

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera
Ambiental e Ingeniero Ambiental*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y
REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN
BACTERIAS *Escherichia coli* Y *Enterococcus sp.* NATURALES,
CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”**

AUTORES:

LORENA ESTEFANIA TAPIA CUASPUD

ANDRÉS ISMAEL VARGAS ORTEGA

TUTORA:

ING. PAOLA JACKELINE DUQUE SARANGO, MSc.

CUENCA - ECUADOR

2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Nosotros, Lorena Estefanía Tapia Cuaspud con documento de identificación N° 0105276141 y Andrés Ismael Vargas Ortega con documento de identificación N° 0302324736, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN BACTERIAS *Escherichia coli* Y *Enterococcus sp.* NATURALES, CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera Ambiental e Ingeniero Ambiental*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En la aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, noviembre de 2021.



Lorena Estefanía Tapia Cuaspud

C.I. 0105276141



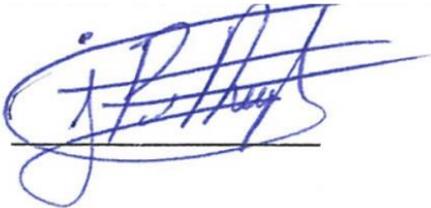
Andrés Ismael Vargas Ortega

C.I. 0302324736

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN BACTERIAS *Escherichia coli* Y *Enterococcus sp.* NATURALES, CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”**, realizado por Lorena Estefania Tapia Cuaspud y Andrés Ismael Vargas Ortega, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, noviembre de 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Paola Jackeline Duque Sarango', written over a horizontal line.

Ing. Paola Jackeline Duque Sarango, MSc.

C.I. 1104257835

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Nosotros, Lorena Estefania Tapia Cuaspucl con documento de identificación N° 0105276141 y Andrés Ismael Vargas Ortega con documento de identificación N° 0302324736, autores del trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LA EFICIENCIA DE INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN MEDIANTE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN BACTERIAS *Escherichia coli* Y *Enterococcus sp.* NATURALES, CONTENIDAS EN AGUA RESIDUAL”**, certificamos que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de nuestra exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, noviembre de 2021.



Lorena Estefania Tapia Cuaspucl

C.I. 0105276141



Andrés Ismael Vargas Ortega

C.I. 0302324736

DEDICATORIA.

A mis padres Carlos y María, mis pilares vitales para culminar uno más de mis sueños, por entregar todo su sacrificio, esfuerzo y apoyo incondicional a lo largo de mi vida. A los técnicos del Ministerio de Ambiente, Agua y Transición, por darme rienda y camino en el campo laboral y finalmente a mis amigos y compañero de tesis Ismael, gracias por todo su apoyo, hoy doy por culminado este proceso con éxito.

Bendiciones en esta nueva etapa de nuestras vidas.

Lorena Estefanía Tapia Cuaspud

A Miriam, Zoila, Clever, Santiago, Priscila y abuelos; quienes han ejercido el papel de protección y guías de educación, siendo pilares fundamentales para llegar hasta donde estoy. Además, a los profesores que han sido fundadores de inspiración y motivación durante los años universitarios y finalmente a mi compañera y futura colega Lorena.

Gracias infinitas.

Andrés Ismael Vargas Ortega

AGRADECIMIENTOS.

Queremos agradecer a nuestras familias que han estado de manera incondicional a nuestro lado. A la Ingeniera Paola Duque por aceptar ser nuestra tutora de tesis brindándonos su conocimiento, acertada orientación y enfoque crítico. De igual manera a la Doctora Mónica Espadero por ser un amparo dentro de las instalaciones del laboratorio; finalmente a Marlon Loayza y Sandy Gavilanes que siempre nos ofrecieron su apoyo de manera entusiasta y optimista.

Los Autores

RESUMEN.

La aplicación de luz ultravioleta como vía de desinfección es uno de los métodos más innovadores en el tratamiento de aguas residuales, debido a que es capaz de inactivar bacterias, virus, esporas, quistes de protozoos, entre otros (Lanao, 2012). Considerando esta metodología de desinfección, el presente estudio se enfocó en medir la eficiencia y aplicación de la luz ultravioleta sobre agua residual para eliminar dos tipos de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, natural.

Para la realización del trabajo experimental se construyó un reactor de flujo continuo, equipado con una fuente de luz ultravioleta con sus especificaciones de voltaje, mecánica de la bomba, caudales y tiempo de exposición; para su adecuado funcionamiento.

Las muestras de agua residual para la investigación se tomaron de la planta de tratamiento de aguas residuales Ucubamba. Los primeros ensayos realizados fueron pruebas preliminares puesto que se desconocía valores de dosis-exposición ultravioleta y caudal de circulación del agua residual.

Posteriormente los ensayos fueron aplicados con variación de los parámetros: tiempo y caudal con el objetivo de determinar rangos óptimos. Del total de ensayos, se validaron seis para la bacteria *Escherichia coli*, natural, con un rango de dosis de exposición ultravioleta de 9.07 a 30.15 (mJ/sg); mientras que para la bacteria *Enterococcus sp*, natural, se utilizaron 3 ensayos válidos, experimentando con rango de dosis entre 8.24 a 16.39 (mJ/sg). De cada ensayo se tomaron siete muestras; dos blancos (sin dosis ultravioleta) y cinco (con dosis ultravioleta).

De acuerdo con los resultados se concluye que las dosis óptimas de radiación ultravioleta para la inactivación de las bacterias estudiadas son: *Escherichia coli*, natural, de 21.7 mJ/sg, mientras que para *Enterococcus sp*, natural, 14.35 mJ/sg.

Palabras Claves: Luz Ultravioleta, Reactor Tubular, *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*.

ABSTRACT.

The application of ultraviolet light as a way of disinfection is one of the most innovative methods in wastewater treatment, because it is capable of inactivating bacteria, viruses, spores, protozoan cysts, among others (Lanao, 2012). Considering this methodology of disinfection, the present study it is focused on measuring the efficiency and application of ultraviolet light on wastewater to eliminate two types of bacteria *Escherichia coli* and *Enterococcus sp*, native.

To carry out the experimental work, a continuous flow reactor was built, equipped with an ultraviolet light source with its specifications such as voltage, pump mechanics, flow rates and exposure time, for the proper functioning.

The wastewater samples for the research were taken from the Ucubamba wastewater treatment plant. The first tests carried out were preliminary tests since the values of ultraviolet dose-exposure and wastewater circulation flow are unknown.

Subsequently, the tests applied with variation of the parameters were: time and flow to determine optimal ranges. The total of tests, six were validated for the native *Escherichia coli* bacteria, with a range of ultraviolet exposure doses from 9.07 to 30.15 (mJ/sg); while for the native *Enterococcus sp*, bacteria, it will be used in 3 valid tests, experimenting with a dose range between 8.24 to 16.39 (mJ/sg). Seven samples were taken from each trial: two target (without ultraviolet dose) and five (with ultraviolet dose).

According to the results, it is concluded that the optimal doses of ultraviolet radiation for the inactivation of the bacteria studied are *Escherichia coli*, native, 21.7 mJ/sg, and for *Enterococcus sp*, native, 14.35 mJ/sg.

Keywords: Ultraviolet light, tubular reactor, *Escherichia coli* & *Enterococcus sp*.

INDICE

CAPITULO I.	1
1.1. INTRODUCCIÓN.	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	2
1.3. JUSTIFICACIÓN.	4
1.4. OBJETIVOS.	5
1.4.1. <i>Objetivo general.</i>	5
1.4.2. <i>Objetivos específicos.</i>	5
1.5. ALCANCE DE LA TESIS.	5
1.6. ESTRUCTURA DE LA TESIS.	5
CAPITULO II.	7
2.1. MARCO LEGAL.	7
2.2. MARCO TEÓRICO.	9
2.2.1. <i>El Agua.</i>	9
2.2.2. <i>Ciclo integral del agua.</i>	10
2.2.3. <i>Contaminación del agua.</i>	11
2.2.4. <i>Enfermedades generadas por la contaminación del agua.</i>	11
2.2.5. <i>Aguas residuales.</i>	12
2.2.5.1. <i>Tipos de aguas residuales.</i>	12
2.2.5.2. <i>Diversos orígenes</i>	13
2.2.6. <i>Características físicas y Químicas del agua residual</i>	14
2.2.7. <i>Características microbiológicas.</i>	17
2.2.8. <i>Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias.</i>	18
2.2.9. <i>Bacteria Escherichia coli.</i>	20
2.2.10. <i>Bacteria Enterococcus sp.</i>	20
2.2.11. <i>Radiación Ultravioleta.</i>	21
2.2.12. <i>Modo de operación de la Luz Ultravioleta.</i>	22
2.2.13. <i>Parámetros relacionados con la dosis ultravioleta.</i>	23
2.2.14. <i>Radiación ultravioleta frente a microorganismos.</i>	23
2.2.15. <i>Dosis Ultravioleta.</i>	24
2.2.16. <i>Ventajas y desventajas al utilizar el proceso de desinfección UV.</i>	25
2.2.17. <i>Factores que ocasionan la ineffectividad de la luz ultravioleta.</i>	26

2.2.18. Modelos matemáticos de desinfección.	26
2.2.19. Configuraciones de reactores ultravioleta.....	27
2.2.20. Tipos de reactores.	28
CAPITULO III.	32
3.1. METODOLOGÍA.	32
3.2. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS DE AGUA RESIDUAL.....	32
3.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA OBTENIDA DE PARÁMETROS DEL AGUA RESIDUAL.....	33
3.4. AISLAMIENTO DE BACTERIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>ENTEROCOCCUS SP.</i> NATURAL..	34
3.4.1. Aislamiento de bacteria <i>Escherichia coli. natural.</i>	34
3.4.1.1. Pruebas bioquímicas para bacteria <i>Escherichia coli.</i>	35
3.4.2. Aislamiento de bacteria <i>Enterococcus sp. natural.</i>	36
3.4.2.1. Pruebas bioquímicas para bacteria <i>Enterococcus sp.</i>	36
3.5. SISTEMA DE DESINFECCIÓN ULTRAVIOLETA EXPERIMENTAL EN ESCALA DE LABORATORIO.	38
3.6. ESTUDIO DE CARACTERIZACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DEL REACTOR CON LUZ ULTRAVIOLETA.	40
3.6.1. Funcionamiento de reactor prototipo en laboratorio.	40
3.7. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LAS BACTERIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>ENTEROCOCCUS SP.</i> , NATURAL.	41
3.7.1. Preparación de medio de cultivo para bacteria <i>Escherichia coli, natural.</i> ..	41
3.7.2. Preparación del medio de cultivo para bacteria <i>Enterococcus sp, natural.</i> ..	42
3.8. PREPARACIÓN DE DILUCIONES DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS EN EL REACTOR.....	44
3.8.1. Diluciones seriadas con presencia de bacteria <i>Escherichia coli, natural.</i> ...	44
3.8.2. Diluciones seriadas con presencia de bacteria <i>Enterococcus sp, natural.</i> ...	44
3.9. FILTRACIÓN DE MEMBRANA DE BACTERIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> , Y <i>ENTEROCOCCUS</i> <i>SP.</i> NATURALES.	45
3.9.1. Filtración de membrana, bacteria <i>Escherichia coli, natural.</i>	45
3.9.2. Filtración de membrana, bacteria <i>Enterococcus sp, natural.</i>	46
3.10. CUANTIFICACIÓN DE COLONIAS FORMADAS EN MEDIOS DE CULTIVO.	48
3.10.1. Crecimiento de colonias, <i>Escherichia coli, natural.</i>	48
3.10.2. Crecimiento de colonias, <i>Enterococcus sp, natural.</i>	48

3.11. CINÉTICA Y SU RELACIÓN CON LA DOSIS UV, PARA CUANTIFICAR LA INACTIVACIÓN DE LAS BACTERIAS.	49
3.12. CUANTIFICACIÓN DE CRECIMIENTO DE BACTERIAS MEDIANTE MODELOS ESTADÍSTICOS.	50
3.13. ENSAYOS DE REACTIVACIÓN DE LAS BACTERIAS <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURALES.	50
3.14. CINÉTICA DE REACTIVACIÓN Y SU RELACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD Y LUZ, PARA CUANTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS.	51
CAPITULO IV.....	52
4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	52
4.1.1. <i>Caracterización microbiológica del agua residual.</i>	52
4.2. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS EXPERIMENTALES REALIZADOS EN EL REACTOR ULTRAVIOLETA CON BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	52
4.2.1. <i>Cinética de inactivación de bacteria Escherichia coli, natural, en función del tiempo a concentraciones bajas y altas de dosis ultravioleta.</i>	54
4.2.1.1. <i>Análisis de Varianza.</i>	57
4.2.1.2. <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling.</i>	58
4.2.2. <i>Aplicación de Software GInaFiT ©, como herramienta de ajuste de datos y modelación predictiva para bacteria Escherichia coli, natural.</i>	63
4.2.2.1. <i>Determinación de la curva de inactivación de bacteria Escherichia coli, natural.</i>	63
4.2.2.2. <i>Descripción de los modelos y sus ecuaciones en el estudio de inactivación de la bacteria Escherichia coli, natural.</i>	67
4.2.3. <i>Estudio de reactivación de bacteria Escherichia coli, natural, en condiciones de luz y oscuridad.</i>	77
4.3. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS EXPERIMENTALES REALIZADOS EN EL REACTOR ULTRAVIOLETA CON BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	84
4.3.1. <i>Cinética de inactivación de bacteria Enterococcus sp, natural, en función del tiempo a concentraciones bajas y altas de dosis ultravioleta.</i>	84
4.3.1.1. <i>Análisis de Varianza.</i>	87
4.3.1.2. <i>Prueba de normalidad Anderson – Darling.</i>	88
4.3.2. <i>Frecuencia de inactivación en función logarítmica y relación con la dosis ultravioleta.</i>	90

4.3.3. Aplicación de Software <i>GInaFiT</i> ©, como herramienta de ajuste de datos y modelación predictiva para bacteria <i>Enterococcus sp, natural</i>	92
4.3.3.1. Determinación de la curva de inactivación de bacteria <i>Enterococcus sp, natural</i>	92
4.3.3.2. Descripción de los modelos y sus ecuaciones en el estudio de inactivación de la bacteria <i>Enterococcus sp, natural</i>	96
4.3.4. Estudio de reactivación de bacteria <i>Enterococcus sp, natural</i> , en condiciones de luz y oscuridad.	93
CAPITULO V.	100
5.1. CONCLUSIONES.	100
5.2. RECOMENDACIONES.	100
BIBLIOGRAFÍA	102
ANEXOS	114

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. LÍMITES DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA DULCE-ACUERDO MINISTERIAL NO.097A.....	8
TABLA 2. COMPOSICIÓN DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS DE LA CIUDAD DE CUENCA.	13
TABLA 3. CARACTERIZACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS OBTENIDOS EN LOS ENSAYOS.	33
TABLA 4. VALORES DE PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS OBTENIDOS MEDIANTE ESTADÍSTICA DEL TOTAL DE ENSAYOS.....	34
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA DE DESINFECCIÓN.....	39
TABLA 6. PARÁMETROS PARA LA DETERMINACIÓN UV EN REACTORES TUBULARES DE UN SOLO PASO.....	50
TABLA 7. DATOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS DE LA CIRCULACIÓN DE AGUA RESIDUAL POR EL REACTOR ULTRAVIOLETA CON INYECCIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	52
TABLA 8. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (PRIMER ENSAYO: 23/01/2021).	54
TABLA 9. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (SEGUNDO ENSAYO: 30/01/2021).	54
TABLA 10. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (TERCER ENSAYO: 10/02/2021).....	54
TABLA 11. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (CUARTO ENSAYO: 15/02/2021).....	55
TABLA 12. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (QUINTO ENSAYO: 10/03/2021).....	55
TABLA 13. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (SEXTO ENSAYO: 25/03/2021).	55
TABLA 14. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.....	57
TABLA 15. MÉTODO TUKEY PARA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	57
TABLA 16. RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE ECUACIONES EN LOS TRES MODELOS ESTUDIADOS CON EL SOFTWARE GINAFIT ©, EN LA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.....	69

TABLA 17. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (ENSAYO: 05/02/2021).	78
TABLA 18. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE LUZ (ENSAYO: 05/02/2021).....	79
TABLA 19. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (ENSAYO: 15/02/2021).	79
TABLA 20. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE LUZ (ENSAYO: 15/02/2021).....	79
TABLA 21. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (ENSAYO: 20/02/2021).	80
TABLA 22. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE LUZ (ENSAYO: 20/02/2021).....	80
TABLA 23. DATOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS DE LA CIRCULACIÓN POR EL REACTOR ULTRAVIOLETA DEL AGUA RESIDUAL CON INYECCIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	84
TABLA 24. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (ENSAYO FECHA 1: 05/04/2021).	85
TABLA 25. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (ENSAYO FECHA 2: 15/02/2021).	85
TABLA 26. RESULTADOS DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, FRENTE A EXPOSICIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA (ENSAYO 3 FECHA: 20/02/2021).	85
TABLA 27. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	87
TABLA 28. MÉTODO TUKEY PARA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	87
TABLA 29. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (PRIMER ENSAYO: 05/04/2021).....	94
TABLA 30. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE LUZ (PRIMER ENSAYO: 05/04/2021).	94
TABLA 31. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (SEGUNDO ENSAYO: 15/04/2021).	95
TABLA 32. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE LUZ (SEGUNDO ENSAYO: 15/04/2021).....	95
TABLA 33. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE OSCURIDAD (TERCER ENSAYO: (20/04/2021).....	95
TABLA 34. RESULTADOS DE REACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE LUZ (TERCER ENSAYO: (20/04/2021).	95

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. CICLO INTEGRAL DEL AGUA.	11
FIGURA 2. PORCENTAJE DE CAUSAS DE ENFERMEDADES A NIVEL MUNDIAL.....	12
FIGURA 3. LONGITUD DE ONDA GERMICIDA.	22
FIGURA 4. SISTEMA DE DESINFECCIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA.....	22
FIGURA 5. ESTRUCTURA DE ADN PREVIO Y BAJO EFECTO DE RADIACIÓN UV.....	24
FIGURA 6. COMPONENTES DE LÁMPARA ULTRAVIOLETA.....	24
FIGURA 7. ESQUEMA DE UN REACTOR ULTRAVIOLETA DE REACTOR DE COLIMACIÓN...	29
FIGURA 9. CONFIGURACIONES DE UN REACTOR TUBULAR HELICOIDAL.	30
FIGURA 10. REACTOR DE FLUJO CONTINUO.....	31
FIGURA 11. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA CONVENCIONAL DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> , BAJOLENTE DE MICROSCOPIO.....	35
FIGURA 12. ESQUEMA EXPERIMENTAL PARA INHIBICIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i>	36
FIGURA 13. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA CONVENCIONAL DE <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURALBAJOLENTE DE MICROSCOPIO.	37
FIGURA 14. ESQUEMA EXPERIMENTAL PARA INHIBICIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	38
FIGURA 15. REACTOR ULTRAVIOLETA.	39
FIGURA 16. PLAQUEO DE MEDIO DE CULTIVO MERCK COLIFORM AGAR ACC. CHROMOCULT®.....	41
FIGURA 17. DIAGRAMA DE PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO MERCK COLIFORM AGAR ACC. CHROMOCULT®.....	42
FIGURA 18. PLAQUEO DE MEDIO DE CULTIVO M ENTEROCOCCUS AGAR.	43
FIGURA 19. DIAGRAMA DE PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO M ENTEROCOCCUS AGAR.....	43
FIGURA 20. ESQUEMA EXPERIMENTAL DE DILUCIONES DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.....	44
FIGURA 21. ESQUEMA EXPERIMENTAL DE DILUCIONES DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.....	45
FIGURA 22. DIAGRAMA DE FILTRACIÓN DE MEMBRANA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.....	46

FIGURA 23. DIAGRAMA DE FILTRACIÓN DE MEMBRANA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.....	47
FIGURA 24. CRECIMIENTO DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN MEDIO DE CULTIVO MERCK COLIFORM AGAR ACC. CHROMOCULT®.....	48
FIGURA 25. CRECIMIENTO DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, EN MEDIO DE CULTIVO AGAR M <i>ENTEROCOCCUS</i>	49
FIGURA 26. PERFIL DE INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL EN FUNCIÓN DE LA DOSIS DE EXPOSICIÓN ULTRAVIOLETA.....	56
FIGURA 27. DIFERENCIA DE MEDIAS MEDIANTE METODO TUKEY PARA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	58
FIGURA 28. PRUEBA DE NORMALIDAD ANDERSON-DARLING EN BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.....	59
FIGURA 29. CAMPANA DE DISTRUBUCIÓN DE FRECUENCIA DE DATOS.....	59
FIGURA 30. DISTRIBUCIÓN DE DATOS OBTENIDOS DE LAS MUESTRAS EN BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	60
FIGURA 31. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL.	61
FIGURA 32. FRECUENCIA DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL FUNCIÓN-LOGARÍTMICA.	62
FIGURA 33. FRECUENCIA DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL EN FUNCIÓN DE LA DOSIS ULTRAVIOLETA.	62
FIGURA 34. DETERMINACIÓN DE LA FORMA DE CURVA EN INACTIVACIÓN, CON BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, UTILIZANDO CARACTERÍSTICAS DESCRIPTIVAS CLAVE.....	64
FIGURA 35. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO LINEAR, CURVA (SHAPE I).....	65
FIGURA 36. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO LINEAR WITH LEVEL TAILING, CURVA (SHAPE II).....	65
FIGURA 37. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO SIGMOIDAL WITH SLOPE TAILING, CURVA (SHAPE VII).....	66
FIGURA 38. FOTOREACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE LUZ.....	78

FIGURA 39. FOTOREACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL, EN CONDICIONES DE OSCURIDAD.	78
FIGURA 40. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 1 FECHA: 05/02/2021).....	81
FIGURA 41. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 2 FECHA: 15/02/2021).....	81
FIGURA 42. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 3 FECHA: 20/02/2021).....	82
FIGURA 43. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 1 FECHA: 05/02/2021).....	82
FIGURA 44. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 2 FECHA: 15/02/2021).....	83
FIGURA 45. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ESCHERICHIA COLI</i> , NATURAL (ENSAYO 3 FECHA: 20/02/2021).....	83
FIGURA 46. PERFIL DE INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN ULTRAVIOLETA.	86
FIGURA 47. DIFERENCIA DE MEDIAS MEDIANTE MÉTODO TUKEY PARA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.....	88
FIGURA 48. PRUEBA DE NORMALIDAD ANDERSON-DARLING EN BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.....	89
FIGURA 49. DSITRIBUCIÓN DE DATOS OBTENIDOS DE LAS MUESTRAS EN BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.....	89
FIGURA 50. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL.	90
FIGURA 51. FRECUENCIA DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN FUNCIÓN LOGARÍTMICA.	91
FIGURA 52. FRECUENCIA DE INACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN FUNCIÓN DE LA DOSIS ULTRAVIOLETA.	91
FIGURA 53. DETERMINACIÓN DE LA FORMA DE CURVA EN INACTIVACIÓN CON BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL, UTILIZANDO CARACTERÍSTICAS DESCRIPTIVAS CLAVE.....	93
FIGURA 54. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO LINEAR, CURVA (SHAPE D).....	94

FIGURA 55. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO LINEAR WITH LEVEL TAILING, CURVA (SHAPE II).....	95
FIGURA 56. DISTRIBUCIÓN DE DATOS EN LA INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL REPRESENTADA EN EL MODELO SIGMOIDAL WITH LEVEL TAILING, CURVA (SHAPE III).....	95
FIGURA 58. FOTOREACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE LUZ.....	93
FIGURA 59. FOTOREACTIVACIÓN DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL EN CONDICIONES DE OSCURIDAD.	94
FIGURA 60. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (PRIMER ENSAYO: 05/04/2021).	96
FIGURA 61. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (SEGUNDO ENSAYO: 15/04/2021).	97
FIGURA 62. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE OSCURIDAD DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (TERCER ENSAYO: 20/04/2021).....	97
FIGURA 63. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (PRIMER ENSAYO: 05/04/2021).	98
FIGURA 64. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (SEGUNDO ENSAYO:15/04/2021).....	98
FIGURA 65. PORCENTAJE DE REACTIVACIÓN EN CONDICIONES DE LUZ DE BACTERIA <i>ENTEROCOCCUS SP</i> , NATURAL (TERCER ENSAYO: 20/04/2021).....	99

GLOSARIO

A

ANOVA

ANOVA

Análisis de varianza basado en una colección de métodos estadísticos y procedimientos asociados en el cual la varianza está particionada en ciertos componentes debidos a diferentes variables significativas.

B

Bondad de ajuste

Bondad de ajuste

Describe lo bien que se ajusta un conjunto de observaciones. En general, resume la discrepancia entre los valores observados y los deseados.

C

Caudal

Caudal

Función de volumen con relación al tiempo.

Cinética de inactivación

Cinética de inactivación

Análisis del motivo a través del cual, ciertas bacterias pierden sus capacidades de proliferación.

Coliforme

Coliforme

Grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y alimentos.

D

Dimerización

Dimerización

Proceso químico o bioquímico a través del cual, dos moléculas similares se unen.

Dosis

Dosis

Cantidad suministrada o aplicada para cierto tratamiento. ,

E

Enterococcus spp

Enterococcus spp

Género de bacterias del ácido láctico de la división Firmicutes.

Exponenciación

Exponenciación

Proceso a través del cual, un elemento crece de manera exponencial, es decir, su desarrollo

se amplifica con el paso del tiempo, esto definido por una función matemático-logarítmica.

F

Fotoreactivación

Fotoreactivación

Recuperación de las capacidades reproductivas y la viabilidad de las bacterias, esto inducido por efecto de la luz.

G

GInaFiT

GInaFiT

Herramienta de Microsoft Excel para testear diferentes modelos de sobrevivencia microbiana usando distintos modelos matemáticos y experimentales

I

Inactivación

Inactivación

Bacterias que han perdido su capacidad reproductiva y aunque en muchos casos se mantienen presentes, no disponen de la capacidad para infectar y proliferar.

M

Medio de cultivo

Medio de cultivo

Extracto en donde se las bacterias pueden crecer y desarrollarse de manera exponencial, hasta culminar con el medio en el cual conviven e iniciar un periodo de senescencia y muerte.

Método Tukey

Método Tukey

se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla la tasa de error por familia en un nivel especificado.

N

Naturales

Naturales

Referente a las bacterias que crecen en una muestra de agua en específico, no relacionado a una cepa certificada. *Véase título del trabajo*

R

RMSE

RMSE

El error cuadrático medio mide la cantidad de error que hay entre dos conjuntos de datos.

U

UFC

UFC

Unidades Formadoras de Colonias. *Véase*

Glosario

CAPITULO I.

1.1. Introducción.

Para la vida desde su aparición, un recurso natural indispensable es el agua, permite el desarrollo de las sociedades y su entorno; siendo destinada para fines de uso doméstico, industrial, agrícola, entre otros; actualmente este bien se ve afectado por su escasez y contaminación, siendo una amenaza para la calidad de vida. (Villalba, 2008).

Un porcentaje del 70% es destinado para el sector agrícola, posicionado como uno de los más altos dependientes del recurso (Pengue, 2003), aunque también se destina a la producción industrial y energética, al crecimiento poblacional y al desarrollo de los sistemas municipales de abastecimiento de agua y saneamiento, colocándose en una posición de vulnerabilidad al mejoramiento en la gestión y distribución del agua. (Hantke-Domas & Jouravlev, 2011).

La planificación de los recursos hídricos es importante para el desarrollo de las sociedades tanto a nivel sanitario como económico por tanto el vertido de aguas residuales de origen doméstico, urbano e industrial. (Villa, 2020). Esto genera que el agua se convierta en un vector importante para la desinmanación de bacterias, virus, hongos, esporas, protozoos, etc. (Pinzón & González, 2015).

El caudal y composición de las aguas residuales varía según los diferentes hábitos que tenga su población, es decir (alimentación, higiene, salud, desarrollo) o en ocasiones de factores naturales como la lluvia. (Estado Libre Asociado de Puerto Rico Oficina de la Gobernadora, 2003)

Se considera que las aguas servidas contienen una alta cantidad de microorganismos que causan enfermedades por ingestión, siendo los indicadores biológicos de contaminación una de las bases para que se determine su carga contaminante, entre ellos se encuentran las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, naturales; que fueron estudiadas en la presente investigación.

Ante esta necesidad de salubridad como mecanismo de desinfección se desarrolla la luz ultravioleta que se ha venido utilizando desde hace décadas atrás y su desarrollo tecnológico que ha avanzado de manera notoria en los últimos años. Su mecanismo de proceso actúa utilizando el espectro de rango de luz ultravioleta específicamente el UV-

C, que es capaz de ingresar a la pared celular de un organismo, inhibiendo así mismo el desarrollo reproducción celular (Camargo, 2020).

Actualmente se pueden desarrollar procesos UV demandando bajos costos de inversión, operación y mantenimiento, esta tecnología no opera productos químicos ni reacciona con otros constituyentes del agua y por lo tanto no genera subproductos ni origina sabores u olores, además es compatible con otros procesos de desinfección que proporcionan un efecto residual más permanente (Saucedo, 2017).

En base a todos estos postulados, el presente estudio buscó analizar la efectividad de inactivación de bacterias con la aplicación de luz ultravioleta, las variables de estudio fueron: conductividad, pH, color, turbidez y transmitancia, mediante la determinación de condiciones fisicoquímicas propias del agua residual. Los resultados corroboraron que es un método de desinfección eficaz, debido a que se puede realizar una desactivación de las bacterias estudiadas en tiempos de ensayos cortos, inclusive en condiciones del agua residual con alto grado de turbiedad.

En la investigación se tomaron en cuenta todos los parámetros que afectaron el proceso y se establecieron las condiciones ideales para su funcionamiento, hasta determinar la dosis óptima de inactivación de las bacterias en función del caudal y tiempo de exposición frente a radiación ultravioleta, además se determinó el modelo cinético más adecuado en base a la bondad de ajuste estadístico que presenta los datos experimentales.

1.2. Planteamiento del problema.

El agua es un recurso natural imprescindible para la sociedad, porque se utiliza en casi todas las actividades que realizamos los seres humanos. Sin embargo, en la actualidad existen graves problemas de contaminación y escases (Hernández-Acosta et al., 2014).

El recurso al encontrarse contaminado contiene patógenos (virus, bacterias y protozoos) que son capaces de causar enfermedades en el tracto digestivo de los humanos, el 80% son enfermedades gastrointestinales infecciosas y parasitarias y un tercio de las muertes causadas por estas se deben al uso y consumo de agua no saludable (Melgarejo, 2015).

La mayoría de los casos la población más afectada por estos estragos se da en menores y personas de edad avanzada, principalmente en países en desarrollo pertenecientes a África, Asia y América. (Loor, 2018).

Para evaluar la calidad microbiana del agua, existen pautas y estándares de calidad que utilizan microorganismos indicadores que indirectamente sugieren la presencia potencial de microorganismos patógenos. (Vergaray et al., 2007).

La Organización Mundial de la Salud recomienda utilizar como indicadores de contaminación fecal las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus* fecales, debido a que *Escherichia coli*, es uno de los indicadores más sensibles del grado de contaminación en las cercanías de los desagües, mientras que *Enterococcus* fecales sobreviven más tiempo al agua de efluentes simulando mejor las características de sobrevivencia (Gastulo, 2016). En el estudio se cataloga a *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, como natural, debido a que para identificar la reacción al ser expuestas frente a dosis de luz ultravioleta se realizó el aislamiento natural de ambas bacterias, tal y como lo realizó (Lescat et al., 2017) en su estudio al aislar *E. coli*, la cepa 536 resistente a estreptomycin.

De igual manera, los modelos actuales que predicen la inactivación de estas bacterias en sistemas naturales se centran en los mecanismos abiótico, como la irradiación solar, temperatura, sedimentación, como lo realizó (Ismail et al., 2019) calculando las tasas de aclaramiento (ml h⁻¹) en estas diferentes condiciones, midiendo las concentraciones de *E. coli* viable en el agua en función del tiempo utilizando un sistema por lotes.

Por otra parte, el estudio realizado por (Rincón & Pulgarin, 2004) estudiaron la acción bactericida con ayuda del TiO₂ iluminado sobre cultivo puro de *Escherichia coli* y su consorcio natural bacteriano. La tasa de inactivación fotocatalítica de la bacteria dependía de parámetros biológicos como: estado fisiológico, generación y concentración inicial de bacterias. Discutieron sobre el comportamiento de la suspensión bacteriana durante el periodo posterior de oscuridad con el fin de estimar el potencial del proceso fotocatalítica en una situación real de desinfección del agua.

Además, en el estudio de “Distribución de variación de la longitud de los cromosomas en cepas naturales de *Escherichia coli*” (Bergthorsson & Ochman, 1998), donde se estudió la variación a gran escala en el tamaño de los cromosomas en 35 aislamientos naturales *Escherichia coli*, mediante mapeo físico con una enzima de restricción cuyos sitios están restringidos a operones rADN. La utilización del termino “natural” en el estudio hace referencia al estado natural en el que se encuentran las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*.

En base a estos postulados como alternativa a la desinfección tradicional con cloro se han desarrollado procesos de desinfección ultravioleta (UV), la banda UV-C es la más apropiada para la eliminación de microorganismos en donde la longitud de onda se encuentra comprendida entre 200 a 320 nm (Gouvêa et al., 2014).

La radiación UV es capaz de inactivar microorganismos a través del daño fotoquímico, una vez que es absorbida promueve la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, creando dímeros. La formación suficiente de dímeros dentro de un microbio impide que replique su ADN y ARN, inhibiendo su reproducción en el agua. (Salcedo-Dávila, 2013). Enfocados en estos postulados, la propuesta de tesis se planteó el objetivo de estudiar los procesos de inactivación y reactivación mediante radiación ultravioleta en bacterias *Escherichia. coli* y *Enterococcus spp*, naturales, contenidas en agua residual con ayuda de un reactor de flujo continuo que emite radiación ultravioleta de baja presión.

1.3. Justificación.

La alta contaminación que se generan en las fuentes hídricas producto de vertimientos de aguas residuales, pudiendo ser procedentes de las industrias, agricultura y población en general, ocasionando problemas que afectan a la calidad del ambiente, disminuyendo la calidad de vida de personas, como consecuencia de esto existe pérdida de la biodiversidad y la baja cantidad de suministro de agua potable (Vinet & Zhedanov, 2011).

Es por esta razón que la calidad de agua depende de tratamientos que está involucrados netamente en remover los contaminantes, obligando a que se creen nuevos estudios para la protección de la salud de sus consumidores y su uso.

Aunque la cloración ha sido la tecnología tradicional ampliamente aplicada para la desinfección de agua de consumo, muy efectivo para eliminar bacterias patógenas pero ineficaz contra virus y quistes de protozoos, además requiere una dosificación específica, al aplicarse una dosis excesiva, el sabor y olor del agua se afectan tornándose riesgoso para la salud humana (Véliz Ubilla, 2014).

Por esta razón se desarrolla la alternativa de desinfección mediante procesos de desinfección ultravioleta (UV) basados en el uso de radiación UV emitida a longitud de onda dentro del rango germicida (200-320 nm) (Palacios, 2019).

El objetivo principal de este trabajo fue evaluar la calidad de agua bajo la influencia de dosis ultravioleta para determinar la cinética de inactivación o reactivación de *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, naturales, analizando los procesos de las variables de operación sobre las bacterias.

1.4. Objetivos.

1.4.1. Objetivo general.

Estudiar los procesos de inactivación y reactivación mediante tecnología de radiación UV, de los microorganismos *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, en estado natural procedentes de la Planta de tratamiento de aguas residuales de Ucubamba al ser sometidos a una experimentación de radiación ultravioleta.

1.4.2. Objetivos específicos.

- Estudiar las cinéticas de inactivación de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, naturales, luego de su paso por el reactor ultravioleta de flujo continuo, cuantificando su eliminación.
- Analizar el comportamiento de eliminación de los microorganismos posterior al tratamiento mediante modelos cinéticos y herramientas informáticas
- Estudiar los procesos de reactivación por factores: luz y oscuridad obteniendo modelos matemáticos de su comportamiento y ajuste estadístico.

1.5. Alcance de la tesis.

La investigación se llevó de manera ordenada durante su desarrollo, es por eso que se dispone de una bibliografía adecuada como respaldo de la investigación.

Además, se contó con los conocimientos y experticia necesaria para realizar el trabajo.

1.6. Estructura de la tesis.

El trabajo experimental está compuesto por 5 capítulos:

Como se establece con anterioridad, la estructura de la tesis de investigación consta de un alcance, objetivo general y objetivos específicos, además de la metodología que fue utilizada para cumplir con cada uno de los puntos propuestos para obtener los resultados, finalmente se desarrollaron conclusiones y recomendaciones.

Capítulo I. Se expone la introducción general, planteamiento del problema, justificación. Objetivo general y objetivos específicos. Se describen los conceptos teóricos necesarios para fundamentar y delimitar el trabajo de la investigación.

Capítulo II. Se describe de manera específica la fundamentación legal tomada desde la Constitución del Ecuador, fundamentación teórica y fundamentación conceptual.

Capítulo III. Se desarrolla la metodología de manera detallada, describiendo cada uno de los pasos que se realizó para obtener resultados en la investigación siendo basada en autores.

Capítulo IV. Se exponen los resultados y discusiones en base a los productos obtenidos en los diferentes ensayos mediante tablas e histogramas realizados con ayuda del Software Excel y GInaFiT, que es un complemento de software gratuito para Microsoft © Excel.

Capítulo V. Finalmente, las conclusiones y recomendaciones se encuentran en conjunto, formando criterios en base a la experimentación.

CAPITULO II.

2.1. Marco legal.

La constitución de la República del Ecuador establece (Asamblea Nacional Constituyente, 2008):

- **Art. 32.-** La salud es un derecho que garantiza el Estado cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan un buen vivir.
- **Art. 86.-** El estado protegerá el derecho de la población a vivir en un medio ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice un desarrollo sustentable. Velará por que este derecho no sea afectado y garantizará la preservación de la naturaleza. Se declaran de interés público y se regularán conforme a la ley:
 1. La preservación del medio ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país.
 2. La prevención de la contaminación ambiental, la recuperación de los espacios naturales degradados, el manejo sustentable de los recursos naturales y los requisitos que para estos fines deberán cumplir las actividades públicas privadas.
 3. El establecimiento de un sistema nacional de áreas protegidas, que garantice la conservación de biodiversidad y el mantenimiento de los servicios ecológicos, de conformidad con los convenios y tratados internacionales.
 - *NTE INEN 2176:2013 “Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conversación de muestras”*
 - *NTE INEN 2176:2013 “Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo”*
 - ANEXO I. del Libro VI del Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de Calidad Ambiental y Descarga de Efluentes del Recurso Agua. Referente a la Tabla 9 del Acuerdo Ministerial 097 A. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.

A continuación (Tabla 1) se puede observar de manera detallada los límites permisibles de descargas a un cuerpo de agua dulce:

Tabla 1. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce-Acuerdo ministerial No.097A.

Parámetros	Expresados como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sust. Solubles en hexano	mg/l	30,0
Alkil mercurio	-	mg/l	No detectable
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico Total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2,0
Boro total	B	mg/l	2,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN ⁻	mg/l	0,1
Cinc	Zn	mg/l	5,0
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Ext. Carbón cloroformo ECC	mg/l	0,1
Cloruros	Cl ⁻	mg/l	1000
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes fecales	NMP	NMP/10ml	2000
Color real	Color real	Unidades de color	Inapreciable en dilución 1/20
Conductividad	Conductividad	(μ s/cm)	1000
Compuestos fenólicos	NMP	mg/l	0,2
Cromo Hexavalente	CR ⁺⁶	mg/l	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO ₅	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg/l	200
Estaño	Sn	mg/l	5,0
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Fósforo total	P	mg/l	10,0
Hierro total	Fe	mg/l	10,0
Hidrocarburos totales de petróleo	TPH	mg/l	20,0
Manganeso total	Mn	mg/l	2,0
Materia flotante	Visibles	mg/l	Ausencia
Mercurio total	Hg	mg/l	0,005

Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno amoniacal	N	mg/l	30,0
Sólidos suspendidos totales	SST	mg/l	130
Sólidos totales	ST	mg/l	1600
Sulfatos	SO ₄ ⁻²	mg/l	1000
Sulfuros	S ⁻²	mg/l	0,5
Temperatura	T	°C	Condición natural ≠3
Turbidez	-	UNT	100

Fuente. (MAE, 2015)

2.2. Marco teórico.

2.2.1. El Agua.

El agua es considerada un recurso vital, debido a que es esencial en los procesos biológicos y a su importancia como elemento fundamental de desarrollo y crecimiento socioeconómico, apoyando a la producción alimenticia, equilibrio ambiental y diario vivir (Monforte García & Cantú Martínez, 2009). Además es un recurso renovable por su ciclo hidrológico, aunque su uso inadecuado y sobreexplotación para uso en agricultura, industria y consumo doméstico han generado acidez en los suelos, grandes cantidades de sedimentos en ríos y lagos, enfermedades gastrointestinales, nombrando el agua como un recurso estratégico para el siglo XXI (Agudelo, 2005).

