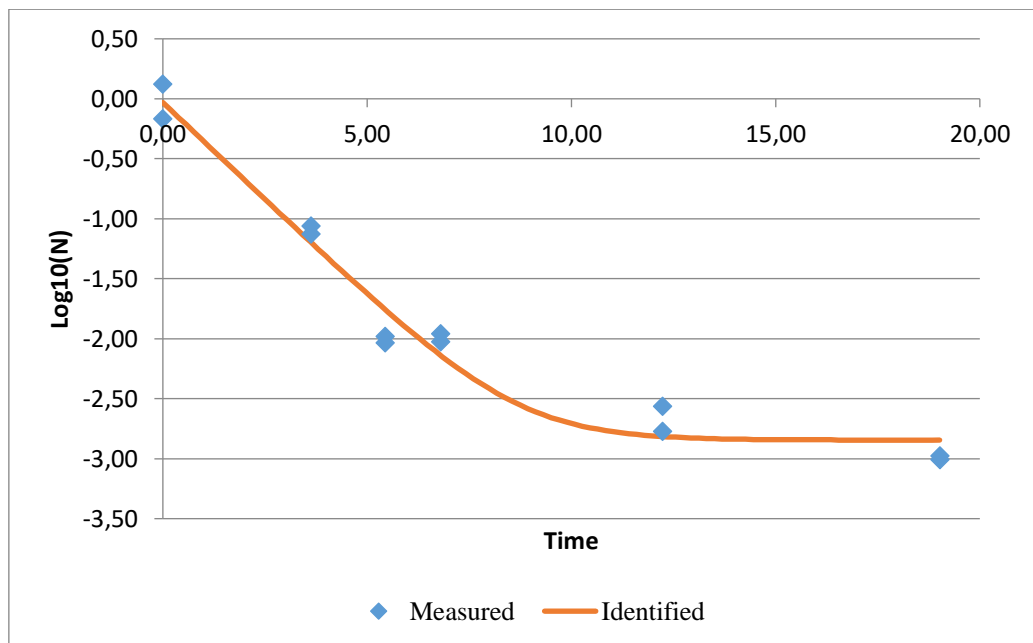


Ilustración 18. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria *Enterococcus* sp con 12 FTU.

Fuente: Autor Propio

En cuanto al modelo lineal, se puede observar un ajuste en la ilustración 20, donde el modelo predice a un objetivo continuo en este caso nuestras bacterias, basándose en relaciones lineales entre el objetivo y uno o más predictores. Limita el análisis de regresión como el estudio de la dependencia de la variable dependiente, sobre una o más variables explicativas, con el objeto de evaluar o predecir el valor promedio poblacional de la primera en términos de los valores conocidos o fijos (en medias muestrales repetidas) de las últimas.

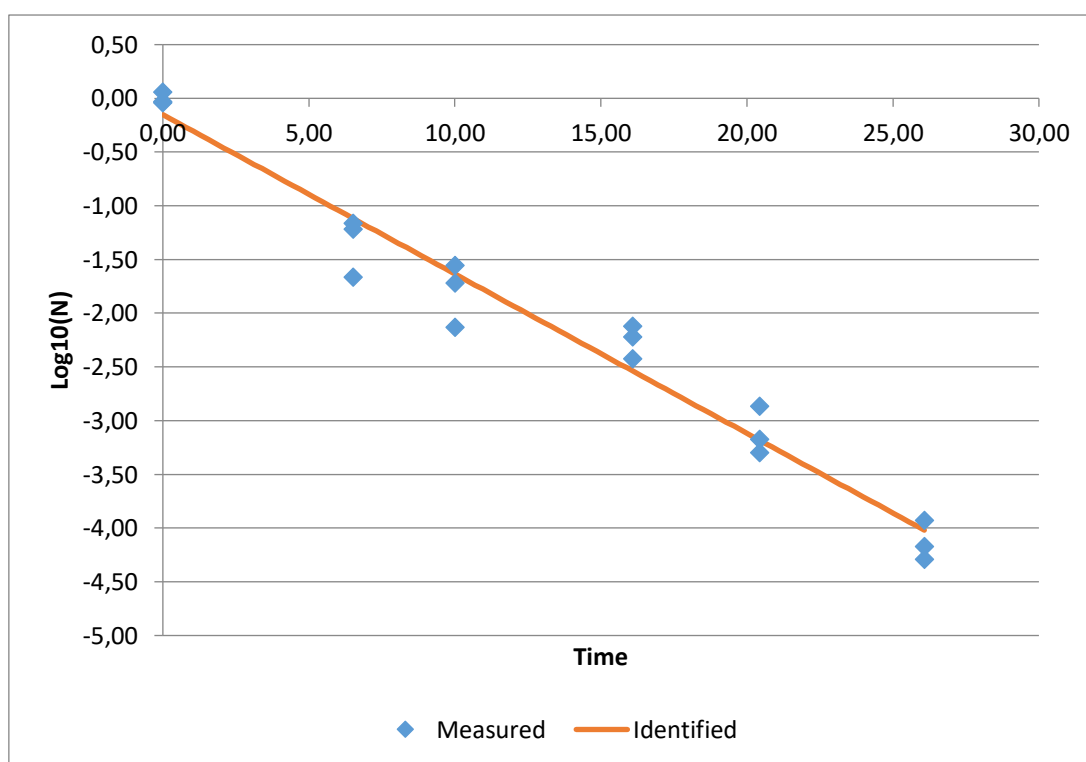


Ilustración 19. Modelo de ajuste de inactivación de bacteria *Enterococcus* sp con 22 FTU.

Fuente: Autor Propio

En todo el experimento, se evidencia una tendencia a la eliminación de la bacteria conforme aumenta la dosis UV, lo que hace que este experimento cumpla efectivamente con las metas planteadas en este estudio

7.4.2. Descripción de los modelos de ajustes y sus ecuaciones en el estudio de la inactivación de las bacterias Escherichia coli ATCC 8739 y Enterococcus sp

Para cada uno de los modelos descritos anteriormente se desarrolló una ecuación a partir de la cual se pueden determinar dos elementos importantes para conocer si el ajuste del modelo fue bueno o no. Ellos son: Coeficiente de Determinación (R²) y Error Cuadrático Medio (RMSE). Los autores (Geeraerd et al., 2005) explican que R² es la proporción de cambio en la curva de inactivación y un valor cercano a 1 es el mejor ajuste. Mientras que RMSE cuantifica la bondad de ajuste y las observaciones de un modelo lineal o no lineal al predecir el modelo, cuando su valor es cercano a 0, es su mejor ajuste

Otras variables de interés se presentan en la Tabla 17, donde k_{max}, de acuerdo con (Geeraerd et al., 2005) se define como la tasa de inactivación específica de un modelo y cuyas unidades son 1/unidad de tiempo, y N_{res} que es la densidad de población residual en unidades de UFC/ml y que gráficamente representa el comienzo de la cola

Por otro lado, las ecuaciones para cada modelo siguen cinéticas de primer orden y contienen elementos de las expresiones de Chick y Watson, quienes trabajan en conjunto para producir las ecuaciones para el modelo de desactivación, los autores citan esta información (Ajiboye et al., 2021), y la ecuación se expresa de forma general como:

$$\text{Log}N_t/N_0 = -k * t$$

Donde:

N₀ = Concentración inicial

N_{res} = Comienzo de la “cola” / densidad de población residual

K_{max} = Tasa de inactivación

7.5. Modelos de inactivación para la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 y parámetros necesarios del estudio