Es un derecho de todas las personas y por ello tenemos la responsabilidad de cuidar este recurso, actualmente existe una sobrepoblación que ha puesto el recurso en una demanda excesiva de uso, para cubrir necesidades básicas dando como consecuencia la disminución del mismo al pasar el tiempo. Este recurso se consume 59% para fines industriales, 30% para consumo agrícola y 11% para uso doméstico en países desarrollados. (Ramírez & Yepes, 2011). Se estima que para el año 2025 el agua utilizada para fines industriales alcanzará los 1170 km³/año, como está establecido las industrias son el sector que más utiliza y a su vez también se consideran que son las que más contaminan (Sáez, 2017).

2.2.2. Ciclo integral del agua.

Se conoce como el proceso de captura del agua en su estado natural que será procesada, potabilizada y transportada para consumo humano, industrial, agrícola, ganadero, entre otras como ciclo circular, debido a que se lo cierra en sentido inverso. Gracias al proceso de aducción, en donde el agua llega para ser tratada en plantas de tratamiento de aguas residuales, el cual se compone de diferentes procesos de control, seguridad y desinfección, para garantizar un agua que se encuentra entre los niveles de índices de calidad apropiada. (Del Campo Casanueva, 2018). El ciclo está compuesto por las siguientes fases:

- **Captación:** Se trata de la captación de agua en las diferentes estaciones de agua potable, en el caso de estudio fue la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales-Ucubamba.
- **Transporte:** Proceso en el que las aguas residuales se transportan desde su cauce, ya sea directamente a través de canales o indirectamente y también por tuberías.
- **Tratamiento:** El agua residual que se encuentra en las instalaciones de la (PTAR) pasará por diferentes procesos de desinfección fisicoquímicos y biológicos
- **Evacuación:** El agua tratada será devuelta al cauce natural con una carga contaminante menor.

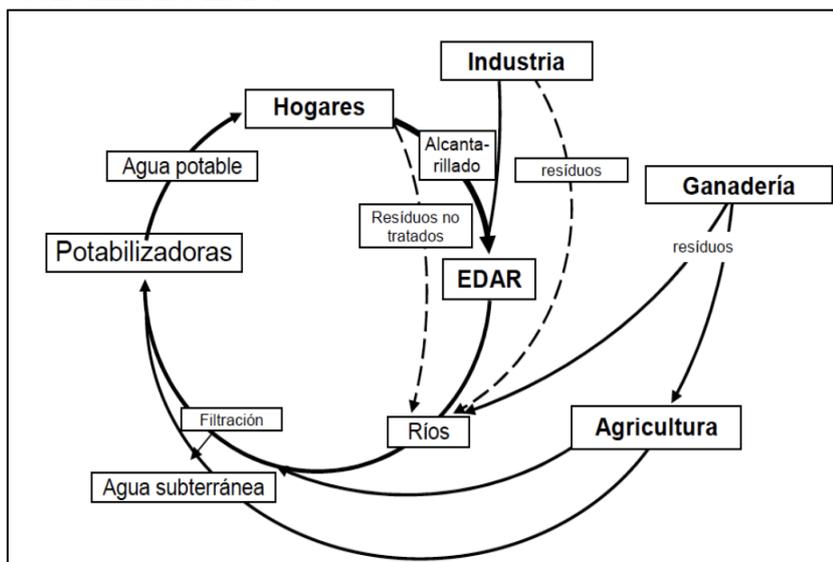


Figura 1. Ciclo integral del agua.

Fuente. (Chiva Vicent et al., 2017)

2.2.3. Contaminación del agua

Con el pasar de los años la contaminación del agua ha incrementado llamando la atención a gobiernos de todo el mundo porque es un recurso de sostenibilidad para el desarrollo y supervivencia de los seres vivos (Jacobs, 1996). El problema se genera cuando las personas contaminan el recurso e ignoran el impacto que ocasiona en el ambiente, aunque cabe hacer énfasis sobre el sector industrial que es una de las fuentes que producen mayor contaminación por la utilización de reactivos, sustancias nocivas para la salud de los seres vivos y ecosistemas, forzando que las autoridades sean más estrictas en el control de descargas directas hacia el efluente, endureciendo las leyes ambientales y llevando a una posición más comprometida para cumplir con los parámetros de descarga hacia los cauces (Caride & Meira, 2001).

2.2.4. Enfermedades generadas por la contaminación del agua.

Se estima que el 4% del total de muertes en el mundo están relacionadas con la calidad del agua, higiene y saneamiento (Palma Quijije et al., 2021). En América Latina y el Caribe, las enfermedades diarreicas agudas son una de las diez principales causas de muerte al año, debido a problemas de calidad del agua principalmente por una gestión inadecuada de las aguas residuales. (Rodríguez Miranda et al., 2016).

Un estudio de enero de 2019 (Luis & Marllury, 2019), encontró que la concentración de coliformes fecales en el agua está fuertemente relacionada con la densidad de población aguas arriba y que el río recibe aproximadamente 100 veces más aguas residuales por habitante en las poblaciones urbanas que en las rurales (Figura 2).

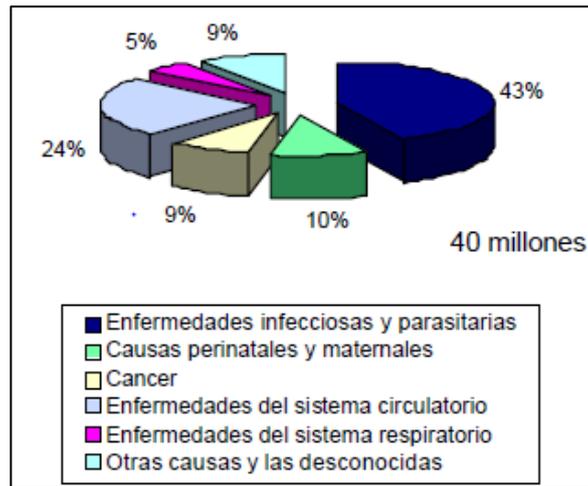


Figura 2. Porcentaje de causas de enfermedades a nivel mundial.

Fuente. Luis & Marllury, 2019)

2.2.5. Aguas residuales.

Según su origen, las aguas residuales resultan de la combinación de líquidos y residuos sólidos transportados por el agua que proviene de residencias, oficinas, edificios comerciales e instituciones, junto con los residuos de las industrias y de actividades agrícolas; así como de las aguas subterráneas, superficiales o de precipitación que pueden agregarse (Camacho et al., 2012).

El conocimiento de la naturaleza de las aguas residuales fue fundamental para el proyecto tanto para la recolección como para el tratamiento con luz ultravioleta, tomamos en consideración que la Planta de tratamiento de aguas residuales-Ucubamba recibe diariamente descargas de fuentes domésticas, industriales y ganaderas, con altos niveles de carga contaminante. La composición es muy variable, generalmente las aguas residuales se componen de 99,9% de agua y 0,01% de materia sólida de la siguiente manera (D. Espinoza & Zumba, 2018):

- 70% material orgánico y 30% material mineral.
- 20% material sedimentable y 80% material no sedimentable.
- Del material sedimentable 67% orgánico y 33% mineral.
- Del material no sedimentable 50% orgánico y 50% mineral.

2.2.5.1. Tipos de aguas residuales.

- **Aguas residuales domésticas:** Provocada por las actividades diarias de las personas dentro de sus hogares y caracterizada por presentar una alta carga de materia orgánica y microorganismos (Muñoz, 2008).
- **Aguas residuales agrícolas:** Generado por la actividad agrícola, con una carga muy alta de químicos nocivos que se utilizan para los cultivos, aunque también se puede encontrar materia orgánica producida por los animales y sus fertilizantes. (Ongley, 1997).
- **Aguas residuales industriales:** Originado por actividades industriales, para procesos de limpieza, producción y lavado con altas cargas contaminantes (Muñoz Lucas & Sanchez García, 2018).

2.2.5.2. Diversos orígenes

- **Aguas residuales domésticas o aguas negras:** son las que se utilizan con fines higiénicos como baños, cocinas, lavanderías, duchas, entre otros. Consiste básicamente en residuos humanos que llegan a las redes de alcantarillado a través de vertidos de instalaciones hidráulicas en edificios. (Manobanda, 2015). Las aguas residuales domésticas están asociadas al consumo de agua potable en la ciudad de Cuenca y el 80% del agua potable suministrada regresa al sistema de alcantarillado. (Ochoa, 2016), a continuación, se presenta su composición de manera detallada (Tabla 2):

Tabla 2. Composición de Aguas residuales domésticas de la ciudad de Cuenca.

Constituyente	Concentración mg/l
Sólidos totales	700
<i>Disueltos</i>	500
<i>Fijos</i>	300
<i>Volátiles</i>	200
Sólidos en suspensión	200
<i>Fijos</i>	50
<i>Volátiles</i>	150
Sólidos sedimentables	10
DBO₅	200

DQO	380
Nitrógeno	40
total	
<i>Orgánico</i>	15
<i>Amoniacal</i>	25
Fósforo total	10
Cloruros	50
Alcalinidad	100
Grasas	100
Calcio	50
Magnesio	9
Sodio	50

Fuente. (Ochoa, 2016).

- **Aguas residuales industriales:** Son aguas que proceden de cualquier actividad industrial cuyo proceso de producción, transformación o manipulación utiliza agua, incluidos líquidos residuales, aguas de proceso y aguas de drenaje.(Mendoza, 2012). Su composición es muy variable dependiendo de las diferentes actividades industriales.
- **Aguas blancas:** Pueden ser de origen atmosférico lluvia, riego, limpieza de calles, parques y lugares públicos. En lugares donde la precipitación atmosférica sea muy abundante, se puede evacuar por separado para que no sature los sistemas de depuración. (Hernández, 2020).

2.2.6. Características físicas y Químicas del agua residual

- Turbidez:** Se considera como el grado en el que el agua pierde su transparencia debido a una alta carga de partículas en suspensión impidiendo el paso de la luz (Zuriaga Agustí, 2017).
- Color:** Generalmente las aguas residuales tienen un color gris, esto depende en gran medida de las bacterias, pues son las que descomponen los compuestos orgánicos. Teniendo así una relación directamente proporcional es decir mayor número de bacterias mayor será su coloración oscura y por lo tanto disminuirá su oxígeno disuelto en el agua con coloraciones negras (Saéz et al., 2002).
- Transmitancia:** Se considera como la capacidad de relacionar la intensidad de la radiación con la que la lámpara ultravioleta llega a cada punto del canal, su medida

de expresión es el porcentaje de luz incidente por centímetro de cubeta (% / cm), de tal forma que existe una transmitancia del 100% esto significará que se está transmitiendo toda la luz y por lo tanto la absorbancia sería del 0% (Fredes, 2011).

- d) Conductividad:** Es la capacidad de una sustancia de conducir corriente eléctrica a través de los iones presentes en el agua y dependerá claramente de parámetros como concentración, naturaleza, temperatura de la solución y viscosidad, también se debe tener en cuenta que es contraria a la resistencia (Rigola, 2010). En el caso del estudio se realizó en un medio acuoso, por lo tanto cuanto mayor fue la concentración mayor fue el poder de conductividad, la unidad que se utilizó para su medición fue en ($\mu\text{s}/\text{cm}$).
- e) Olor:** Se produce por la descomposición de materia orgánica, por ello produce malos olores y gases como el ácido sulfúrico, metano en bajas cantidades e incluso sustancias volátiles. Las aguas residuales tienen un olor peculiar y desagradable, pero son más tolerables que las aguas residuales sépticas (López, 2018).
- f) Sólidos totales:** Se clasifican en dos grupos de acuerdo a su tamaño (Ontiveros-Capurata et al., 2013):
- **Sólidos suspendidos:** Considerados como las partículas que son capaces de flotar en este estudio se realizaron medidas de filtración a diferentes volúmenes expresados en mililitros, con ayuda de un filtro de café. El volumen de las mediciones varió en base a las diferentes muestras de agua que se realizaron.
 - **Sólidos filtrables:** Considerados como sólidos coloidales y disueltos comprendido por partículas que no se separan al momento de la sedimentación, en nuestro estudio se realizó filtraciones de tal forma que el agua presente una mejor visibilidad y baja turbidez.
- g) Materia orgánica:** Está conformada por el 90% de carbohidratos, grasas, proteínas y otros que son provenientes de descargas domésticas directas hacia efluentes, se encuentran compuestas de restos de alimentos, heces, orina, detergentes, etc. La mayoría de las veces la materia orgánica actúa como suplemento para algunos microorganismos que generalmente son perjudiciales y contaminantes de alto riesgo (Canales & Sevilla, 2016).

La tercera parte de los elementos de las aguas residuales están compuestos de:

- Proteínas (40-60%).
- Carbohidratos (25-50%).
- Grasas y aceites (10%).

- Urea y el amoníaco constituyen las principales fuentes de nitrógeno.
 - Azúcares como glucosa, lactosa, sacarosa, fructosa y galactosa.
 - Celulosa, almidón y lignina, entre otras.
- h) Materia inorgánica:** Son sólidos procedentes de origen mineral y su degradación natural es casi imposible, de esta manera la solución es utilizar tecnologías específicas para bajar su concentración, es por eso que se los considera como no biodegradables (I. González, 2015):
- **Cloruros:** Procedentes de contaminación fecal, aunque también pueden provenir de infiltración de aguas marinas en los acuíferos.
 - **Nitrógeno:** Es esencial para el crecimiento de microorganismos que se desarrollan en el agua, puesto que, la limitación de nitrógeno puede producir cambios en la composición bioquímica de los microorganismos y reducir sus tasas de crecimiento.
 - **Azufre:** Producto de descomposición de proteínas, los microorganismos pueden utilizar el sulfato como fuente de azufre para la biosíntesis, además produce sabor amargo al agua.
 - **Metales Pesados:** Algunos de ellos se incorporan en las aguas residuales de manera natural o antropogénica y confiere un carácter tóxico y no apto para su consumo.
- i) Gases:** Debido a las descomposiciones de materia orgánica se producen gases con diferentes concentraciones, a continuación se mencionan los más comunes (Arias, 2004)
- **Oxígeno disuelto:** Es un gas que es capaz de medir la calidad de agua, debido a que la mayoría de los microorganismos son aerobios y realizan la degradación de la materia orgánica. La cantidad de oxígeno depende de otros factores como: solubilidad del gas, presión parcial del gas en la atmósfera, temperatura, características del agua (Salinidad, Sólidos Suspendidos).
 - **Dióxido de carbono:** Son procedentes de la fermentación de la materia orgánica, el momento que los microorganismos realizan la descomposición se genera una fermentación, se producen con una mayor frecuencia en las aguas residuales negras.

- **Ácido sulfhídrico:** Los microorganismos son capaces de generar este gas, debido a que al momento de realizar la descomposición de materia orgánica producen la reducción de sulfitos y sulfatos minerales.
- **Metano:** Se produce cuando la descomposición de la materia se realiza de manera anaerobia, es decir ausencia de aire generando la reducción bacteriana del CO₂. Se considera el principal subproducto de la degradación anaerobia de la materia orgánica de las aguas residuales.

2.2.7. Características microbiológicas.

Las aguas residuales deben tener un tratamiento adecuado con la finalidad de bajar su carga contaminante o eliminar completamente los agentes patógenos productos de excretas de origen humano o animal, para evitar una contaminación biológica y disminuir el riesgo de un ciclo epidemiológico por transmisión (Arocutipa, 2013). A continuación, se describen algunos de ellos:

a) **Bacterias:** Son organismos unicelulares que poseen diferentes formas y tamaños, son utilizados como indicadores de aguas residuales, pero su función más importante es la de ser capaces de estabilizar la materia orgánica, además son capaces de reaccionar de manera positiva ante procesos de floculación que permite la separación de sólidos orgánicos coloidales de la fase líquida (D. G. S. Rodríguez et al., 2008):

- Gram positiva: *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*.
- Gram negativa: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* (enterobacterias), *Pseudomonas spp*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter spp* (no enterobacterias).
- **Parásitos:** La mayoría son de origen aerobios facultativos, para poder realizar sus actividades utilizan Protozoos y Helmintos como fuentes de alimento (Mamani & Zulma, 2018).

b) **Virus:** Organismos considerados como parásitos capaces de formar asociaciones con ácidos nucleicos y una estructura de proteína, en situaciones expuestas a tratamiento de aguas residuales son fáciles de remover por sus características de origen genético y tamaño. (Nuñez Pungaña, 2015)

A continuación se enumeran algunos virus:

- Enterovirus.

- Virus de la Hepatitis.
 - Calicivirus.
 - Rotavirus.
 - Bacteriófagos.
- c) **Algas:** Se catalogan como organismos capaces de realizar fotosíntesis oxigénica y obtener carbono orgánico con ayuda de radiación solar, además se consideran autótrofos debido a que contienen clorofila, con estas capacidades garantiza una oxigenación adecuada al agua pero si se encuentra en abundancia podría tener efectos negativos debido a que podría deteriorar la calidad del agua (S. Espinoza, 2017).
- d) **Hongos:** En su mayoría son aerobios estrictos, pueden tolerar valores de pH relativamente bajos y tienen baja demanda de nitrógeno (Nieto, 2017).

Los géneros que pueden encontrarse en el agua son:

- *Geotrichium*.
- *Mucor*.
- *Aureobasidium*.
- *Fusarium*.
- *Sepedonium*.
- *Sphaerotilus*.

2.2.8. Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias.

- **Prueba de catalasa:** La catalasa es una enzima que es capaz de catalizar la descomposición producto del peróxido de hidrógeno con componentes adicionales que son agua y oxígeno. Esencialmente la prueba se utiliza para determinar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias de carácter aerobias y anaerobias facultativa que contienen citocromo oxidasa. Generalmente esta prueba funciona en los siguientes géneros: *Streptococcus* (catalasa-) de *Micrococcus* (catalasa+) y/o *Staphylococcus* (catalasa+), *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-), *Lysteria monocutogenes* (+) y/o *Corynebacterium* (+), con las excepciones de las especies *C. pyogenes* y *C. haemolyticum*, ambas (-) de *Erysipelothrix* (-) (Jean, 1980).

- **Prueba de bilis y esculina:** La esculina es capaz de reaccionar con una sal de hierro (III), formando de esta manera un complejo fenólico de color castaño oscuro o negro, el citrato férrico ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$) o el citrato férrico y de amonio tiene la facultad de incorporarse en el medio de bilis y esculina a una concentración de 0,05% como un indicador de la hidrólisis de la esculina y produce la formación de la esculina (Felipe Taño et al., 2014).
- **Prueba de Tinción de gram:** Técnica que se realiza sobre las bacterias y se observa su reacción bajo el lente del microscopio, consiste en la tinción de la pared celular que contiene peptidoglicanos, esta capa se tiñe de una forma u otra. Existen bacterias que no se tinturan denominadas Gran Negativas, debido a que su pared de peptidoglicano es fina y posee una membrana rica en lípidos que repele la tinción, mostrándose ante el microscopio incoloras y su diferencia son las bacterias Gram Positivas las que poseen una pared celular mucho más gruesa formada por peptidoglicanos, lo cual da como resultado un color violeta intenso (Rocha, 2007).
- **Prueba de Citrato:** Su prueba consiste en utilizar medio de cultivo de agar citrato de Simmons, para determinar si el organismo es capaz de utilizar citrato como fuente de carbono y compuestos amoniacales como fuente de nitrógeno en su metabolismo provocando una alcalinización en el cultivo. Los géneros de Enterobacteriaceae que no cuentan con las condiciones adecuadas para crecer en este medio son: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratina*, *Citrobacter*, y algunas especies de *Salmonella*. Sin embargo, géneros como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* tienen la capacidad de crecer en el medio. (Forero Zamudio et al., 2017)
- **Prueba del Rojo de Metilo:** Se considera una prueba de colorimetría debido a que permite la diferenciación dentro de enterobacterias del grupo *E. coli* y aerogénes. Además, las enterobacterias son de carácter anaerobio-facultativo, utilizando la glucosa para metabolizarla de manera aerobia consumiendo el oxígeno del medio y continuamente metabolizándola de manera anaerobia mediante fermentación. Cuando existe una fermentación ácido mixta es exclusivamente para las bacterias de grupo *Escherichia coli*, provocando un descenso considerable del pH inicial del medio y también ocasionando un

viraje del indicador de color rojo de metilo con un pH >5,1 hacia un cambio amarillo con un pH <4,4 (León & Vázquez, 2013).

2.2.9. Bacteria *Escherichia coli*.

La bacteria *Escherichia coli*, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae es considerada gram negativa, además anaerobia facultativa que es capaz de vivir y desarrollarse en condiciones libres de oxígeno lo que le permite desarrollarse en lugares como aguas residuales (López Aburto et al., 2020). Su estructura presenta una membrana y pared celular, es por eso que son resistentes a factores externos como desinfectantes, pero a pesar de esto sus capas presentan falencias, que pueden ser atacadas debido a que están formadas de peptidoglicanos, una capa externa de lipopolisacáridos y dos bicapas de fosfolípidos (Cedeño Moreira, 2017).

Esta bacteria se ha utilizado durante varias décadas como indicador para determinar índices de calidad del agua debido a su fácil adaptación y crecimiento dentro de los laboratorios, se encuentran en los intestinos de algunos mamíferos por lo que son de origen fecal y para la recolección de muestras deben seguirse las normas de seguridad.

Este microorganismo como muchos otros al ser expuestos a situaciones de estrés completo para su estudio es capaz de desarrollar condiciones de adaptación en su crecimiento, aunque en ocasiones no soporta y presenta daños en sus componentes celulares. Además, es una de las principales bacterias que generan enfermedades como diarrea, artritis, arteriosclerosis, debilitación de sistemas inmunológicos, infección del sistema nervioso central, hasta la muerte (Páez, 2009).

2.2.10. Bacteria *Enterococcus sp.*

Los *Enterococcus sp.*, son bacterias que se distinguen de otros organismos por su capacidad de sobrevivir en el medio ambiente, pueden ser encontrados en suelo, agua, aire, alimentos, e incluso forman parte de la flora normal intestinal y del tracto genitor urinario de los seres humanos (Lépesová et al., 2018).

Microbiológicamente, los *Enterococcus spp.*, son cocos Gram positivos, catalasa negativa, anaerobios facultativos, es decir, no producen gas a partir de la fermentación, crecen en caldos con Cloruro de Sodio (NaCl) al 6,5% y pueden ser alfa, beta o gamma hemolíticos, tienen una temperatura óptima de crecimiento entre 30 y 35°C (Hassaballah et al., 2020), a continuación se describen sus especies:

Los *Enterococcus sp.*, integran varias especies de suma importancia para el hombre como son: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarium*, entre otras

Estos microorganismos son utilizados como indicadores de contaminación fecal, debido a que son considerados por su alta supervivencia ante condiciones adversas.

2.2.11. Radiación Ultravioleta.

La radiación ultravioleta es considerada un proceso físico, utilizado en desinfección de aguas con presencia de microorganismos, su descubrimiento se dio a comienzos del siglo XIX por la radiación ultravioleta producto del sol, su estudio se adentró en el siglo XX con la construcción de la lámpara de vapor de mercurio con el objetivo de producir de manera artificial luz ultravioleta dando inicio a la aplicación de radiación UV, a su vez la primera aplicación ambiental se realizó en el proceso de desinfección en aguas potables-Marsella en el año de 1910 (Capó, 2007).

A comienzos, la aplicación UV como técnica de desinfección no tuvo buenos resultados por factores económicos y baja fiabilidad de sus equipos complementarios, siendo así cuestionada y comparada con técnicas como: cloración que era conocida como una manera mucho más económica y viable (Jaramillo, 2018). Con respecto a la aplicación de técnicas como cloración y ozonización se ha determinado que forman subproductos de oxidación peligrosos, de esta manera surge la necesidad de mejorar la técnica de radiación ultravioleta para la inactivación de patógenos peligrosos que se encuentran tanto en aguas residuales como en potables (Rios, 2006).

Hoy en día esta tecnología es popular en Estados Unidos utilizada para desinfectar más de 6.4% de todos los sistemas de pozos y en el Reino Unido la desinfección UV usa tecnologías de lámparas de mediana y baja presión combinada con cloro en una planta de tratamiento de agua de 623.5 lps para desinfección primaria y mantenimiento de un residual (Wright & Cairns, 1998).

El motivo principal de tratar las aguas residuales es, defender la salud pública y el medio ambiente, además es importante su reutilización debido a que el uso de esta fuente puede ser de manera potable, riego, uso industrial o servicios de limpieza.

Por lo expuesto, la radiación ultravioleta es un proceso de desinfección que es capaz de inactivar bacterias, virus, esporas bacterianas y quistes o fase de esporas de protozoos,

siendo de gran importancia a nivel de purificación de aguas para ingesta humana (Nuñez, 2013).

A continuación se encuentran definidas sus cuatro regiones del espectro UV (G. González, 2018):

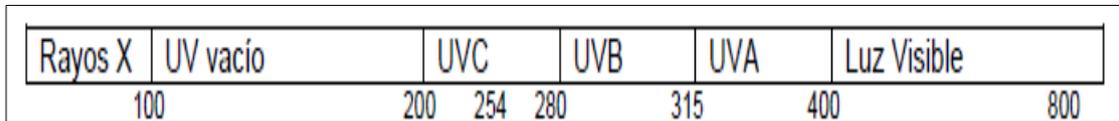


Figura 3. Longitud de onda germicida.

Fuente. (G. González, 2018).

2.2.12. Modo de operación de la Luz Ultravioleta.

El modo de operación de la luz UV se produce o genera de manera artificial y actúan como germicidas recubiertos con una envoltura de cuarzo. La luz UV que es emitida es el producto de un flujo de corriente denominado “arco foto voltaico” mediante el cual los electrodos de la lámpara actúan con una emisión de aproximadamente 253,7 nanómetros siendo eficientes al momento de eliminar microorganismos, bacterias y virus que se encuentran presentes en el agua residual (Castellanos et al., 2018). El ADN de los microorganismos al absorber los fotones de UV provoca una reacción fotoquímica irreversible, siendo capaz de inactivar y destruir las células (Valdés, 2018).

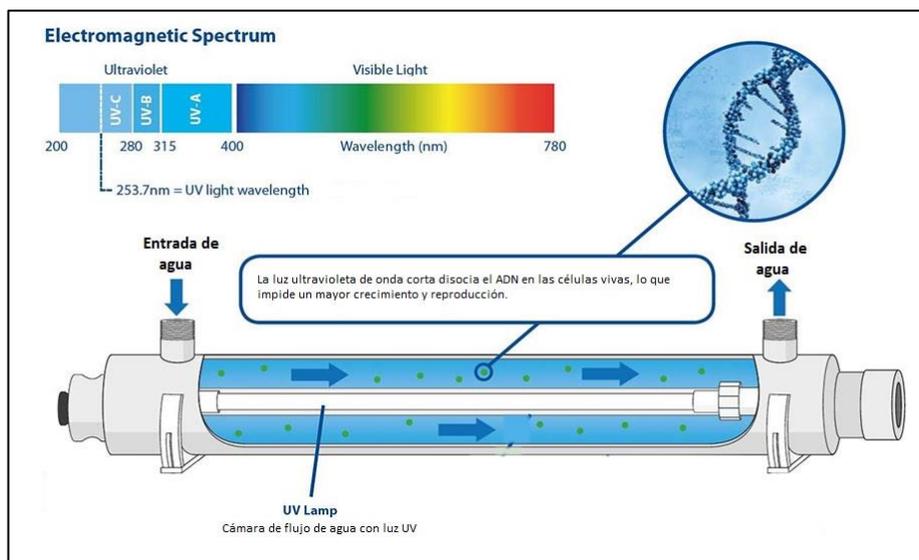


Figura 4. Sistema de desinfección de luz Ultravioleta

Fuente. (Valdés, 2018).

2.2.13. Parámetros relacionados con la dosis ultravioleta.

La dosis es un factor importante, debido a que la relación dosis-exposición fue capaz de determinar la cantidad de radiación que los microorganismos recibirán por parte de la lámpara ultravioleta (E. Rodríguez, 2011).

Como se habla en el apartado anterior, la dosis se encuentra en relación de la intensidad ultravioleta aplicada, multiplicada por el tiempo de exposición, por eso factores como tiempo e intensidad son relevantes durante el proceso de desinfección.

Es de gran importancia el estado de las lámparas ultravioletas por compuestos como el Calcio y Magnesio, controlando su tiempo de operación, temperatura y mantenimiento óptimo (Arias, 2004):

- a) **Calcio y Magnesio:** Son los principales compuestos que provocan incrustaciones (dureza) en las cavidades del reactor, es decir, la cámara esterilizadora y sobre la cubierta de la lámpara de cuarzo debido a que los iones de calcio y magnesio se unen con carbonatos y sulfatos presentes en aguas residuales.
- b) **Tiempo hidráulico:** El tiempo hidráulico de retención es una herramienta que nos ayuda a determinar el tiempo de exposición del agua residual frente a la luz ultravioleta.

2.2.14 Radiación ultravioleta frente a microorganismos.

El principal efecto que causa la radiación ultravioleta sobre los microorganismos es la inactivación de estos, debido a las alteraciones de los ácidos nucleicos por el daño fotoquímico que se genera (Alcántara Muñoz et al., 2016). La radiación ultravioleta se absorbe por los nucleótidos (elementos ideales para la formación del ADN y ARN), posterior a esto es capaz de originar la unión de nucleótidos cercanos lo que genera los dímeros o moléculas dobles en un porcentaje adecuado dentro de los microorganismos impidiendo o bloqueando la duplicación de ADN Y ARN (Cruz, 2020).

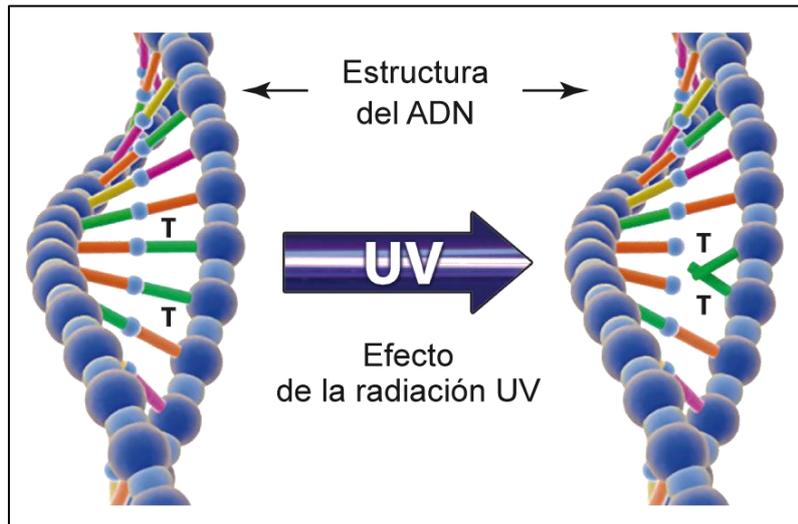


Figura 5. Estructura de ADN previo y bajo efecto de radiación UV.

Fuente. (Cruz, 2020).

Las fuentes ultravioleta más comunes son las lámparas de mercurio de baja y mediana presión que se encuentra constituido por un tubo herméticamente cerrado de cuarzo y argón que es un transmisor UV y compuesta con electrodos en los dos extremos. El funcionamiento comienza cuando el vapor de mercurio es excitado por la descarga de electricidad, el argón forma un papel importante debido a que produce arranque en la lámpara extendiendo la vida del electrodo y reduce las pérdidas térmicas, en la siguiente figura se puede apreciar los componentes de la lámpara ultravioleta (Vásquez, 2015):

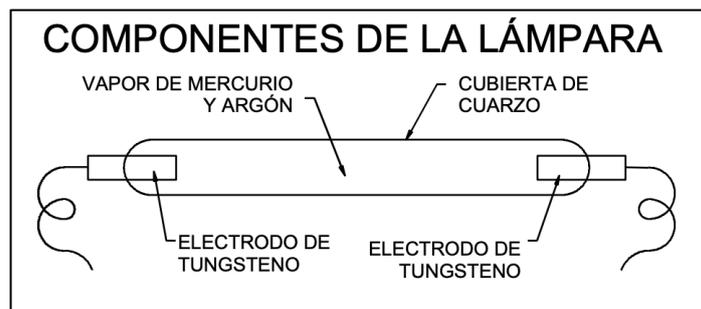


Figura 6. Componentes de lámpara ultravioleta

Autor: (Rosso, 2018).

2.2.15. Dosis Ultravioleta.

La dosis es el producto de la intensidad ultravioleta multiplicada por el tiempo de exposición, por lo tanto estos dos factores (intensidad y tiempo) son de gran importancia, a su vez es importante caracterizar el agua que se va a tratar, debido a que algunos

compuestos orgánicos e inorgánicos podrían ocasionar una pérdida en la intensidad ultravioleta que destruirá el ADN de los microorganismos, al igual que la calidad microbiológica del efluente que pertenece a un sistema está relacionado con las características del influente (Beltrán & Jiménez, 2000).

De igual manera, el funcionamiento adecuado de la lámpara ultravioleta es muy relevante, se debe controlar el tiempo de operación, adecuado mantenimiento y limpieza, para obtener una buena transmisión de radiación sobre el agua que se está tratando.

En el diseño de un reactor de desinfección ultravioleta se considera un parámetro importante que es el tiempo hidráulico de retención, puesto que ayuda a calcular el tiempo que el agua estará siendo sometida a radiación ultravioleta (Martínez, 2020).

Para calcular la dosis se utiliza la siguiente fórmula, propuesta por Elio Tarrán (Tarran, 2015)

$$\text{Dosificación} = \text{Intensidad} * \text{Tiempo de Retención}$$

Donde

Intensidad: Medida en Microwatts-segundo por centímetro cuadrado ($\mu Ws/cm^2$).

Tiempo de retención: Medido en segundos (s).

2.2.16. Ventajas y desventajas al utilizar el proceso de desinfección UV.

Ventajas

- El proceso de desinfección UV permite desactivar la mayoría de los virus, esporas, quistes y requiere un periodo de tiempo más corto en comparación con otros desinfectantes.
- La luz UV es la única alternativa de desinfección rentable que no crea o libera subproductos cancerígenos al medio ambiente.
- No existe ningún efecto residual que puede afectar al ser humano o cualquier otro organismo acuático (Wright & Cairns, 1998).

Desventajas

- Algunos microorganismos no son eliminados mediante la luz ultravioleta ya que poseen un mecanismo de reparación conocido como "fotorreactivación".
- Esta tecnología no es tan económica como la de la desinfección con Cloro.
- Los sólidos suspendidos totales y turbidez presentes en el agua residual producen una disminución de eficiencia en la desinfección UV (Wright & Cairns, 1998).

2.2.17. Factores que ocasionan la ineffectividad de la luz ultravioleta.

Los siguientes factores podrían ocasionar que la eficiencia de un reactor ultravioleta minore no elimine en su totalidad los microorganismos que provocan una contaminación biológica (K. Rodríguez, 2018):

- a) **Estado fisiológico:** Los microorganismos al ser expuestos a condiciones de estrés como es la radiación ultravioleta no actúan de la misma manera en algunos casos se ha demostrado que algunas bacterias son más sensibles en la etapa de crecimiento y poseen mayor resistencia en la fase estacionaria.
- b) **Variaciones de cepa:** Las bacterias presentan diferentes cadenas de ácidos nucleicos en cada una de sus especies y en ocasiones algunas son más sensibles que otras.
- c) **Mecanismos de reparación de ADN:** Los microorganismos al ser expuestos a radiación ultravioleta sufren alteraciones y daños en la cadena de sus ácidos nucleicos, sin embargo existe la posibilidad de auto repararse frente a la misma exposición de radiación ultravioleta.
- d) **Partículas suspendidas:** En la mayoría de los casos los microorganismos son capaces de adherirse a las partículas suspendidas, de esta manera forman una barrera para protegerse de la exposición frente a la radiación ultravioleta, por lo cual es de gran importancia realizar una previa filtración del agua a tratar.

2.2.18. Modelos matemáticos de desinfección.

Los modelos matemáticos son una representación de un fenómeno o relación entre dos variables, que se representan en base a formula matemáticas, ecuaciones o funciones (Velásquez, 2014). En este estudio sirvieron para determinar cómo actúa la dosis ultravioleta aplicada de las bacterias en función del tiempo.

Para la aplicación de un modelo se necesita información detallada de varios datos que se basan en el método de mínimos cuadrados que con la ayuda de herramientas se simplifica su uso, de aquí nace la aplicación GinaFit, que es una extensión que se puede utilizar con Microsoft Excel, este software permitió graficar los datos obtenidos en la investigación y realizar una comparación entre diferentes modelos matemáticos y sintetizar el estudio de la desinfección microbiana.

Entre las maneras de representar los datos es mediante los modelos de, dos parámetros de ajuste, R^2 y la Raíz del Error Cuadrático Medio (RMSE). El modelo R^2 de 1 indica que es

un ajuste perfecto de los datos en base al modelo y en cuanto al valor de RMSE se debe aproximar hacia 0 que significa que se ajusta adecuadamente hacia los datos (Velásquez Medina & Rodríguez Chaparro, 2013).

A continuación se enlistan los diferentes tipos de modelos que existen:

- a) **Modelo lineal:** El modelo lineal se basa en que todos los microorganismos que se encuentran en una muestra tendrán la misma sensibilidad ante la radiación ultravioleta, poseyendo una desinfección de primer orden con una relación log-lineal (Geeraerd, 2011).

- b) **Modelo lineal-hombro y lineal-cola:** El modelo lineal de cinética de primer orden y el efecto “hombro” basado en la hipótesis de componentes que actúan como barrera protectora alrededor de las células. En cuanto al modelo lineal-cola se caracteriza por determinar la inactivación en base a una cinética lineal de primer orden con una población residual de carácter resistente que no sufre cambios drásticos en su composición, es decir, no se ve afectada en el periodo de tiempo estudiado (Giannakis, 2015).

- c) **Modelo bifásico:** Este modelo simula la existencia de dos subpoblaciones microbianas con resistencias diferentes en el proceso de desinfección ultravioleta (Geeraerd, 2011).

2.2.19. Configuraciones de reactores ultravioleta

Según la US EPA (United States Environmental Protection Agency), existen tres tipos de configuraciones de reactor para el sistema de desinfección con luz UV, en estos casos, el agua residual puede fluir en forma perpendicular o paralela a las lámparas (Cassano et al., 2015):

- a) **Sistemas de canal abierto:** Son sistemas comunes en la desinfección de aguas residuales su estructura está compuesta de grupos de lámparas UV orientadas horizontalmente o paralelas al flujo de agua residual que se encuentra en movimiento por efecto de la gravedad y completamente expuesto a la atmósfera.

- b) **Sistemas de canal cerrado sin contacto:** Son sistemas que se usan en aguas tratadas o aguas residuales que fluyen por tubos transmisores ultravioletas, generalmente su material de construcción es de teflón y sus lámparas se

encuentran ubicadas en el exterior de los tubos, cabe destacar que el movimiento del flujo puede ser de dos maneras, ya sea por efecto de la gravedad o por presión.

- c) **Sistemas de canal cerrado con contacto:** Son sistemas de canal cerrado con contacto que están compuestos por lámparas ultravioletas colocadas en el interior de fundas de cuarzo que actúan como transmisor de la luz UV, pueden ser implementadas dentro de un flujo de agua tratada o residual, generalmente este tipo de sistemas son utilizados comúnmente para la desinfección UV de agua potable.

2.2.20. Tipos de reactores.

- a) **Reactor de colimación:** Este tipo de reactor es capaz de emplearse en aplicaciones a escala pequeña, de esta manera permitiendo irradiar volúmenes de agua determinados con dosis de UV precisas, así los organismos reciben una dosis aseverativa al valor teórico y con más acción si la muestra fue agitada previamente a su proceso de irradiación. En este reactor se pueden tratar volúmenes muy pequeños de agua de una manera discontinua y se puede considerar como el sistema más controlado y que permite a los organismos recibir una dosis similar al valor teórico especialmente si la muestra se agita lentamente (Moreno-Andrés et al., 2017).

Se puede observar (Figura 7) un esquema de un reactor de colimación aplicado en un laboratorio. Usualmente el tiempo de exposición se lo puede manejar con un interruptor de paso de corriente que se encuentra conectado al sistema, permitiendo la aplicación de diferentes dosis aplicables en el proceso de radiación UV. Su estructura se encuentra conformada por una lámpara UV-C de mercurio de baja presión y potencia de 6 W dentro de un cilindro que puede ser de material plástico con una abertura de 5 cm de diámetro para el paso del flujo y cuenta con una bomba de aire insertada en la cabecera del cilindro para evitar el sobrecalentamiento por el funcionamiento continuo. El funcionamiento consiste en el paso de flujo por la lámpara en un tiempo máximo de 5 segundos, en el caso de que los tiempos de exposición se aumente, la dosis UV expuesta hacia las bacterias también aumentará, la misma se encuentra expresada en mWs/cm^2 (Schlapbach, 2016):

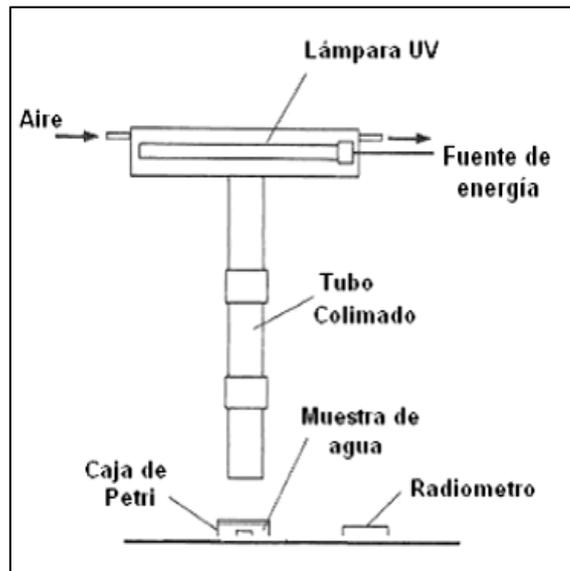


Figura 7. Esquema de un reactor ultravioleta de reactor de colimación.