Tabla 7. Modelo de inactivación y parámetros

Ensayo con <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Modelo de inactivación	Parámetros	Parameter values	Root Mean Sum of Squared Error	R-Square
0 FTU, día 0	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,50 ± 0,05	0,9679	0,9639
		LOG 10 (N_res)	-5,46 ± 0,16		
		LOG10(NO)	-0,98 ± 0,15		
0 FTU, día 1 Oscuridad	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,77 ± 0,20	1,19	0,79
		LOG 10 (N_res)	-8,71 ± 2,99		
		LOG10(NO)	-0,66 ± 0,70		
0 FTU, día 1 Luz	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,51 ± 0,06	0,1510	0,9896
		LOG 10 (N_res)	-4,04 ± 0,15		
		LOG10(NO)	0,21 ± 0,23		
12 FTU, día 0	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	1,16 ± 0,06	0,1809	0,9921
		LOG 10 (N_res)	-4,27 ± 0,09		
		LOG10(NO)	0,03 ± 0,08		
12 FTU, día 1 Oscuridad	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,98 ± 0,11	0,3313	0,9615
		LOG 10 (N_res)	-3,97 ± 0,24		
		LOG10(NO)	-0,19 ± 0,17		
12 FTU, día 1 Luz	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,59 ± 0,06	0,2252	0,9743
		LOG 10 (N_res)	-3,32 ± 0,16		
		LOG10(NO)	-0,15 ± 0,11		
32 FTU, día 0	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,66 ± 0,04	0,2469	0,9815
		LOG 10 (N_res)	-4,47 ± 0,20		
		LOG10(NO)	-0,09 ± 0,11		
32 FTU, día 1 Oscuridad	LOG10(N)= LOG10((10^LOG10(N0) - 10^LOG10(N_res)) * exp(-kmax * t) + 10^LOG10(N_res))	K max	0,54 ± 0,07	0,4942	0,9181
		LOG 10 (N_res)	-15,66 ± 0,20		
		LOG10(NO)	-0,96 ± 0,22		

	$\frac{\exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}(N_{res})}}{\text{LOG10}(N)=}$	K max	0,54	±	0,07		
32 FTU, día 1	$\text{LOG10}((10^{\text{LOG10}}(N_0) - 10^{\text{LOG10}}(N_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}}(N_{res}))$	LOG 10 (N_res)	-15,4	±	0,20		
Luz		LOG10(NO)	-0,96	±	0,22	0,4850	0,9211

Fuente: Autor propio

7.6. Modelos de inactivación para la bacteria *Enterococcus* sp y parámetros necesarios del estudio

Tabla 8. Modelo de inactivación y parámetros de la bacteria *Enterococcus*

Ensayo con <i>Enterococcus</i> sp	Modelo de inactivación	Parámetros	Parameter values	Root Mean Sum of Squared Error	R-Square
0 FTU, día 0	$\text{Log10}(n)=\text{log10}(n_0)-k_{max} * t / \ln(10)$	K max	0,51 ± 0,04	0,3123	0,9691
		LOG 10 (N_res)	-4,85 ± 0,18		
		LOG10(NO)	0,08 ± 0,15		
0 FTU, día 1 Oscurid ad	$\text{Log10}(n)=\text{Log10}((10^{\text{log10}}(n_0) - 10^{\text{log10}}(n_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{log10}}(n_{res}))$	K max	0,47 ± 0,05	0,3766	0,9457
		LOG 10 (N_res)	-5 ± 0,22		
		LOG10(NO)	0,57 ± 0,18		
0 FTU, día 1 Luz	$\text{LOG10}(N)=\text{LOG10}((10^{\text{LOG10}}(N_0) - 10^{\text{LOG10}}(N_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}}(N_{res}))$	K max	0,37 ± 0,07	0,4632	0,8519
		LOG 10 (N_res)	-3,56 ± 0,27		
		LOG10(NO)	-0,54 ± 0,23		
12 FTU, día 0	$\text{LOG10}(N)=\text{LOG10}((10^{\text{LOG10}}(N_0) - 10^{\text{LOG10}}(N_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}}(N_{res}))$	K max	0,75 ± 0,07	0,1966	0,9708
		LOG 10 (N_res)	-2,85 ± 0,10		
		LOG10(NO)	-0,03 ± 0,13		
12 FTU, día 1 Oscurid ad	$\text{LOG10}(N)=\text{LOG10}((10^{\text{LOG10}}(N_0) - 10^{\text{LOG10}}(N_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}}(N_{res}))$	K max	0,68 ± 0,13	0,3800	0,9014
		LOG 10 (N_res)	-2,76 ± 0,21		
		LOG10(NO)	0,10 ± 0,25		
12 FTU, día 1 Luz	$\text{LOG10}(N)=\text{LOG10}((10^{\text{LOG10}}(N_0) - 10^{\text{LOG10}}(N_{res})) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG10}}(N_{res}))$	K max	0,60 ± 0,05	0,1362	0,9741
		LOG 10 (N_res)	-1,92 ± 0,07		
		LOG10(NO)	0,18 ± 0,09		
32 FTU, día 0	$\text{LOG10}(N)=\text{LOG10}(N_0) - k_{max} * t / \text{LN}(10)$	K max	0,29 ± 0,02	0,2574	0,9497
		LOG10(NO)	0,19 ± 0,13		

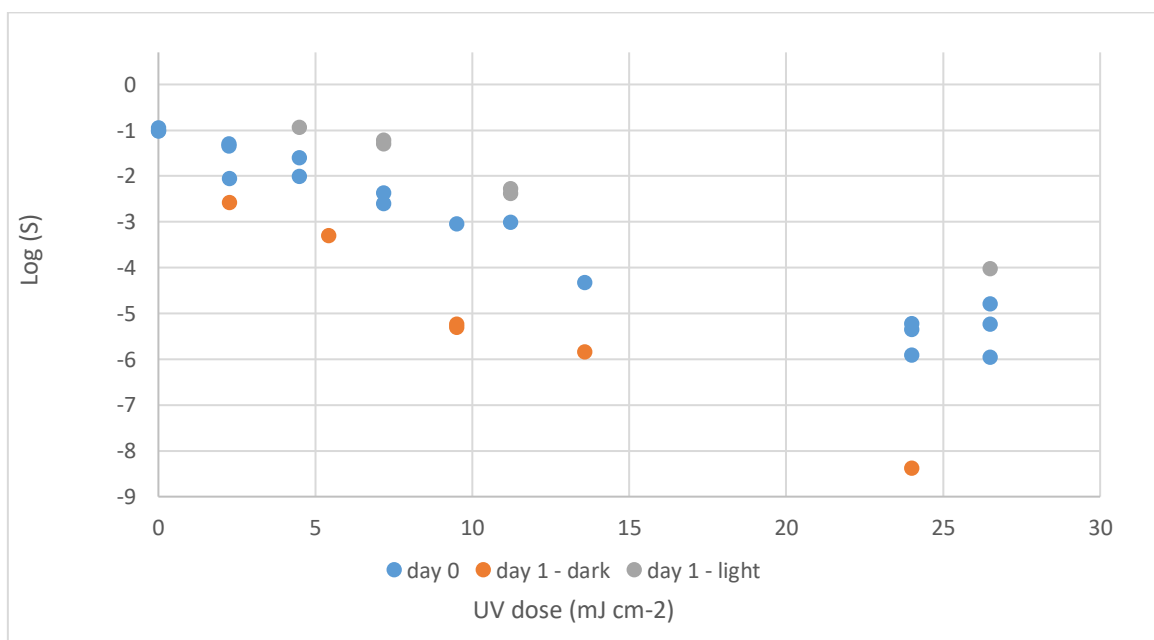
32 FTU, día 1 Oscurid ad	$\text{LOG}_{10}(N)=\text{LOG}_{10}(N_0)$	$K \text{ max}$	0,29	\pm	0,02	0,2619	0,9477
	$-k_{\text{max}}*t/\text{LN}(10)$	$\text{LOG}_{10}(N_0)$	0,17	\pm	0,13		
32 FTU, día 1 Luz	$\text{LOG}_{10}(N)=$	$K \text{ max}$	0,28	\pm	0,04	0,1994	0,9487
	$\text{LOG}_{10}((10^{\text{LOG}_{10}(N_0)}$	LOG_{10}	-2,21	\pm	0,18		
	$- 10^{\text{LOG}_{10}(N_{\text{res}})) *}$	(N_{res})					
	$\text{exp}(-k_{\text{max}} * t) +$	$\text{LOG}_{10}(N_0)$	0,07	\pm	0,12		
	$10^{\text{LOG}_{10}(N_{\text{res}}))}$						

Fuente: Autor propio

7.7. Resultados de la inactivación de la bacteria Escherichia coli ATCC 8739 y reactivación a luz y oscuridad

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria Escherichia coli ATCC 8739 a 0 FTU de turbidez