Fuente. (Schlapbach, 2016).

- a) Reactor tubular helicoidal:** El reactor tubular posee un flujo continuo altamente turbulento y el campo de flujo se puede modelar con el del flujo tapón, esto quiere decir que no hay una variación radial en la concentración y los reactivos utilizados en su proceso se consumen a medida que fluyen a lo largo del reactor. El tiempo de permanencia en el reactor es el mismo para todos los componentes, en cada uno de los cambios de los reactivos poseerá la misma temperatura y composición de cada punto en el reactor, no tendrá mezclada su dirección de flujo y si existe tal mezclado se llevará a cabo en la dirección perpendicular a la del flujo (dirección radial) (Ramírez Arias, 2013).

Permiten operar con un régimen de flujo adecuado y son los fotoreactores que han demostrado mayor rendimiento cuántico. Su estructura se encuentra compuesta por un cilindro que puede contener una fuente de radiación en su eje y de esta manera toda la radiación es emitida en el medio de reacción, el fluido toma forma de espiral que se encuentra entre la fuente de radiación que es una lámpara de baja presión de Hg en disposición concéntrica y las paredes del cilindro (Figura 8).

Su funcionamiento comienza desde que la muestra de agua inoculada se bombea a través del reactor y la velocidad de flujo es regulada por una válvula para lograr controlar los diferentes tiempos de exposición, caudales y de esta manera poder determinar la dosis en cada uno de sus procesos (Huarachi-Olivera et al., 2015)

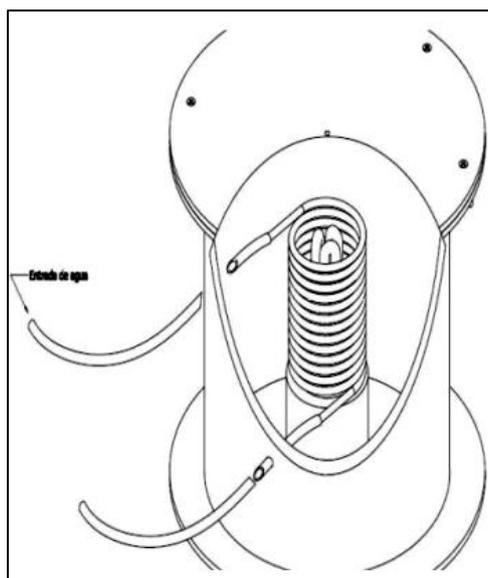


Figura 9. Configuraciones de un reactor tubular helicoidal.

Fuente: (Huarachi-Olivera et al., 2015).

b) Reactor de flujo continuo o mezcla total

Este tipo de reactores poseen una entrada de reactivos y una salida de productos constantes, existiendo una homogeneidad en cualquier punto dentro del reactor lo que facilita la reacción química que se produce en su interior.

Para el tratamiento UV y fotocatalítica de bacterias y microalgas se usa diferentes configuraciones de reactores tubulares de flujo continuo, compuestos por una carcasa cilíndrica en cuyo centro se inserta una funda de cuarzo y una lámpara de baja presión de Hg en disposición concéntrica.

Una característica de este tipo de reactores es que tienen una conversión de producto directamente proporcional al volumen del tanque, al tiempo espacial y a la velocidad de reacción que se experimenta dentro del tanque (Rivas, 2018).

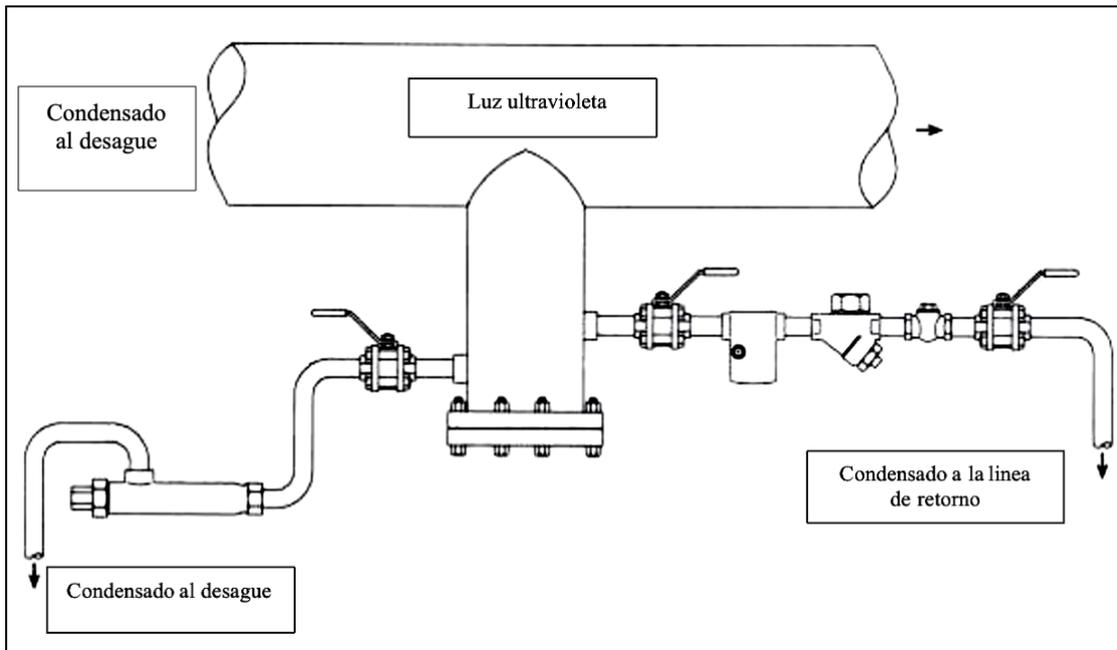


Figura 10. Reactor de flujo continuo

Fuente. (Bea, 2015)

CAPITULO III.

3.1. Metodología.

El presente estudio se llevó a cabo en la Universidad Politécnica Salesiana (UPS) en los laboratorios de Ciencias de la Vida. La construcción del prototipo del reactor ultravioleta se basó en el modelo de reactor de flujo continuo de un solo paso.

La toma de muestra se realizó en la zona de pretratamiento de la planta de agua residual, la cual consiste, en que del caudal de ingreso se capta un volumen en un contenedor de manera manual.

Las muestras, se transportaron en el menor tiempo posible para que no exista calentamiento y contaminación cruzada. posteriormente se realizó una identificación y aislamiento de las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp*, naturales mediante pruebas bioquímicas.

Además, se midieron parámetros como turbidez, color, pH y conductividad, con el fin de determinar las características físicas de cada muestra.

El cultivo de las bacterias se realizó por medio de técnicas de siembra en placas de petri mediante el método de filtración de membrana para cuantificar las colonias y finalmente se determinó su reactivación en condiciones de luz y oscuridad mediante suministro de luz artificial propiciada por la cámara de crecimiento con luz Binder.

3.2. Procedimiento de recolección y transporte de las muestras de agua residual.

La toma de muestra se realizó en la zona de pretratamiento llamada “By-pass-compuerta de admisión” de la planta de agua residual de Ucubamba ubicada en la ciudad de Cuenca, dentro del caudal de ingreso se capta 20 litros, en un contenedor de manera manual con un recipiente, y previa colocación de guantes y protección biosanitaria.

El volumen para experimentar es siempre tomado a las 8 am los lunes y viernes, en el periodo de noviembre de 2020 a abril de 2021, con su respectiva etiqueta de hora y fecha.

Las determinantes tomadas en cuenta para la recolección de muestras son la influencia de la rutina de las viviendas y fábricas, y el tiempo requerido para efectuar el análisis e incubación de bacterias en el laboratorio ya que esta rutina conlleva intervalos de 24 a 48 horas.

Además, las muestras, se transportaron en el menor tiempo posible para evitar calentamiento y contaminación cruzada.

Los recipientes donde se distribuyó las muestras son diariamente esterilizados en autoclave y bajo una desinfección UV por 15 min.

En el laboratorio se realizaron análisis microbiológicos, físicos, químicos, cualitativos y cuantitativos.

3.3. Caracterización fisicoquímica obtenida de parámetros del agua residual.

En el estudio se utilizó 32 muestras de agua residual para formular una caracterización general del efluente que se trató.

Para el procedimiento de prueba, se preparó el material y medios por un día, un segundo día para hacer circular el agua por el reactor y toma de muestras, un tercer día para obtener los resultados finales por prueba y un cuarto día para cuantificación y descarte de material. Se dedicaron cinco semanas a perfeccionar la rutina de experimentación.

Del total de ensayos finalmente, 2 fueron de prueba final, 6 válidos para la bacteria *Escherichia coli*, y en 3 ensayos de bacteria *Enterococcus sp.*

Para ilustrar esto, se muestra a continuación como primer resultado los valores de los parámetros físicos químicos desglosados de manera detallada toda su información (Tabla 3):

Tabla 3. Caracterización de parámetros físicos y químicos obtenidos en los ensayos.

Agua residual	Transmitancia (%)	Turbidez (FTU)	Conductividad ($\mu\text{s/cm}$)	pH	Color
Ensayo 1 (15/11/2020)	0.84	38	510	7.56	251
Ensayo 2 (16/11/2020)	0.83	23	503	7.01	225
Ensayo 3: (23/01/21)	0.98	41	501	7.59	264
Ensayo 4: (30/01/21)	0.81	31	465	7.62	245
Ensayo 5: (10/02/21)	0.80	52	475	7.23	205
Ensayo 6: (15/02/21)	0.85	32	495	7.59	256
Ensayo 7: (10/03/21)	0.90	37	460	7.54	277
Ensayo 8: (25/03/21)	0.92	29	499	7.35	229

Ensayo 9: (05/04/2021)	0.81	38	501	7.01	241
Ensayo 10: (15/04/2021)	0.89	41	512	7.88	268
Ensayo 11: (20/04/2021)	0.93	69	526	8.01	301

Además, se describe estadísticamente el cálculo de rangos obtenidos de los 11 ensayos con respecto a valores permitidos en la normativa vigente (Tabla 4):

Tabla 4. Valores de parámetros físicos y químicos obtenidos mediante estadística del total de ensayos.

Estadística de Ensayos	Transmitancia (%)	Turbidez (UNT)	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	pH	Color
Media	0.99	39	501	8	252
Varianza	0.003	172.5	259.1	0.1	698.4
Valor Mínimo	0.80	23	465	7.01	205
Valor Máximo	0.98	69	526	8.01	301

- **Transmitancia:** Se encontraron datos en rangos de 0.80 a 0.98% y media de 0,99%.
- **Turbidez:** Las muestras presentan un valor mínimo de 23 UNT, un máximo de 69 UNT y un valor medio de 39 NTU, indicando que la carga de solidos suspendidos tiende a ser mínima.
- **Conductividad:** De acuerdo con los muestreos no presentaron una dispersión muy grande, con un valor mínimo de 465 ($\mu\text{S/cm}$), valor máximo de 526 ($\mu\text{S/cm}$) y una media de 501 ($\mu\text{S/cm}$).
- **pH:** Con un valor mínimo de 7,01, máximo de 10,01 y una media de 8 unidades de pH.

3.4. Aislamiento de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.*

3.4.1. Aislamiento de bacteria *Escherichia coli*.

La bacteria *Escherichia coli*, se aisló de la muestra de agua residual, donde habita nativamente, en caldo de microorganismos de peptona. Se prepararon soluciones 1/1000 y se utilizó un inóculo inicial en fase estacionaria (24 horas) desarrollado en Simmons

Citrate Agar, que además contiene compuestos de amoníaco como fuente de nitrógeno para que las bacterias puedan metabolizarlo.

3.4.1.1. Pruebas bioquímicas para bacteria *Escherichia coli*.

A las 24 horas se tomó una muestra del medio de cultivo con la ayuda de un asa de siembra microbiológica para realizar las pruebas bioquímicas, cada una de ellas y su proceso se describen a continuación.:

- **Tinción de Gram:** Se determinó con ayuda de colorante de tinción, que torna violeta intenso las paredes celulares de las bacterias, dando un resultado como bacterias Gram Positivas de género *Enterobacter*.
- **Citrato:** Se sembró una muestra en Agar citrato de Simmons en un tubo de ensayo en posición inclinada, generando una alcalinización en el cultivo y tornándose de color amarillo a azul, determinando como bacterias Gram Positivas de género *Enterobacter*.

Finalmente, luego de su aislamiento e identificación taxonómica convencional mediante características morfológicas de la bacteria natural *Escherichia coli*, se inyectó en caldo Soja Tripticaseína (TSB) para su mantenimiento y uso constante, manteniéndola en condiciones de refrigeración.

A continuación, se presenta la imagen observada bajo el lente del microscopio y un diagrama de forma sistemática del procedimiento:

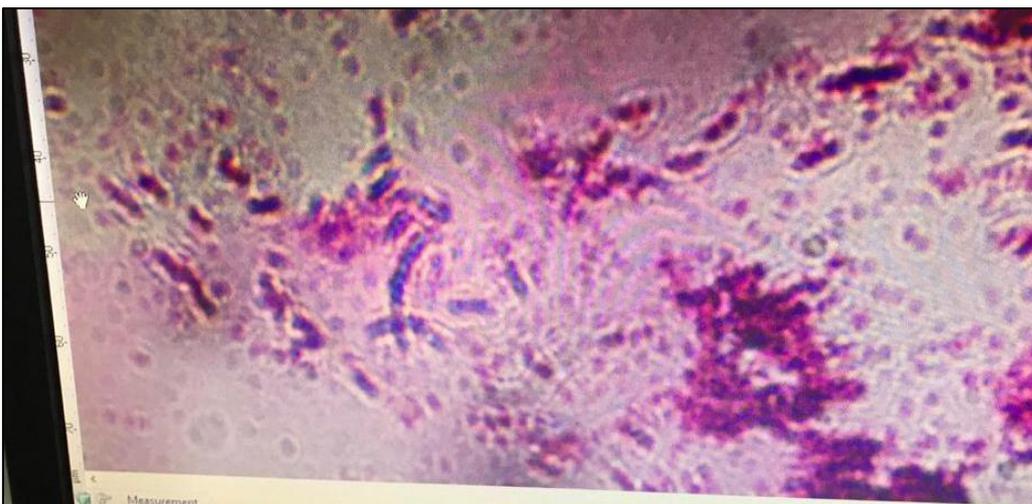


Figura 11. Identificación taxonómica convencional de *Escherichia coli*, bajo lente de microscopio.

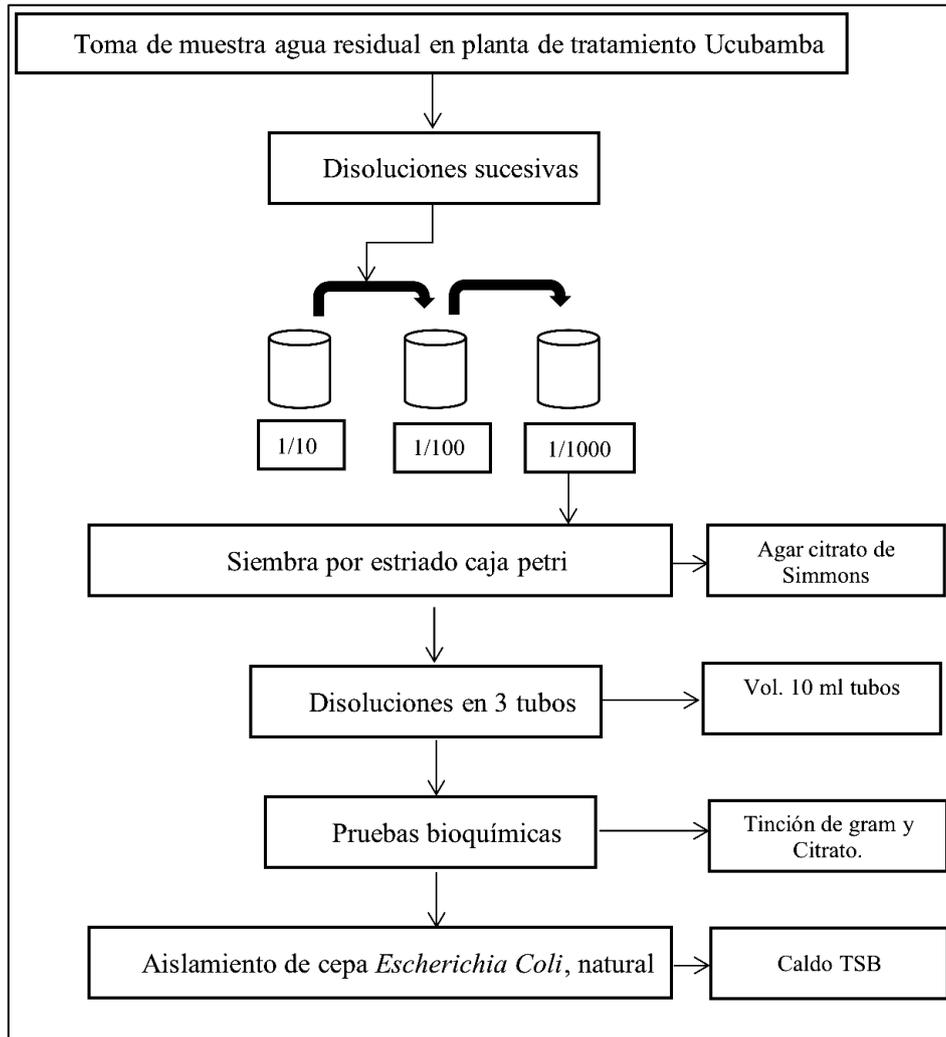


Figura 12. Esquema experimental para inhibición de bacteria *Escherichia coli*.

3.4.2. Aislamiento de bacteria *Enterococcus sp.*

La bacteria *Enterococcus sp.*, se aisló de igual manera a partir de una muestra de agua residual, se realizaron disoluciones de 1/1000 y utilizó un inculo inicial de fase estacionaria (24 horas) desarrolladas en agar sangre debido a que brinda nutrientes, además adquieren carbono desde componentes como la peptona y triptosa manteniendo un medio osmótico equilibrado.

3.4.2.1. Pruebas bioquímicas para bacteria *Enterococcus sp.*

Transcurridas las 24 horas se tomó una muestra del medio del cultivo con ayuda de un asa de siembra para realizar pruebas bioquímicas, a continuación, se describen cada una de ellas y su proceso:

- **Prueba de catalasa:** La prueba es utilizada para determinar la presencia de bacterias de género *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Staphylococcus*, donde para este último es catalasa positiva mientras que para *Streptococcus* y *Enterococcus* es catalasa negativa.
- Se colocó una gota de peróxido de hidrógeno o agua oxigenada al 3% en un portaobjetos con muestra de la colonia, después de unos minutos, no se obtuvo burbujas, dando positivo para género *Streptococcus* y *Enterococcus*
- **Prueba de bilis y esculina:** La prueba se realizó en un medio de cultivo Agar esculina, su proceso se realizó disolviendo el medio de cultivo en agua destilada y su calentamiento hasta su disolución total, se autoclava en tubos de ensayo con tapa rosca a una temperatura de 121°C durante 15 minutos y posterior se sacan los tubos y se los deja en un soporte con una inclinación, finalmente se lo deja en la cámara de flujo laminar a una temperatura de 35°C. Luego de 18 horas se determinó la presencia de color negro en el medio de cultivo dando como resultado positivo.

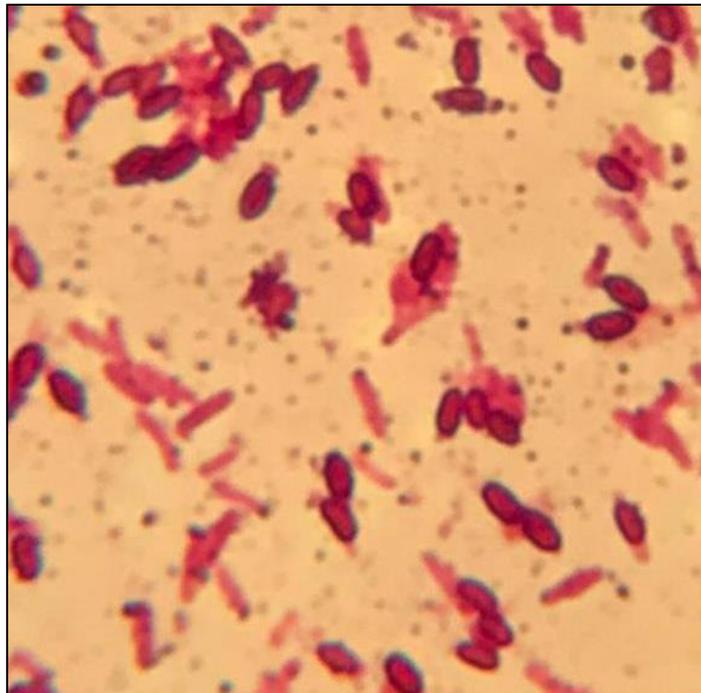


Figura 13. Identificación taxonómica convencional de *Enterococcus sp.* bajo lente de microscopio.

La identificación taxonómica convencional se realizó con ayuda de un microscopio y fijándose en las características morfológicas de la bacteria natural *Enterococcus sp*, posteriormente se inyectó la cepa aislada en caldo TSB para su conservación para posteriores usos, en el siguiente diagrama se detalla de manera sistemática su proceso:

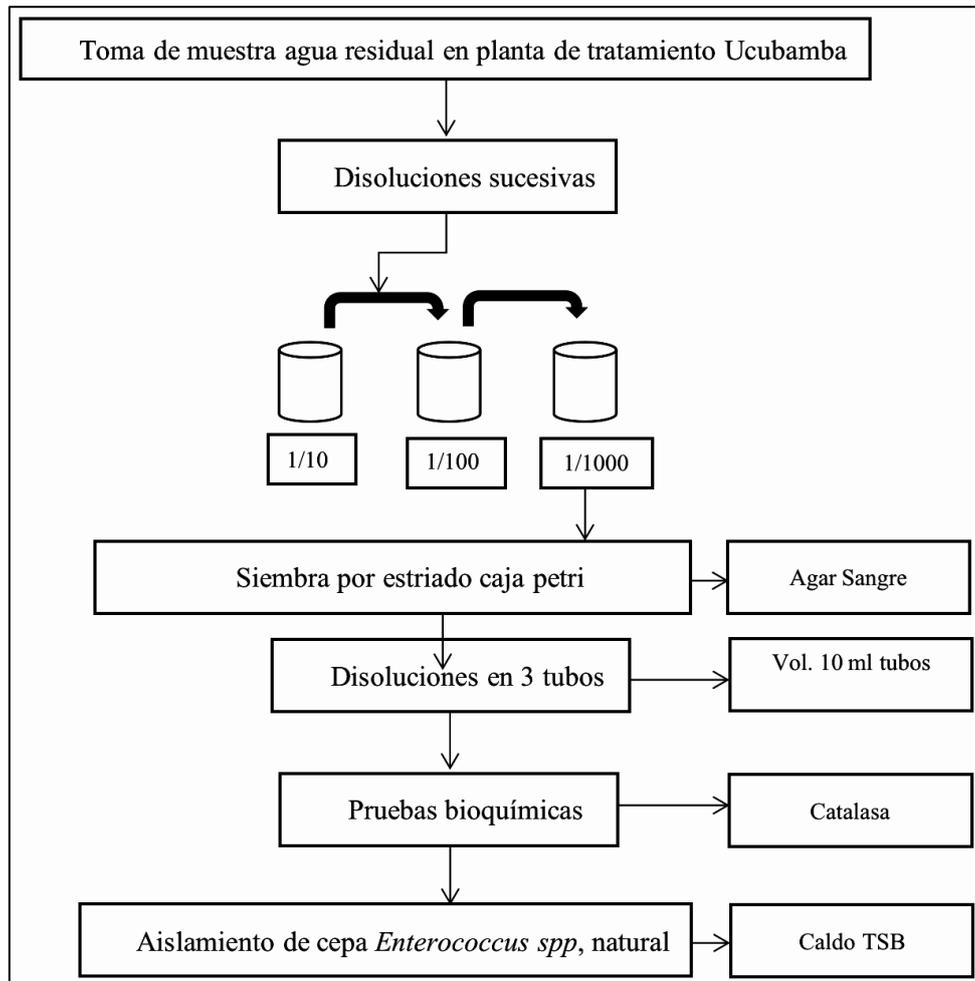


Figura 14. Esquema experimental para inhibición de bacteria *Enterococcus sp*.

3.5. Sistema de desinfección ultravioleta experimental en escala de laboratorio.

El sistema se encuentra conformado por una lámpara ultravioleta de 6 W, conectado por un sistema de mangueras y válvulas con la finalidad de manipular el caudal de entrada al reactor y el caudal de trabajo frente a la lámpara ultravioleta para obtener una dosis frente al tiempo de exposición (Figura 15).

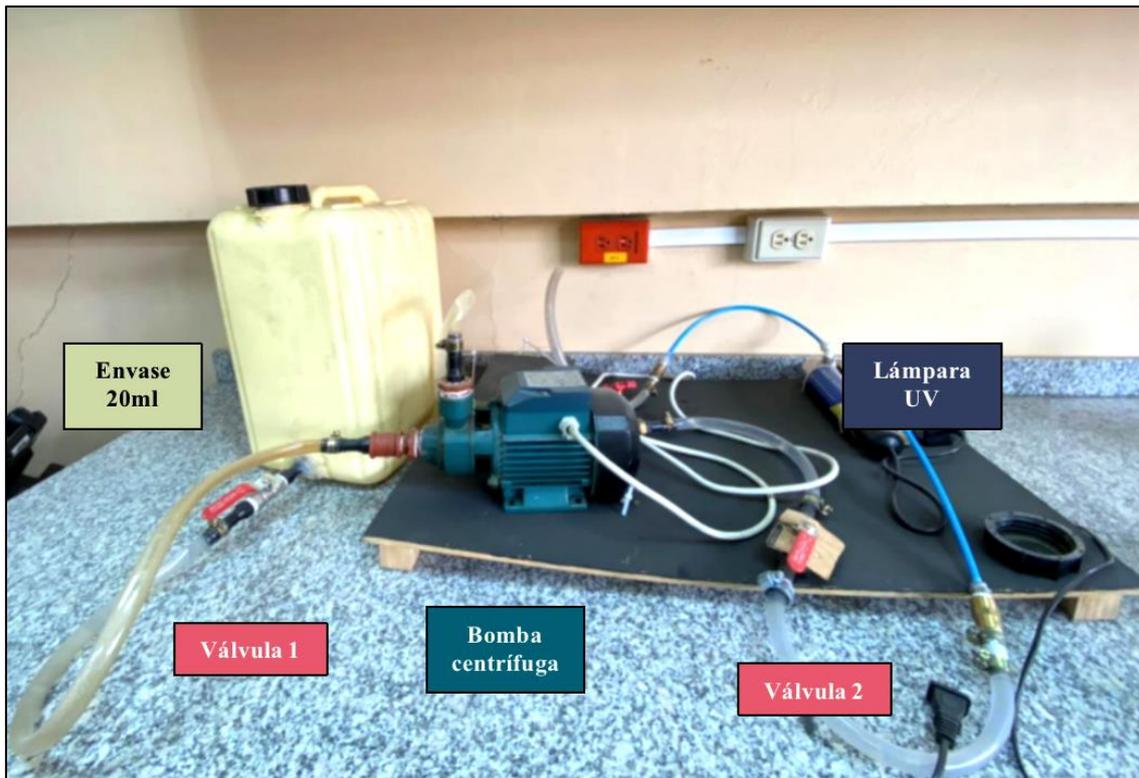


Figura 15. Reactor ultravioleta.

Desde un contenedor con el agua previamente filtrada al vacío, esta circula por el reactor. El sistema posee dos llaves, la primera conectada al canal de distribución y la segunda al canal ultravioleta.

Para que el sistema de desinfección comience su funcionamiento fue necesario que la dosis de la bacteria ya sea *Escherichia coli* o *Enterococcus sp*, naturales, repose en el volumen de agua residual para obtener una buena homogenización.

Una vez homogenizado el volumen, se abre la primera llave de ingreso y la segunda llave, se deja que se estabilice el caudal es decir que no exista presencia de burbujas en el efluente y se procede a la recolección de muestras.

Finalmente, el reactor después de cada circulación de agua residual es esterilizado, el contenedor es lavado y por todo el sistema recorre agua limpia con cloro, a continuación (Tabla 5) se describen las características del sistema ultravioleta:

Tabla 5. Características del sistema de desinfección.

Características de luz UV	Valores	Unidades
Potencia	6	Watts

Longitud de luz	18,9	cm
Longitud descubierta de luz	6,7	cm
Radio reactor	1,2	cm
Radio externo de funda cuarzo	1	cm
Espesor de la funda de cuarzo	1,6	mm
Porcentaje de transmitancia del cuarzo	0,94	%
Porcentaje de transmitancia del agua residual	(cambia en base a las características del agua en cada ensayo)	%
Tiempo	(cambia en base a las características del agua en cada ensayo)	s
Volumen	1000	ml

3.6. Estudio de caracterización del funcionamiento del reactor con luz ultravioleta.

3.6.1. Funcionamiento de reactor prototipo en laboratorio.

El proceso inicia con la filtración y el reposo de las bacterias durante una hora para una adecuada homogenización. Una vez pasado el tiempo el reactor estará listo para dar comienzo a su proceso que parte desde la conexión a corriente de la bomba de agua y lámpara ultravioleta, continuamente se debe abrir la primera llave que da paso al agua residual, seguidamente se abre la segunda llave establecida con 5 caudales diferentes siempre se parte de dosis mayores (caudales altos) a dosis menores (caudales pequeños). Finalmente se toma una muestra de agua residual de cada corrida separándolas en frascos estériles con tapa rosca los cuales son etiquetados con tiempo y fecha de recolección.

Es necesario que cada muestra recolectada supere los 20 ml, porque después estas muestras se dividieron en tres partes, que serán destinadas a una filtración inicial y las otras dos partes irán a la Cámara Binder para su exposición a los factores de estudio, luz y oscuridad por 5 días.

La dosis que es aplicada a cada una de las muestras se calculó multiplicando el tiempo de exposición por la intensidad media del sistema. En cuanto el tiempo de exposición ultravioleta se controló con un temporizador que fue establecido al llenarse una probeta de 100 ml, con la finalidad de manejar un mismo volumen para todas las muestras.

En todos los ensayos de ambas bacterias se realizaron dos controles:

- a) Tratamiento del agua residual sin radiación luz ultravioleta, muestras denominadas “blancos” que sirven de referencia para realizar una comparación pre-exposición.
- b) Tratamiento del agua residual bajo condiciones de luz ultravioleta para determinar el número de posibles mortalidades.

En ambos controles se tomaron muestras en recipientes de tapa rosca que son previamente esterilizados y el proceso que se realiza con ayuda del reactor siempre se encontró en condiciones de temperatura ambiental de la ciudad de Cuenca entre los valores de 17-21 °C.

3.7. Preparación de medios de cultivo para las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.*

3.7.1. Preparación de medio de cultivo para bacteria *Escherichia coli*.

La preparación del medio de cultivo se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante, y adicional a esto se tuvo que agregar 0.20 gr para mejorar la solidificación del agar Merck Coliformes Agar Acc. Chromocult®.

Para preparar la solución, en un volumen de agua destilada previamente auto clavada se diluye el soluto, se calienta hasta su disolución durante 1 minuto. (Simmons, 2010).

Finalmente, en la cámara de flujo laminar se distribuyó el medio en placas de Petri estériles y se dejó gelificar sobre una superficie horizontal nivelada. Las condiciones de crecimiento de estos microorganismos fueron a una temperatura de 37 °C durante 24 horas.

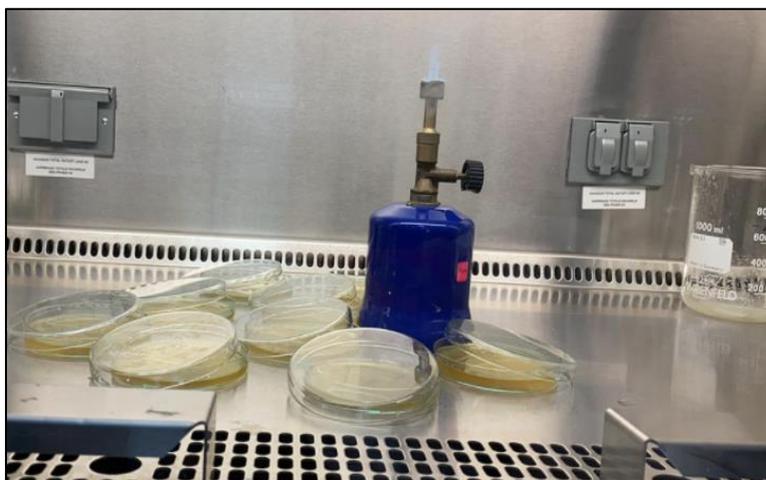


Figura 16. Plaqueo de Medio de Cultivo Merck Coliform Agar Acc. Chromocult®

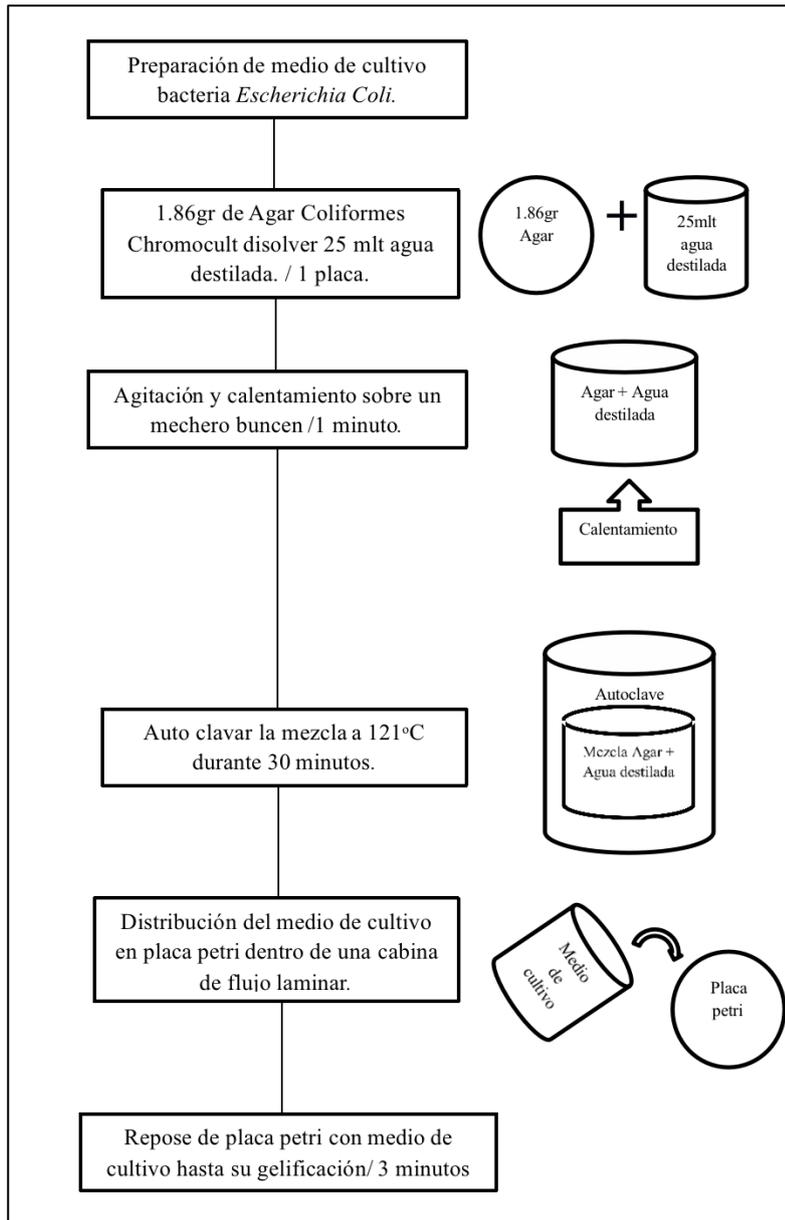


Figura 17. Diagrama de preparación de medio de Cultivo Merck Coliform Agar Acc. Chromocult®

3.7.2. Preparación del medio de cultivo para bacteria *Enterococcus sp.*

Para el proceso de crecimiento se utilizó el medio selectivo Agar m *Enterococcus*, su preparación consistió en disolver el soluto previamente pesado en un volumen agua destilada. Se calentó, y se mantuvo en constante movimiento hasta el punto de ebullición para su total homogeneización.

Se evitó el excesivo calentamiento y el enfriamiento rápido. No se debe introducir a la autoclave (Facklam, 2005).

El color final del medio es amarillo y en el caso de que el medio de cultivo se torne rojo indica que ha sufrido exceso de calor.

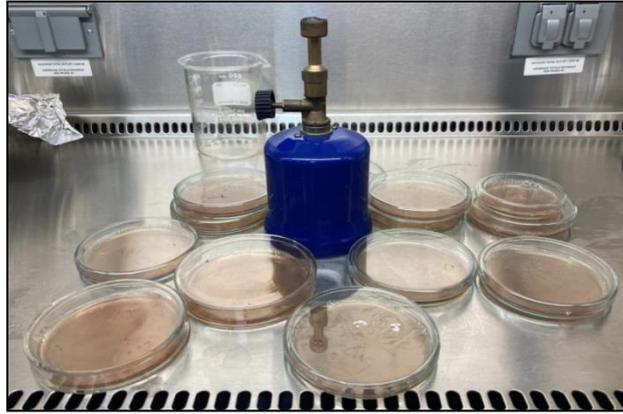


Figura 18. Plaqueo de Medio de Cultivo m Enterococcus Agar.

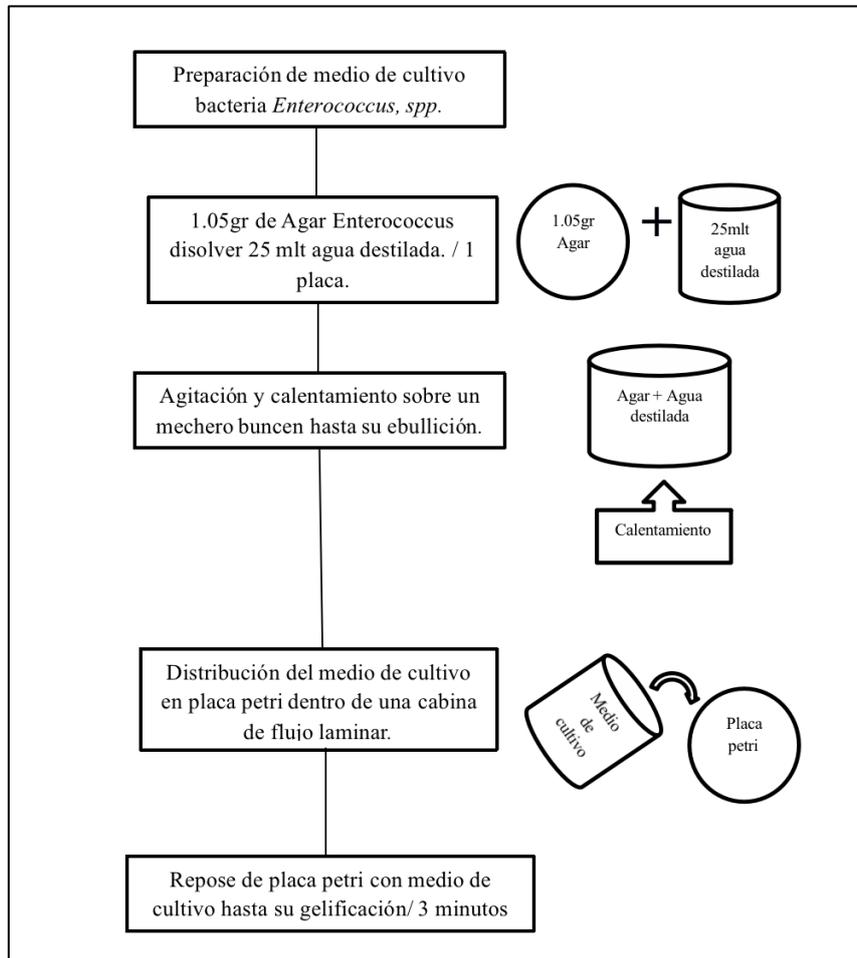


Figura 19. Diagrama de preparación de medio de Cultivo m Enterococcus Agar.

3.8. Preparación de diluciones de las muestras obtenidas en el reactor.

Se realizaron diluciones de las muestras que se obtuvieron luego de pasar por el sistema de desinfección ultravioleta con la intención de que las colonias de bacterias puedan ser cuantificables bajo la normativa y determinar si el estudio es adecuado.

3.8.1. Diluciones seriadas con presencia de bacteria *Escherichia coli*.

Una vez obtenidas las muestras se procedió a realizar las diluciones *in situ* es decir 1 blanco y 5 ensayos que fueron expuestos a radiación ultravioleta en una disolución con agua destilada de 1-1000 para muestras que fueron expuestas a radiación ultravioleta, mientras los blancos tuvieron diluciones de 1-10000. Finalmente fueron colocados en tubos de ensayo, a continuación, se presenta el diagrama de su procedimiento:

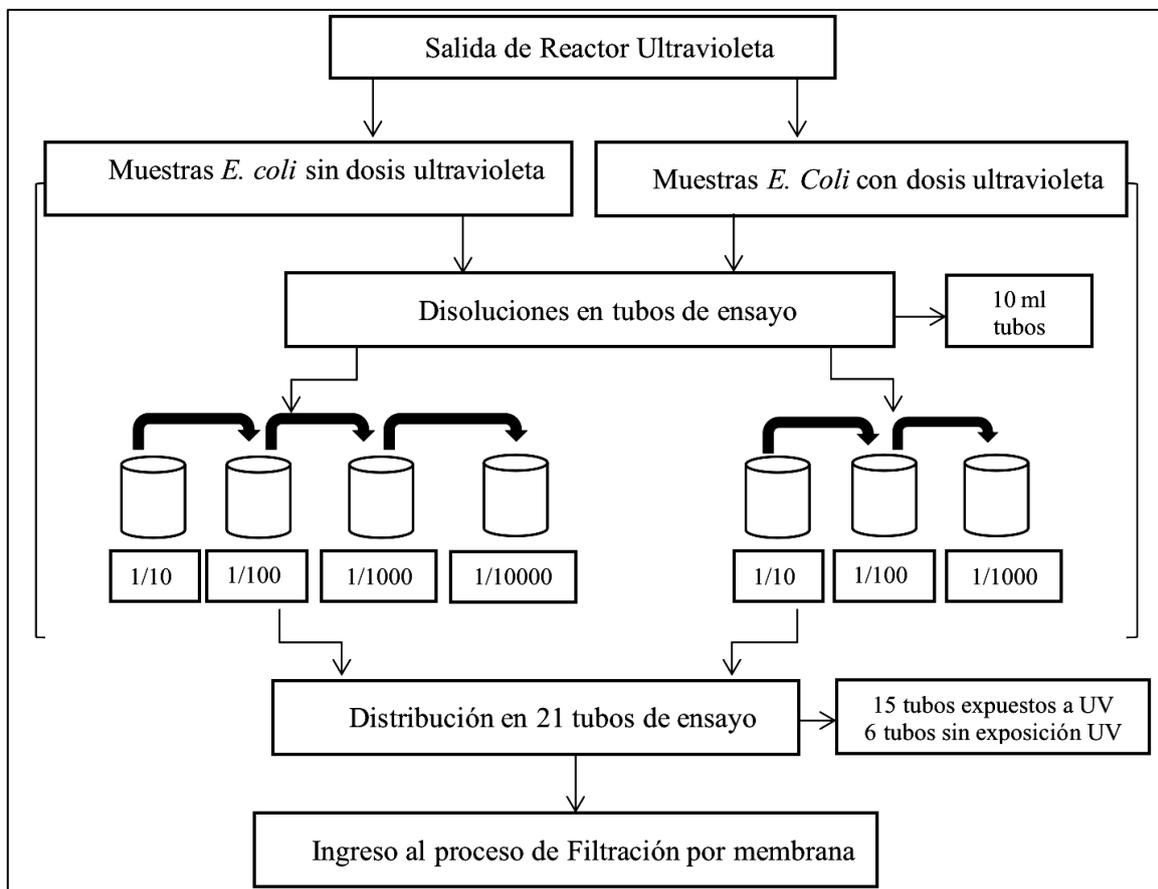


Figura 20. Esquema experimental de diluciones de bacteria *Escherichia coli*.

3.8.2. Diluciones seriadas con presencia de bacteria *Enterococcus sp.*

El procedimiento fue similar al de la bacteria *Escherichia coli*, a diferencia que para esta se realizaron diluciones 1-100 en las muestras de los blancos y las muestras con carga

contaminante que fueron expuestas a radiación ultravioleta que igualmente fueron colocadas en tubos de ensayo para su posterior filtración, a continuación, se muestra el esquema del proceso:

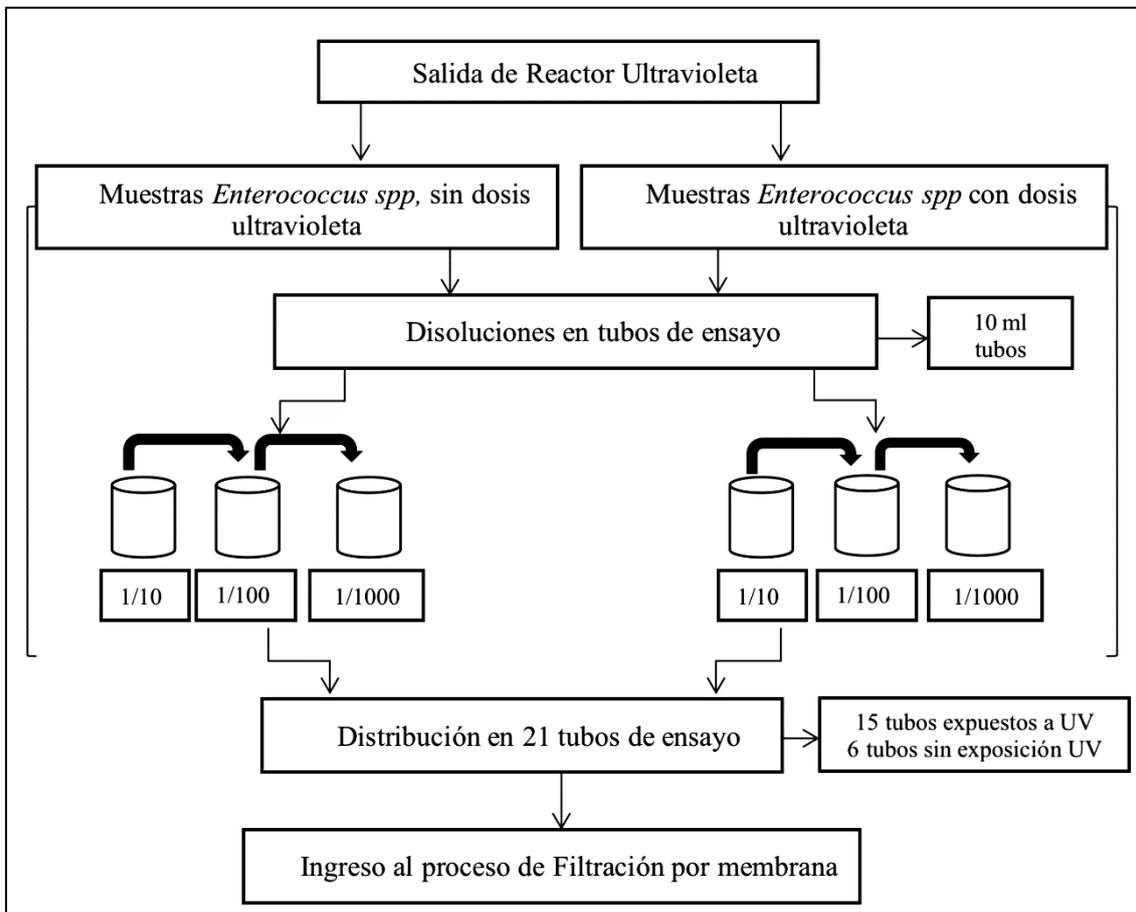


Figura 21. Esquema experimental de diluciones de bacteria *Enterococcus sp.*

3.9. Filtración de membrana de bacterias *Escherichia coli*, y *Enterococcus sp.*

Para la determinación de los microorganismos antes mencionados se empleó el método de filtración por membrana de acuerdo con la norma (UNE, ISO 7899-2, 2001).

3.9.1. Filtración de membrana, bacteria *Escherichia coli*.

A partir de las disoluciones que se encontraban en los tubos de ensayo se extrae 0.5 ml con ayuda de una micropipeta, se inyecta en 10 ml de agua destilada y este volumen se procede a pasarlo por el filtro de membrana de esterol de celulosa mixta (MCE) de 0.45 micras de porosidad.

El sistema de filtración de membrana está compuesto por tres embudos en donde van colocadas las láminas de filtro de membrana de esterol de celulosa mixta (MCE). Una

vez pasado el volumen de agua a través del filtro, en su superficie quedarán retenidas las bacterias sobrevivientes y con ayuda de unas pinzas estériles, se retira y es colocado el filtro en una placa de petri que contiene el medio de cultivo Merck Coliform Agar Acc. Chromocult, la placa es inmediatamente sellada con papel Parafilm, envuelta en papel aluminio y guardada en fundas ziploc con su respectiva etiqueta, para evitar su contaminación, el proceso se repite para las 7 disoluciones y se procede a dejar en la estufa para su incubación de durante 24 horas a una temperatura de 37 °C.

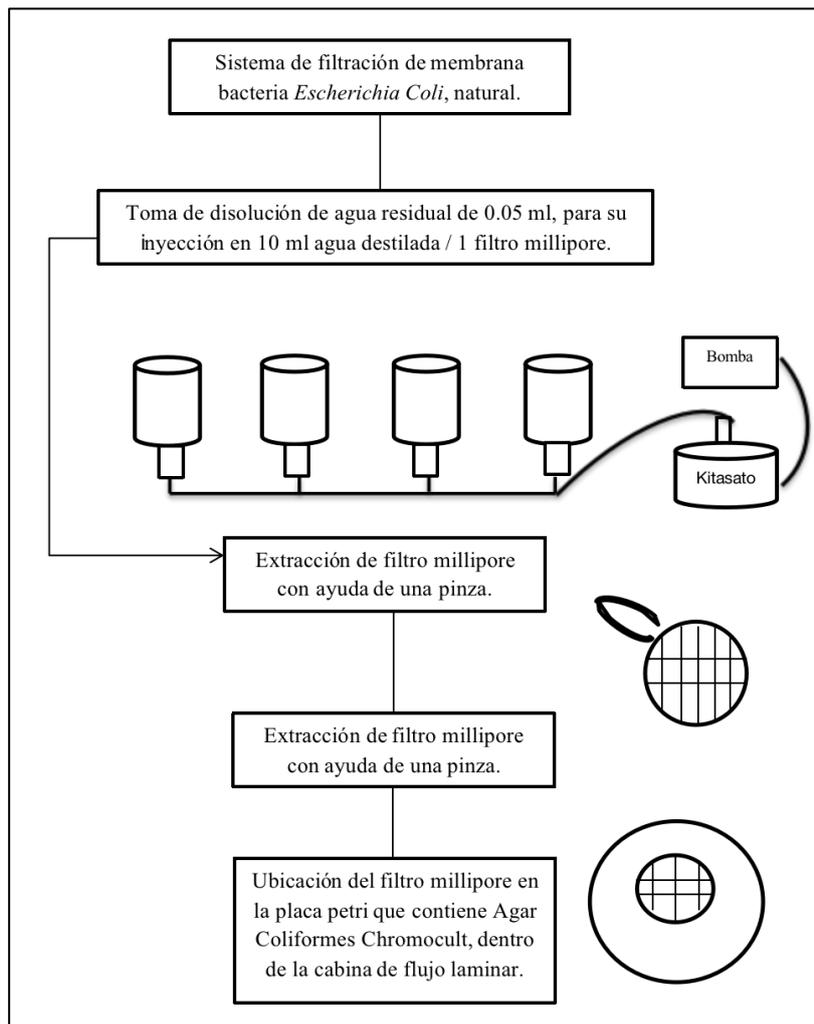


Figura 22. Diagrama de filtración de membrana bacteria *Escherichia coli*.

3.9.2. Filtración de membrana, bacteria *Enterococcus sp.*

De igual manera se procede a realizar la filtración con la bacteria *Enterococcus sp.*, a diferencia que en este caso no se realizó ninguna dilución seriada ya que después de

pruebas realizadas se concluyó que la concentración microbiana no tenía necesidad de ser diluida.

Los filtros de membrana de esterol de celulosa mixta (MCE) de 0.45 micras de porosidad son colocados en las placas de petri que contienen el medio de cultivo adecuado, Agar m Enterococcus, la placa es inmediatamente sellada con papel Parafilm, envuelta en papel aluminio y guardada en fundas ziploc con su respectiva etiqueta, para evitar su contaminación y se deja reposar por un lapso de 30 horas y temperatura de 38 °C en la estufa para la incubación de los microorganismos.

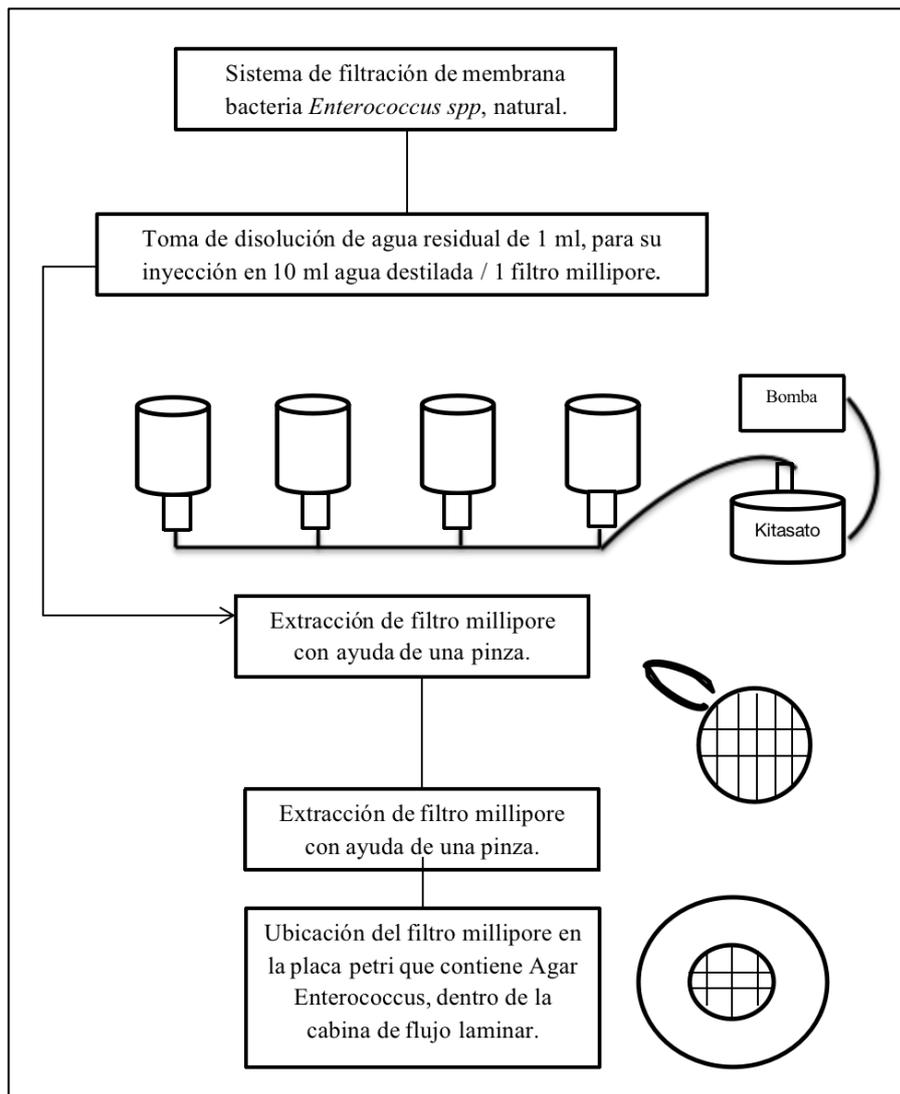


Figura 23. Diagrama de filtración de membrana bacteria *Enterococcus sp.*

3.10. Cuantificación de colonias formadas en medios de cultivo.

El conteo se hará a partir de haber transcurrido el tiempo en la estufa en un lapso de entre 24-30 horas, en donde se realizó un conteo de familias formadoras que crecieron sobre la membrana. El resultado se expresó como Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por 100 ml de muestra y se calculó mediante la siguiente expresión (Ruiz, 2019):

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

Se tomaron 6 muestras para cada ensayo, los cuales 1 blanco y 5 expuestos a dosis ultravioleta.

3.10.1. Crecimiento de colonias, *Escherichia coli*.

Una vez transcurridas las 24 horas se prosiguió a llevar las placas a la cámara de flujo para poder verificar si las familias de bacterias crecieron, luego se hizo un conteo cuantitativo con ayuda del equipo contador de colonias.

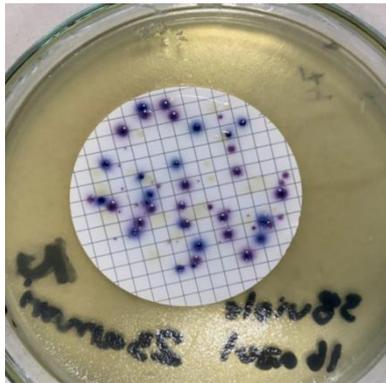


Figura 24. Crecimiento de bacteria *Escherichia coli*, en medio de cultivo Merck Coliform Agar Acc. Chromocult®

3.10.2. Crecimiento de colonias, *Enterococcus sp.*

Para el caso de la bacteria *Enterococcus sp.*, la única diferencia en el procedimiento es el tiempo, en este caso se tiene una incubación de 30 horas, posterior a ello se realiza el conteo de las familias con ayuda del equipo contador de colonias.

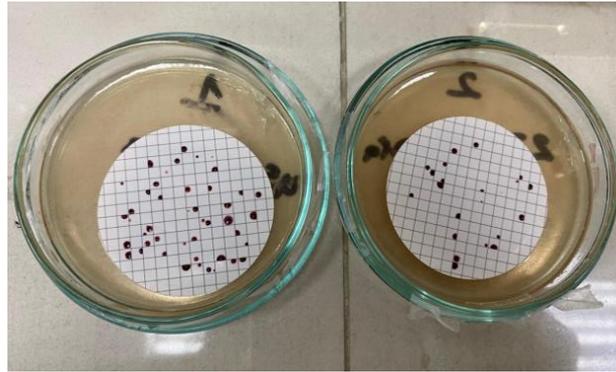


Figura 25. Crecimiento de bacteria *Enterococcus sp.*, en medio de cultivo Agar m *Enterococcus*.

3.11. Cinética y su relación con la dosis UV, para cuantificar la inactivación de las bacterias.

Para determinar la dosis ultravioleta medida en (mJ/sg) que fue aplicada en cada una de las muestras de agua residual, nos basamos en los parámetros propios de la luz ultravioleta (Tabla 5) los resultados de las dosis se obtienen producto de la ecuación que se presenta a continuación propuesta por (Casierra-Martínez et al., 2016):

$$Dosis\ UV = \frac{VR}{Q} * \frac{P254 * TQ^e}{2L\pi^2 * (rR^2 - rQ^2)} \iint_{rQ}^{rR} \frac{TW^{r-rQ}}{r} * dx dy$$

Dónde:

P_0 = Potencia de la lámpara a 2 Watts

TQ = Transmitancia

e = Grosor del cuarzo (mm)

L = Longitud lámpara

rQ = Radio exterior del cuarzo (cm)

rR = Radio interno del reactor (cm)

Como dato adicional, la longitud de la lámpara UV, se recorta de 18,9 cm a 6,7 cm, con ayuda de papel aluminio, debido a que se pretende obtener una concentración baja de colonias (cuantificable), más no su completa eliminación para poder contar sus familias. propuesta por (Casierra-Martínez et al., 2016), que se desarrolló en una hoja Excel.

A continuación (Tabla 6), se especifican las fórmulas que se deben seguir para obtener los datos y la dosis media aplicada en cada una de las muestras:

Tabla 6. Parámetros para la determinación UV en reactores tubulares de un solo paso.

Parámetro	Determinación
Dosis UV	$D = I_m \cdot R$
Intensidad media	$I_m = \frac{P_o * TQ^e}{2L\pi^2 * (rR^2 - rQ^2)} \iint_{rQ}^{rR} \frac{TW^{r-rQ}}{r} * dx dy$
Transmitancia de agua	Tw (cambia en base a cada ensayo)
Tiempo de Retención Teórico	$TRT = \frac{V_r}{Q}$
Volumen expuesto	V = tiempo * Caudal
Tasa de flujo	Q (experimentación variable)

Fuente: (Casierra-Martínez et al., 2016)

3.12. Cuantificación de crecimiento de bacterias mediante modelos estadísticos.

En este apartado los métodos estadísticos usados fueron; ANOVA de un solo factor en donde se evaluó el comportamiento de las muestras recolectadas frente a la dosis aplicada de luz ultravioleta; junto con un estadístico de Tukey, la confirmación de la distribución normal de los datos, un análisis de varianza y su independencia lineal y exponencial.

3.13. Ensayos de reactivación de las bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.*

Las muestras se recogieron en tubos de ensayos, para evaluar en condiciones de oscuridad los tubos de ensayos fueron cubiertos con papel aluminio y plástico negro, mientras que para la evaluación en condiciones de luz las muestras fueron colocadas en una cámara de crecimiento con luz marca Binder Serie KBWF, a una temperatura de 25° C, por un tiempo de 5 días. Ambas muestras se colocaron bajo las mismas características de temperatura y tiempo.

Posterior a los 5 días se realizó la filtración por membrana cada una de las muestras para ser sembrados con ayuda de filtros en el medio de cultivo Merck Coliform Agar Acc. Chromocult® para bacteria *Escherichia coli*; mientras que para la bacteria *Enterococcus*

sp, se utilizó el medio de cultivo Agar m Enterococcus. Este procedimiento se realizó para determinar si existe reactivación o inactivación definitiva de las bacterias.

Cabe destacar que en cada uno de los ensayos se contaba con una muestra en blanco que ayudaban a ser de control sin ser sometida a exposición ultravioleta.

3.14. Cinética de reactivación y su relación en condiciones de oscuridad y luz, para cuantificación de las bacterias.

En el caso de la determinación de reactivación en condiciones de oscuridad y luz, nos basamos en las siguientes expresiones matemáticas que en conjunto con los datos de cada ensayo se obtendrán los resultados.

Esto es posible cuando solamente las bacterias que han sido inactivadas tienen la capacidad de reactivarse, así se determina el porcentaje de fotoreactivación para calcular la fracción de fotoreactivación, se utilizó la expresión propuesta por (Fiallos, 2017).

$$\% \text{ Fotoreactivación} = \frac{N_t - N}{N_0 - N}$$

Dónde:

N_0 = Número de bacterias antes de la irradiación UV.

N = Número de bacterias después de la irradiación UV.

N_t = Número de bacterias después de la reactivación un transcurso de tiempo determinado.

- **Tasa de supervivencia**

(Fiallos, 2017) propone la siguiente expresión para determinar la tasa de supervivencia con la finalidad de identificar el efecto de inactivación UV final cuando se considera la reactivación en el proceso:

$$S = \frac{N_t}{N_0} * 100$$

Dónde:

N_0 = Número de bacterias antes de la irradiación UV.

N_t = Número de bacterias después de la reactivación un transcurso de tiempo determinado.

CAPITULO IV.

4.1. Resultados y Discusión.

Los resultados fueron fundamentados en base a la teoría, determinados con la finalidad de cumplir los objetivos planteados y soportados con el apoyo de referencias bibliográfica en el estudio de las bacterias *Escherichia coli*, y *Enterococcus sp*, a continuación, se desarrollan de manera detallada y sistemática:

4.1.1. Caracterización microbiológica del agua residual.

Se realizaron 11 ensayos comprendidos entre los meses de noviembre-abril, con la medición de parámetros como: turbidez, conductividad, pH y color (Tabla 3).

La turbidez en el estudio se obtuvo valores de (23-69) NTU, que según lo estipulado el valor no debe sobrepasar de 100, evidenciando que las muestras que se tomaron están en niveles aceptables (Tabla 1).

Conductividad, la normativa indica que el valor máximo aceptable puede ser hasta 1000 ($\mu\text{s}/\text{cm}$) (Tabla 1), en el caso de este estudio los valores de las muestras están comprendidos entre los rangos de (460-526) $\mu\text{s}/\text{cm}$, siendo este permisible.

Respecto al pH, la normativa indica que debe encontrarse entre el rango (6-9) unidades de pH (Tabla 1), como resultados todos los ensayos se ubicaron entre los parámetros permisibles con valores de (7,01-8.01) unidades de pH.

Finalmente se obtuvo los datos del parámetro de color entre los rangos de (205-301) según su medición dentro de los laboratorios, se obtuvieron valores altos, sobre todo en la muestra 11 con un valor de 301 color real, debido a que se encuentra estrechamente relacionada con las descargas de las industrias cercanas.

4.2. Resultados de los ensayos experimentales realizados en el reactor ultravioleta con bacteria *Escherichia coli*.

Los datos obtenidos fueron tabulados en base a parámetros como volumen, tiempo, caudal y dosis experimental que se aplicó en cada uno de los ensayos (Tabla 7).

Tabla 7. Datos experimentales obtenidos de la circulación de agua residual por el reactor ultravioleta con inyección de bacteria *Escherichia coli*.

Agua residual + Inyección <i>E. coli</i> , natural	Regulación Llave de paso	Volumen (l)	Tiempo (s)	Caudal (l/h)	Dosis UV (mJ/sg)
Primer Ensayo (23/01/21)	M1	1	21.33	168.78	19.47
	M2	1	14.35	250.87	13.1
	M3	1	11.51	312.77	10.5
	M4	1	10.38	346.82	9.47
	M5	1	10.17	353.98	9.28
Segundo Ensayo (30/01/21)	M1	1	21.74	165.59	19.67
	M2	1	14.7	244.90	13.3
	M3	1	11.56	311.42	10.46
	M4	1	10.36	347.49	9.37
	M5	1	10.18	353.63	9.21
Tercer Ensayo (10/02/21)	M1	1	21.79	165.21	22.36
	M2	1	14.11	255.14	14.48
	M3	1	11.4	315.79	11.7
	M4	1	10.32	348.84	10.59
	M5	1	10.21	352.60	10.47
Cuarto Ensayo (15/02/21)	M1	1	21.59	166.74	19.18
	M2	1	14.74	244.23	13.1
	M3	1	11.48	313.59	10.20
	M4	1	10.32	348.84	9.17
	M5	1	10.21	352.60	9.07
Quinto Ensayo (10/03/21)	M1	1	23.94	106.07	30.15
	M2	1	14.39	250.17	12.78
	M3	1	11.1	324.32	9.86
	M4	1	11.06	325.50	9.83
	M5	1	10.92	329.67	9.7
Sexto Ensayo (25/03/21)	M1	1	23.91	150.56	21.24
	M2	1	16.45	218.84	14.61
	M3	1	12.24	294.12	10.87
	M4	1	10.64	338.35	9.45
	M5	1	10.43	345.16	9.27

4.2.1. Cinética de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, en función del tiempo a concentraciones bajas y altas de dosis ultravioleta.

La luz ultravioleta que fue emitida por la lámpara de mercurio fue de 254nm, con una potencia 6 Watts de la lámpara de baja presión (Tabla 5). A continuación, se muestran de manera detallada los resultados de la inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, presente en el agua residual (Tabla 8-13).

Tabla 8. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Primer ensayo: 23/01/2021).

Primer ensayo			Fecha: 23/01/20				
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro.	de	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias	Colonias			
BLANCO	0		44	1760000		8.80x10+04	0.00
M1	19.47		52	208000		1.04x10+04	-0.93
M2	13.1		95	380000		1.90x10+04	-0.67
M3	10.5		101	404000		2.02x10+04	-0.64
M4	9.47		117	468000		2.34x10+04	-0.58
M5	9.28		150	600000		3.00x10+04	-0.47

Tabla 9. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Segundo ensayo: 30/01/2021).

Segundo ensayo			Fecha: 30/01/2021				
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro.	de	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias	Colonias			
BLANCO	0		61	88000		1.22x10+05	0.00
M1	19.67		69	10400		1.38x10+04	-0.95
M2	13.3		106	19000		2.12x10+04	-0.76
M3	10.46		110	20200		2.20x10+04	-0.74
M4	9.37		164	23400		3.28x10+04	-0.57
M5	9.21		186	30000		3.72x10+04	-0.52

Tabla 10. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Tercer ensayo: 10/02/2021).

Tercer ensayo			Fecha: 10/02/2021				
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro.	de	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias	Colonias			
BLANCO	0		60	122000		1.20x10+05	0.00
M1	22.36		64	13800		1.28x10+04	-0.97

M2	14.48	75	21200	1.50x10+04	-0.90
M3	11.7	123	22000	2.46x10+04	-0.69
M4	10.59	155	32800	3.10x10+04	-0.59
M5	10.47	179	37200	3.58x10+04	-0.53

Tabla 11. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Cuarto ensayo: 15/02/2021).

Cuarto ensayo			Fecha: 15/02/2021			
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro. de Colonias	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias			
BLANCO	0	44	78000	5.80x10+04	0.00	
M1	19.18	73	88000	1.14x10+03	-0.78	
M2	13.1	79	14600	1.54x10+04	-0.75	
M3	10.20	88	15800	1.80x10+04	-0.70	
M4	9.17	125	17600	2.48x10+04	-0.55	
M5	9.07	161	25000	3.50x10+04	-0.44	

Tabla 12. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Quinto ensayo: 10/03/2021).

Quinto ensayo			Fecha: 10/03/2021			
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro. de Colonias	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias			
BLANCO	0	23	28750	2.88x10+04	0.00	
M1	30.15	26	3250	3.25x10+03	-0.95	
M2	12.78	40	5000	5.00x10+03	-0.76	
M3	9.86	77	9625	9.63x10+03	-0.48	
M4	9.83	90	11250	1.13x10+04	-0.41	
M5	9.7	102	12750	1.28x10+04	-0.35	

Tabla 13. Resultados de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, frente a exposición de luz ultravioleta (Sexto ensayo: 25/03/2021).

Sexto ensayo			Fecha: 25/03/2021			
Muestras	Dosis	UV	Recuento de	Nro. de Colonias	UFC/100 ml	Log (Nt/No)
A.R+UV	(mJ/sg)		Colonias			
BLANCO	0	30	37500	3.75x10+04	0.00	
M1	21.24	21	2625	2.63x10+03	-1.15	
M2	14.61	30	3750	3.75x10+03	-1.00	
M3	10.87	39	4875	4.88x10+03	-0.89	
M4	9.45	57	7125	7.13x10+03	-0.72	
M5	9.27	62	7750	7.75x10+03	-0.68	

Como resultado de todos los ensayos se realizó una representación de puntos agrupados que demuestran el comportamiento de los seis ensayos en función del logaritmo y dosis aplicada, debido a que cuando la bacteria *Escherichia coli*, fue expuesta a la dosis ultravioleta durante un tiempo prolongado y se obtuvo como resultado una menor inactivación debido a que “la radiación de luz ultravioleta penetra la pared celular de los organismos y se absorbe por el ADN Y ARN dimerizando dos bases (las une entre sí con un doble enlace), lo cual impide la reproducción e inactivación de las células (Figura 26):

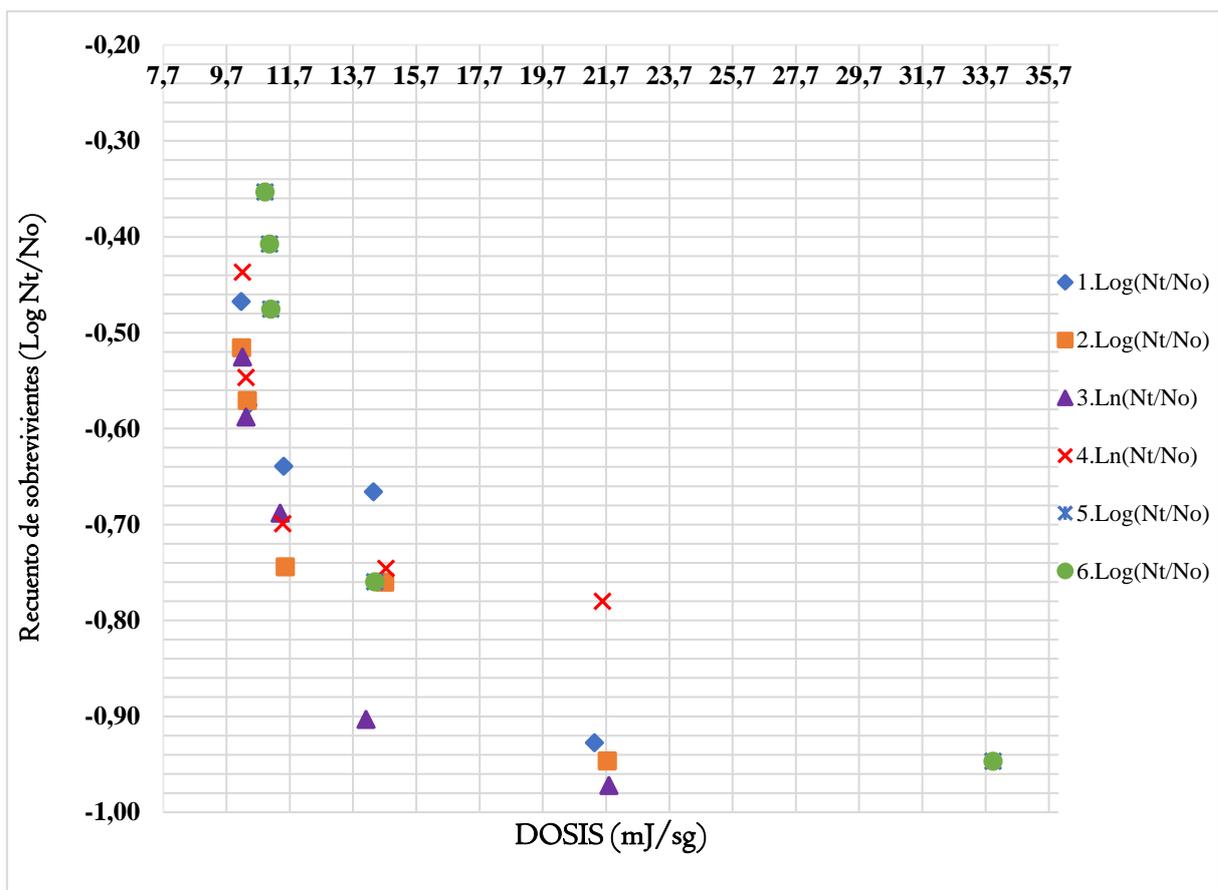


Figura 26. Perfil de inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, en función de la dosis de exposición ultravioleta.

En base a lo anterior, se demuestra matemáticamente mediante estadística inferencial, para ello se planteó dos hipótesis.

H₀= La dosis UV aplicada no afecta el crecimiento de bacterias. (No existe diferencia entre las medias)

H₁= La dosis UV aplicada afecta el crecimiento de bacterias. (Si existe diferencia entre las medias)

El intervalo de confianza aplicado fue del 95% y el nivel de significancia del 5%.

El valor P es el valor de significancia mínimo, determina la elección de las hipótesis, para este estudio se calculó utilizando la distribución de datos del muestreo de tratamiento de agua residual con luz ultravioleta.

$P > 0.05$ No se rechaza H_0 .

$P < 0.05$ Se rechaza H_0 .

4.2.1.1. Análisis de Varianza.

Tabla 14. Análisis de varianza para bacteria *Escherichia coli*.

Fuente	GL	SC Ajuste	MC		
			Ajuste	Valor F	Valor p
Tratamiento	5	43265	8653	8,03	0,000
Error	30	32336	1078		
Total	35	75601			

De acuerdo con el valor p encontrado tras el análisis de varianza, su valor es inferior a 0.05, por ende, se rechaza la hipótesis nula, demostrando que al menos una de las medias es significativamente diferente.

4.2.1.2 Comparaciones de parejas en Tukey.

Tabla 15. Método Tukey para bacteria *Escherichia coli*.

Tratamiento	N	Media	Agrupación		
M5	6	140,0	A		
M4	6	118,0	A	B	
M3	6	89,7	A	B	C
M2	6	70,8		B	C
M1	6	50,83			C
Blanco	6	43,67			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

El método de comparación Tukey sirve para diferenciar valores alcanzados durante los tratamientos, donde las muestras que no comparten letras son significativamente diferentes, para este estudio las muestras M1 y M5 en esencia difieren, es decir, una mayor dosis desinfecta en un mayor porcentaje

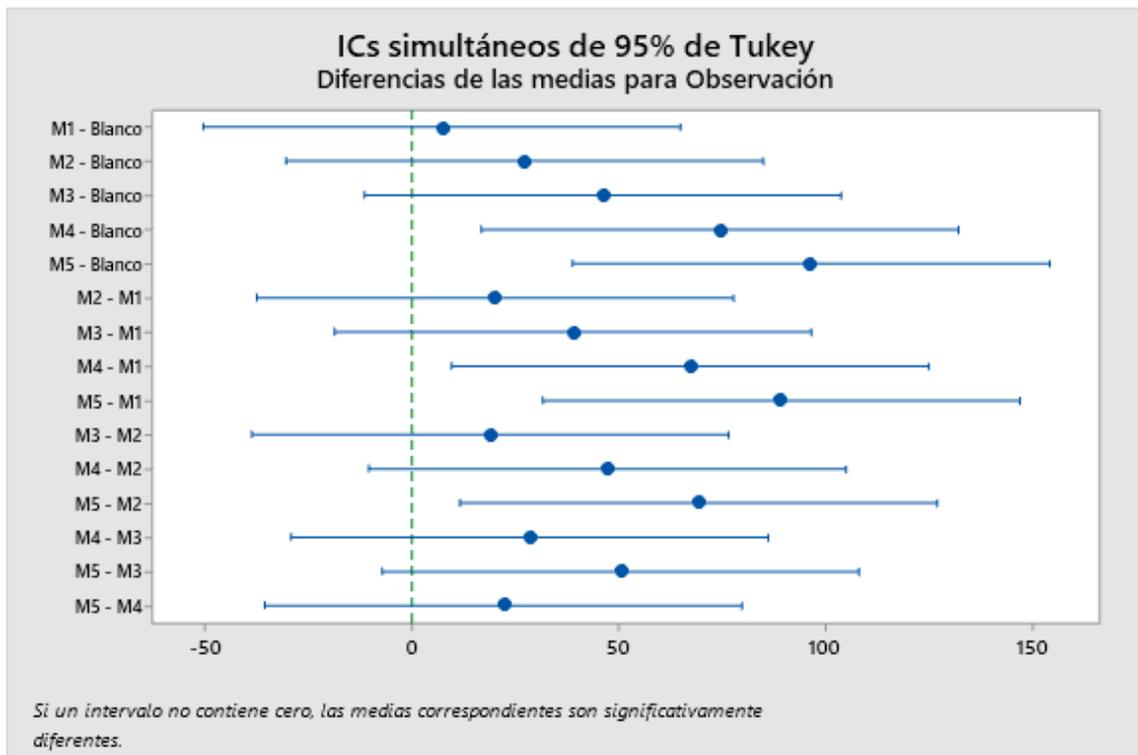


Figura 27. Diferencia de medias mediante método Tukey para bacteria *Escherichia coli*.

El método de comparación Tukey sirve para diferenciar valores alcanzados durante los tratamientos, donde las muestras que no comparten un cero en sus medias son significativamente diferentes, para este estudio las muestras que difieren son:

- a) M4-Blanco
- b) M5-Blanco
- c) M4-M1
- d) M5-M1
- e) M5-M2

4.2.1.3. Prueba de normalidad Anderson – Darling.

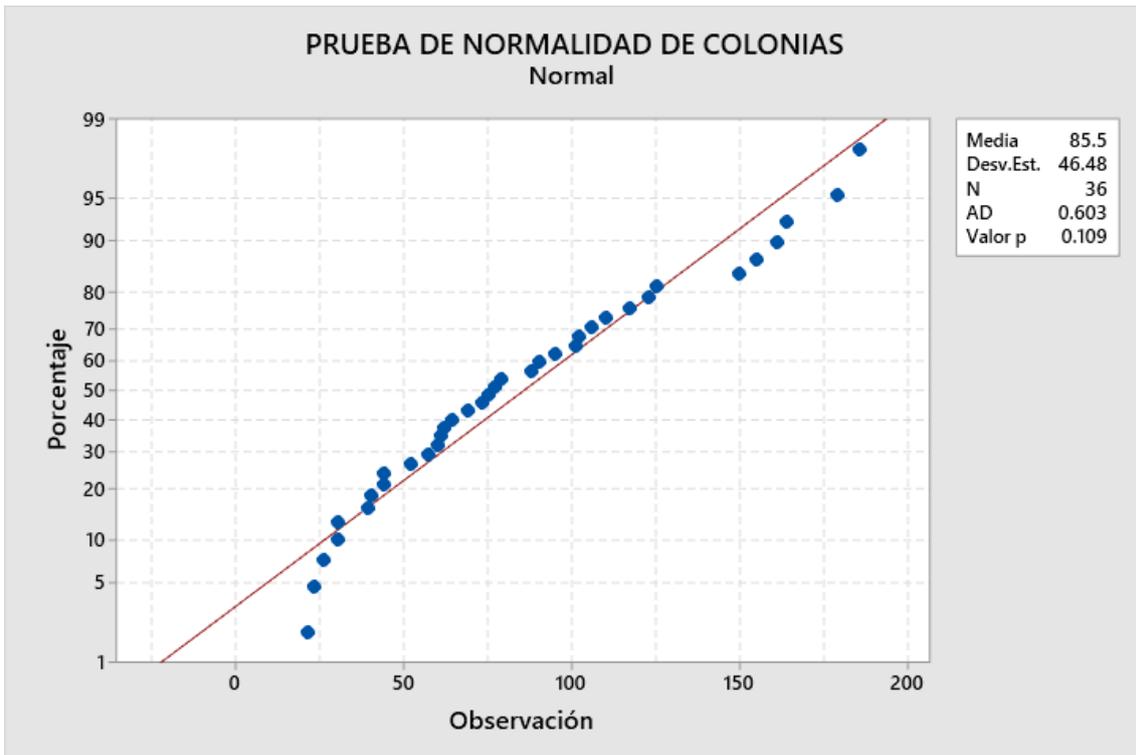


Figura 28. Prueba de normalidad Anderson-Darling en bacteria *Escherichia coli*.