Figura 1. Resultado de la inactivación de la bacteria Escherichia coli ATCC8739 a 0 FTU



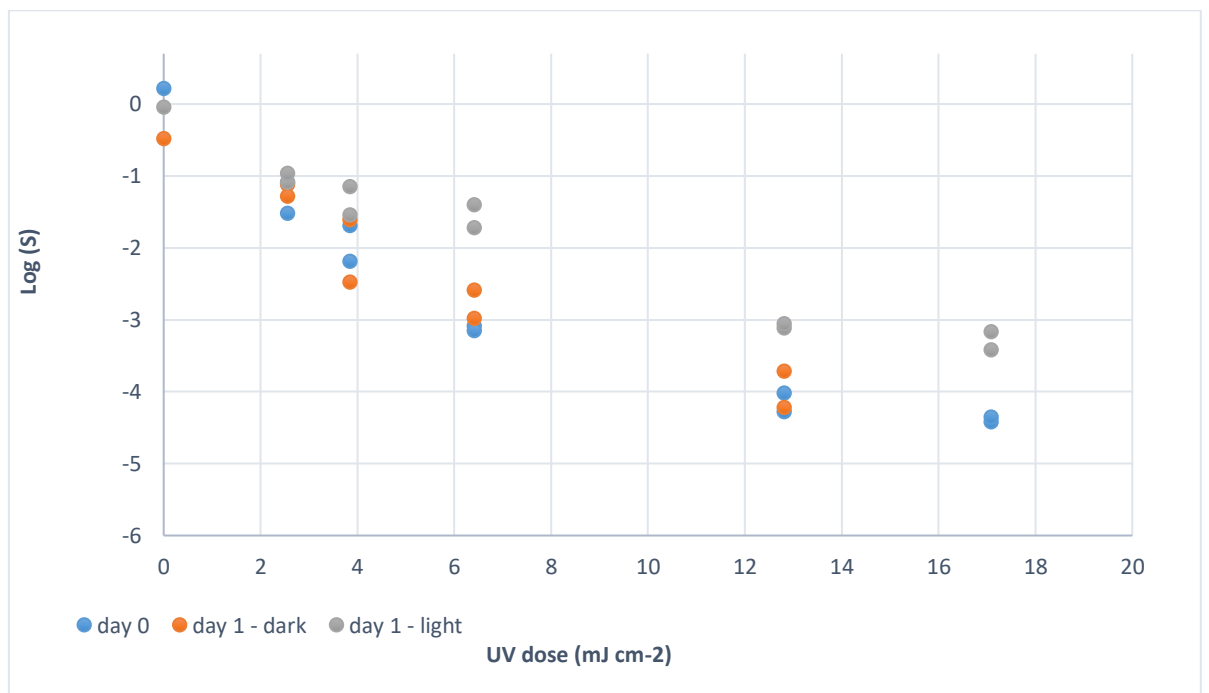
Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se comprara la dosis UV necesaria que se encuentra en el eje de las x para eliminar cierta cantidad Log de la bacteria Escherichia coli ATCC 8739 que se encuentra en el eje de las y ,donde se inactiva hasta aproximadamente -6 Log(s), donde Log (Nt/No) hace referencia a la reducción de unidades logarítmicas que

ocurre durante cada ensayo en un tiempo de exposición determinado, con dosis de hasta 27 mJ/cm², además se observa que la fotoreactivación es poco significativa en comparación al día 0, para esa misma dosis se consigue una inactivación total de -4.5 Log(s), mientras que los procesos de oscuridad en este caso hace que la concentración de bacterias siga disminuyendo al preservar las muestras en esta condición.

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 a 11 FTU de turbidez

Figura 2. Inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 a 11 FTU de turbidez



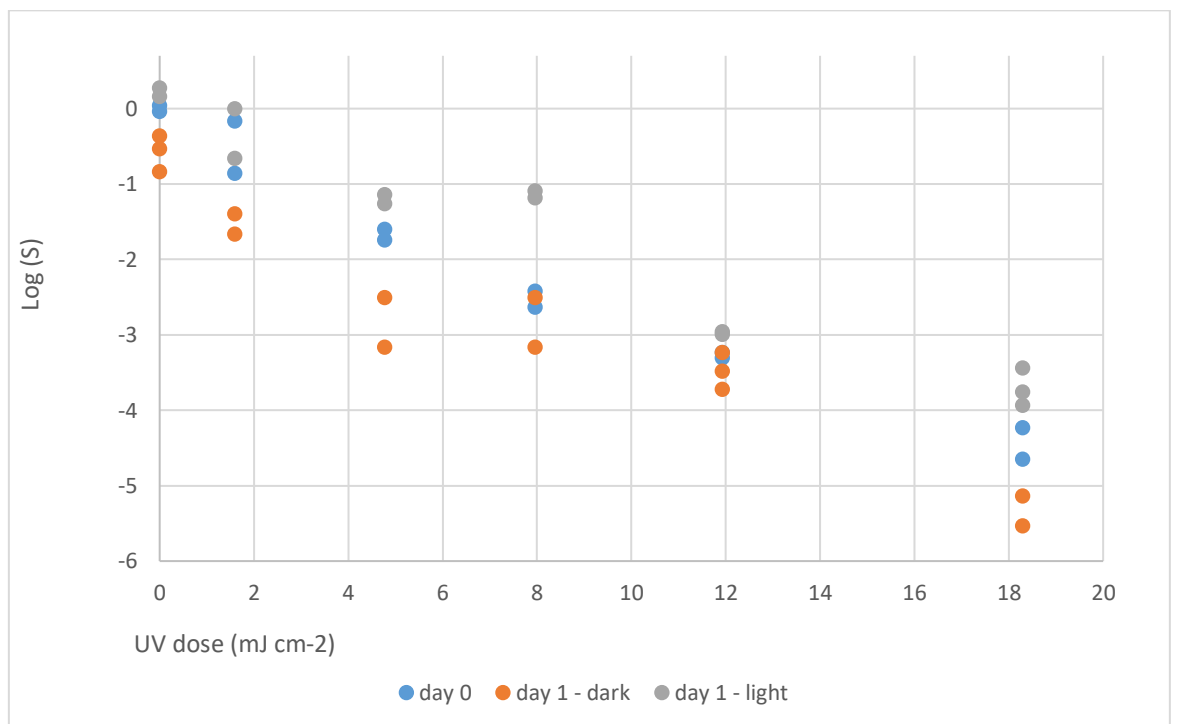
Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se encuentra con una turbidez de 10 a 15 FTU aproximadamente, nos indica que se necesita 17 mJ/cm² para inactivar aproximadamente -4,5 Log(s) de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739, además se observa que la fotoreactivación es poco

significativa en comparación al día 0, para esa misma dosis se consigue una inactivación total de -3.5 Log(s) , mientras que los procesos de oscuridad en este caso hace que la concentración de bacterias siga disminuyendo al preservar las muestras en esta condición y necesita menos dosis para la inactivación de las bacterias como es de 13 mJ/cm^2 aproximadamente

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 a 32 FTU de turbidez

Figura 3. Inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 a 32 FTU de turbidez