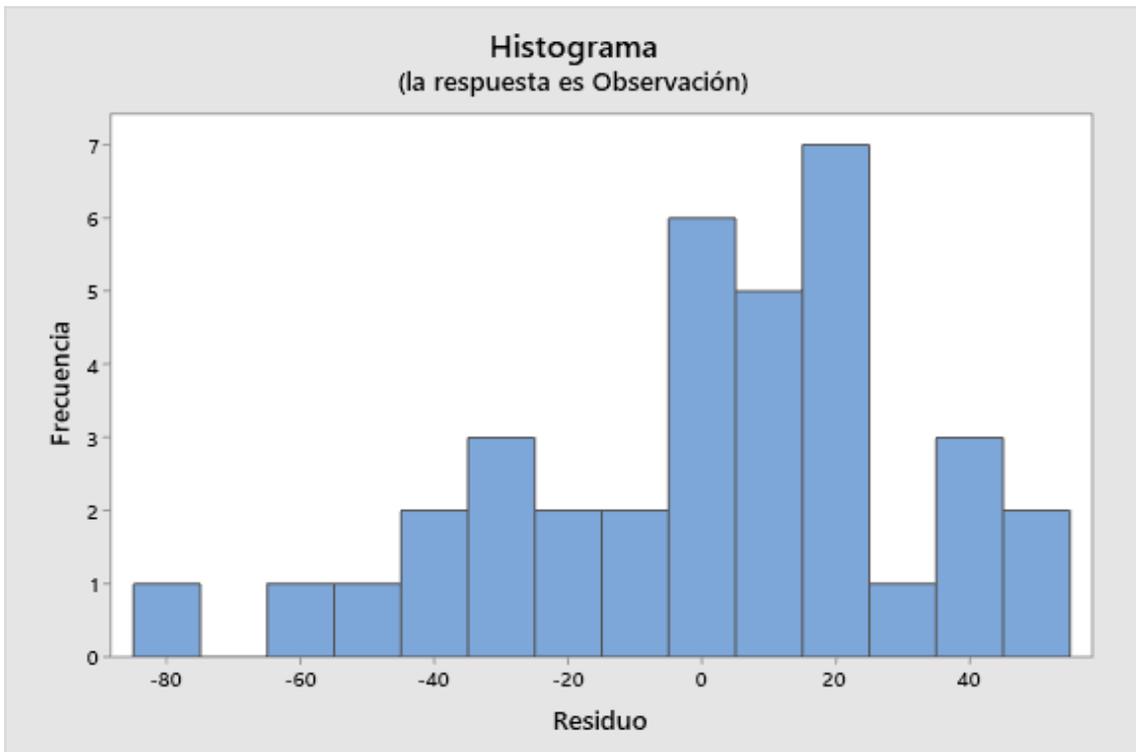


Figura 29. Campana de distribución de frecuencia de datos.

Según la información documentada, se observa que la totalidad de los datos se encuentran dentro de una campana de distribución estadísticamente normal, esto nos permite trabajar

con pruebas de tipo paramétricas. Con un valor p igual a 0.109, mayor a nuestro nivel de significancia (0.05), no se rechaza la hipótesis nula, por ende, los datos siguen una distribución normal.

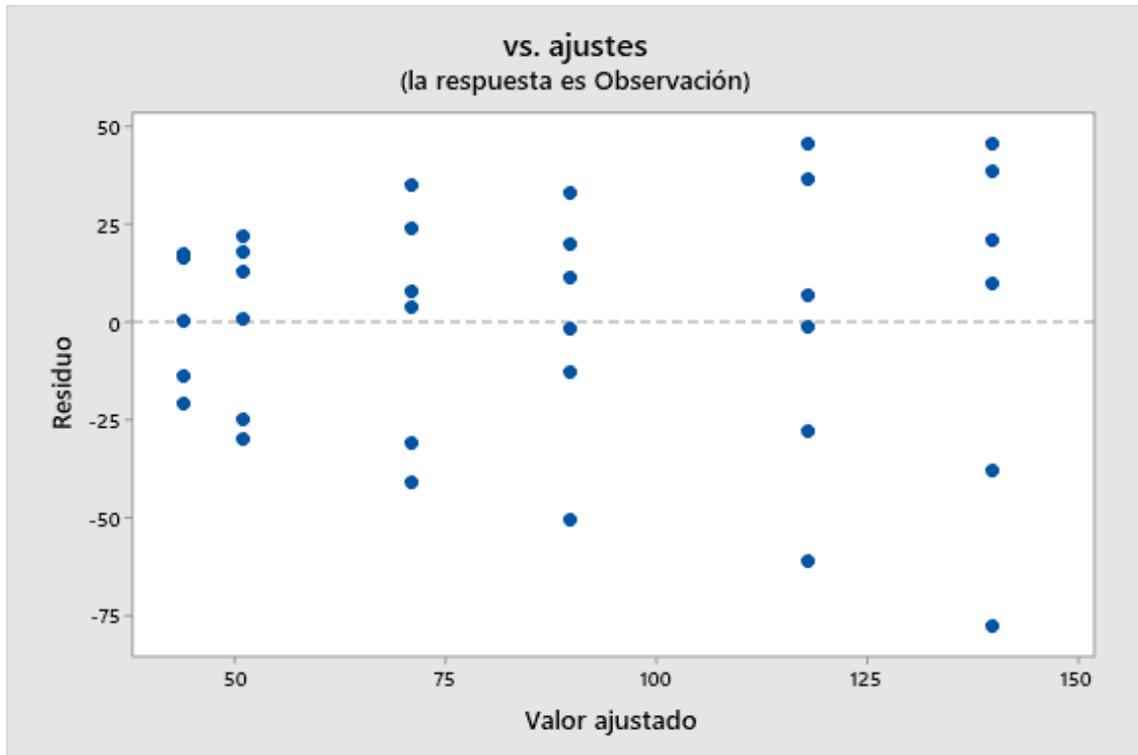


Figura 30. Distribución de datos obtenidos de las muestras en bacteria *Escherichia coli*.

Según la gráfica de Residuos vs. Ajustes, se observa una distribución variada de los datos sin valores atípicos y sin varianza constante.

4.2.1.4. Independencia de datos

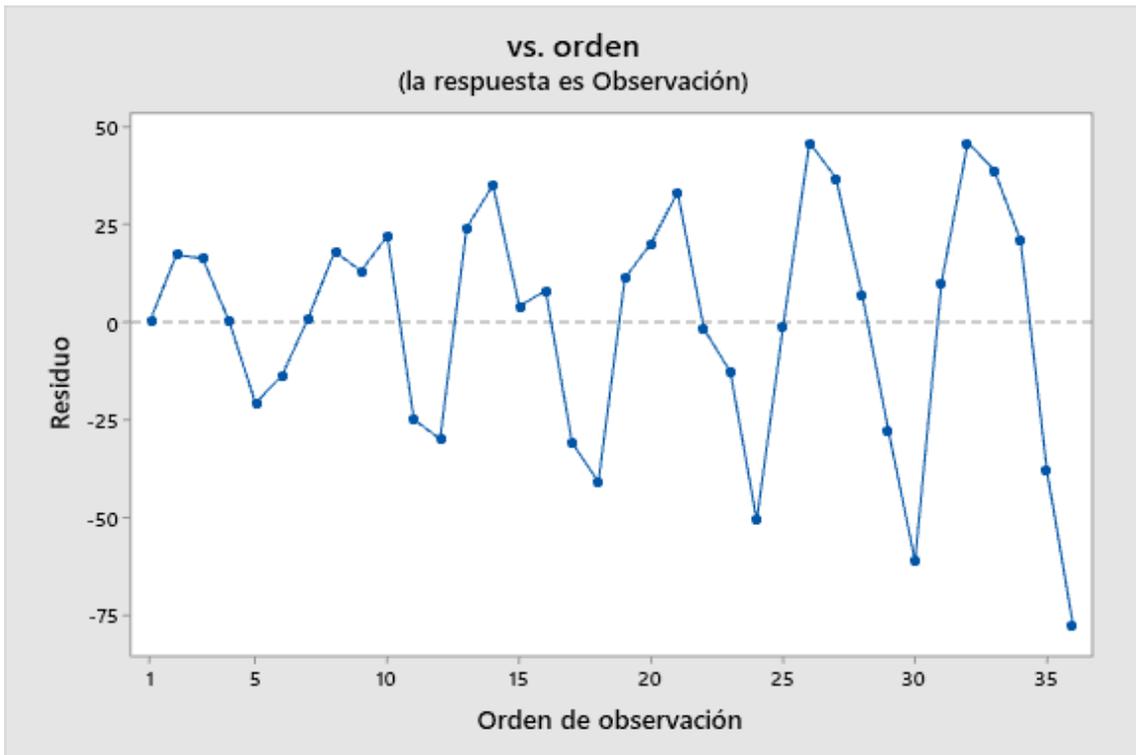


Figura 31. Distribución de datos en bacteria *Escherichia coli*.

Según la gráfica de Residuos vs. Orden, se observa que los datos no disponen de una dependencia lineal (ciclo, turno, tendencia), la aleatoriedad de estos nos permite descartar una dependencia entre los datos documentados.

Los análisis estadísticos de los ensayos en base a la frecuencia de inactivación en función-logarítmica se presentan en la Figura 32, mientras que en la Figura 33 se muestra la frecuencia de inactivación en función-dosis (Figura 2):

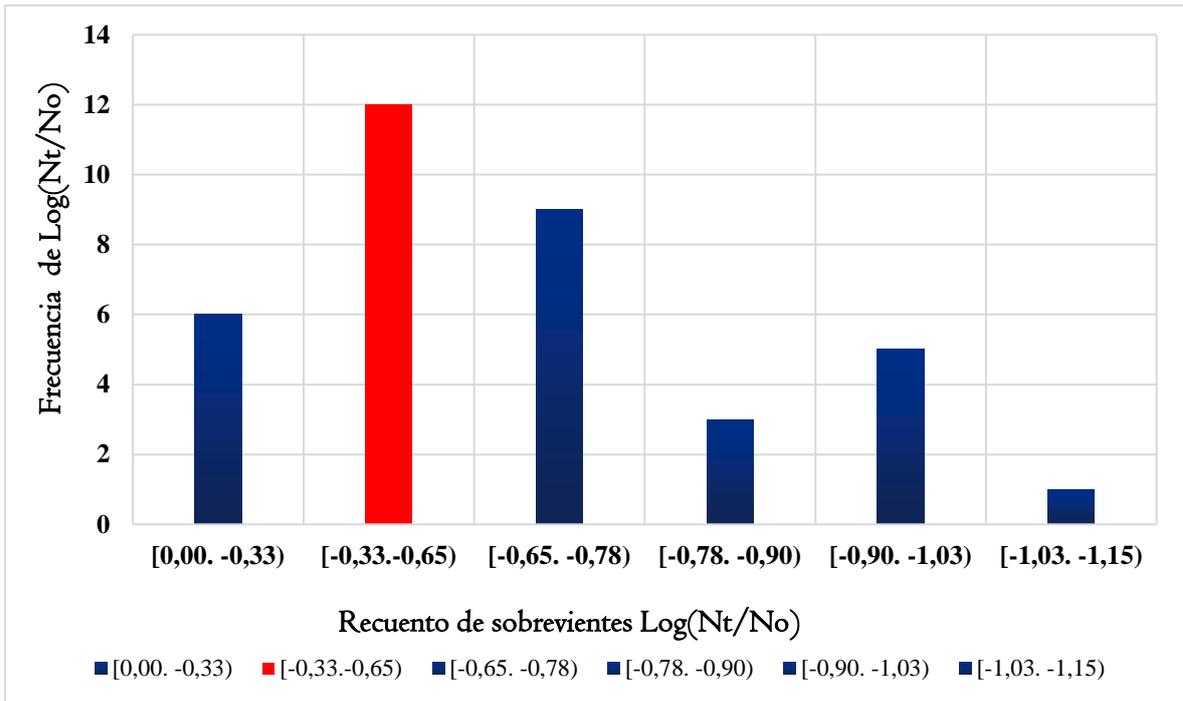


Figura 32. Frecuencia de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, función-logarítmica.

En base a los resultados obtenidos en la Figura 32, los rangos con mayor frecuencia de inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, son entre (-0.33, -0.65) y (-0.65, -0.78).

Por otra parte, la Figura 33, demuestra la frecuencia de la bacteria en función de la dosis ultravioleta expresada en unidades (mJ/sg):

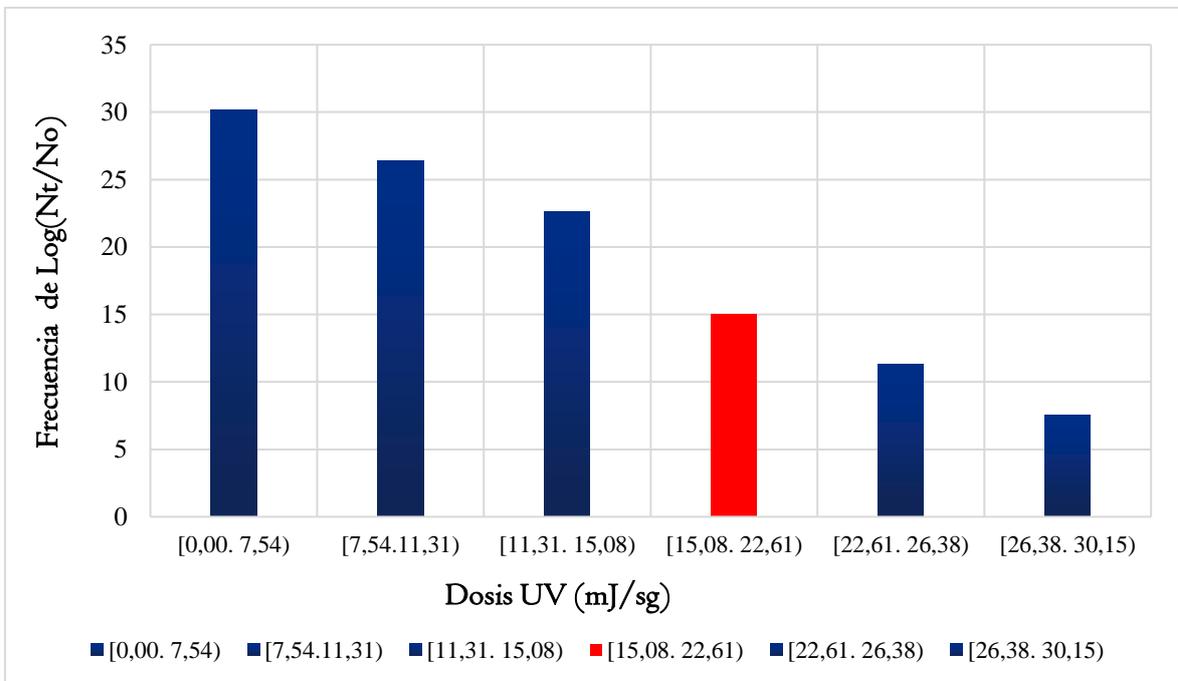


Figura 33. Frecuencia de inactivación de bacteria *Escherichia coli*, en función de la dosis ultravioleta.

La Figura 33 indica cómo reacciona la bacteria *Escherichia coli*, frente a la exposición a una frecuencia de rangos de radiación ultravioleta, determinando el valor (21.7 mJ/sg) como la dosis óptima de inactivación bacteriana debido a que se encuentra cercana a cero, produciendo la inactivación de la bacteria, deduciéndose así, que, existe una exposición media de radiación ultravioleta, es decir caudales prolongados existe mayor efectividad de desinfección, sin embargo, en exposiciones menores a radiación ultravioleta la desinfección es mínima, mientras que a exposiciones prolongadas existe muerte de las poblaciones bacterianas “mientras menor sea el logaritmo de crecimiento, menor será el crecimiento de las bacterias” (Tarran, 2015).

4.2.2. Aplicación de Software GInaFiT ©, como herramienta de ajuste de datos y modelación predictiva para bacteria *Escherichia coli*.

En el estudio de inactivación de la dosis ultravioleta, se presenta de manera logarítmica la respuesta de las bacterias frente a la dosis ultravioleta aplicada obteniendo los parámetros cinéticos en función de velocidades de reacción en las curvas de dosis-respuesta.

El software GInaFiT © desarrollado por (Geeraerd, 2005), es muy práctico para el ajuste de los datos de los modelos experimentales de permanencia microbiana, por esta razón se seleccionó para simular de manera predictiva la supervivencia de la bacteria *Escherichia coli*, con relación al crecimiento logarítmico ($\log N_t/N_0$) en función del tiempo de tratamiento (sg) y la dosis de exposición.

4.2.2.1. Determinación de la curva de inactivación de bacteria *Escherichia coli*.

Se determinó el tipo de curva que más se ajustaba al modelo de inactivación utilizando características visuales descriptivas guiándose en la Figura 34:

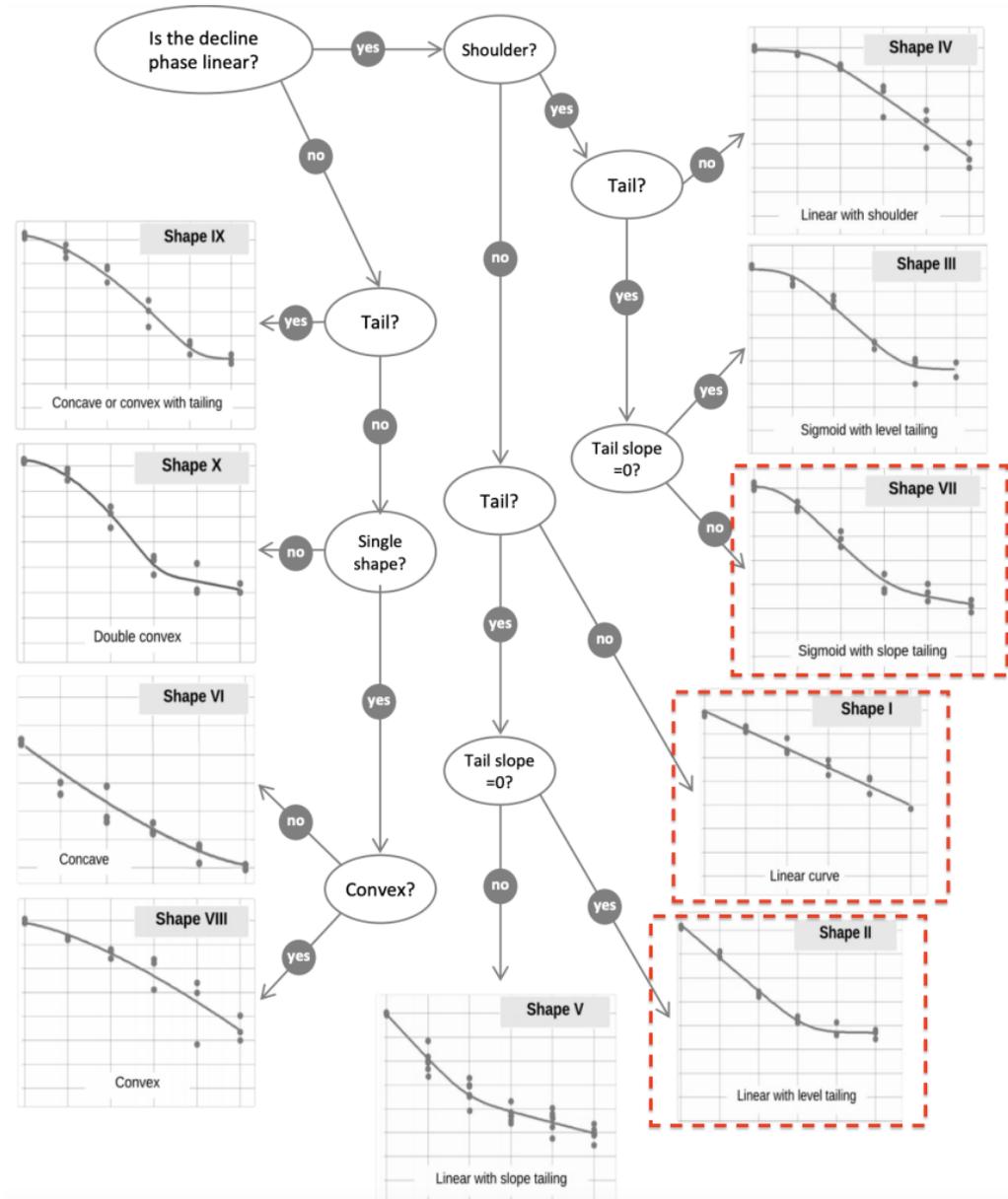


Figura 34. Determinación de la forma de curva en inactivación, con bacteria *Escherichia coli*, utilizando características descriptivas clave.

Fuente. (Geeraerd, 2005).

Las curvas que más se ajustaron a la representan a los siguientes modelos de inactivación: **Linear**, curva (Shape I), **Linear with level tailing**, curva (Shape II) y **Sigmoidal with slope tailing**, curva (Shape VII), a continuación, se encuentra representada la distribución de los puntos obtenidos de la reacción de los microorganismos frente a radiación ultravioleta:

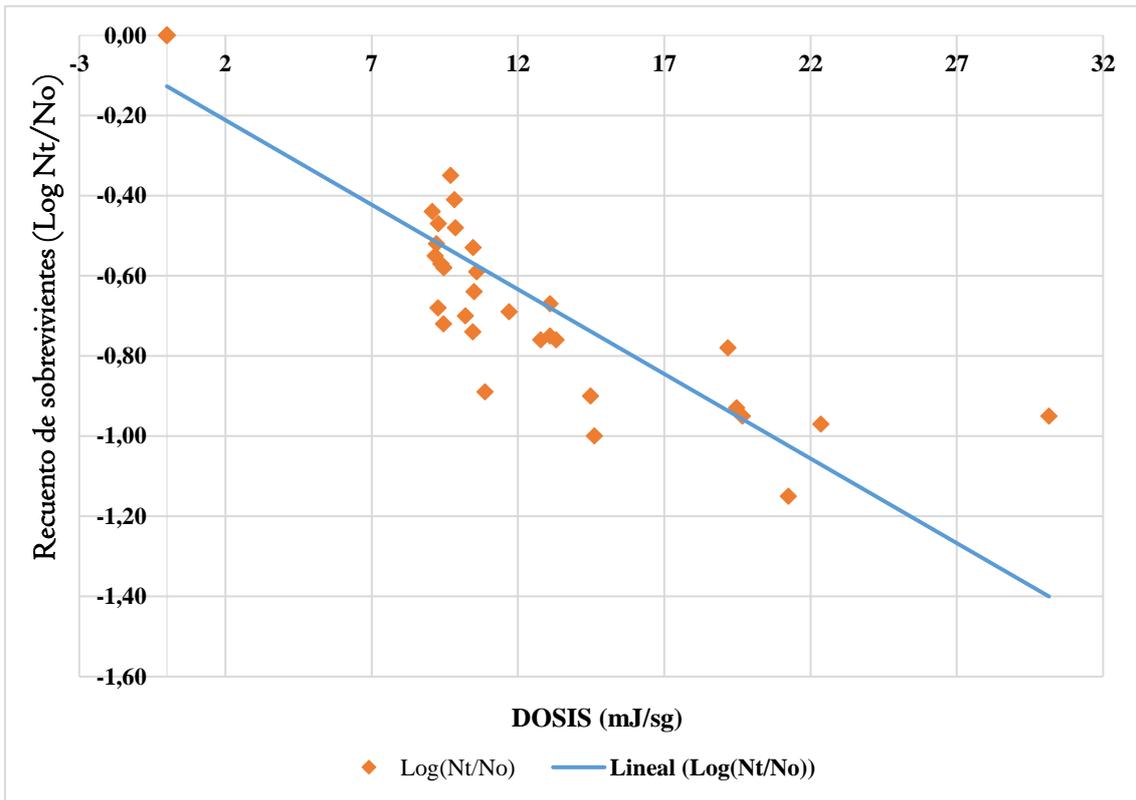


Figura 35. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, representada en el modelo **Linear**, curva (Shape I).

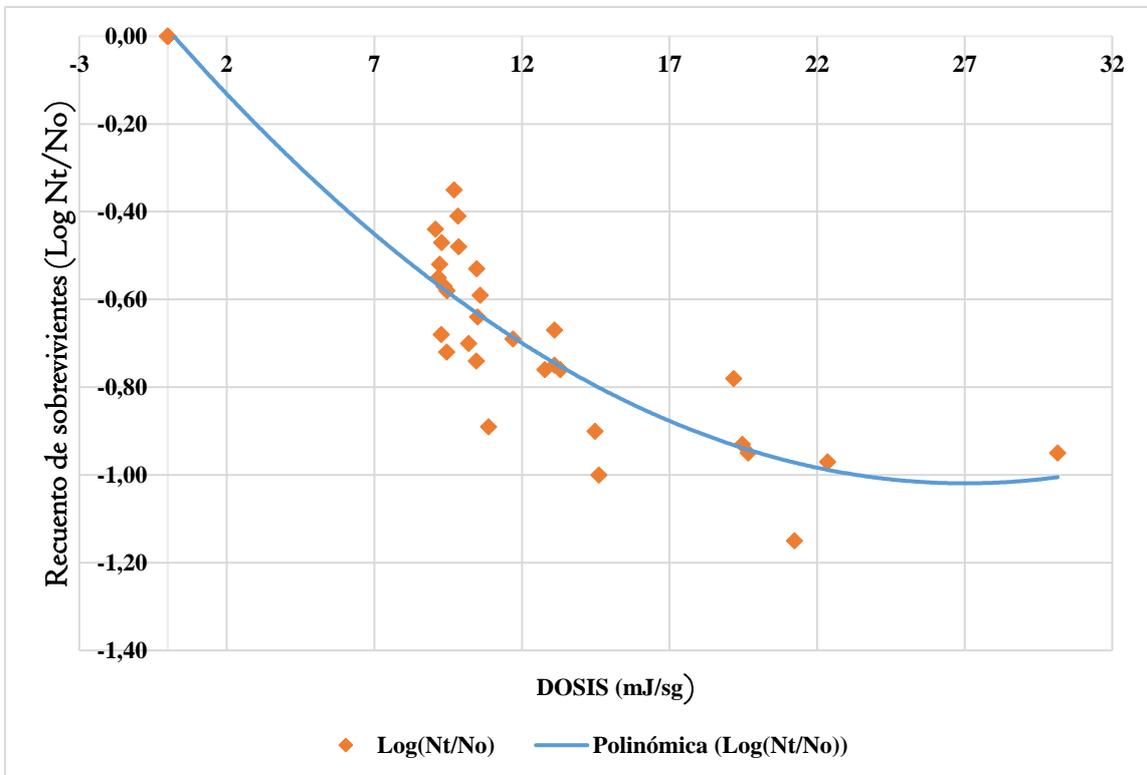


Figura 36. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, representada en el modelo **Linear with level tailing**, curva (Shape II).

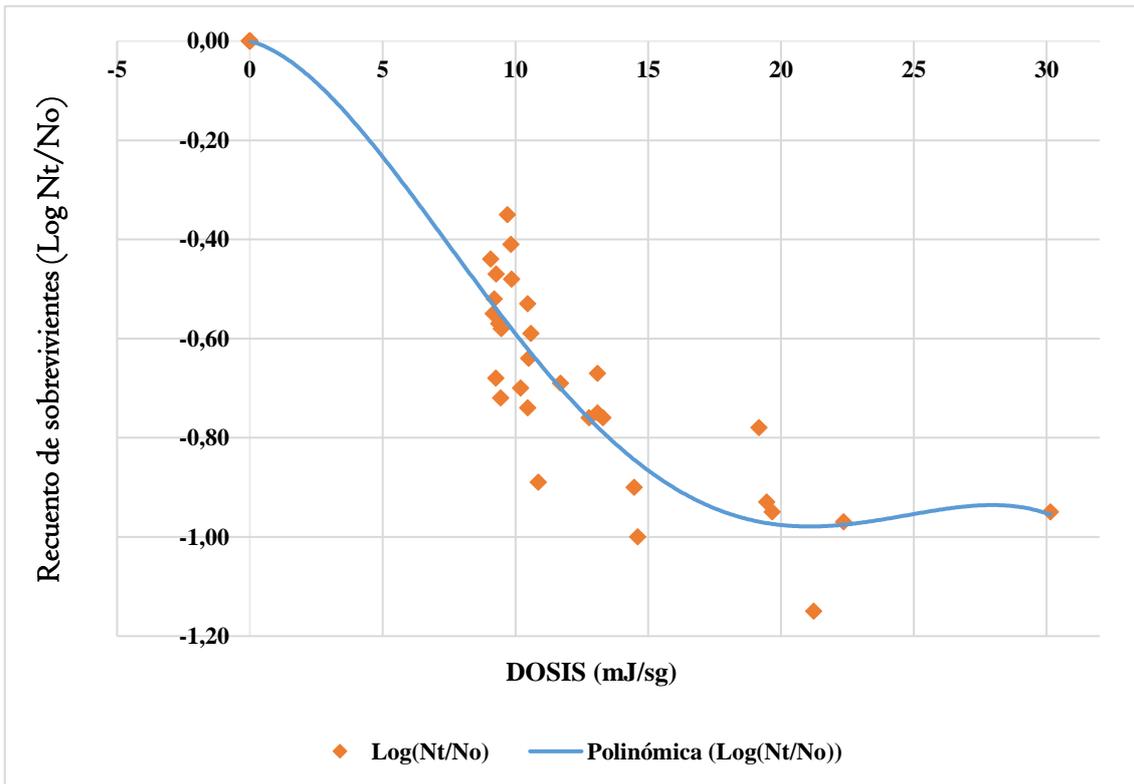


Figura 37. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, representada en el modelo Sigmoidal with slope tailing, curva (Shape VII).

En base a (Figura 35, 36, 37) se realizó un análisis visual con ayuda de la distribución de datos-dosis aplicada sobre la bacteria *Escherichia coli*, y guiándonos en la (Figura 34), se seleccionaron tres curvas que más se ajustan al estudio de inactivación de la bacteria.

En el primer caso (Figura 35) representada por el modelo **Linear**, curva (Shape I), se escogió por la razón de que la distribución de los puntos tiene tendencia lineal, asumiendo que todas las células de la bacteria tienen la misma sensibilidad de inactivación frente a la luz ultravioleta.

En el segundo caso (Figura 36) es el modelo **Linear with level tailing**, curva (Shape II), tiene la forma lineal con una “cola”, puesto que la población de los microorganismos fue sensible a la radiación ultravioleta, seguida de un decaimiento significativo donde las bacterias se inactivaron de manera más rápida y al final de su período su inactivación se vuelve más lenta donde aparece la “cola” y las bacterias presentan un poco de resistencia y por ende su inactivación se vuelve lenta.

Por último, el tercer caso es el modelo **Sigmoid with slope tailing**, curva (Shape VII) (Figura 37), fue considerado debido a que existe un crecimiento inicial de las bacterias,

con un posterior declive poblacional y en su fase de equilibrio se presenta un nuevo crecimiento conocido como “pendiente con cola”, que representa una recuperación de las bacterias, pero mínima, debido a que forman resistencia ante la dosis de exposición ultravioleta.

4.2.2.2. Descripción de los modelos y sus ecuaciones en el estudio de inactivación de la bacteria *Escherichia coli*.

En base a los análisis visuales se prosiguió a determinar qué modelo se ajusta más a la predicción de inactivación de las bacterias, por la razón de que un análisis de este tipo es complementario. Para cada uno de los modelos se desarrolló una ecuación que fue capaz de darnos resultados como: el coeficiente de determinación (R^2) y error medio cuadrático (RMSE) esenciales basándonos en el postulado “*El R^2 es la proporción de variación en la curva de inactivación, el mejor ajuste será cuando su valor es cercano a 1, mientras que, sí (RMSE) cuantifica la bondad de ajuste para modelos lineales o no lineales a través de modelos predictivos y valores observados, su mejor ajuste indica cuando su valor es cercano a 0*” (Geeraerd, 2005).

El primer modelo **Linear**, curva (**Shape I**), una vez aplicada su ecuación dio resultados de un (R^2) de 0.79, no tuvo buen ajuste porque no se acerca a 1 y (RMSE) de 0.02, fue más convincente porque se acercaba más a 0. Además, su ecuación está compuesto por (K_{max}) que significa la inactivación de bacterias en primer orden constante (definida como la primera porción exponencial del modelo lineal de supervivencia), a continuación, su ecuación:

$$N = N_0 * \exp(-k_{max} * t)$$

Dónde:

N_0 = Concentración inicial

K_{max} = Tasa de inactivación constante

t = tiempo de exposición a dosis UV

El segundo modelo **Linear with tailing**, curva (**Shape II**) presentó un (R^2) de 0.90 con un mejor ajuste predictivo y (RMSE) de 0.01 cercano a 0 con un error bajo. Mientras que su ecuación se encuentra compuesta por (K_{max}) que significa la inactivación de primer orden constante (definida como la primera porción exponencial de la curva de

supervivencia) y (N_{res}) que es el punto de comienzo de “cola” (etapa donde las bacterias presentan un poco de resistencia), a continuación, su ecuación:

$$N = (N_o - N_{res}) * e^{(-k_{max} * t)} + N_{res}$$

Dónde:

N_0 = Concentración inicial.

N_{res} = Comienzo de cola.

K_{max} = Tasa de inactivación constante.

El tercer modelo **Sigmoidal with slope tailing**, curva (**Shape VII**), presentó un (R^2) de 0.90 buen ajuste predictivo (RMSE) de 0.01 cercano a 0 con un error bajo. Su ecuación se encuentra compuesta por f fracción inicial de mayor subpoblación, (población inicial de bacterias *Escherichia coli*), (N_0) concentración inicial, (K_{max}) que significa la inactivación de primer orden constante (definida como la primera porción exponencial de la curva de supervivencia) y (SI) duración de efecto de “pendiente con cola” (donde existe recuperación mínima de las bacterias debido a su resistencia y adaptación), a continuación, su ecuación:

$$\log_{10}(N) = \log_{10}(N_0) + \log_{10}(f * \exp(-k_{max1} * t) + (1 - f) * \exp(-k_{max2} * t))$$

Dónde:

N_0 = Concentración inicial.

K_{max} = Tasa de inactivación constante.

SI = Duración de efecto de “pendiente con cola”.

f = fracción inicial de mayor subpoblación.

t = tiempo de exposición a dosis UV

Seguidamente en la Tabla 16, se encuentran tabulados cada uno de los modelos con sus respectivos datos y parámetros:

Tabla 16. Resultados de la aplicación de ecuaciones en los tres modelos estudiados con el software GInaFiT ©, en la bacteria *Escherichia coli*.

Modelo	Ecuación	R ²	Error Cuadrático Medio	Parámetros	Standar Error
Linear, curva (Shape I) (Bigelow & Etsy, 1920).	$N = N_0 * \exp(-k_{max} * t)$	0.79	0.02	Kmax=0.01 LOG10(N0) = 0.05	0.01 0.05
Linear with tailing, curva (Shape II). (Geeraerd, 2000)	$N = (N_0 - N_{res}) * \exp(-k_{max} * t) + N_{res}$	0.90	0.01	Kmax= 0.18 LOG10(N_res) = -1.08 LOG10(N0) = 0.01	0.02 0.08 0.04
Sigmoidal with slope tailing, curva (Shape VII) (Geeraerd, 2005 & Whiting, 1993)	$\log_{10}(N) = \log_{10}(N_0) + \log_{10}(f * \exp(-k_{max1} * t) + (1 - f) * \exp(-k_{max2} * t))$	0.90	0.01	f=0.92 Kmax1= 0.18 Kmax2 = 0.00 LOG10(N0)= 0.01	0.10 0.04 0.05 0.04

En base a todo lo anterior, se escogió el modelo **Linear with tailing**, curva (**Shape II**), es el que más se ajustó para el estudio de la bacteria *Escherichia coli*, debido a su simplicidad y bondad de ajuste. Pasó por tres fases distintas, la primera fase denominada “hombro” que se refiere al período de incubación inicial en el que los radicales libres producidos por la radiación ultravioleta comienzan a atacar al microorganismo, su segunda fase que representó el período en el que la inactivación bacteriana es más rápida y su tercera fase denominada “cola” es el período final en el que la inactivación se vuelve más lenta. Esta tercera fase indica la desaceleración de la inactivación de la bacteria, que se explica por el efecto competitivo del subproducto generado en el medio de electrólisis sobre el consume de los radicales oxidantes libres (%OH). A continuación, se muestra la ecuación desarrollada por los autores y cuando es el caso para propósitos de identificación predictiva en microorganismos:

- **Ecuación de modelo de inactivación en bacteria *Escherichia coli*, con el uso de radiación ultravioleta Tapia & Vargas:**

$$N = (N_0 - N_{res}) * e^{(-k_{max} * t)} + N_{res}$$

Dónde:

$$\text{Log}_{10}(N_0) = 0.01$$

$$K_{max} = 0.18$$

$$N_{res} = -1.08$$

- **Para propósitos de identificación reformulado como:**

$$\text{LOG}_{10}(N) = \text{LOG}_{10}((10^{\text{LOG}_{10}(N_0)} - 10^{\text{LOG}_{10}(N_{res})}) * \exp(-k_{max} * t) + 10^{\text{LOG}_{10}(N_{res})})$$

$$\text{LOG}_{10}(N) = \text{LOG}_{10}((10^{0.12} + 10^{2.50})) * \exp(-0.75 * t) - 10^{2.50}$$

4.2.3. Estudio de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz y oscuridad.

El procedimiento se basó en la verificación del número de colonias que crecieron en el medio de cultivo Merck Coliform Agar Chromocult® las muestras de agua previamente

fueron sometidas a dos procesos, primero fue la exposición a luz constante con ayuda de una bombilla (Figura 38) y segundo manteniendo las muestras en completa oscuridad recubiertas con papel aluminio y plástico negro (Figura 39); todas las muestras pasaron por ambos procesos en un tiempo de cinco días.

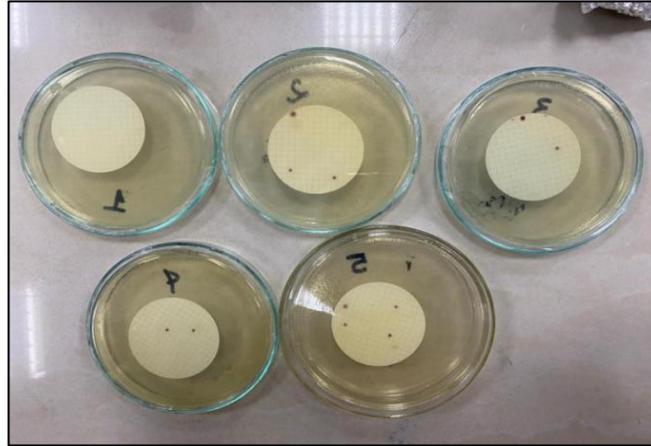


Figura 38. Fotoreactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz.

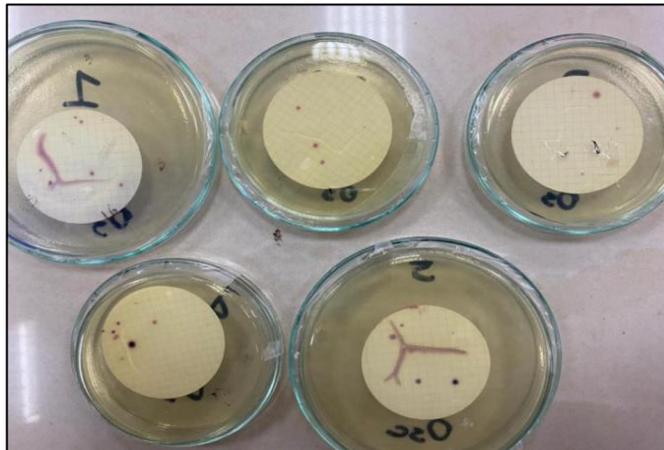


Figura 39. Fotoreactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de oscuridad.

A continuación, se encuentran tabulados los resultados (Tablas 17-22), donde muestran detalladamente los resultados de la reactivación de la bacteria *Escherichia coli*, en las dos condiciones mencionadas para estudiar su comportamiento:

En este apartado se lograron obtener 3 ensayos de reactivación en condiciones de luz y oscuridad: ensayo 1 (05/02/2021), ensayo 2 (15/02/2021), ensayo 3 (20/02/2021).

Tabla 17. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de oscuridad (Ensayo: 05/02/2021).

Primer ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 05/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		Oscuridad (%)	
BLANCO	1.56X10+04	0.00	0.00	3.6
M1	1.56X10+03	-1.00	-1.82	0.4
M2	1.56X10+03	-1.00	-3.72	0.4
M3	1.56X10+03	-1.00	-5.28	0.4
M4	1.56X10+03	-1.00	-11.16	0.4
M5	1.56X10+03	-1.00	-12.96	0.4

Tabla 18. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz (Ensayo: 05/02/2021).

Primer ensayo condiciones de luz			Fecha: 05/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		(%)	
BLANCO	1.56X10+04	0.00	0.00	3.6
M1	1.56X10+03	-1.00	-1.82	0.4
M2	1.56X10+03	-1.00	-3.72	0.4
M3	1.56X10+03	-1.00	-5.28	0.4
M4	1.56X10+03	-1.00	-11.16	0.4
M5	1.56X10+03	-1.00	-12.96	0.4

Tabla 19. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de oscuridad (Ensayo: 15/02/2021).

Segundo ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 15/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		Oscuridad (%)	
BLANCO	1.72X10+05	0.00	0.00	28.9
M1	6.25X10+03	-1.44	0.00	1.1
M2	1.41X10+04	-1.09	0.00	2.4
M3	1.72X10+04	-1.00	0.00	2.9
M4	1.56X10+04	-1.04	-6.02	2.6
M5	2.03X10+04	-0.93	-6.38	3.4

Tabla 20. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz (Ensayo: 15/02/2021).

Segundo ensayo condiciones de luz			Fecha: 15/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		(%)	
BLANCO	4.69X10+04	0.00	0.00	7.9

M1	3.13X10+03	-1.18	-0.27	0.5
M2	6.25X10+03	-0.88	-1.35	1.1
M3	9.38X10+03	-0.70	-1.36	1.6
M4	6.25X10+03	-0.88	-7.74	1.1
M5	1.09X10+04	-0.63	-8.12	1.8

Tabla 21. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de oscuridad (Ensayo: 20/02/2021).

Tercer ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 20/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		Oscuridad (%)	
BLANCO	9.38X10+04	0.00	0.00	26.1
M1	1.72X10+04	-0.74	-7.35	4.8
M2	6.25X10+03	-1.18	-18.95	1.7
M3	6.25X10+03	-1.18	-47.71	1.7
M4	1.25X10+04	-0.88	-58.57	3.5
M5	7.81X10+03	-1.08	-75.78	2.2

Tabla 22. Resultados de reactivación de bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz (Ensayo: 20/02/2021).

Tercer ensayo condiciones de luz			Fecha: 20/02/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)		(%)	
BLANCO	1.56X10+04	0.00	0.00	4.3
M1	0.00X10+00	0.00	-12.25	0.4
M2	4.69X10+03	-0.52	-19.47	1.3
M3	4.69X10+03	-0.52	-48.37	1.3
M4	3.13X10+03	-0.70	-62.86	0.9
M5	6.25X10+03	-0.40	-76.56	1.7

Las bacterias que sufren daño producto de la exposición a radiación ultravioleta poseen dos tipos de mecanismos de reparación que son fotoreactivación en presencia de luz o el mecanismo de reparación en oscuridad (Stintzing, 2003). De esta manera se comprende que los mecanismos ya se encuentran preestablecidos, pero el estudio se focalizó en establecer un periodo de tiempo de cinco días para determinar si existe o no reactivación.

Seguidamente se presentan los resultados del estudio de reactivación en condiciones de oscuridad (Figura 40, 42):

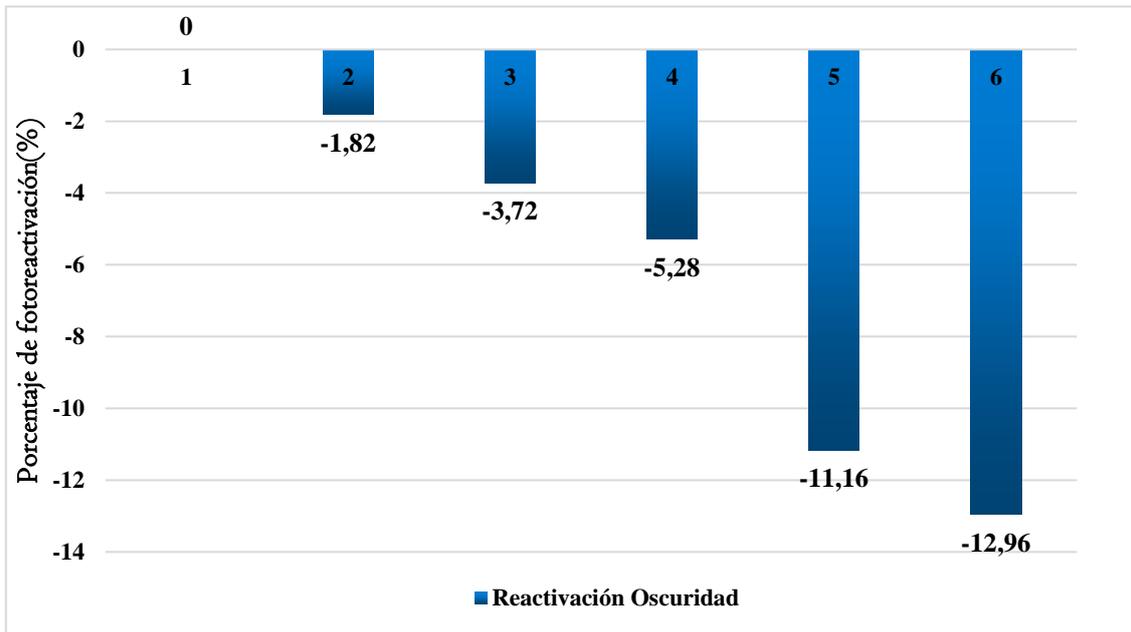


Figura 40. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 1 fecha: 05/02/2021)

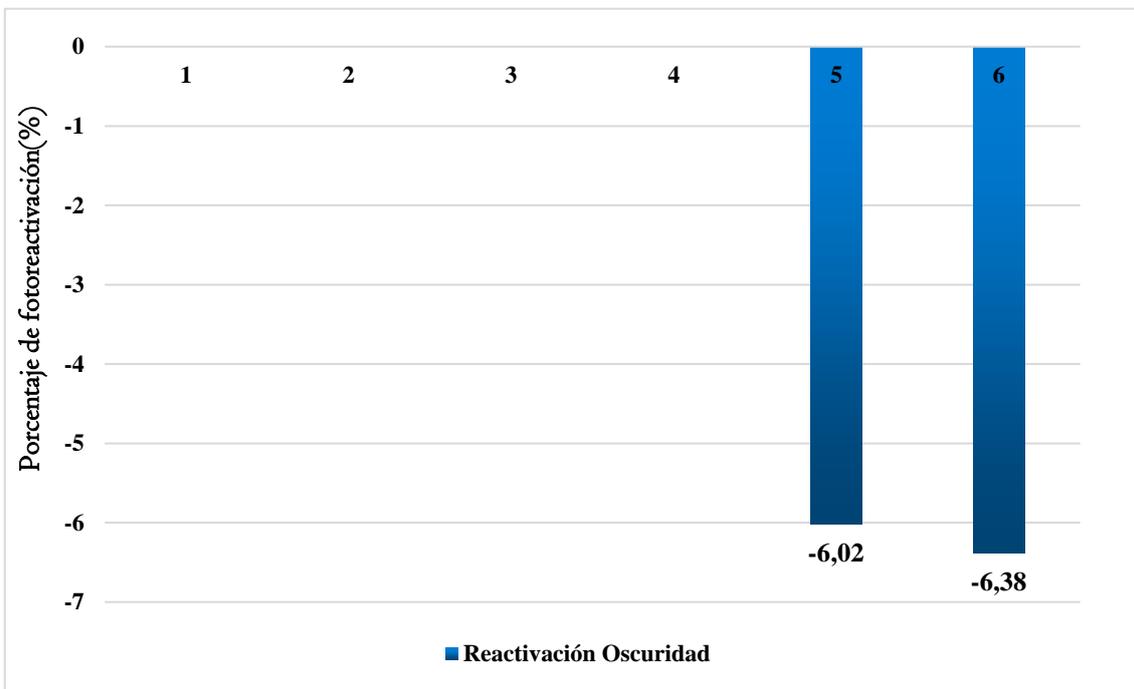


Figura 41. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 2 fecha: 15/02/2021).

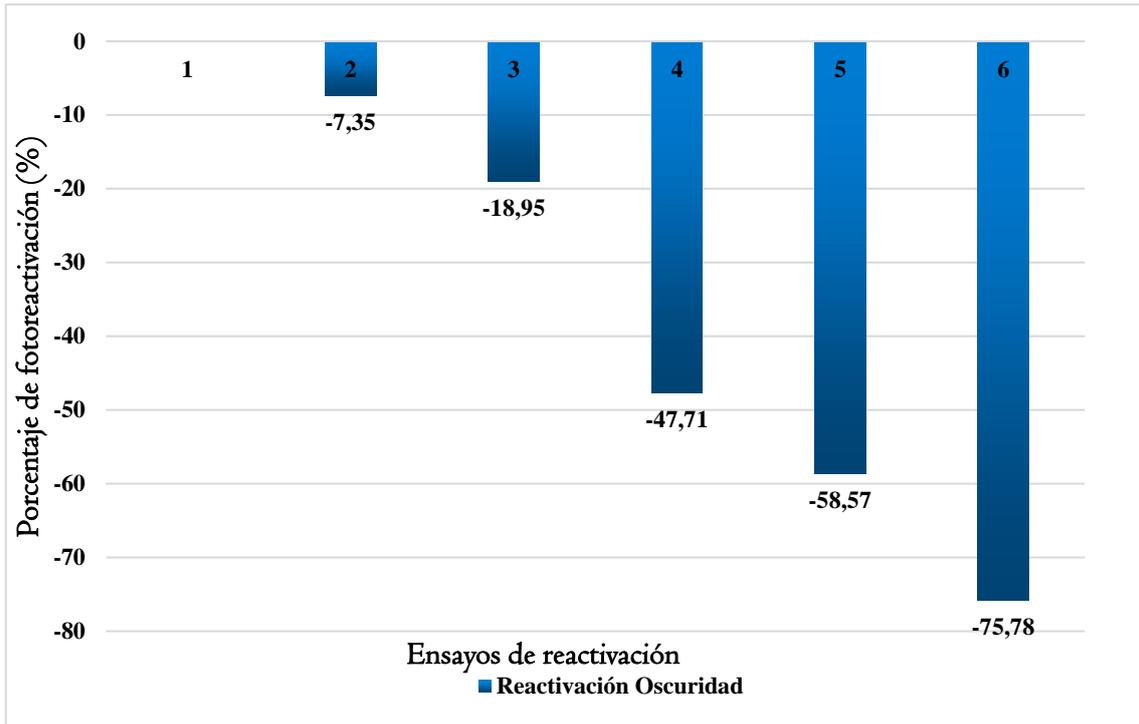


Figura 42. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 3 fecha: 20/02/2021).

Además, se graficaron los resultados del porcentaje de reactivación de la bacteria *Escherichia coli*, en condiciones de luz, estudiadas en un tiempo de cinco días (Figura 43, 45):

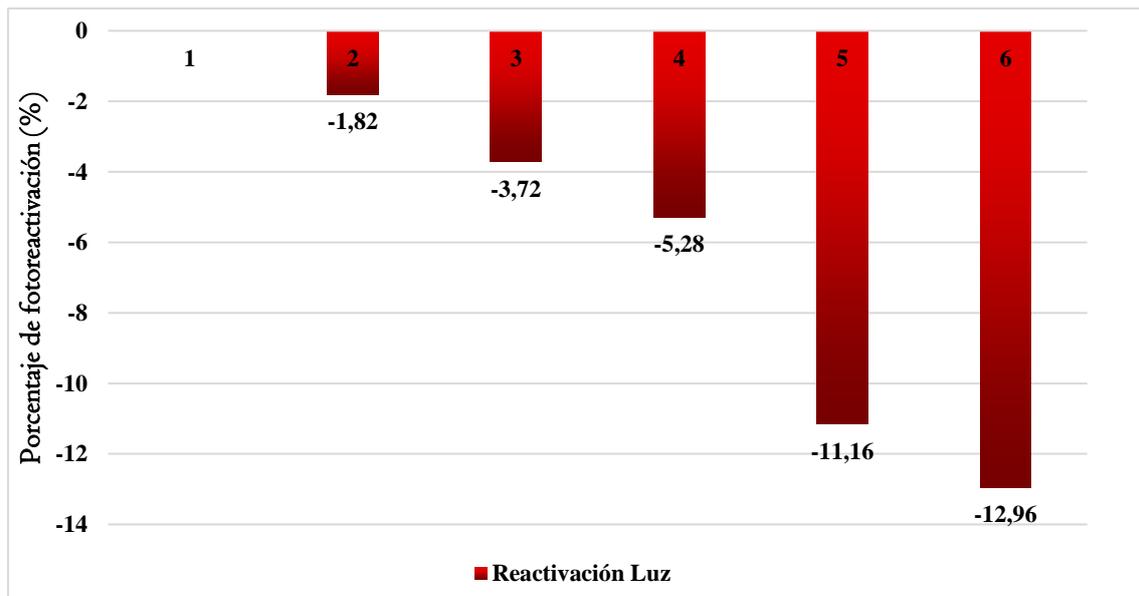


Figura 43. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 1 fecha: 05/02/2021).

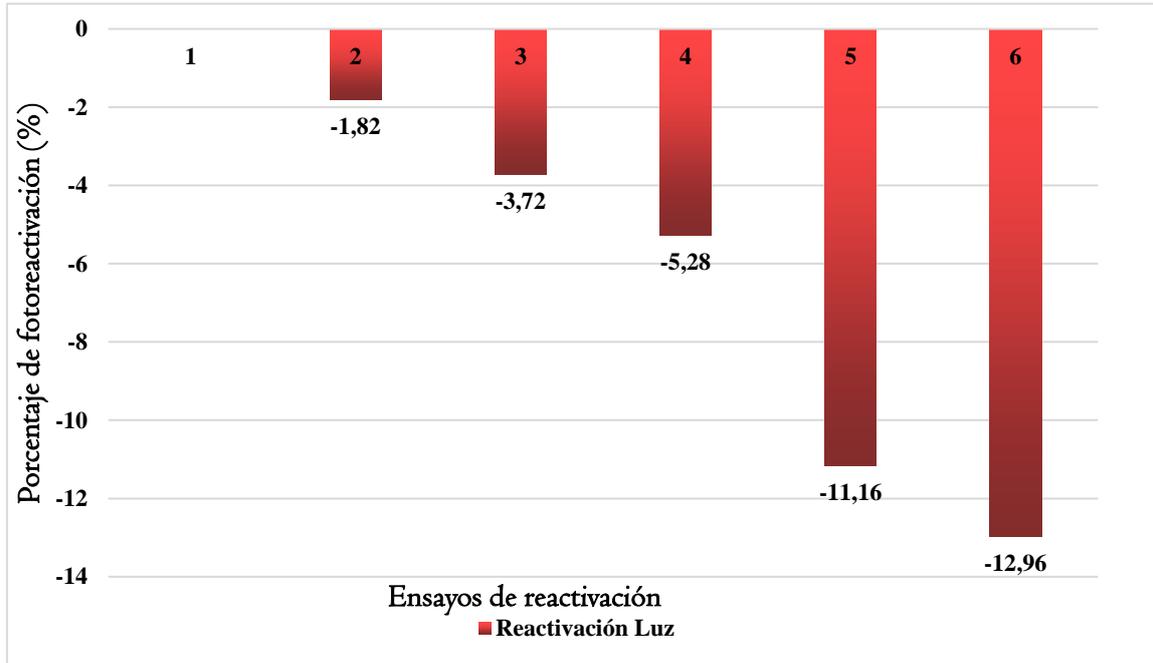


Figura 44. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 2 fecha: 15/02/2021).

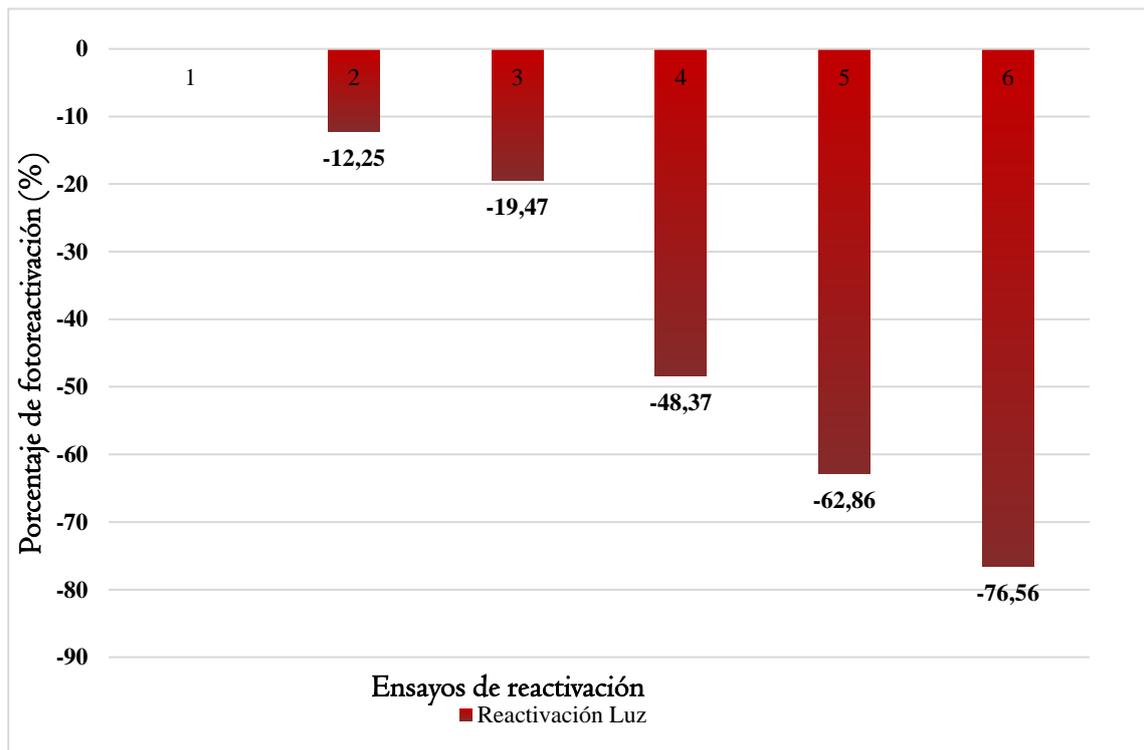


Figura 45. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Escherichia coli*, (Ensayo 3 fecha: 20/02/2021).

En base a los resultados obtenidos, el ensayo de la fecha 15/02/2021 fue el óptimo para la inactivación de las bacterias *Escherichia Coli*, en condiciones de luz y oscuridad.

Los ensayos realizados demostraron que no hubo reactivación, se deduce que el tiempo de exposición y agotamiento de nutrientes en el medio de cultivo influyen directamente en la recuperación celular.

4.3. Resultados de los ensayos experimentales realizados en el reactor Ultravioleta con bacteria *Enterococcus sp.*

Los resultados de los parámetros se encuentran tabulados a continuación (Tabla 23). Se hicieron en total tres ensayos válidos en esta sección:

Tabla 23. Datos experimentales obtenidos de la circulación por el reactor ultravioleta del Agua residual con inyección de bacteria *Enterococcus sp.*

Agua residual + Inyección <i>Enterococcus sp.</i> natural.	Regulación Llave de paso	Volumen (ml)	Tiempo (s)	Caudal (l/h)	Dosis UV (mJ/sg)
Primer Ensayo (05/04/2021)	M1	0.02	17.44	4.13	15.46
	M2	0.02	13.48	5.34	11.95
	M3	0.02	10.54	6.83	9.34
	M4	0.02	9.95	7.24	8.82
	M5	0.02	9.3	7.74	8.24
Segundo Ensayo (15/04/2021)	M1	0.02	17.66	4.08	16.39
	M2	0.02	12.97	5.55	12.04
	M3	0.02	11.65	6.18	10.81
	M4	0.02	10.07	7.15	9.34
	M5	0.02	10.02	7.19	9.3
Tercer Ensayo (20/04/2021)	M1	0.02	17.01	4.23	14.35
	M2	0.02	15.13	4.76	13.25
	M3	0.02	12.38	5.82	10.84
	M4	0.02	11.89	6.06	10.41
	M5	0.02	11.52	6.25	10.09

4.3.1. Cinética de inactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en función del tiempo a concentraciones bajas y altas de dosis ultravioleta.

La luz ultravioleta utilizada en el estudio de la bacteria *Enterococcus sp*, se utiliza de manera parecida que en el caso de la bacteria *Escherichia coli*, se aplicaron los mismos parámetros para la lámpara de mercurio a 254 nm, con una potencia de 6 Watts (Tabla 5). Se muestran de manera detallada los resultados de la inactivación de la bacteria *Enterococcus sp*, en función de la dosis, tiempo y caudal (Tabla 24, 26):

Tabla 24. Resultados de inactivación de bacteria *Enterococcus sp*, frente a exposición de luz ultravioleta (Ensayo fecha 1: 05/04/2021).

Primer ensayo			Fecha: 05/04/2021			
Muestras A.R+UV	Dosis (mJ/sg)	UV	Recuento de Colonias	Nro. de Colonias	de UFC/100	Log (Nt/No)
BLANCO	0		111	65000	8.13x10+05	0.00
M1	15.46		45	5625	7.03x10+04	-1.06
M2	11.95		22	2750	3.44x10+04	-1.37
M3	9.34		72	9000	1.13x10+05	-0.85
M4	8.82		25	3125	3.91x10+04	-1.31
M5	8.24		37	4625	5.78x10+04	-1.14

Tabla 25. Resultados de inactivación de bacteria *Enterococcus sp*, frente a exposición de luz ultravioleta (Ensayo fecha 2: 15/02/2021).

Segundo ensayo			Fecha: 15/02/2021			
Muestras A.R+UV	Dosis (mJ/sg)	UV	Recuento de Colonias	Nro. de Colonias	de UFC/100	Log (Nt/No)
BLANCO	0		105	61250	7.66x10+05	0.00
M1	16.39		43	5375	6.72x10+04	-1.05
M2	12.04		61	7625	9.53x10+04	-0.90
M3	10.81		69	8625	1.08x10+05	-0.85
M4	9.34		81	10125	1.27x10+05	-0.78
M5	9.3		95	11875	1.48x10+05	-0.71

Tabla 26. Resultados de inactivación de bacteria *Enterococcus sp*, frente a exposición de luz ultravioleta (Ensayo 3 fecha: 20/02/2021).

Tercer ensayo			Fecha: 20/02/2021			
Muestras A.R+UV	Dosis (mJ/sg)	UV	Recuento de Colonias	Nro. de Colonias	de UFC/100	Log (Nt/No)
BLANCO	0		99	43750	5.47x10+05	0.00

M1	14.35	21	2625	3.28x10+04	-1.22
M2	13.25	45	5625	7.03x10+04	-0.89
M3	10.84	41	5125	6.41x10+04	-0.93
M4	10.41	55	6875	8.59x10+04	-0.80
M5	10.09	49	6125	7.66x10+04	-0.85

Como resultado de todos los ensayos se realizó una representación de puntos agrupados que demuestran el comportamiento de los tres ensayos realizados en función del logaritmo y dosis de exposición (Figura 46):

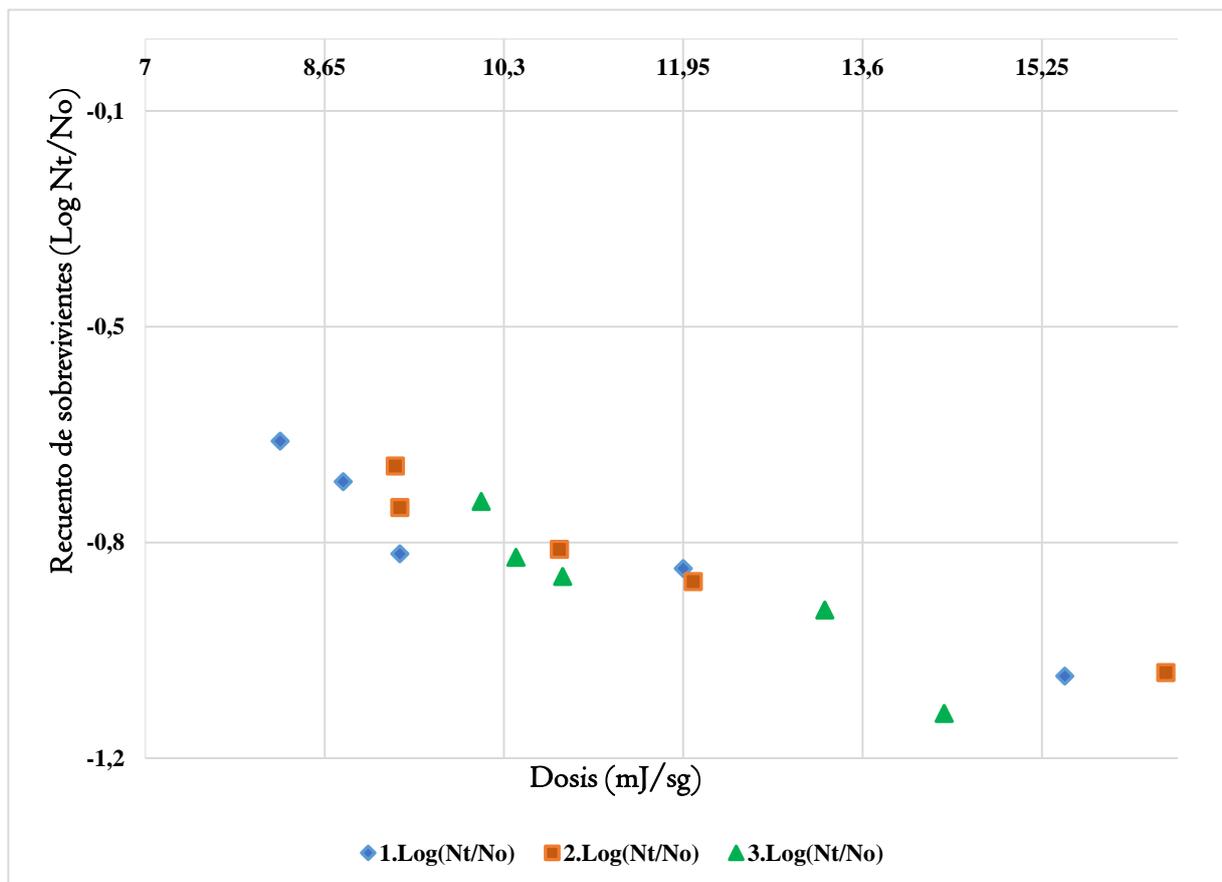


Figura 46. Perfil de inactivación de la bacteria *Enterococcus sp.*, en función del tiempo de exposición ultravioleta.

En base a lo anterior, se demuestra matemáticamente mediante estadística inferencial, para ello se planteó dos hipótesis.

H₀= La dosis UV aplicada no afecta el crecimiento de bacterias. (No existe diferencia entre las medias)

H1= La dosis UV aplicada afecta el crecimiento de bacterias. (Si existe diferencia entre las medias)

El intervalo de confianza aplicado fue del 95% y el nivel de significancia del 5%.

El valor P es el valor de significancia mínimo, determina la elección de las hipótesis, para este estudio se calculó utilizando la distribución de datos del muestreo de tratamiento de agua residual con luz ultravioleta.

P > 0.05 No se rechaza Ho

P < 0.05 Se rechaza Ho

4.3.1.1. Análisis de Varianza.

Tabla 27. Análisis de Varianza para bacteria *Enterococcus sp.*

Fuente	GL	SC	MC	Valor F	Valor p
		Ajuste	Ajuste		
Tratamiento	5	8778	1755,6	4,03	0,022
Error	12	5225	435,4		
Total	17	14003			

De acuerdo con el valor p encontrado tras el análisis de varianza, su valor es inferior a 0.05, por ende, se rechaza la hipótesis nula, demostrando que al menos una de las medias es significativamente diferente.

- **Comparaciones de parejas en Tukey**

Tabla 28. Método Tukey para bacteria *Enterococcus sp.*

Tratamiento	N	Media	Agrupación	
Blanco	3	105,00	A	
M3	3	60,67	A	B
M5	3	60,3	A	B
M4	3	53,7	A	B
M2	3	42,7		B
M1	3	36,33		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

El método de comparación Tukey sirve para diferenciar valores alcanzados durante los tratamientos, donde las muestras que no comparten letras son significativamente

diferentes, para este estudio las muestras M1 y M2 en esencia difieren, es decir, una mayor dosis desinfecta en un mayor porcentaje

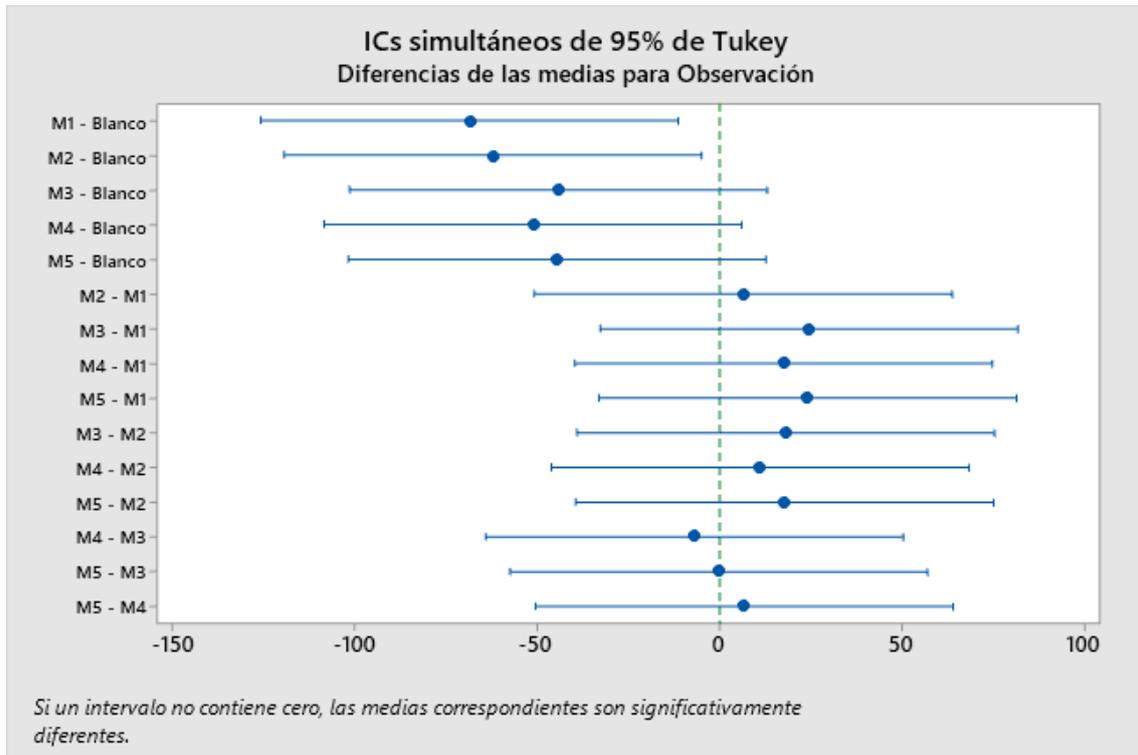


Figura 47. Diferencia de medias mediante método Tukey para bacteria *Enterococcus sp.*

El método de comparación Tukey sirve para diferenciar valores alcanzados durante los tratamientos, donde las muestras que no comparten un cero en sus medias son significativamente diferentes, para este estudio las muestras que difieren son:

- a) M1 – Blanco
- b) M2 – Blanco

4.3.1.2. Prueba de normalidad Anderson – Darling.

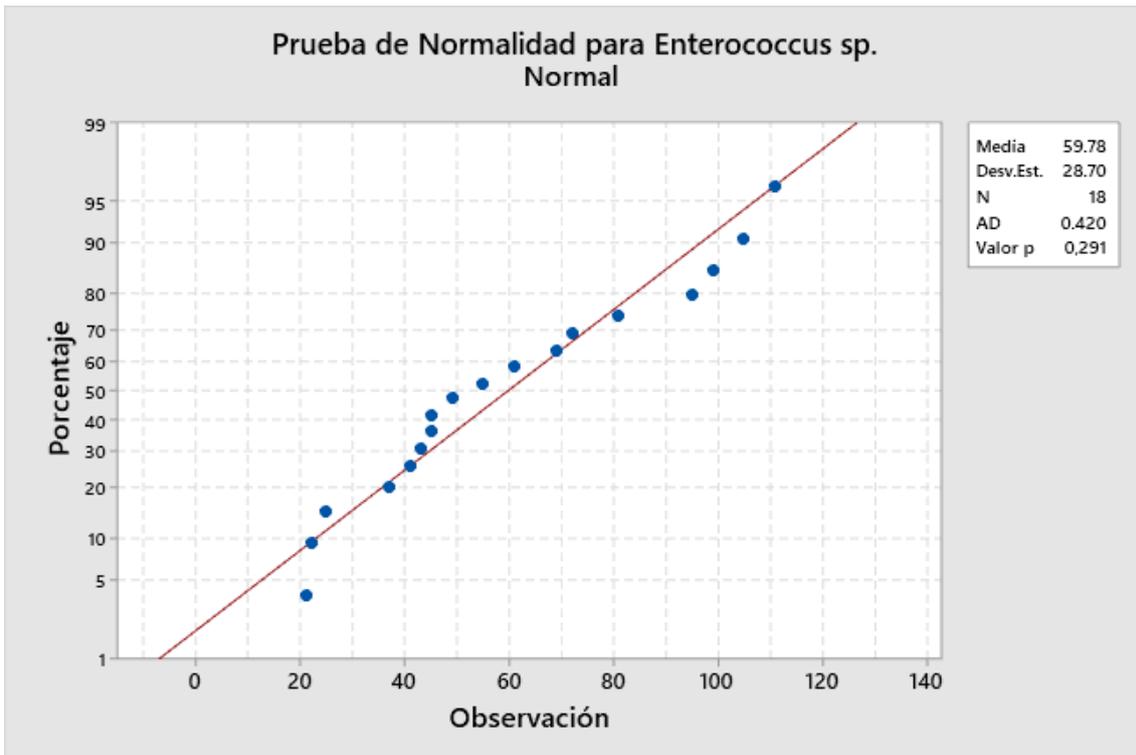


Figura 48. Prueba de normalidad Anderson-Darling en bacteria *Enterococcus sp.*

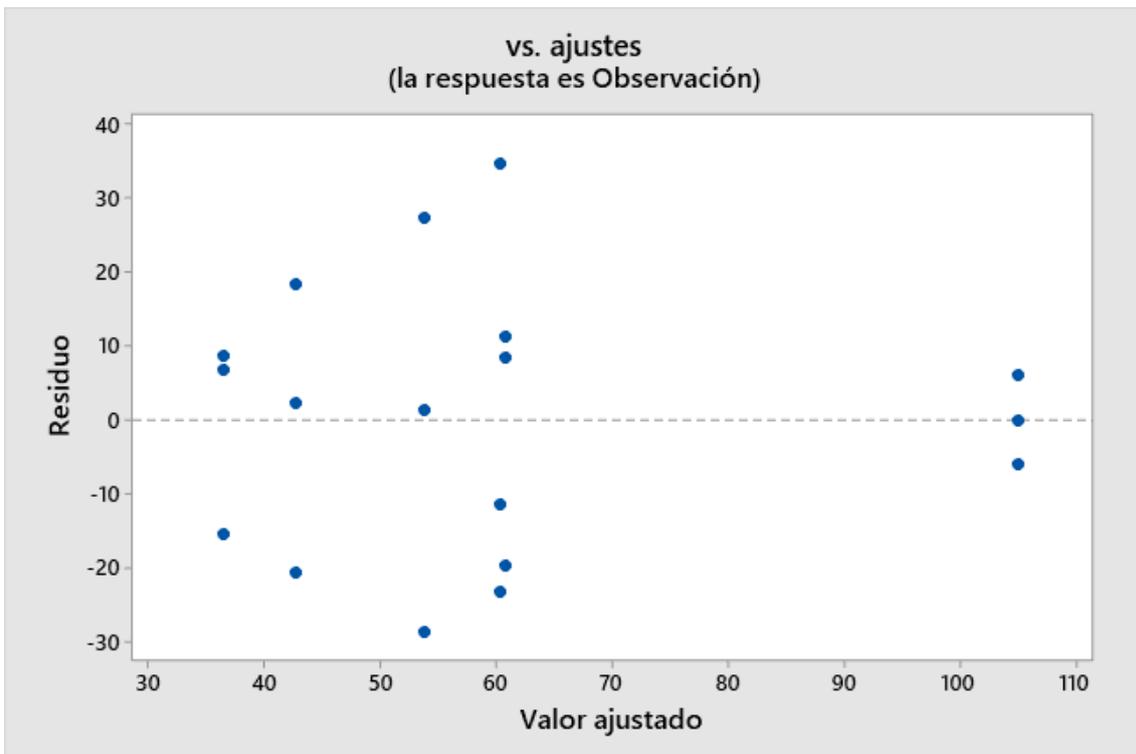


Figura 49. Distribución de datos obtenidos de las muestras en bacteria *Enterococcus sp.*

Según la información documentada, se observa que la totalidad de los datos se encuentran dentro de una campana de distribución estadísticamente normal, esto nos permite trabajar

con pruebas de tipo paramétricas. Con un valor p igual a 0.291, mayor a nuestro nivel de significancia (0.05), no se rechaza la hipótesis nula, por ende, los datos siguen una distribución normal.

Según la gráfica de Residuos vs. Ajustes, se observa una distribución variada de los datos sin valores atípicos y sin varianza constante.

- **Independencia de datos.**

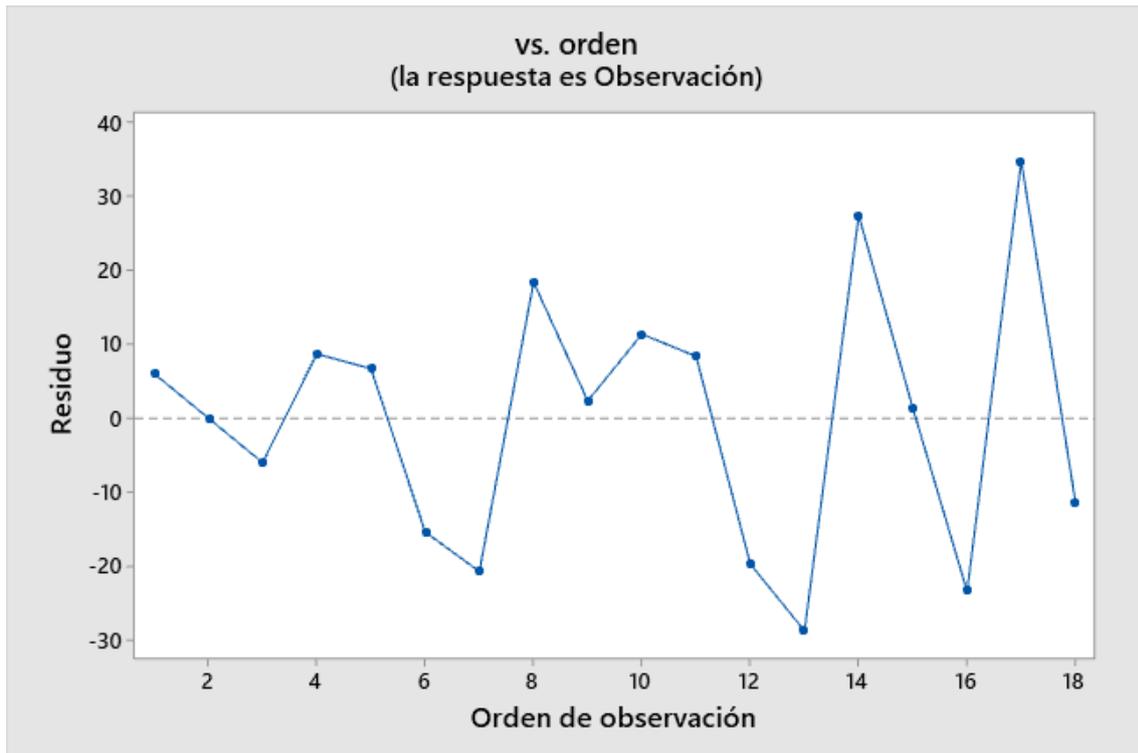


Figura 50. Distribución de datos en bacteria *Enterococcus sp.*

Según la gráfica de Residuos vs. Orden, se observa que los datos no disponen de una dependencia lineal (ciclo, turno, tendencia), la aleatoriedad de estos nos permite descartar una dependencia entre los datos documentados.