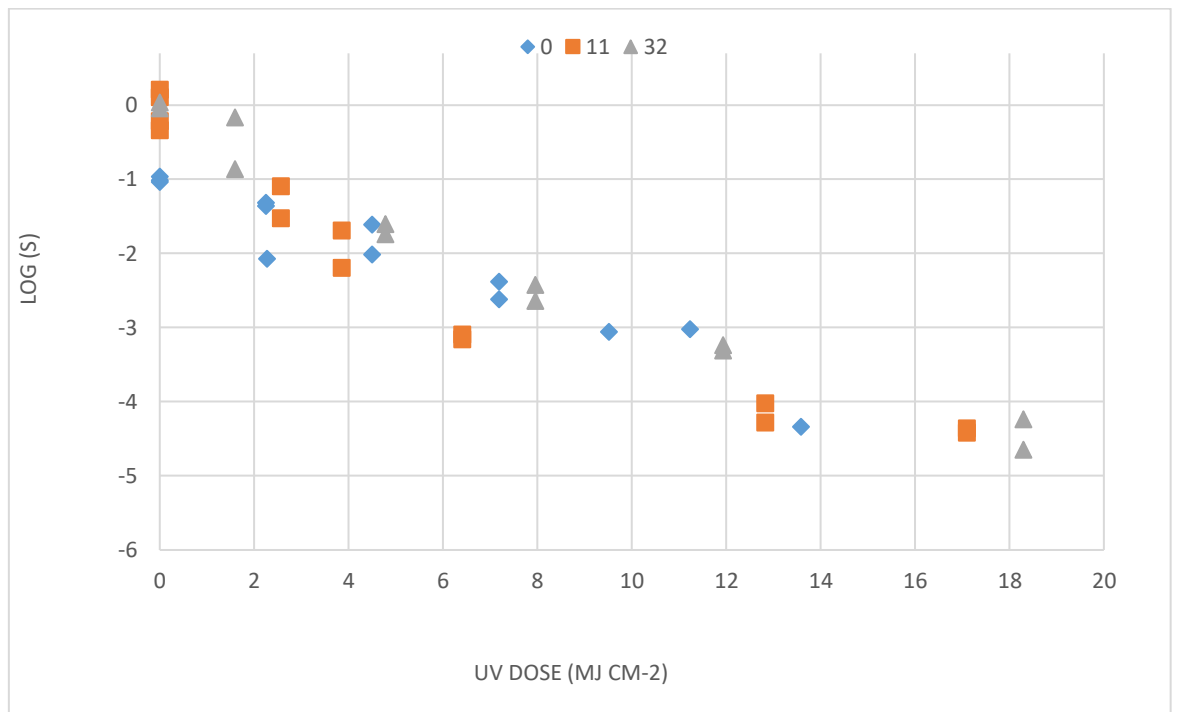
Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se encuentra con una turbidez de 30 a 35 FTU aproximadamente, nos indica que se necesita $18,5 \text{ mJ/cm}^2$ para inactivar aproximadamente $-4,85 \text{ Log(s)}$ de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739, además se observa que la fotoreactivación es poco significativa en comparación al día 0, para esa misma dosis se

consigue una inactivación total de -4 Log(s) , mientras que los procesos de oscuridad en este caso hace que la concentración de bacterias siga disminuyendo al preservar las muestras en esta eliminando aproximadamente $-5,5 \text{ Log(s)}$.

7.7.1. Comparación de todas las 3 variantes de turbidez en la inactivación de *Escherichia coli* ATCC 8739

Figura 4. Comparación con las diferentes concentraciones de turbidez a la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739

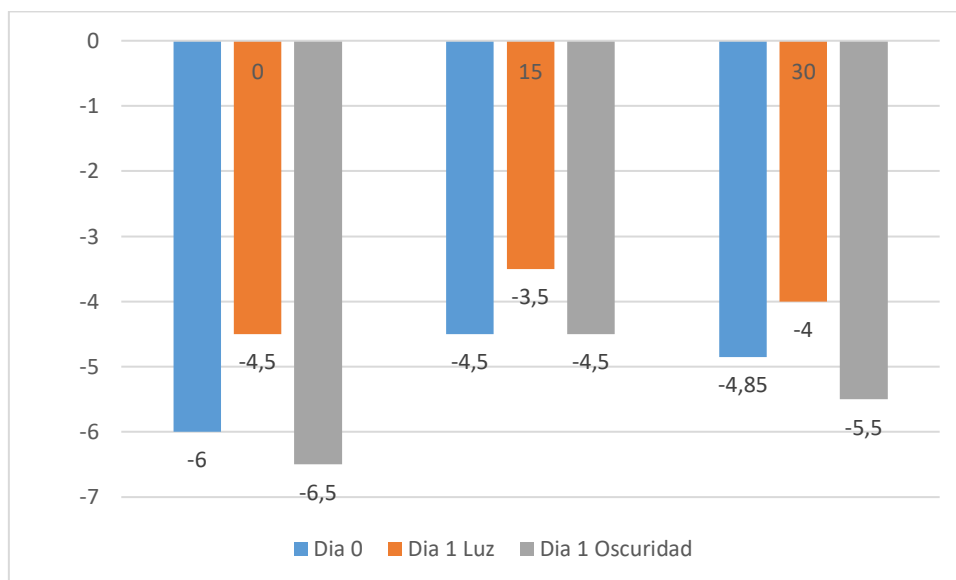


Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se compara la inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 a diferentes concentraciones de turbidez como son de 0 FTU, 11 FTU y 32 FTU aproximadamente, en donde podemos observar que la turbidez juega un papel fundamental en la inactivación de las bacterias, haciendo que mientras mayor grado de turbidez este, se necesita una mayor dosis de radiación UV, para inactivar a las bacterias, como observamos en para eliminar aproximadamente $-4,5 \text{ Log(s)}$, se necesita con una turbidez de 0 FTU,

13,8 mJ/cm², en cambio para eliminar lo mismo pero con una turbidez de 11 FTU, se necesita aproximadamente 17 mJ/cm² y para una turbidez de 32 FTU, se necesita aproximadamente 18,5 17 mJ/cm². en donde podemos concluir que la turbidez afecta a la inactivación de la bacteria Escherichia coli ATCC 8739.

Figura 5. Comparación con las diferentes concentraciones de turbidez a la bacteria Escherichia coli ATCC 8739

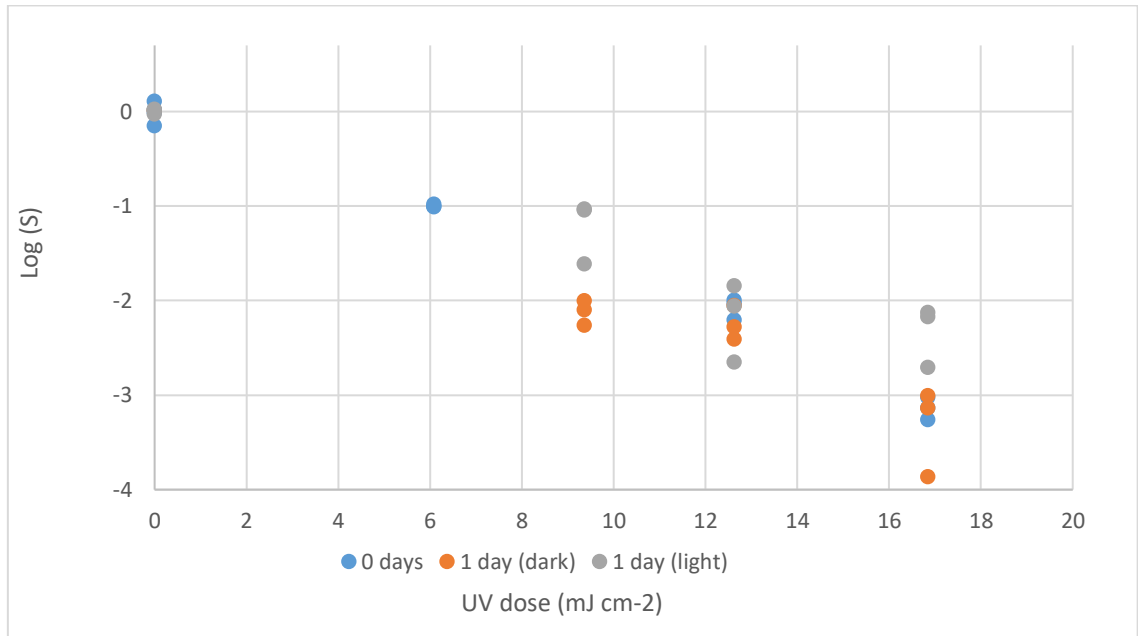


Fuente: Autor propio

7.8. Resultados de la inactivación de la bacteria Enterococcus sp y reactivación a luz y oscuridad

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria Enterococcus spa 0 FTU de turbidez