4.3.2. Frecuencia de inactivación en función logarítmica y relación con la dosis ultravioleta.

Se realizaron análisis estadísticos en la bacteria *Enterococcus sp.*, los ensayos se encuentran graficados en base a la frecuencia de inactivación en función logarítmica (Figura 51) y frecuencia de inactivación en función de la dosis (Figura 52):

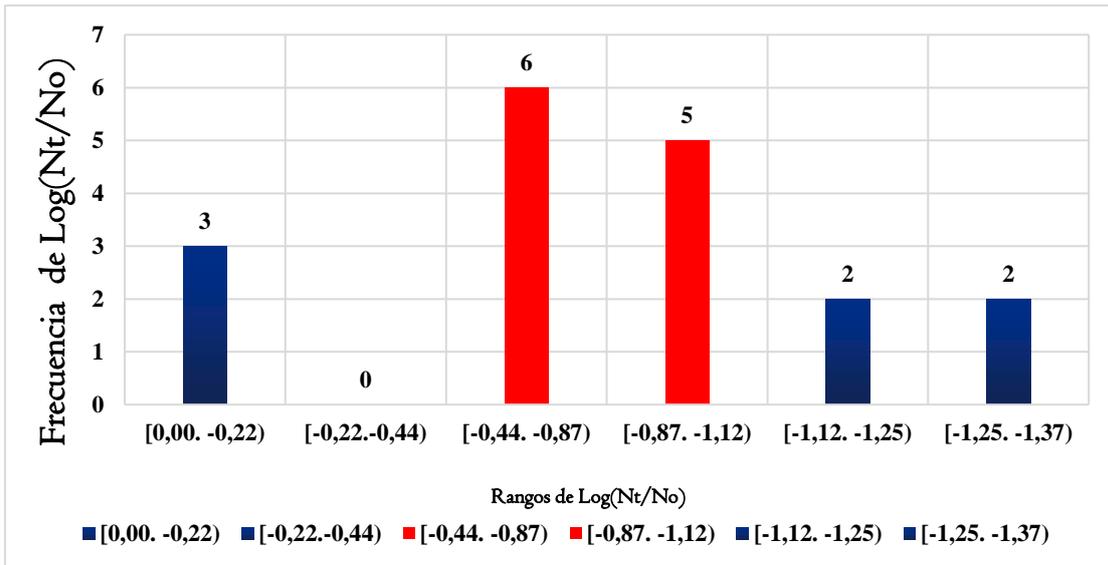


Figura 51. Frecuencia de inactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en función logarítmica.

De acuerdo con los resultados los rangos con mayor frecuencia de inactivación de la bacteria *Enterococcus sp.*, entre (-0.44, -0,87) y (-0.87, -1,12) (Figura 51).

Por otra parte, se demuestra la frecuencia de la bacteria en función de la dosis ultravioleta (Figura 52):

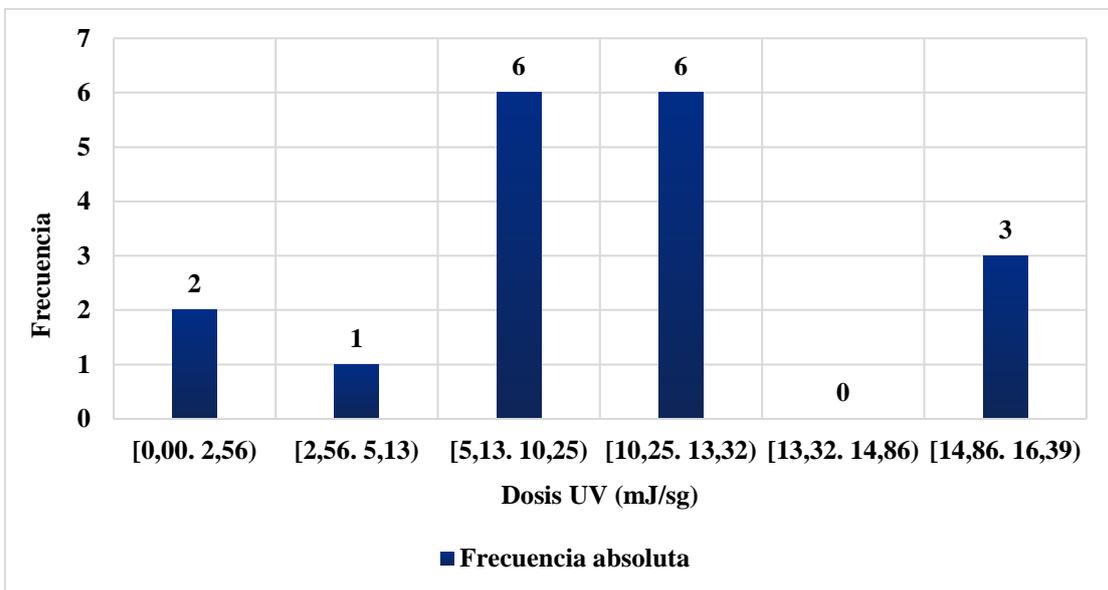


Figura 52. Frecuencia de inactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en función de la dosis ultravioleta.

La Figura 52 indica el comportamiento de la bacteria *Enterococcus sp.*, tras la exposición a una frecuencia de rangos de radiación ultravioleta obteniéndose como la dosis efectiva el valor de (14.35 mJ/sg), encontrándose entre el rango (13.32-14.86 mJ/sg) mostrándose

inactivación de la bacteria, deduciéndose así, que, existe una exposición media de radiación ultravioleta, es decir caudales prolongados existe mayor efectividad de desinfección, sin embargo, en exposiciones menores a radiación ultravioleta la desinfección es mínima, mientras que a exposiciones prolongadas existe muerte de las poblaciones bacterianas.

4.3.3. Aplicación de Software GInaFiT ©, como herramienta de ajuste de datos y modelación predictiva para bacteria *Enterococcus sp.*

En el estudio de inactivación con la aplicación de dosis ultravioleta, se obtuvo datos que representan de manera logarítmica la respuesta de la bacteria *Enterococcus sp.*, frente a la dosis ultravioleta aplicada, dando como resultado parámetros cinéticos en función de velocidades de reacción en las curvas de dosis-respuesta.

El software GInaFiT ©, ayudó de igual manera a simular la curva de supervivencia en las bacterias *Enterococcus sp.*, con relación a la concentración logarítmica ($\text{Log } N_t/N_0$) en función del tiempo de tratamiento (s). Además, determinamos los tipos de curvas y sus modelos respectivos de inactivación, guiándonos en la (Figura 53):

4.3.3.1. Determinación de la curva de inactivación de bacteria *Enterococcus sp.*

Se determinó el tipo de curva que más se ajusta al modelo de inactivación en el estudio de bacteria *Enterococcus sp.*, utilizando las características visuales y descriptivas que se encuentran representadas en la Figura 53:

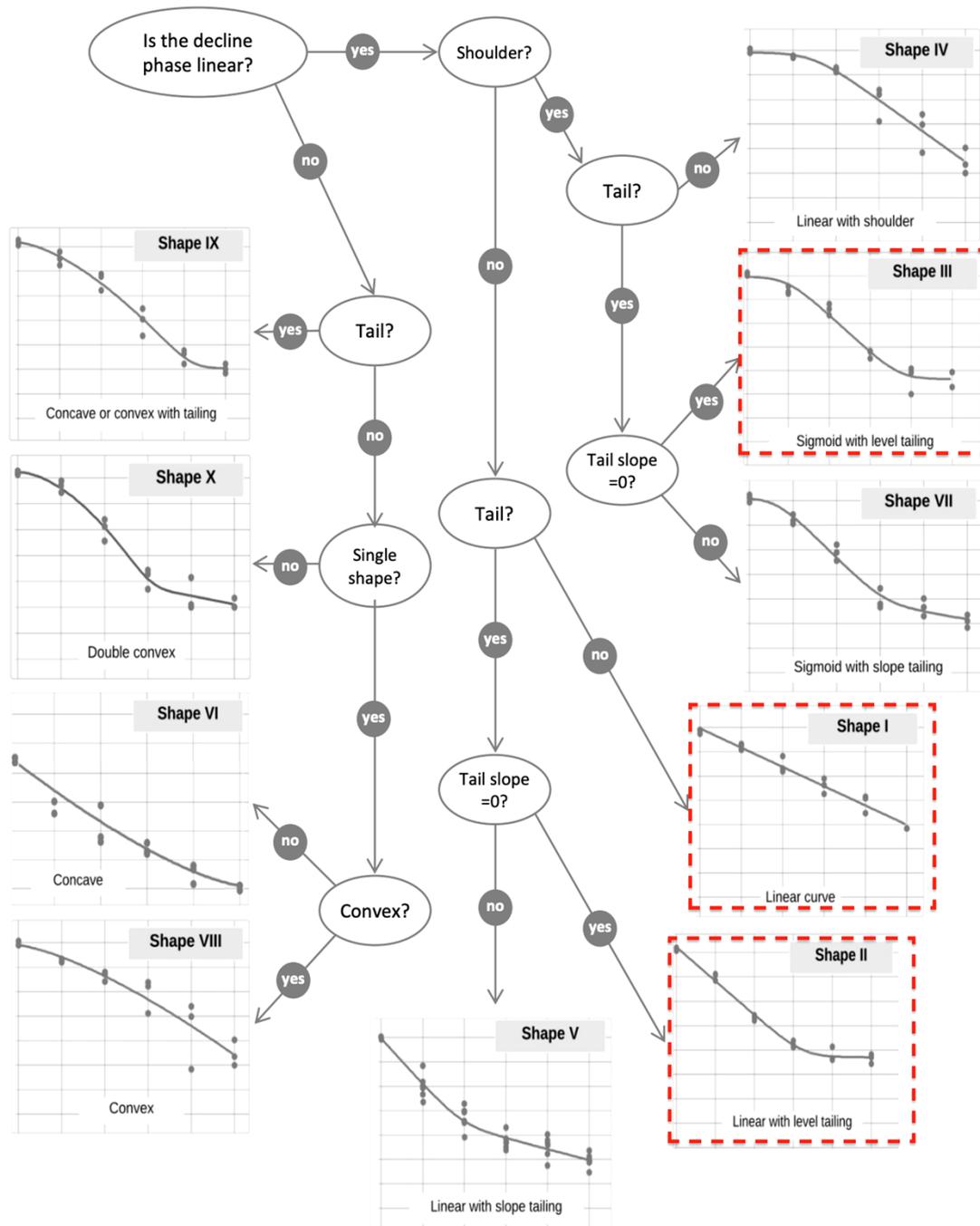


Figura 53. Determinación de la forma de curva en inactivación con bacteria *Enterococcus sp*, utilizando características descriptivas clave.

Fuente. (Geeraerd, 2005).

En el estudio se obtuvo tres tipos de curvas que se más se ajustaron a la representación de modelos de inactivación, estos son: **Linear**, curva (**Shape I**), **Linear with level tailing**, curva (**Shape II**) y **Sigmoidal with level tailing**, curva (**Shape III**), a

continuación, se representa la distribución de los microorganismos frente a la dosis ultravioleta aplicada sobre los mismos:

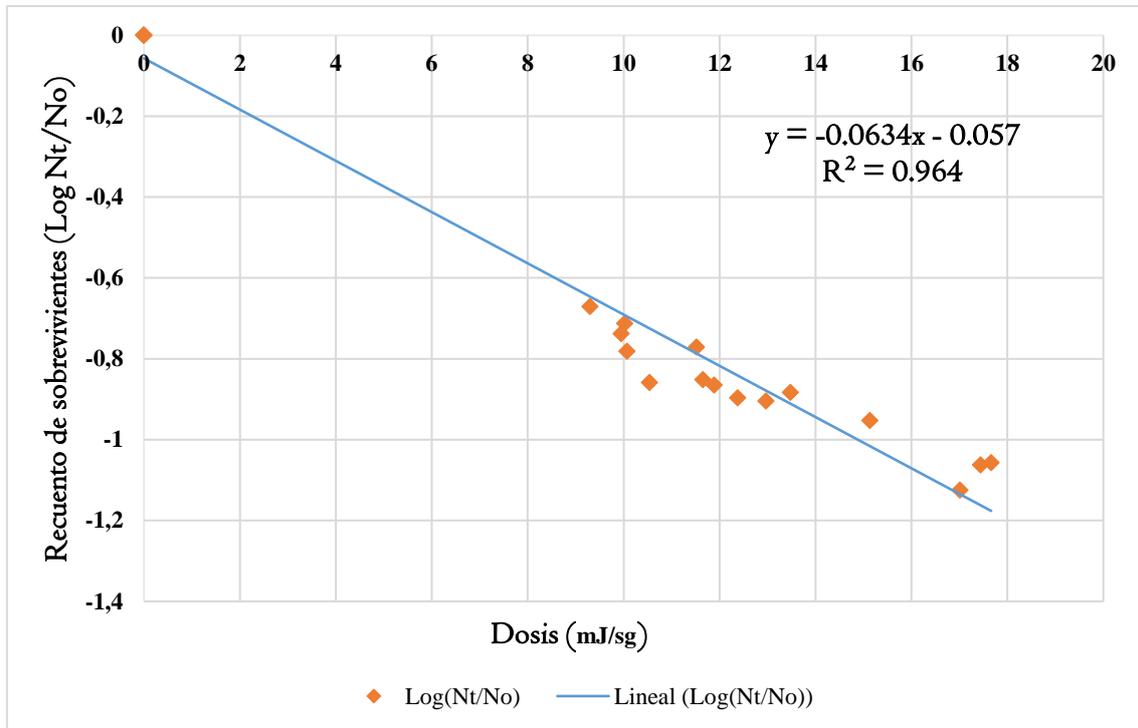


Figura 54. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Enterococcus sp*, representada en el modelo **Linear**, curva (**Shape I**).

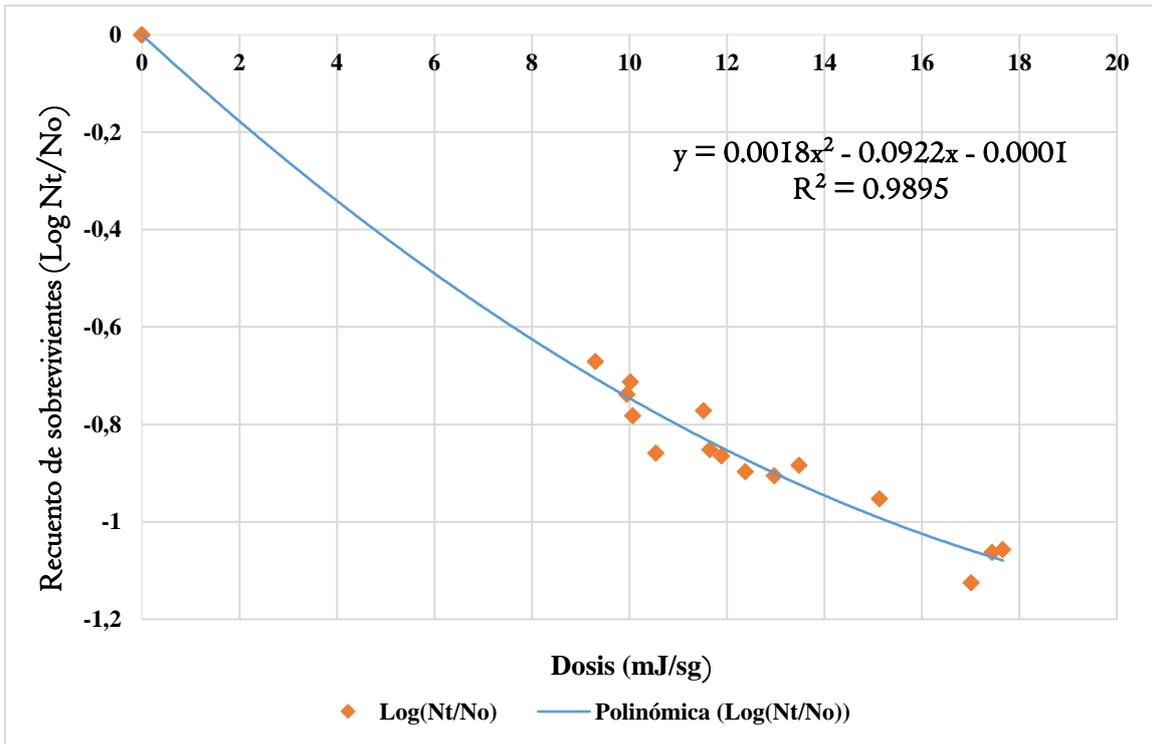


Figura 55. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Enterococcus sp.*, representada en el modelo **Linear with level tailing**, curva (Shape II).

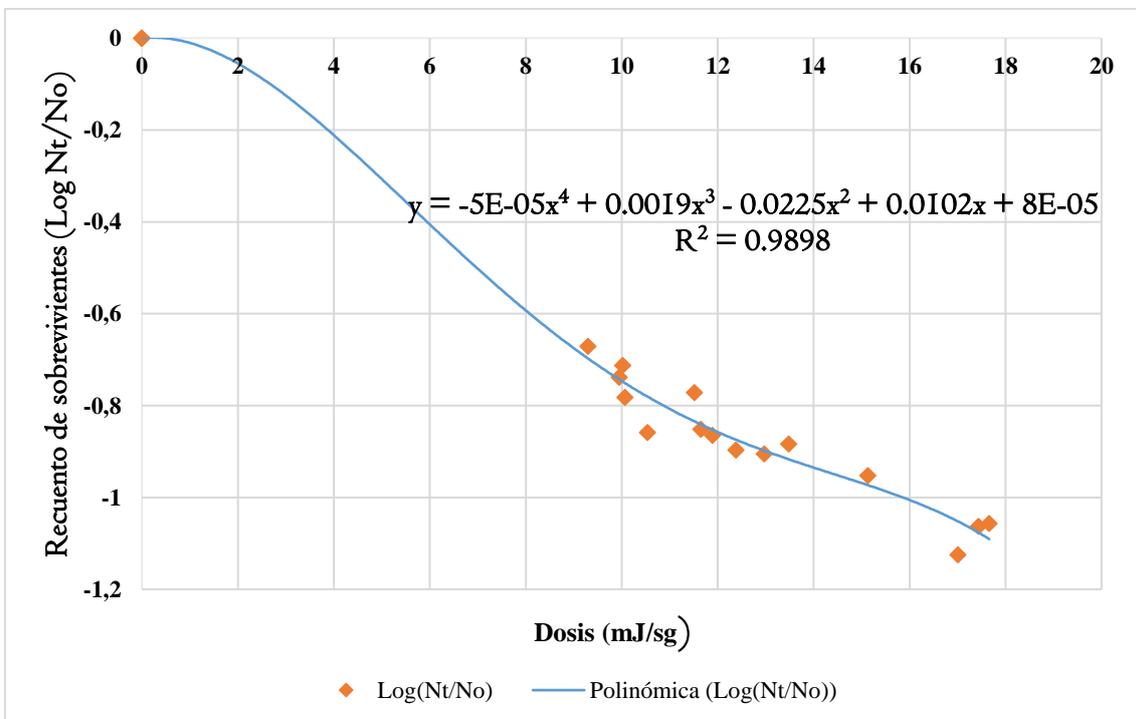


Figura 56. Distribución de datos en la inactivación de la bacteria *Enterococcus sp.*, representada en el modelo **Sigmoidal with level tailing**, curva (Shape III).

En base a (Figuras 54, 55, 56) se realizó un análisis visual con ayuda de la distribución de datos, seleccionando tres curvas que a continuación se describen:

En el primer caso (Figura 54) es el modelo **Linear**, curva (**Shape I**), se escogió esta curva porque la representación de sus puntos tiene una tendencia lineal, debido a que todas las células de los microorganismos poseen una misma sensibilidad de inactivación al ser expuestas a luz ultravioleta.

En el segundo caso (Figura 55) es el modelo **Linear with level Tailing**, curva (**Shape II**), su curva posee la característica de tener una forma lineal y al final poseer una “cola”, esto surgió, debido a que los microorganismos fueron sensibles al ser expuestos a radiación ultravioleta, seguido de un decaimiento de las bacterias por una inactivación rápida y al final se nota resistencia llamada “cola”, debido a que son capaces de formar resistencia y su inactivación se ve desacelerada.

En el tercer caso (Figura 56) representa al modelo **Sigmoidal with level tailing**, curva (**Shape III**), como se observa presenta un crecimiento inicial y posterior un declive lineal de las bacterias, al final se observa que tiene un pequeño crecimiento “hombro”, debido a que los microorganismos generan una mínima resistencia frente a la exposición ultravioleta y finalmente existe un declive final.

4.3.3.2. Descripción de los modelos y sus ecuaciones en el estudio de inactivación de la bacteria *Enterococcus sp.*

En base a los análisis visuales se prosiguió a determinar qué modelo se ajustó más a la predicción de inactivación de las bacterias, por la razón de que un análisis de este tipo es relevante para determinar (R^2) y (RMSE), por consiguiente, se describen:

El primer modelo Linear, curva (Shape I), una vez aplicada su ecuación dio resultados de un (R^2) de 0.96, con un excelente ajuste debido a que se acerca a 1 y (RMSE) de 0.0016, que fue más convincente porque se acercaba a 0. Además, su ecuación está compuesto por (K_{max}) que significa la inactivación de bacterias en primer orden constante (definida como la primera porción exponencial del modelo lineal de supervivencia), a continuación, su ecuación:

$$N = N_0 * \exp(-k_{max} * t)$$

Dónde:

N_0 = Concentración inicial.

K_{max} = Tasa de inactivación constante.

t = tiempo de exposición a dosis UV.

El segundo modelo Linear with tailing, curva (Shape II) presentó un (R^2) de 0.98 con un mejor ajuste predictivo y (RMSE) de 0.0016 cercano a 0 con un error bajo. Mientras que su ecuación se encuentra compuesta por (f) fracción inicial de mayor subpoblación, (población inicial de bacterias *Enterococcus sp*) (K_{max}) que significa la inactivación de primer orden constante (definida como la primera porción exponencial de la curva de supervivencia).

$$\mathbf{Log10(N)} = \mathbf{log10(N0)} \\ + \mathbf{log10(f * exp(-kmax1 * t) + (1 - f) * exp(-kmax2 * t))}$$

Donde:

$N0$ = Concentración inicial.

(f)= fracción inicial de mayor subpoblación.

K_{max} = Tasa de inactivación constante.

t = tiempo de exposición a dosis UV.

El tercer modelo **Sigmoidal with level tailing**, curva (**Shape III**), **presentó** un (R^2) de 0.98 buen ajuste predictivo (RMSE) de 0.0016 cercano a 0 con un error bajo. Su ecuación se encuentra compuesta por ($N0$) concentración inicial, (K_{max}) inactivación de primer orden constante (definida como la primera porción exponencial de la curva de supervivencia), (N_{res}) que es el punto de comienzo de “hombro” (etapa donde las bacterias presentan un poco de resistencia), a continuación, su ecuación y (SI) duración de efecto de “hombro” (donde existe recuperación mínima de las bacterias debido a su resistencia y adaptación), a continuación, su ecuación:

$$\mathbf{log(N)} = \mathbf{(N0 - N_{res}) * exp(-kmax * t) *} \\ \mathbf{((exp(kmax * SI)) / (1 + (exp(kmax * SI) - 1)} \\ \mathbf{* exp(-kmax * t))) + N_{res}}$$

Donde:

$N0$ = Concentración inicial.

K_{max} = Tasa de inactivación constante.

SI = Duración de efecto de “pendiente con cola”.

(f)= fracción inicial de mayor subpoblación.

N_{res} = Comienzo de hombro.

t = tiempo de exposición a dosis UV.

Seguidamente en la Tabla 57, se encuentran tabulados cada uno de los modelos con sus respectivos datos y parámetros:

Tabla 57. Resultados de la aplicación de ecuaciones en los tres modelos estudiados con el software GInaFiT ©, en la bacteria *Enterococcus sp.*

Modelo	Ecuación	R ²	Error Cuadrático Medio	Parámetros	Standar Error
Linear, curva (Shape I) (Bigelow & Etsy, 1920).	$N = N_0 * \exp(-k_{max} * t)$	0.96	0.0049	Kmax = 0.15 LOG10(N0) = -0.06	0.01 0.04
Linear with level tailing, curva (Shape II) (Geeraerd, 2000).	$\log_{10}(N) = \log_{10}(N_0) + \log_{10}(f * \exp(-k_{max1} * t) + (1 - f) * \exp(-k_{max2} * t))$	0.98	0.0016	F = 0.80 Kmax1=0.25 Kmax2=0.06 LOG10(N0) = 0.00	0.41 0.15 0.10 0.02
Sigmoidal with level tailing, curva (Shape III) (Geeraerd, 2000, Greenacre, 2003, Maquenie, 2003, Moseel, 1995)	$\log(N) = (N_0 - N_{res}) * \exp(-k_{max} * t) * ((\exp(k_{max} * Sl)) / (1 + (\exp(k_{max} * Sl) - 1) * \exp(-k_{max} * t))) + N_{res}$	0.98	0.0016	SI (Shoulder length) = -3.12 Kmax= 0.16 LOG10(N_res) = -1.35 LOG10(N0) = 0.00	11.56 0.13 0.45 0.02

De acuerdo lo anterior la (Tabla 57) se deduce que el modelo **Linear**, curva (**Shape I**), no presenta el mejor ajuste de bondad estadístico 0.96 y (RMSE) de 0.0049, pero pese a ello se seleccionó por la simplicidad de desarrollo de su ecuación. Pasó por tres fases distintas, la primera fase denominada concentración inicial de microorganismos que se refiere al período de incubación inicial en el que los radicales libres producidos por la radiación ultravioleta comienzan a atacar al microorganismo, su segunda fase que representó el período en el que la inactivación bacteriana es más rápida y su tercera fase denominada “hombro” es el período final en el que la inactivación se vuelve más lenta

- **Modelo de inactivación en bacteria *Enterococcus spp*, con el uso de radiación ultravioleta Tapia & Vargas:**

$$N = N_0 * e^{(-k_{max} * t)}$$

Donde:

$$LOG_{10}(N_0) = -0.06$$

$$K_{max} = 0.15$$

- **Para propósitos de identificación reformulado como:**

$$LOG_{10}(N) = LOG_{10}(N_0) - K_{max} * t / LN(10)$$

$$LOG_{10}(N) = -0.06 - 0.01 * t / LN(10)$$

4.3.4. Estudio de reactivación de bacteria *Enterococcus sp*, en condiciones de luz y oscuridad.

Ambos estudios se realizaron en un periodo de tiempo de 5 días con la finalidad de determinar si existe fotoreactivación.

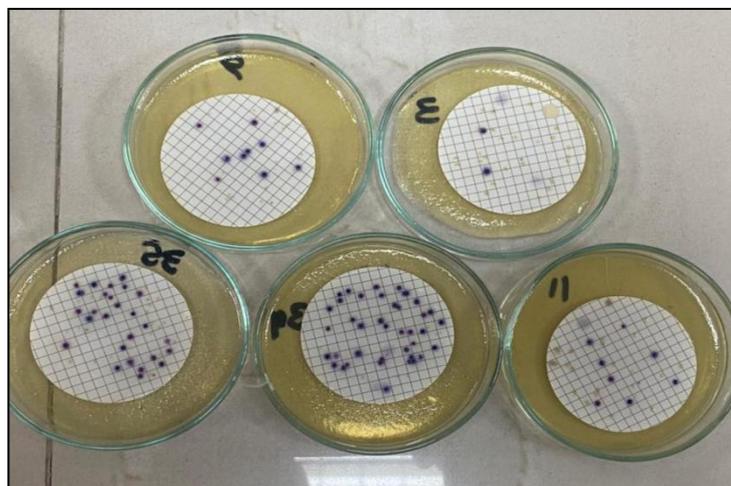


Figura 58. Fotoreactivación de bacteria *Enterococcus sp*, en condiciones de luz.

re

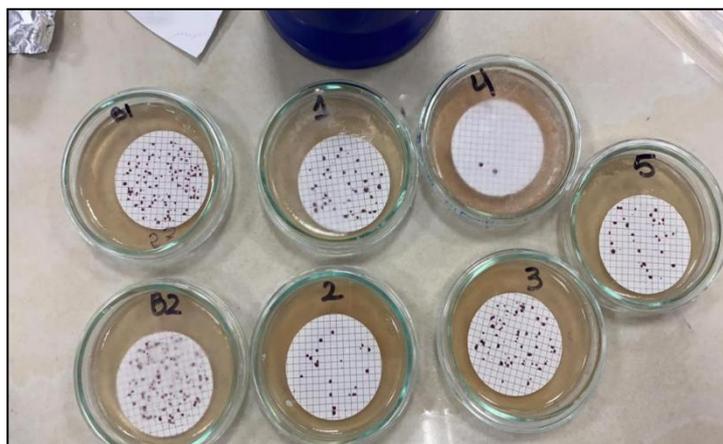


Figura 59. Fotoreactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de oscuridad.

Se tabularon los resultados que describen los ensayos realizados en el estudio de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de luz y oscuridad para determinar su comportamiento:

Tabla 29. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de oscuridad (Primer ensayo: 05/04/2021).

Primer ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 05/04/2021	
Muestras	Nro. de Colonias (UFC)	Log (Nt/No)	Reactivación Oscuridad	S. Oscuridad (%)
BLANCO	1.56x10+05	0.00	0.00	0.00
M1	1.41x10+04	0.00	-9.40	0.2
M2	3.13x10+03	-1.54	-13.29	0.8
M3	9.38x10+03	-1.37	-14.96	1.2
M4	3.13x10+03	-1.85	-19.32	0.4
M5	1.56x10+03	-1.67	-23.29	0.6

Tabla 30. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de luz (Primer ensayo: 05/04/2021).

Primer ensayo condiciones de luz			Fecha: 05/04/2021	
Muestras	Nro. de Colonias (UFC)	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
BLANCO	1.25x10+05	0.00	0.00	19.2
M1	1.56x10+03	0.00	-7.58	1.7
M2	1.56x10+03	-1.70	-4.02	0.4
M3	3.13x10+03	-1.22	-14.73	1.2
M4	1.56x10+03	-1.70	-4.65	0.4

M5	1.56x10+03	-2.00	-7.45	0.2
-----------	------------	-------	-------	-----

Tabla 31. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de oscuridad (Segundo ensayo: 15/04/2021).

Segundo ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 15/04/2021	
Muestras A.R+U	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación	S. Oscuridad (%)
V	(UFC)		Oscuridad	
BLANCO	2.19x10+05	0.00	0.00	15.4
M1	1.56x10+03	-1.90	-9.26	0.2
M2	6.25x10+03	-1.90	-4.22	0.2
M3	9.38x10+03	-1.60	-15.63	0.4
M4	3.13x10+03	-1.90	-4.85	0.2
M5	4.69x10+03	-1.90	-7.45	0.2

Tabla 32. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de luz (Segundo ensayo: 15/04/2021).

Segundo ensayo condiciones de luz			Fecha: 15/04/2021	
Muestras	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
A.R+UV	(UFC)			
BLANCO	7.81x10+04	0.00	0.00	10.2
M1	1.56x10+03	-1.70	-9.40	0.2
M2	1.56x10+03	-1.70	-13.99	0.2
M3	4.69x10+03	-1.22	-15.68	0.6
M4	1.56x10+03	-1.70	-19.56	0.2
M5	1.56x10+03	-1.70	-23.80	0.2

Tabla 33. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de oscuridad (Tercer ensayo: 20/04/2021).

Tercer ensayo condiciones de oscuridad			Fecha: 20/04/2021	
Muestras A.R+U	Nro. de Colonias	Log (Nt/No)	Reactivación	S. Oscuridad (%)
V	(UFC)		Oscuridad	
BLANCO	3.28x10+05	0.00	0.00	60.0
M1	1.41x10+04	0.00	-3.65	2.6
M2	3.75x10+04	-0.94	-6.89	6.9
M3	3.59x10+04	-0.96	-5.83	6.6
M4	4.53x10+04	-0.86	-8.81	8.3
M5	3.59x10+04	-0.96	-8.64	6.6

Tabla 34. Resultados de reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, en condiciones de luz (Tercer ensayo: 20/04/2021).

Tercer ensayo condiciones de luz			Fecha: 20/04/2021	
Muestras	Nro. de Colonias (UFC)	Log (Nt/No)	Reactivación Luz	S. Oscuridad (%)
A.R+UV				
BLANCO	2.19x10+05	0.00	0.00	40.0
M1	3.13x10+03	-1.85	-5.78	0.6
M2	2.03x10+04	-1.03	-10.49	3.7
M3	2.66x10+04	-0.92	-7.77	4.9
M4	2.81x10+04	-0.89	-12.54	5.1
M5	2.97x10+04	-0.87	-9.97	5.4

Seguidamente se presentan resultados de fotoreactivación de la bacteria *Enterococcus sp*, en condiciones de oscuridad (Figura 60, 61):

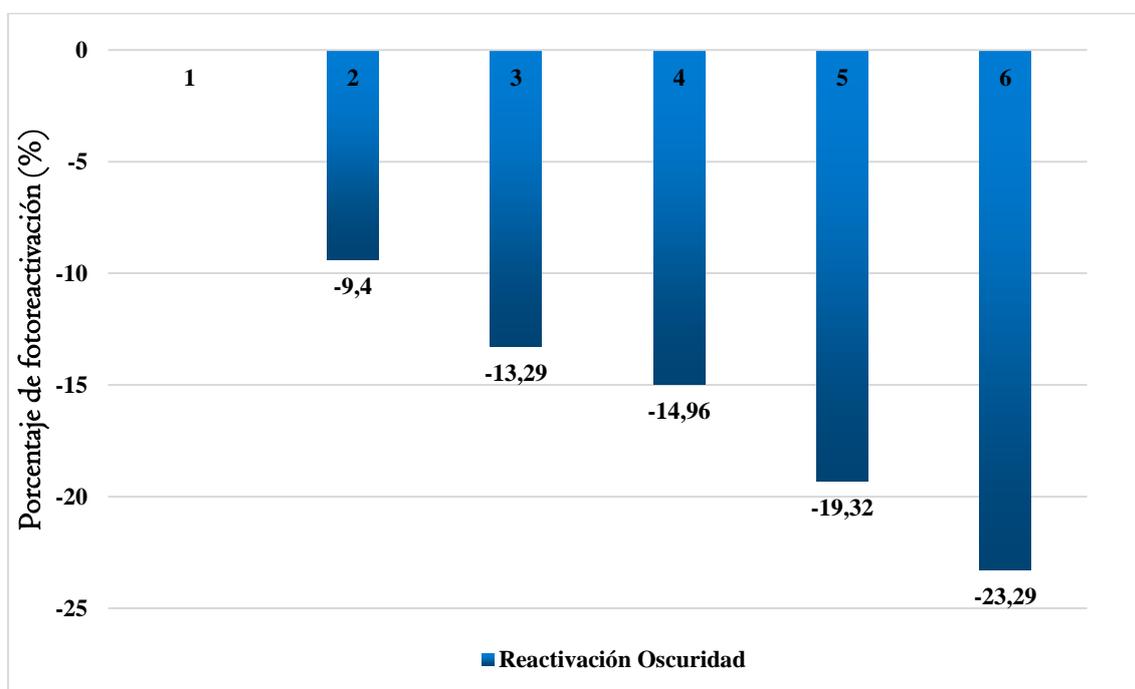


Figura 60. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Enterococcus sp*, (Primer ensayo: 05/04/2021).

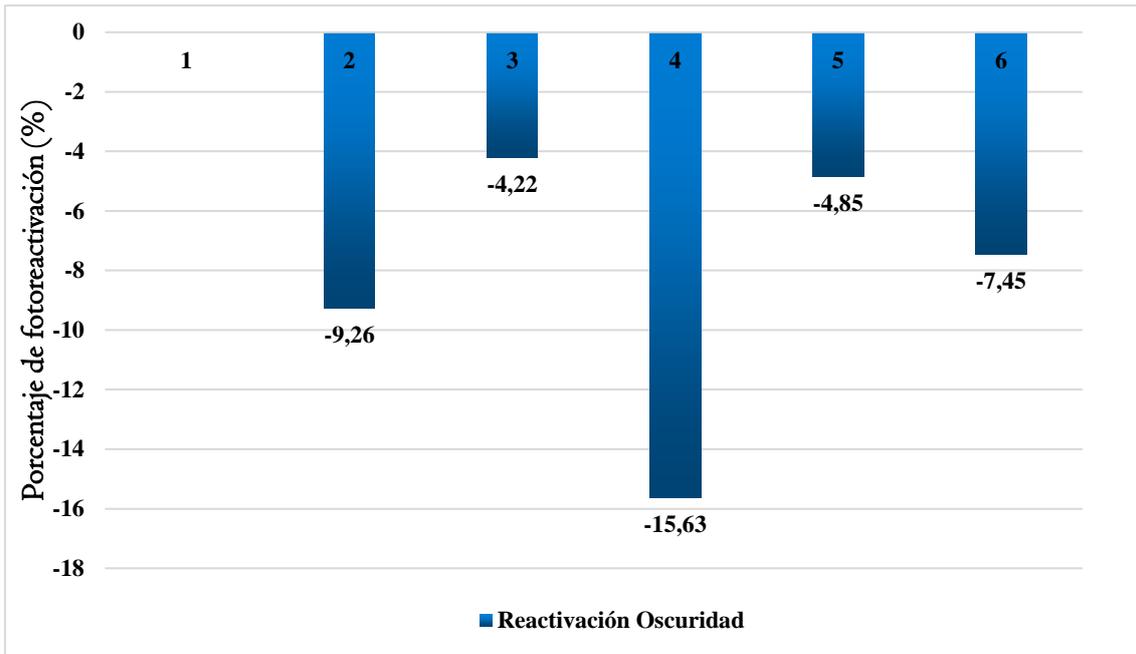


Figura 61. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Enterococcus sp.* (Segundo ensayo: 15/04/2021).

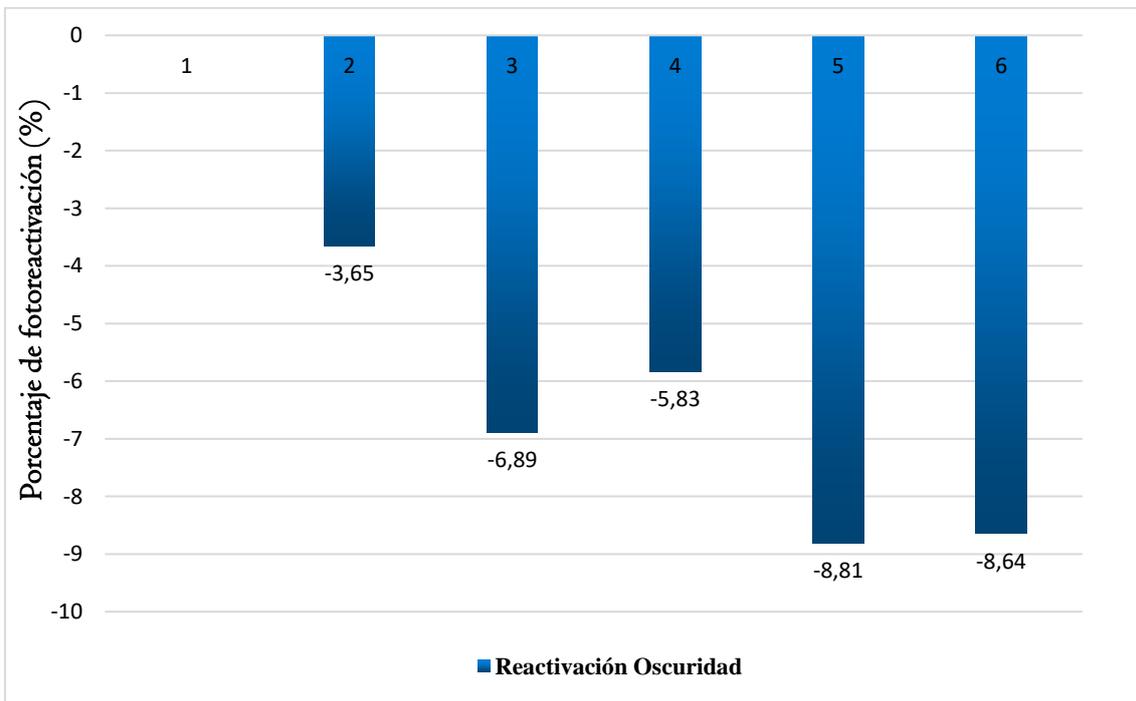


Figura 62. Porcentaje de reactivación en condiciones de oscuridad de bacteria *Enterococcus sp.* (Tercer ensayo: 20/04/2021).

Consecuentemente, se graficaron los resultados del porcentaje de reactivación de la bacteria en condiciones de luz: (Figura 63, 65):

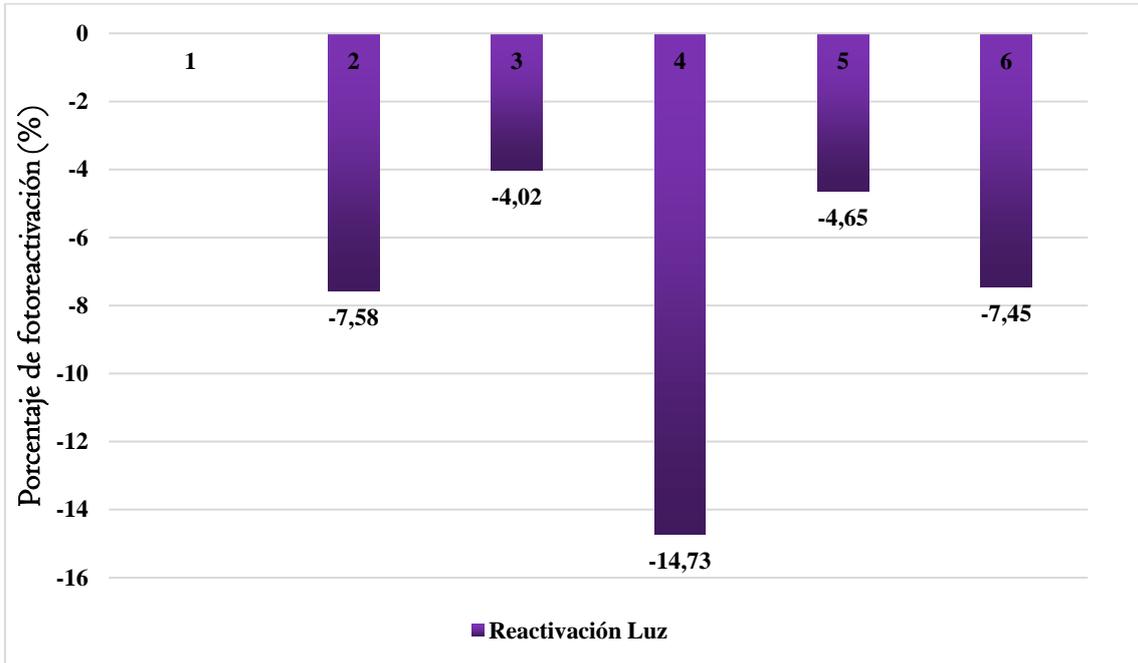


Figura 63. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Enterococcus sp.*, (Primer ensayo: 05/04/2021).