Figura 6. Inactivación de la bacteria *Enterococcus* sp a 0 FTU de turbidez

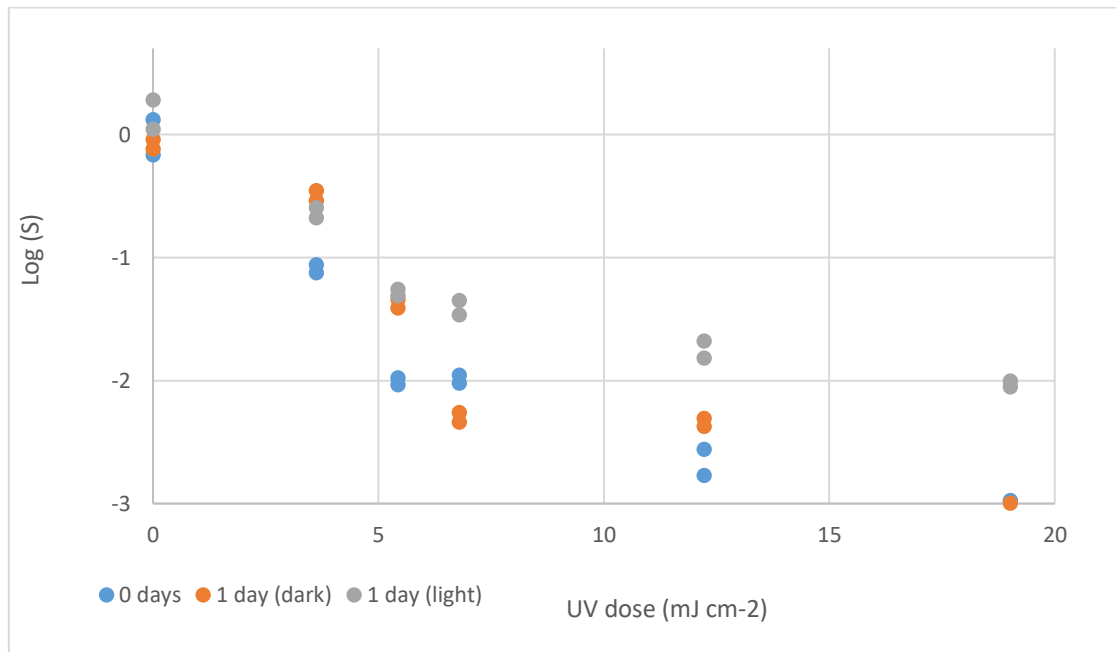


Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se comprara la dosis UV necesaria que se encuentra en el eje de las x para eliminar cierta cantidad Log de la bacteria *Enterococcus* sp que se encuentra en el eje de las y ,donde se inactiva hasta aproximadamente -3,5 Log(s) con dosis de hasta 17mJ/cm², además se observa que la fotoreactivación es poco significativa en comparación al día 0, para esa misma dosis se consigue una inactivación total de -2.4 Log(s), mientras que los procesos de oscuridad en este caso hace que la concentración de bacterias siga disminuyendo al preservar las muestras en esta condición.

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria *Enterococcus* spa 12 FTU de turbidez

Figura 7. Inactivación de la bacteria *Enterococcus sp* a 12 FTU de turbidez

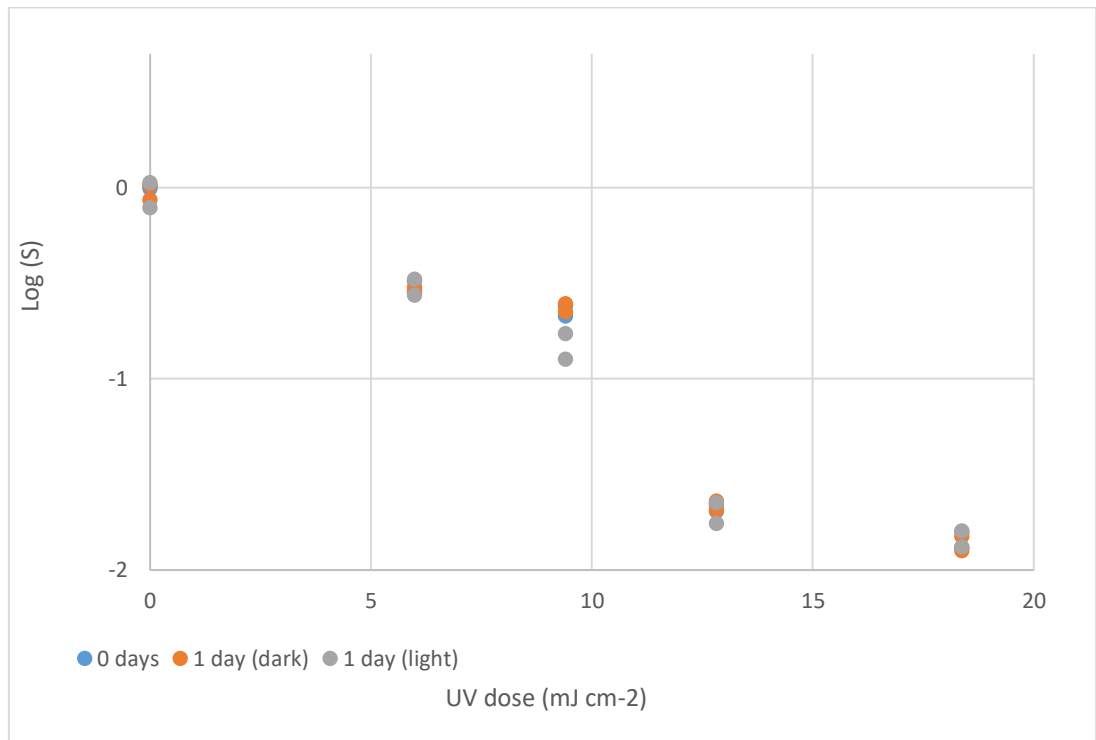


Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se encuentra con una turbidez de 10 a 15 FTU aproximadamente, nos indica que se necesita aproximadamente una dosis de $19\text{mJ}/\text{cm}^2$ para inactivar aproximadamente $-3 \text{ Log}(s)$ de la bacteria *Enterococcus sp*, además se observa que la fotoreactivación es poco significativa en comparación al día 0, para esa misma dosis se consigue una inactivación total de $-2 \text{ Log}(s)$, mientras que los procesos de oscuridad en este caso hace que la concentración de bacterias siga disminuyendo al preservar las muestras en esta condición y manteniéndose casi al margen que el día 0.

La siguiente ilustración muestra la inactivación de la bacteria *Enterococcus spa* 32 FTU de turbidez

Figura 8. Inactivación de la bacteria *Enterococcus* sp a 32 FTU de turbidez

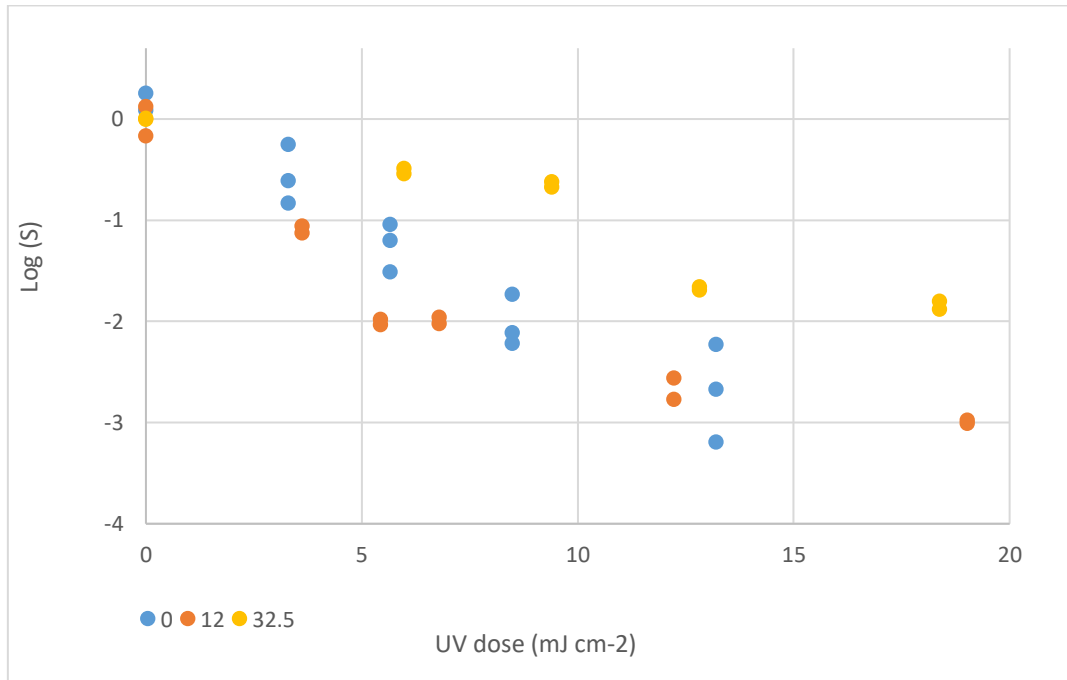


Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se encuentra con una turbidez de 30 a 35 FTU, nos indica que se necesita alrededor de 13mJ/cm² de dosis para inactivar aproximadamente -1,90Log(s) de la bacteria *Enterococcus* sp, además se observa que la fotoreactivación es más significativa en comparación al día 0, para inactivar 1,90Log(s), se necesita aproximadamente 18,5 13mJ/cm² de dosis. En el caso de las muestras en oscuridad ocurre lo mismo que en fotoreactivación.

7.8.1. Comparación de todas las 3 variantes de turbidez en la inactivación de *Enterococcus* sp

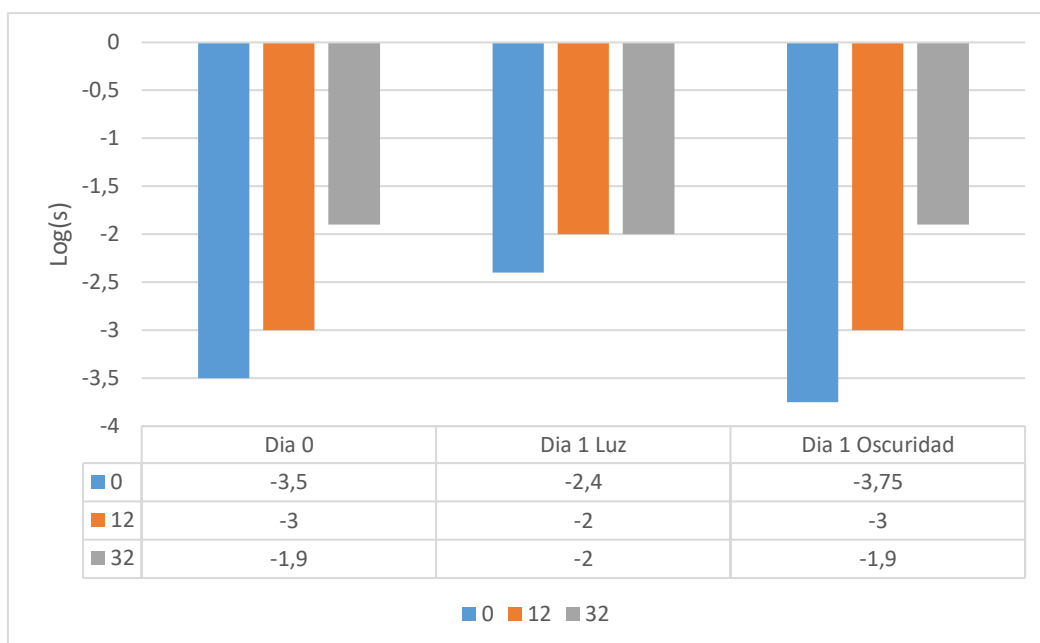
Figura 9. Comparación a diferentes concentraciones de turbidez



Fuente: Autor propio

Como se observa en la gráfica donde se compara la inactivación de la bacteria *Enterococcus* sp a diferentes concentraciones de turbidez como son de 0 FTU, 11 FTU y 32 FTU aproximadamente, en donde podemos observar que la turbidez juega un papel fundamental en la inactivación de las bacterias, haciendo que mientras mayor grado de turbidez está, se necesita una mayor dosis de radiación UV, para inactivar a las bacterias, como observamos para eliminar aproximadamente -3 Log(s), con una turbidez de 0 FTU, se necesita, 13,8 mJ/cm², en cambio para inactivar lo mismo, pero con una turbidez de 11 FTU, se necesita aproximadamente 19 mJ/cm² de dosis y para una turbidez de 32 FTU, se necesita aproximadamente 18,5mJ/cm² para eliminar alrededor de -1,90 Log(s), disminuyendo mucho la inactivación con esta turbidez, en donde podemos concluir que la turbidez afecta a la inactivación de la bacteria *Enterococcus* sp, principalmente en concentraciones de turbidez altas.

Figura 10. Comparación de la bacteria *Enterococcus* sp a diferentes concentraciones de turbidez



Fuente: Autor Propio

Discusión

Se comprobado que a mayor dosis UV irradiada al agua contaminada, hay un mayor grado de efectividad, y un menor porcentaje de inactivación tanto de la bacteria *Enterococcus* sp y *Escherichia coli* ATCC 8739, (Ver las ilustraciones: 14 y 16), estando totalmente de acuerdo con lo que afirma (Millán, 2015)

Los investigadores Acosta, Cairo y Perico investigaron la inactivación de microorganismos en 2015 y concluyeron que se necesitan 300 segundos de exposición para eliminar los microorganismos estudiados. Sin embargo, como demostraron Aguirre, García y Sahuquillo en 2004, 6 segundos fueron suficientes para eliminar el microorganismo. En mi experimento, utilizando la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 de bacterias certificadas, 36,25 segundos fue el mejor tiempo de exposición para la inactivación. Y en la bacteria *Enterococcus* sp, el mejor tiempo de exposición fue 26,15 segundos

Después del análisis de los resultados se concluye que las dosis óptimas de radiación ultravioleta para inactivar una unidad logarítmica son; para el *Escherichia coli* 2 mJ/cm², mientras que para *Enterococcus sp.*, es de 3 mJ/cm², mientras que en un estudio similar encontraron para *Escherichia coli* 21,7 mJ/cm² y para *Enterococcus sp.*, 14,35 mJ/cm² para eliminar 1 Ulog de inactivación. (Tapia & Vargas, 2021)

Al aumentar la turbiedad disminuye la efectividad de la desinfección (Roldan Fonseca, 2019), como igualmente se menciona en el estudio de (LIU, 2006), donde menciona que la turbidez tuvo un impacto en la tasa de inactivación de las bacterias, principalmente cuando la turbidez era mayor a 12 FTU, donde la tasa de inactivación para *E. coli* donde la diferencia con turbideces de 0,5 y 12 FTU fue de 1,68 lg(No/N) (Laurel P, 2004)., en cambio en el presente estudio con una turbidez de 0 a 12 FTU la diferencia de tasas de inactivación para cada estudio vario aproximadamente 1,52 lg(No/N) para bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739 y para la bacteria *Enterococcus* fue de 1,90 lg(No/N).

La turbidez afectó el proceso de desinfección ultravioleta de dos maneras: podría disminuir la transmitancia del agua y afectar la administración de la dosis o proteger a los microorganismos de la luz ultravioleta, alterando así la característica de la curva de respuesta a la dosis (Laurel P, 2004).

Conclusiones

Sin duda, el estudio de las bacterias *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Enterococcus sp.*, al ser sometidas a radiación ultravioleta, podrían generar resultados positivos, mejorando la calidad de vida de las personas y su entorno, de esta manera se puede inferir que:

Se realizaron ensayos a distintas concentraciones de turbidez en donde después de los análisis de resultados se concluye que la turbidez

tiene gran influencia en los ensayos, dando como resultados que se requiere, una dosis UV de $13,8 \text{ mJ/cm}^2$ para eliminar $-4,5 \text{ Log(s)}$, con una turbidez de 0 FTU, mientras que para eliminar lo mismo pero con una turbidez de 11 FTU, se necesita aproximadamente 17 mJ/cm^2 de dosis y para una turbidez de 32 FTU, se necesita aproximadamente $18,5 \text{ mJ/cm}^2$, por lo cual se puede concluir que la turbidez afecta a la inactivación de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739.

De igual manera la influencia de la turbidez fue aún más notable en la bacteria *Enterococcus sp*, donde observamos que para eliminar aproximadamente -3 Log(s) , con una turbidez de 0 FTU, se necesita, $13,8 \text{ mJ/cm}^2$, en cambio para inactivar lo mismo, pero con una turbidez de 11 FTU, se necesita aproximadamente 19 mJ/cm^2 de dosis y para una turbidez de 32 FTU, se necesita aproximadamente $18,5 \text{ mJ/cm}^2$ para eliminar alrededor de $-1,90 \text{ Log(s)}$, no logrando una disminuyendo como las otras concentraciones de turbidez, concluyendo que la bacteria *Enterococcus* en combinación con la turbidez es mucho más resistente a que la bacteria *Escherichia coli* ATCC 8739.

Los ensayos experimentales de reactivación revelan que la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739, los procesos de inactivación son casi similares en rangos de turbidez de 0 a 32 NTU, con las diferentes concentraciones de turbidez, mientras que en la bacteria *Enterococcus sp*, si influye la turbidez en los procesos de inactivación, esta mientras más alta es menor es la eficiencia de inactivación. En donde la reactivación para cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 al día 1 tuvo un aumento aproximado de $1,11 \text{ Log(s)}$, en comparación con el día 0, en cambio la bacteria *Enterococcus sp* la reactivación al día uno tuvo un aproximado de $0,73 \text{ Log(s)}$, concluyendo que la bacteria *Enterococcus* es menos sensible a la fotoreactivación.

Recomendaciones

De la experiencia recogida a través de los ensayos realizados u relacionados con la eficiencia de inactivación o reactivación de bacterias mediante luz ultravioleta, y con concentraciones de turbidez se recomienda:

Se recomienda el uso de medios de cultivo cromogénicos, debido a que poseen particularidades apropiadas y están diseñados concretamente para cada proceso de inhibición, impidiendo el crecimiento de otro tipo de bacterias y enfocándose únicamente a colonias de interés.

Todo el material de laboratorio que será utilizado para el ensayo debe estar desinfectados, auto clavado, o puesto en luz UV, esto permite que los resultados sean más exactos y evitar contaminaciones al medio, evitando el crecimiento de bacterias innecesarias.

Una mayor intensidad de UV podría superar la influencia negativa de la turbidez en el rendimiento de la radiación UV.

Finalmente se recomienda continuar con la experimentación, abordar el tema de manera más real, en este caso con ensayos aplicados en agua residual real, con la turbidez propia que tendría este tipo de agua.

Bibliografía

- A. Del Puerto, M. C. (1999). Calidad del agua y enfermedades de transmisión digestiva. Cuba.
- Abbaszadegan, M. H. (1997). *The disinfection efficacy of a point-of-use water treatment system against bacterial, viral and Protozoan waterborne pathogens*. Water Research.
- Acosta, P. M. (2015). *Análisis de interferencia de parámetros físicos del agua, en desinfección por radiación UV*. Revista de Tecnología. Obtenido de <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1874>
- Alcalde L., F. M. (1968). *Secondary effluente reclamation: combinación of pre-treatment and disinfection technology*, *Water Science and Technolog.*
- Bachoon DS, M. S. (2010). *Assessment of non-point sources of fecal pollution in coastal waters of Puerto Rico and Trinidad*. *Marine Pollution Bulletin*.
- Bolton & Linden. et al. (2003). Standarization of methods for fluence (UV Dose). *Determination in Bench-Scale UV Experiments*. *Journal of Environmental Engineering*, 209-215.
- Borrego Arrabal & Romero. et al. (1982). *Study of Microbiological Pollution of a Malaga Litoral Area: II Relationship between Faecal coliforms and Faecal Streptococci*". C.I.E.S.M.
- Brockhoff & Hewett. et al. (2000). Inequality of child mortality among ethnic groups in sub-Saharan Africa. *Bull World Health Organ*, 78 (1): 30-41.
- Cairns, H. B. (1998). *LUZ ULTRAVIOLETA*. Canadá: Ontario.

- Cairns, H. B. (2008). *Luz Ultravioleta*. Canadá: Trojan Technologies Inc.
- Cantwell, R. E. (2010). *Ultraviolet absorption properties of suspended particulate matter in untreated surface waters*. Department of Civil Engineering.
- Cantwell, R. H. (2008). *Inactivation of indigenous coliform bacteria in unfiltered surface water by ultraviolet*.
- Carrillo , E. M., & Lozano, A. M. (2008). *Validación del método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando Agar Chromocult. [Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de Microbióloga Industrial]*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.
- Chiroles SR, G. M. (2007). *Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares*. Cuba: Hig Sanid Ambient.
- Chung, Y. C., Kim, Y. S., Shadchehr, A., Garrido, A., & Macgregor, I. L. (1979). *and Sleisenger MH. Protein digestion and Gastroenterology*.
- D. Valbuena, O. D. (s.f.). *Detección de helmintos intestinales y bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales tratadas y no tratadas*.
- Dominguez, L., & Parzanese, M. (2015). *Luz ultravioleta en la conservación de alimentos*. *Scielo*.
- Fonseca, J. M. (2009). *Luz Ultravioleta para inactivar bacterias, hongos y virus en Hortalizas*, 1-10.
- Galal-Gorchev. (1996). *Desinfección del agua potable y subproductos de interés para la salud*. En: *La calidad del agua potable en*

America Latina: Ponderación de los riesgos microbiológicos contra los riesgos de subproductos de la desinfección química.

Geeraerd, A. H., Valdramidis, V. P., & Van Impe, J. F. (2005). GIInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102(1), 95-105.

Gómez, M. d. (2006). *Urban wastewater disinfection by filtration technologies.* . Desalination.

Hazen, T. C., & Fuentes, F. A. (1988). *In situ survival and activity of pathogens and their indicators.* Santo Domingo: Proc. IV ISME.

Herrera A, S. P. (2005). *Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera.* INCI.

Hijnen. et al., W. A. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water. *Water Research* 40, (1), 3-22.

Hofmann, R. E. (s.f.). *Ultraviolet absorption properties of suspended particulate matter in untreated surface waters.*

IANAS. (2019). *Calidad del Agua en las Américas Riesgos y Oportunidades.* Katherine Vammen, Henry Vaux y Adriana de la Cruz Molina.

ISO 9308-1. (2016). *numeration of Escherichia coli and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora.* Water quality.

ISO17994, U.-E. (2014). *Calidad del agua. Requisitos para la comparación de la tasa de recuperación relativa de microorganismos por dos métodos cuantitativos.*

- J.R. Guimarães, y. E. (2001). *Tratando nossos esgotos: processos que imitam a natureza*. Quimica Nova na Escola-Cadernos Temáticos, Edición especial-Febrero.
- Jagger, J. S. (1967). *Killing and photoreactivation of Streptomyces griseus conidia by vacuum-ultraviolet and far-ultraviolet radiation*. Radiation Research.
- Jagger, J. S. (1967). *Killing and photoreactivation of Streptomyces griseus conidia by vacuum-ultraviolet and far-ultraviolet radiation (1500-1700)*.
- Jeny Adina Larrea-Murrell, M. M.-B.-Á.-H.-P. (2013). *Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura*. Cuba: Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 44.
- Jornada de jóvenes investigadores, (. (2018). *Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de agua de consumo en la zona aledaña al cementerio de Minga Guazú*. Paraguay.
- Kerim Kollu. (2012). *Efecto de las partículas y la biofloculación en la desinfección ultravioleta de Escherichia coli*. Investigación sobre el agua.
- Koivunen, J. &.-T. (2005). *Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments*. Water Research .
- Laurel P, J. M. (2004). *Effect of low turbidity and algae on UV dofonfection performance* .
- Liberti, L. N. (2002). *Advanced treatment for municipal wastewater reuse in agricultura. UV disinfection: parasite removal and by-product formation*. Water Science and Technolnogy.

- LIU, W.-j. a.-j. (2006). '*Effects of UV Intensity and Water Turbidity on Microbial Indicator Inactivation*'.
- Luby SP, G. S. (2008). *Tubewell water quality and predictors of contamination in three flood-prone areas in Bangladesh*. . Appl Microbiol.
- Marchand, E. O. (2002). *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. [Tesis para optar al título profesional de biólogo con mención en Microbiología y Parasitología]*. Universidad del Perú, Decana de América.
- Marcó L, A. R. (2004). *La turbidez como indicador básico de calidad de aguas potabilizadas a partir de fuentes superficiales*.
- Millán, D. L. (2015). "*Ultraviolet Light :Microbial Inactivation on Fruits*". Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación de La Universidad de Oriente. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/4277/427743080011.pdf>.
- Morató, e. a. (2003). *Microbial response to disinfectants. The Handbook of Water and Wastewater Microbiology*.
- Mousati, &. d. (2011). *Trihalometanos en aguas de consumo humano*. Revista de Toxicología.
- Noble RT, M. D. (2009). *Comparison of total coliform, fecal coliform, and Enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing*. Water Research.
- ONU-Agua. (2019). *Informe de políticas de ONU-AGUA sobre el Cambio Climático y el Agua*. UN-Water Technical Advisory Unit.

- Organizacion Mundial de la Salud. (s.f.). *Relacion del agua, el saneamiento y la higiene con la salud*. Obtenido de http://www.who.int/water_sanitation_health/facts2004/
- Otaki, M. O. (2003). *Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps*.
- Oviedo, G. A. (2018). *Estudio de fotoreactivación en cultivos microbiológicos obtenidos de carga microbiana de la superficie de fresas sometidas a diferentes dosis de luz ultra violeta de onda corta UV-C*. Revista C.
- Quek, P. H. (2008). *Indicators for photoreactivation and dark repair studies following ultraviolet disinfection*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnolog.*
- Ramirez, J. C. (2016). *SOBREEXPRESIÓN HOMÓLOGA Y HETERÓLOGA DE LA DNA FOTOLIASA DE ESCHERICHIA COLI. JÓVENES EN LA CIENCIA*.
- Ramirez. et al., C. A. (2011). *Calidad del agua evaluacion y diagnostico*. Ediciones de la U.
- Roldan Fonseca, K. M. (2019). *“Eficiencia de Lámparas de Rayos Ultravioleta En La Disminución de Coliformes Termotolerantes Del Efluente de La PTAR Lagunas de San José - Chiclayo.”*. Universidad Nacional de Trujillo. Área de Ciencias Biológicas.
- Rosario & Anderson. et al. (2005). *Enfermedades de origen alimentario*. Ediciones Díaz de Santos.
- Rossen A, R. M. (2008). *Indicadores bacterianos de contaminación fecal en el embalse San Roque*. Argentina: Hig Sanid Ambient.
- Rossen, A., Rodríguez, M. I., Ruibal, A. L., Forunato, M. S., Bustamante, A., Ruiz, M., . . . Korol, S. (2008). *Indicadores bacterianos de*

- contaminación fecal en el embalse San Roque* . Córdoba, Argentina: Hig Sanid Ambient.
- Samboni Ruiz, N. E. (2007). *Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. Ingeniería e investigació.* Ingeniería e investigación.
- Sánchez, M. S.-U. (2016). *Verificación del método de filtración por membrana para la detección y cuantificación de Legionella spp. en agua potable.* Revista Politécnica.
- Sanchez, M. T. (2008). *Subproductos de la desinfección del agua por el empleo de compuestos de cloro.* . Granada: Higiene y Sanidad Ambiental.
- Santiago R, T. M., Tremblay, R. I., Toledo H, C., gonzález N, J. E., Ryu, H., Santo D, J. W., & Toranzos, G. A. (2012). Microbial quality of tropical inland waters and effects of rainfall. *Appl and Environ Microbiol*, 78(15), 5160-5169.
- Social, B. –B. (1998). *Modelagem de desestatização do setor e saneamento básico. Rio de Janeiro.*
- Tapia, L., & Vargas, I. (2021). “ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN BACTERIAS *Escherichia coli* Y *Enterococcus sp.* NATURALES, CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”. Cuenca.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., & Stensel, H. D. (2003). *Wastewater engineering treatment and reuse.* McGraw Hill: Metcalf and Eddy Inc.
- UNICEF, I. y. (2021). *La falta de higiene, agua segura y saneamiento es una de las principales causas de la desnutrición crónica* .

- UNICEF, Organización Mundial de la Salud. (2009). *Diarrhoea: why children are still dying and what can be done*. New York: United Nations Children's Fund.
- USEPA. (1999). *Folleto informativo de tecnología de aguas residuales*. Washington, D.C: Office of water.
- USEPA. (2002). *Implementation guidance for ambient water quality criteria for bacteria (draft)*. Washington: Office of Water.
- USEPA. (2006). *Microbial laboratory guidance manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule*. Washington: Office of water (4601M).
- Warren L, M. W. (1955). *Comparison of the most probable numbers of Escherichia coli and Enterococci in river waters*. . American Journal of Public Health.
- Zimmer, J. L. (2002). *Potential repair of Escherichia coli DNA following exposure to UV radiation from both medium-and low- pressure UV sources used in drinking*.

Linkografía

<https://www.condalab.com/blog/retrospectiva-de-la-importancia-de-escherichia-coli-en-la-salud-humana-n15>

<https://espanol.medscape.com/verarticulo/5907823>

Anexos

Medios de cultivos empleados en los ensayos



Filtros de membrana utilizados de la marca Hydrophilic



Reactor UV utilizado



Sistema de filtración de membrana



Autoclavado de materiales



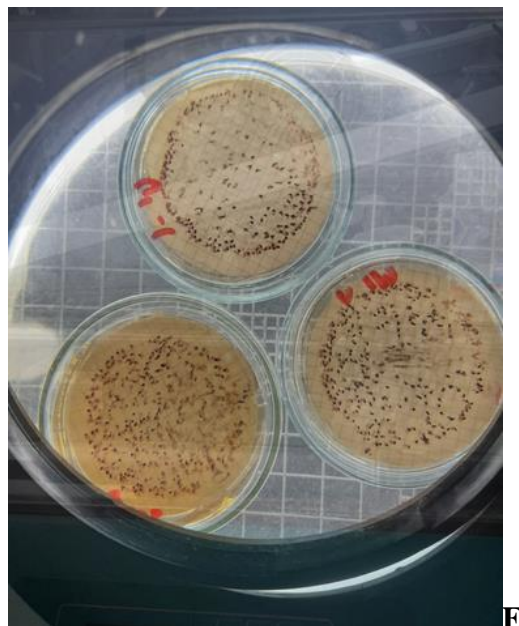
Centrifugación de las bacterias



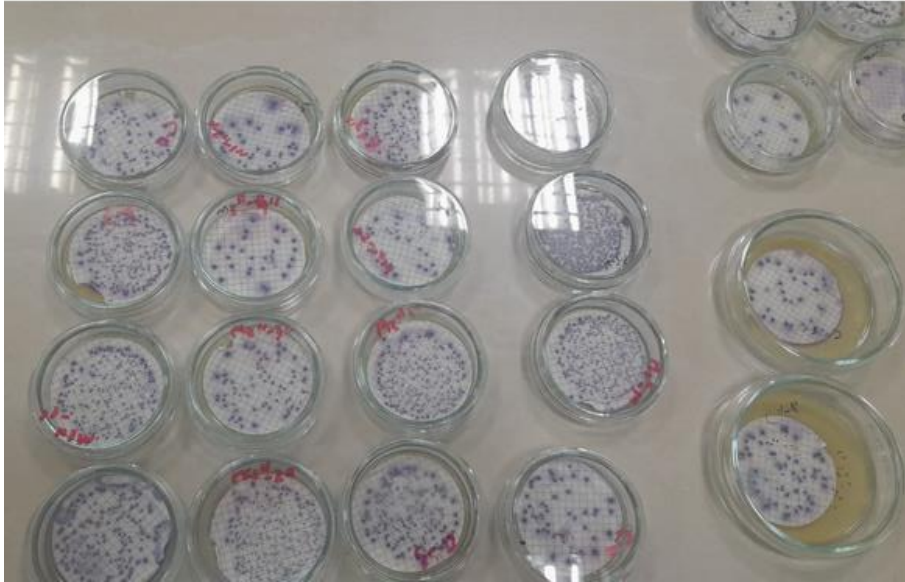
Cámara de binder utilizada para la fotoreactivación



Conteo de bacterias



Crecimiento de las bacterias Escherichia Coli ATCC 8739



Crecimiento de las bacterias Enterococcus sp