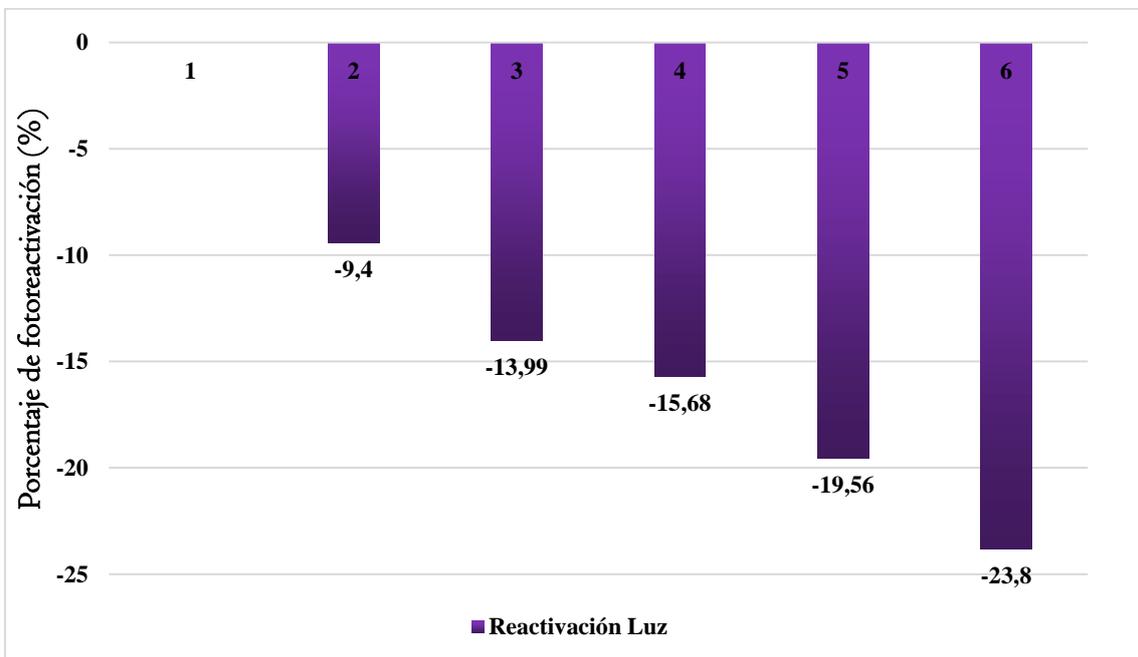


Figura 64. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Enterococcus sp.*, (Segundo ensayo: 15/04/2021).

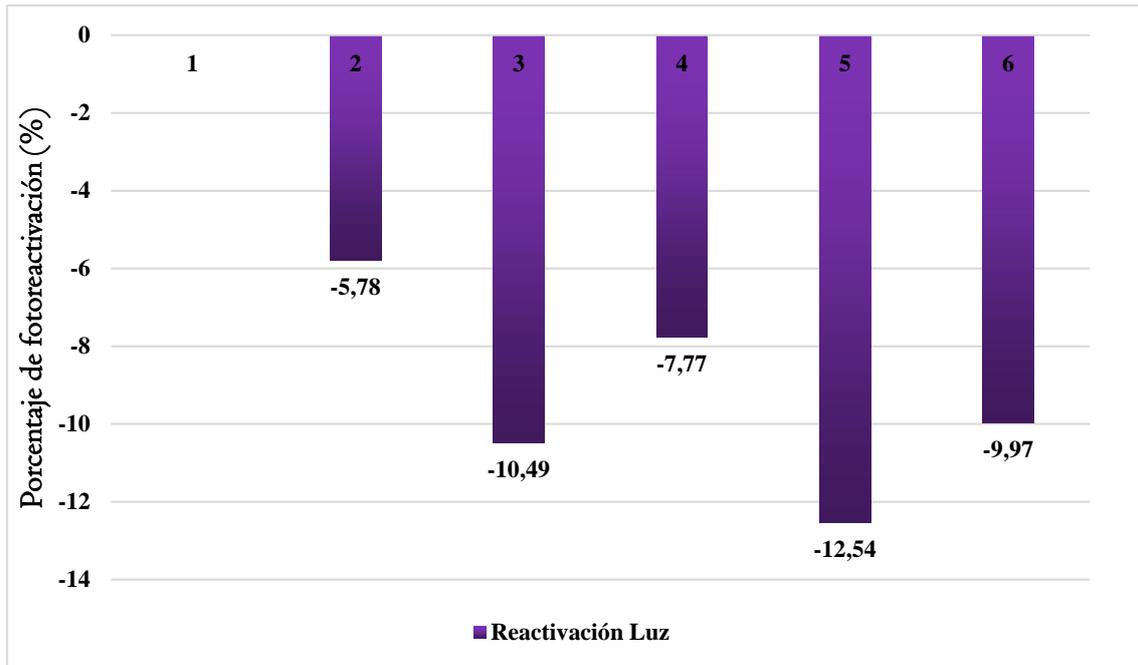


Figura 65. Porcentaje de reactivación en condiciones de luz de bacteria *Enterococcus sp.*, (Tercer ensayo: 20/04/2021).

La obtención de resultados en base al estudio determino una tasa muy baja de supervivencia de la bacteria *Enterococcus sp.*, (Figura 63, 65), pero representa porcentajes negativos determinando que no existe fotoreactivación, tanto en condiciones de luz y oscuridad en todas las muestras de los tres ensayos realizados, en un rango de tiempo de 5 días.

CAPITULO V.

5.1. Conclusiones.

Sin duda, el estudio de las bacterias naturales procedentes de aguas residuales 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:

- 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* 21,7 mJ/sg, mientras que para *Enterococcus sp*, es de 14,35 mJ/sg.
- La fotoreactivación estudiada en un lapso experimental (0-5 días), representa exceso de exposición para la activación de las bacterias, puesto que no existió la misma en todos los ensayos del estudio.
- Según un análisis de varianza de un solo factor, con un nivel de confianza del 95 %, se demuestra estadísticamente, que las dosis de radiación ultravioleta reducen las UFC, esto basándose en valores experimentales y bajo la observación de una exponenciación de la eliminación bacteriana, conforme se aumenta la radiación UV.
- En base a los seis modelos matemáticos que corresponde para cada bacteria, de los tres para *Escherichia coli*, se eligió el modelo **Linear with level tailing (Shape II)**, debido a su simplicidad; pues su bondad de ajuste es de 0.90 y Error cuadrático Medio (RMSE) de 0.01. Mientras que de los tres últimos modelos analizados para *Enterococcus sp*, se escogió el modelo **Linear Curve (Shape I)**, el cual presenta el mejor ajuste de bondad estadístico de 0.96 y Error cuadrático Medio (RMSE) de 0.0049.
- Además, gracias a estos modelamientos se obtuvo dos ecuaciones, denominadas Tapia -Vargas, las cuales sirven para calcular la obtención de la dosis óptima de radiación ultravioleta en la experimentación y bajo las condiciones indicadas de este estudio.

5.2. Recomendaciones.

De la experiencia recogida en este trabajo u otros previos relacionados con la eficiencia de inactivación o reactivación de bacterias mediante luz ultravioleta, se recomienda:

- El uso de medios de cultivo cromogénicos, debido a que poseen características apropiadas y están diseñados específicamente para cada proceso de inhibición, evitando el crecimiento de otro tipo de bacterias y enfocándose únicamente a colonias de interés.
- En cuanto a parámetros de ensayo, para obtener resultados comparativos; se sugiere establecer periodos de tiempo de exposición a luz ultravioleta en el sistema para realizar la inactivación de las bacterias y de igual manera para determinar la fotoreactivación en donde se pueden probar rangos de tiempo menores a 5 días de exposición, frente a condiciones de exposición de luz o carencia de esta.

BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo, R. (2005). El agua, recurso estratégico del siglo XXI. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 23(1), 12.
<https://revistas.udea.edu.co/index.php/fnsp/article/view/522>
- Alcántara Muñoz, F., Moreno Rojas, R., Moreno Ortega, A., Muñoz Cañete, J., & Gómez Díaz, R. (2016). Nulo efecto bactericida de la radiación ultravioleta emitida por diodos LED. *Journal of Negative & No Positive Results*, 1(6), 210–215.
<https://doi.org/10.19230/jonnpr.2016.1.6.1083>
- Arias, Ó. (2004). *Estudio de la biodegradación de la materia orgánica en humedales construidos de flujo subsuperficial* [Universitat Politècnica de Catalunya].
<https://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/3339>
- Arocutipa, J. (2013). Evaluación y propuesta técnica de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales en Massiapo del distrito de Alto Inambari - Sandia [Universidad Nacional del Altiplano]. In *Universidad Nacional del Altiplano-Puno*.
http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4516/Arocutipa_Lorenzo_Juan_Hipolito.pdf?sequence=1
- Asamblea Nacional Constituyente. (2008). *Constitucion de la republica del Ecuador 2008*. Registro Oficial 449 de 20 Oct. 2008. <https://www.cosedec.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/CONSTITUCION-DE-LA-REPUBLICA-DEL-ECUADOR.pdf>
- Bea, J. (2015). Reactores químicos. *EDITORIAL SÍNTESIS*, S. A., 21. www.sintesis.com
- Beltrán, N., & Jiménez, B. (2000). *EFICIENCIA DE LA LUZ ULTRAVIOLETA PARA LA DESINFECCIÓN DE AGUA RESIDUAL CON ALTO CONTENIDO DE PATÓGENOS* *International Hydrological Programme UNESCO View project Removal of Nitrogen View project. January*.
<https://www.researchgate.net/publication/267789004>
- Bergthorsson, U., & Ochman, H. (1998). Distribution of chromosome length variation in natural isolates of *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution*, 15(1), 6–16.
<https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEV.A025847>
- Camacho, O. V., Guevara, A. V., & Ariza, E. R. (2012). Aplicación de programación dinámica finita para la toma de decisión en el uso de plantas de tratamiento de aguas residuales industriales. *Revista Entérese Boletín Científico Universitario*, 7(33 OP-Revista Entérese Boletín Científico Universitario. dic2012, Issue 33, p56-62. 7p.),

56. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&site=eds-live&db=fua&AN=98521646>
- Camargo, J. (2020). *Análisis bibliográfico para la formulación de variables en la puesta en marcha de un sistema germicida de radiación UV-C para aplicación en productos post-cosecha*.
- Canales, H., & Sevilla, A. (2016). Evaluación del Uso de Microorganismos Eficaces en el Tratamiento de Efluentes Domésticos Residuales del Distrito de Pátapo. In *Facultad de Ingeniería química e industrias alimentarias*.
- Capó, M. (2007). *Principios de Ecotoxicología - Miguel Andrés Capó Martí - Google Libros*.
https://books.google.com.co/books?id=86oL_Ybnwn8C&pg=PA75&dq=contaminantes+primarios+y+secundarios&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwja2tie78nlAhVErV kKHx0wCOMQ6AEIOjAC#v=onepage&q=contaminantes primarios y secundarios&f=false%0Ahttps://books.google.it/books?id=86oL_Y
- Caride, J., & Meira, P. (2001). Educación ambiental y desarrollo humano. *Revista Trimestral Lationamericana y Caribeña de Desarrollo Sustentable*, 269.
https://www.miteco.gob.es/en/ceneam/articulos-de-opinion/2006_04pou_tcm38-163637.pdf
- Casierra-Martínez, H., Casalins-Blanco, J., Vargas-Ramírez, X., & Caselles-Osorio, A. (2016). Desinfección de agua residual doméstica mediante un sistema de tratamiento acoplado con fines de reúso. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, 7(4), 97–111.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-24222016000400097&script=sci_arttext
- Cassano, A., Rastogi, N. K., & Basile, A. (2015). Membrane technologies for water treatment and reuse in the food and beverage industries. In *Advances in Membrane Technologies for Water Treatment: Materials, Processes and Applications* (pp. 551–580). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-121-4.00018-6>
- Castellanos, I., Velandia, J., González, M., Varela, D., & Ramírez, E. (2018). Aplicaciones Y Generalidades De Un Espectrofotómetro Uv-Vis Uv-1800 De Shimadzu. In *Ediciones EAN*. <http://editorial.universidadean.edu.co/media/pdf-ean/aplic-genera-espectrofoto.pdf>
- Cedeño Moreira, A. L. T. (2017). Identificación De La Flora Bacteriana Presente En Los Móviles Telefónicos Del Personal Que Labora En El Área De Microbiología Y La Relación Con El Reporte De Sus Resultados [Universidad Técnica de Ambato -

- Facultad de Ciencias de la Salud - Carrera de Laboratorio Clínico]. In *Ces* (Vol. 1).
<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/24663>
- Chiva Vicent, S., Berlanga Clavijo, J. G., Martínez Cuenca, R., & Climent Agustina, J. (2017). Procesos de oxidación avanzada en el ciclo integral del agua. In *Procesos de oxidación avanzada en el ciclo integral del agua*.
<https://doi.org/10.6035/uji.facs.2017.1>
- Cruz, J. (2020). DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE MONITOREO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA EN LA CIUDAD DE AREQUIPA. [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. In *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/20.500.12773/11696>
- Del Campo Casanueva, S. (2018). *Ciclo integral del agua. gestión y financiación sostenible en la experiencia de Chile y España*. Universidad Complutense de Madrid.
- Espinoza, D., & Zumba, T. (2018). *Estudio del impacto ambiental en la calidad del agua del río Cuenca producido por la descarga del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ucubamba*.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/30325/1/3.Trabajo-de-titulacion.pdf>
- Espinoza, S. (2017). Alternativas de tratamiento de aguas residuales del camal municipal del distrito de Tumán [Universidad de Lambayeque]. In *Universidad de Lambayeque*. http://repositorio.udl.edu.pe/bitstream/UDL/111/1/TESIS_2017_SALLY.pdf
- Estado Libre Asociado de Puerto Rico Oficina de la Gobernadora, J. de C. A. (2003). Estado Libre Asociado de Puerto Rico Oficina de la Gobernadora Junta de Calidad Ambiental. *CONTAMINACIÓN DE AGUA*, 3.
- Felipe Taño, A. M., Zuazo Silva, J. L., & Suárez Cabrera, M. (2014). Identificación presuntiva de estreptococos del grupo D: prueba de bilis esculina. *Rev. Cuba. Hig. Epidemiol*, 497–501.
- Fiallos, E. (2017). *Determinación de la correlación entre métodos visuales ópticos y difusión en placa en el crecimiento de Escherichia coli* [Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/26334>
- Forero Zamudio, L. A., Pinto, P. U., Microbiano, C., & López, B. L. (2017). *Aislamiento Y Caracterización De Microorganismos Termofilos Con Potencial Biotecnologico*

Del Manantial Termomineral Santa Monica Del Municipio De Choachi (Cundinamarca). 8–15.

<https://goo.gl/ULrF6t>http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_6_crecimiento.pdf[http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/6578/1/AISLAMIENTO Y CHARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS TERMOFÍLOS CON POTENCIAL](http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/6578/1/AISLAMIENTO_Y_CHARACTERIZACION_DE_MICROORGANISMOS_TERMOFILOS_CON_POTENCIAL)

Fredes, P. (2011). *Validación y certificación de equipos de desinfección de aguas por radiación ultravioleta.*

Gastulo, D. (2016). *Contaminación por coliformes totales y fecales en efluentes de actividad urbana e industrial vertidos vía dren 4000, y playas de la caleta Santa Rosa. Lambayeque.* 24. <http://repositorio.udl.edu.pe/handle/UDL/94>

Geeraerd, A. (2011). OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS EN UN TRATAMIENTO EN CICLO CONTINUO DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES, MEDIANTE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA. CASO: PTAR- SUR DE DURANGO, MÉXICO. *TJournal of Food Microbiology*, 250, 95–105. <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/16124>

Giannakis, S. (2015). UV-C/H₂O₂ heterogeneous photocatalytic inactivation of coliforms in municipal wastewater in a TiO₂/SiO₂ fixed bed reactor: a kinetic and statistical approach. *Chemical Engineering Journal*, 125(2), 1159–1177. <https://doi.org/10.1007/S11144-018-1473-2>

González, G. (2018). UTILIZACIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA PARA DISMINUIR CARGA MICROBIANA EN LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS PELETIZADOS Y/O EXTRUIDOS EN LA PLANTA DE FINCA SAS. *Computers and Industrial Engineering*, 2, 15. <http://ieeauthorcenter.ieee.org/wp-content/uploads/IEEE-Reference-Guide.pdf><http://wwwlib.murdoch.edu.au/find/citation/ieee.html><https://doi.org/10.1016/j.cie.2019.07.022><https://github.com/ethereum/wiki/wiki/White-Paper><https://tore.tuhh.de/hand>

González, I. (2015). *Generación, Caracterización Y Tratamiento De Lodos De Edar [Universidad de Córdoba, UCOPress]. In Universidad de Cordova.* <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/13199/2016000001232.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Gouvêa, M. M., Lima, G. S., Silva Neto, A. A., Pereira Netto, A. D., & Marques, F. F. de

- C. (2014). Application of ultraviolet radiation as a contribution to green chemistry and construction of an alternative and low-cost photochemical reactor for pre-treatment of samples. *Química Nova*, 37(2), 5. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140056>
- Hantke-Domas, M., & Jouravlev, A. (2011). Lineamientos de política pública para el sector de agua potable y saneamiento. *CEPAL – Colección Documentos de Proyectos*, 9.
- Hassaballah, A. H., Bhatt, T., Nyitrai, J., Dai, N., & Sassoubre, L. (2020). Inactivation of: *E. coli*, *Enterococcus* spp., somatic coliphage, and *Cryptosporidium parvum* in wastewater by peracetic acid (PAA), sodium hypochlorite, and combined PAA-ultraviolet disinfection. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 6(1), 197–209. <https://doi.org/10.1039/c9ew00837c>
- Hernández-Acosta, E., Quiñones-Aguilar, E. E., Cristóbal-Acevedo, D., & Rubiños-Panta, J. E. (2014). Calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros en Tulancingo, Hidalgo, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 20(1), 90. <https://doi.org/10.5154/R.RCHSCFA.2012.03.024>
- Hernández, H. (2020). *Evaluación Del Índice De Germinación En Semillas De Rábano (Raphanus Sativus) Usando Aguas Tratadas*. <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/2055>
- Huarachi-Olivera, R., Yapó-Pari, Ú., Dueñas-Gonza, Á., González-Juárez, R., Condori-Huamanga, J., Pacheco-Salazar, D. G., & Soto-Flores, J. (2015). Adaptabilidad de *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Cyanophyta) en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. *Idesia*, 33(1), 103–112. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292015000100011>
- Ismail, N. S., Blokker, B. M., Feeney, T. R., Kohn, R. H., Liu, J., Nelson, V. E., Ollive, M. C., Price, S. B. L., & Underdah, E. J. (2019). Impact of metazooplankton filter feeding on *Escherichia coli* under variable environmental conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(23). <https://doi.org/10.1128/AEM.02006-19>
- Jacobs, M. (1996). *La Economía Verde: Medio Ambiente, Desarrollo Sostenible y la Política Del Futuro*. <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=Ag1wbUrYj8C&oi=fnd&pg=PA11&dq=La+Economía+verde+:+medio+ambiente,+desarrollo+sostenible+y+la+política+del+futuro&ots=EvPE9pDaUW&sig=pXEFvjzhwLApYoDlm2P3OrF89Zg%0Ahttp://books.google.com/books?id=->

Ag1wbUrYj8C&pg

- Jaramillo, C. (2018). *Desarrollo de materiales foto-funcionales para aplicaciones medioambientales*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=151005>
- Jean, F. (1980). Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. *Editorial Medica Panamericana, 3ra Edición*, 300–367. <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=FYWSzy7EjR0C&oi=fnd&pg=PA1&dq=prueba+de+catalasa+en+bacterias&ots=RPMJQcIbSn&sig=glxqo1WdSdr3aX3RBjzrGHPmhqo#v=onepage&q=prueba+de+catalasa+en+bacterias&f=false>
- León, P., & Vázquez, G. (2013). *PREVALENCIA DE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN MUESTRAS DE ORINA DE PACIENTES AMBULATORIOS DE LOS CENTROS DE SALUD 1, 2 Y 3 DE LA CIUDAD DE CUENCA*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4631/1/TESIS.pdf>
- Lépesová, K., Kraková, L., Pangallo, D., Medved'ová, A., Olejníková, P., Mackul'ak, T., Tichý, J., Grabic, R., & Birošová, L. (2018). Prevalence of antibiotic-resistant coliform bacteria, Enterococcus spp. and Staphylococcus spp. in wastewater sewerage biofilm. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.03.008>
- Lescat, M., Launay, A., Ghalayini, M., Magnan, M., Glodt, J., Pintard, C., Dion, S., Denamur, E., & Tenaillon, O. (2017). Using long-term experimental evolution to uncover the patterns and determinants of molecular evolution of an Escherichia coli natural isolate in the streptomycin-treated mouse gut. *Molecular Ecology*, 26(7), 1802–1817. <https://doi.org/10.1111/mec.13851>
- Loor, V. (2018). FACULTAD DE FILOSOFÍA, LETRAS Y CIENCIAS Las Enfermedades por el consumo de aguas no tratadas en el desempeño escolar. Programa de prevención. *FACULTAD DE FILOSOFÍA, LETRAS Y CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN*, 3. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/30593/1/BFILO-PMP-18P83.pdf>
- López Aburto, A. J., Mejía Silva, M. A., & Berrios Brizuela, V. G. (2020). *Determinación de Escherichia coli O157, en carne molida de res que se expenden en los supermercados del municipio de Managua en el periodo comprendido de marzo-abril 2020*.
- López, E. (2018). *MEJORAMIENTO DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL DISTRITO EL ALTO, TALARA PIURA*.

- Luis, C., & Marllury, C. (2019). *Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera en UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.*
- MAE. (2015). REFORMA TEXTO UNIFICADO LEGISLACION SECUNDARIA, MEDIO AMBIENTE, LIBRO VI, Decreto Ejecutivo 3516. *REFORMA TEXTO UNIFICADO LEGISLACION SECUNDARIA, MEDIO AMBIENTE, LIBRO VI, Decreto Ejecutivo 3516, 0, 18–34.* <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/05/Acuerdo-097.pdf>
- Mamani, A., & Zulma, C. (2018). EVALUACIÓN DE CARGA CONTAMINANTE GENERADO POR EL VERTIMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA MUNICIPALIDAD PROVINCIAL DE YUNGUYO [Universidad Nacional del Altiplano]. In *Universidad Nacional del Altiplano.* <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/8777>
- Manobanda, R. del P. (2015). *Las aguas residuales y su incidencia en la condición sanitaria de los habitantes de Huapante Grande, parroquia San Andrés, cantón Píllaro provincia de Tungurahua.* [Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ingeniería Civil y Mecánica. Carrera de Ingeniería Civil]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/22925>
- Martínez, C. (2020). *Universitat Jaume I Escuela Superior de Tecnología y Ciencias Experimentales.* <http://repositori.uji.es/xmlui/handle/10234/189369>
- Melgarejo, F. (2015). EVALUACIÓN PARA OPTIMIZAR EL SISTEMA DE ALCANTARILLADO SANITARIO DE LA CIUDAD DE MARCARÁ, DEL DISTRITO DE MARCARÁ· PROVINCIA DE CARHUAZ - ANCASH - 2014". In *Universidad Nacional Santiago Antunez de Mayolo.* <http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/1612/TB00118M412015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendoza, M. (2012, May 16). *EVALUACION A LA APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA LIMPIA CON ENZIMAS BIOCATALIZADORAS (BIOWISH Aqua Fog) PARA EL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES (ARI) CONTAMINADAS POR HIDROCARBUROS EN LA ESTACIÓN DE SERVICIO NEW NOREAN EN AGUACHICA-CESAR.* <http://repositorio.ufpso.edu.co/jspui/handle/123456789/1486>
- Monforte García, G., & Cantú Martínez, P. (2009). Escenario del agua en México. *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica, 30, 31–40.*

- <http://erevistas.uacj.mx/ojs/index.php/culcyt/article/view/356>
- Moreno-Andrés, J., Romero-Martínez, L., Acevedo-Merino, A., & Nebot, E. (2017). Tratamientos basados en luz UV para aguas de lastre como solución a la introducción de especies invasoras en el Estrecho de Gibraltar. *Almoraima*, 47, 159–172.
- Muñoz, A. (2008). Caracterización y tratamiento de aguas residuales. In *Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería*. http://cvonline.uaeh.edu.mx/Cursos/Especialidad/Modulo1_PDF/Gen12/ESTEM01T01E08.pdf
- Muñoz Lucas, S., & Sanchez García, R. (2018). El agua en la industria alimentaria. *Boletín Sociedad Española Hidrología Médica*, 33(2), 157–171. <https://doi.org/10.23853/bsehm.2018.0571>
- Nieto, J. (2017). Caracterización física química y biológica de las aguas residuales de la ciudad universitaria Jorge Basadre Grohmann de Tacna [Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. In *Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann*. <http://www.ugpc.unjbg.edu.pe/pdfproyecto/3011201742107JulianNieto2016>
Caracterizacion fisica quimica y biologica d.pdf
- Nuñez, J. (2013). Agua y saneamiento a nivel nacional, alternativas de innovación. *Cámara Argentina de La Construcción*, 1–136. <https://translate.google.com.co/#en/es/statute>
- Nuñez Pungaña, T. S. (2015). Evaluación de cargas contaminantes del afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Puerto Arturo del Cantón Ambato para el diseño de indicadores operacionales. *Facultad de Ciencias, Bachelor*, 134. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4853>
- Ochoa, D. (2016). *Determinación del error medio ponderado de microremediación en el sistema de agua potable de Cuenca provisto por ETAPA-EP*. [http://186.5.103.99/bitstream/reducacue/7933/1/OCHOA A. DIANA E..pdf](http://186.5.103.99/bitstream/reducacue/7933/1/OCHOA%20A.%20DIANA%20E..pdf)
- Ongley, E. (1997). Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje - 55). In *GEMS/Water Collaborating Centre Canada Centre for Inland Waters Burlington*. <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021109/LUCHACONTRALACONTAMINACION.pdf>
- Ontiveros-Capurata, R. E., Diakite-Diakite, L., Álvarez-Sánchez, M. E., & Coras-Merino, P. M. (2013). Evaluación de aguas residuales de la ciudad de México utilizadas para riego. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, 4(4), 127–140.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-24222013000400008&script=sci_arttext

- Páez, C. (2009). Determinación de coliformes fecales y totales en expendio de alimentos en establecimientos formales en el macrodistrito centro de la ciudad de la paz de septiembre a diciembre de 2007. *Tesis*. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/638>
- Palacios, L. (2019). “ *Análisis de los vórtices Taylor-Couette en un reactor tubular para la desinfección de agua mediante luz ultravioleta .*” <http://riaa.uaem.mx/xmlui/bitstream/handle/20.500.12055/1091/PACLND06T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Palma Quijije, M. C., Reyes Pin, L. M., Sanchez Rodríguez, V. E., & Lucio Villacreses, L. F. (2021). Problemas Percibidos En Jipijapa Debido Al Estado Actual Del Alcantarillado Sanitario. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria*. ISSN 2602-8166, 5(2), 103–114. <https://doi.org/10.47230/unesum-ciencias.v4.n3.2020.274>
- Pengue, W. (2003). “Agua virtual”, agronegocio sojero y cuestiones económico ambientales futuras. *FRONTERAS*, 1. www.gepama.com.ar/pengue
- Pinzón, C., & González, L. (2015). DISEÑO DE UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO A LAS AGUAS RESIDUALES POR LAGUNAS DE OXIDACIÓN EN EL CASCO URBANO DEL MUNICIPIO DE PACHO – CUNDINAMARCA. In *CORPORACIÓN UNIVERSITARIA MINUTO DE DIOS CENTRO REGIONAL ZIPAQUIRÁ PROGRAMA INGENIERÍA CIVIL ZIPAQUIRÁ*.
- Ramírez Arias, L. Y. (2013). *Diseño, Construcción Y Puesta En Marcha De Un Reactor Tubular Fotocatalítico (Uv-a) Para La Degradación De Desechos Químicos Orgánicos*.
- Ramírez, M. F., & Yepes, M. J. (2011). Geopolítica de los recursos estratégicos: conflictos por agua en América Latina. *Revista de Relaciones Internacionales, Estrategia y Seguridad*, 6(1), 149–165. <https://doi.org/10.18359/ries.2158>
- Rigola, M. (2010). *TRATAMIENTO DE AGUAS INDUSTRIALES: AGUAS DE PROCESO Y RESIDUALES* - Miguel Rigola Lapeña - Google Libros. [https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=fQcXUq9WFC8C&oi=fnd&pg=PA11&dq=d\)%09Conductividad:+Es+la+capacidad+de+una+sustancia+para+conducir+la+corriente+eléctrica+por+medio+de+iones+presentes+en+el+agua+y+depen](https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=fQcXUq9WFC8C&oi=fnd&pg=PA11&dq=d)%09Conductividad:+Es+la+capacidad+de+una+sustancia+para+conducir+la+corriente+eléctrica+por+medio+de+iones+presentes+en+el+agua+y+depen)

- derá+netamente+de+parámetros+como+concentra
- Rincón, A. G., & Pulgarin, C. (2004). Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: Post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time. *Applied Catalysis B: Environmental*, 49(2), 99–112. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2003.11.013>
- Rios, D. (2006). Riesgos biológicos y subproductos de la desinfección en el agua de bebida. *Montevideo: OSE*, 201. http://www.elaguapotable.com/Riesgos_biológicos_y_subproductos_de_la_desinfección.pdf
- Rivas, D. (2018). *Escuela Profesional de Ingeniería Electrónica Escuela Profesional de Ingeniería Electrónica*.
- Rocha, A. (2007). Introducción a la Anatomía. *British Journal of Cancer*, 25(3), 1–11. <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=Nxb3iETuwpIC&oi=fnd&pg=PA17&dq=•%09Prueba+de+Tinción+de+gram:+Técnica+que+se+realiza+sobre+las+bacterias+y+se+observar+su+reacción+bajo+el+lente+del+microscopio,+consiste+en+la+tinción+de+la+pared+celular+denomi>
- Rodríguez, D. G. S., Nazareno, G., Herrera, E., & Cardenas, J. (2008). *Identificación De Especies De Microorganismos Presentes En Las Plantas De Tratamientos De Aguas Residuales Industriales, Y Su Relación Con La Degradación De La Materia Orgánica*.
- Rodríguez, E. (2011). Efectos del extracto de *Polypodium leucotomos* sobre la tumorogénesis inducida por la radiación ultravioleta. In *Universitat Rovira i Virgili*. Universitat Rovira i Virgili.
- Rodríguez, K. (2018). *Eficacia en la desinfección de cepillos dentales con luz ultravioleta, gluconato de clorhexidina al 0.12% y agua destilada de niños de 5 a 12 años que asisten al área de odontopediatría de la clínica Odontológica Dr. René Puig Bentz de la Universidad Naci* [Santo Domingo: Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña]. <https://repositorio.unphu.edu.do/handle/123456789/1136>
- Rodríguez Miranda, J. P., García-Ubaque, C. A., & García-Ubaque, J. C. (2016). Enfermedades transmitidas por el agua y saneamiento básico en Colombia. *Revista de Salud Publica*, 18(5), 738–745. <https://doi.org/10.15446/rsap.v18n5.54869>
- Rosso, F. (2018). *Curso de iluminación*. <https://grlum.dpe.upc.edu/manual/sistemasIluminacion-fuentesDeLuz-LamparasDeDescarga.php>
- Ruiz, C. (2019). *REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN AGUA DE CONSUMO Y*

REUTILIZADAS MEDIANTE APLICACIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA DE BAJO CONSUMO.

- Saéz, J., Aguilar, M., Lloréns, M., Soler, A., & Ortuño, J. (2002). *Tratamiento físico-químico de aguas residuales: coagulación-floculación*. <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=8vIQBXPvhAUC&oi=fnd&pg=PA11&dq=%09Características+físicas+y+Químicas.+de+aguas+residuales+&ots=cKPKdRAIB0&sig=NEXRShL03jRMnWklmFTp2WmTsSU#v=onepage&q=%09Características+físicas+y+Químicas.+de+aguas+residuales&>
- Sáez, R. (2017). *Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias Escuela De Ingeniería Química*. <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/14110/1/96T00582.pdf>
- Salcedo-Dávila, I. (2013). *Optimización del proceso de desinfección de aguas residuales depuradas mediante radiación ultravioleta*.
- Saucedo, J. (2017). *RADIACIONES, ESTUDIO DE LAS INCIDENCIAS DE LAS OBTENCIÓN, ULTRAVIOLETA (UV) EN EL PROCESO DE MESA", DE AGUA ENVASADA PARA*. <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/359/TQ02S2552013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Schlapbach, L. (2016). XX Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral. *Estudio Fluorescente Del Complejo 8-Hidroxiquinoleina-Metal Para La Detección De Metales Pesados En El Ambiente*, 4. <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/colecciones/bitstream/handle/123456789/8430/4.1.7.pdf>
- Tarran, E. (2015). *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE: CUENCA TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA*.
- Valdés, N. (2018). *Revisión del uso de la luz ultravioleta como alternativa agroindustrial y ambiental al uso de agua clorada*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/64038>
- Vásquez, P. (2015). Efecto de la combinación de luz ultravioleta y temperatura en el procesamiento de leche y derivados. *Facultad de Las Ciencias Exactas y Naturales*, 182.
- Velásquez, D. F. (2014). *Desinfección de agua residual hospitalaria aplicando ozono, ozono/UV y UV* (p. 9). <https://repository.unimilitar.edu.co/handle/10654/11359>
- Velásquez Medina, D. F., & Rodríguez Chaparro, A. T. (2013). *UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA DESINFECCIÓN DE AGUA RESIDUAL*

HOSPITALARIA APLICANDO OZONO, OZONO/UV Y UV.

- Véliz Ubilla, L. L. (2014). Propuesta De Desinfección Del Agua De Consumo Diario Por Medio De Lámparas De Radiación Ultravioleta (Uv) En La Comuna Las Rosas Perteneciente Al Cantón Pallatanga De La Provincia De Chimborazo. In *Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Industrial* (Vol. 1, Issue 1).
- Vergaray, G., Méndez, C., Morante, H., Heredia, V., & Béjar, V. (2007). Enterococcus y Escherichia coli como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 10(20), 82–86. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v10i20.498>
- Villa, J. (2020). *REÚSO DE LAS AGUAS RESIDUALES COMO ALTERNATIVA AL ESTRÉS HÍDRICO EN COLOMBIA*. http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/14961/7/VillaJuan_2020_ReusoEstresHidrico.pdf
- Villalba, A. (2008). Panorámica de la problemática medioambiental en el mundo y en España. *Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa*, 10. www.ciriec-revistaeconomia.es
- Vinet, L., & Zhedanov, A. (2011). A “missing” family of classical orthogonal polynomials. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 44(8), 1689–1699. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Wright, H., & Cairns, W. (1998). Desinfección de agua por medio de Luz Ultravioleta. *Trojan Technologies Inc.*, 1–28. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Desinfecci?n+de+agua+por+medio+de+luz+ultravioleta#0>
- Zuriaga Agustí, E. (2017). *Influencia de las características físicas y químicas del licor de mezcla en Bioreactores de Membrana y su correlación con los parámetros de operación en aguas residuales urbanas e industriales*. Universitat Politècnica de València. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=156916&info=resumen&idioma=SPA>

ANEXOS



Imagen1. Ensayos de inhibición de bacterias.

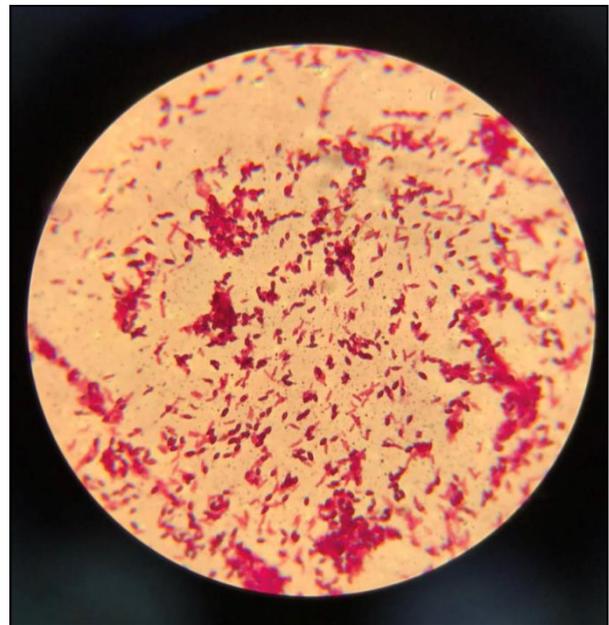
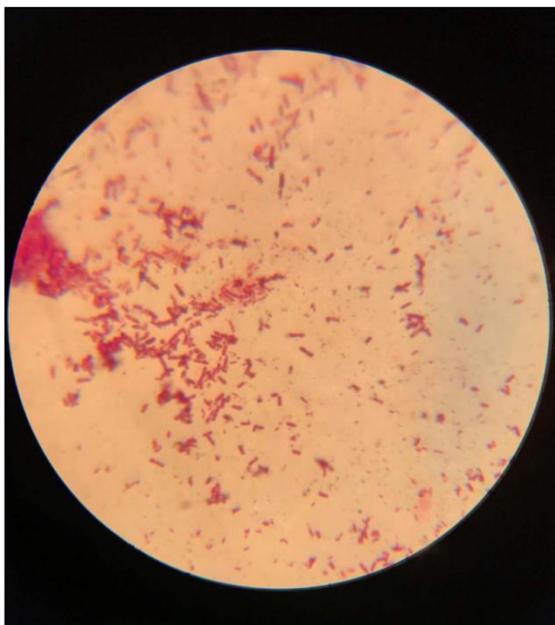


Imagen 2, 3: Determinación de inhibición de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.*, naturales, a través de un microscopio.



Imagen 4. Medio de Cultivo TSB, para conservación de bacterias.

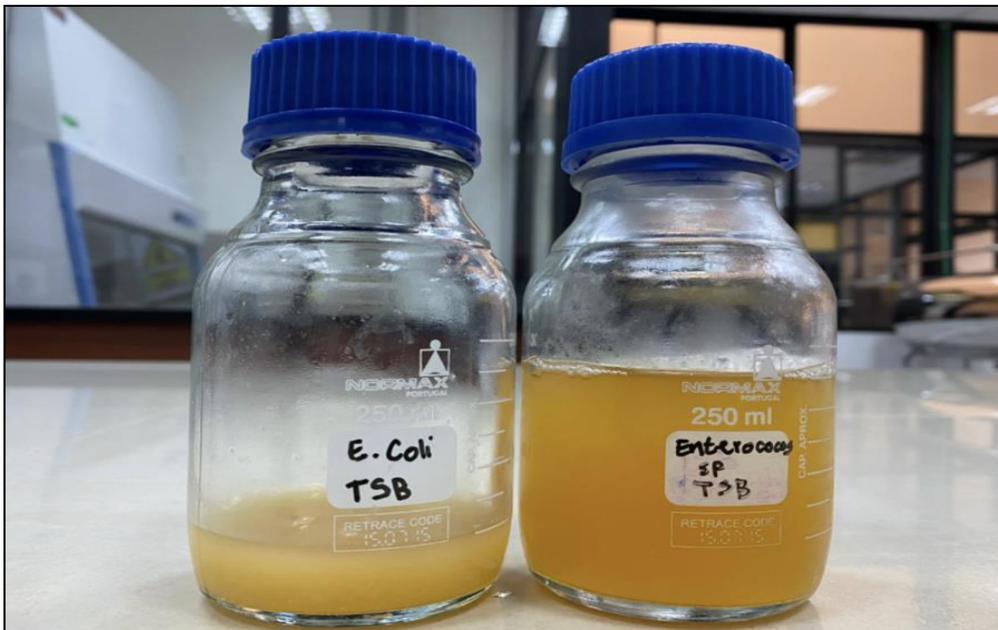


Imagen 5. Medio de Cultivo TSB, almacenando y conservando de bacterias *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.* naturales.

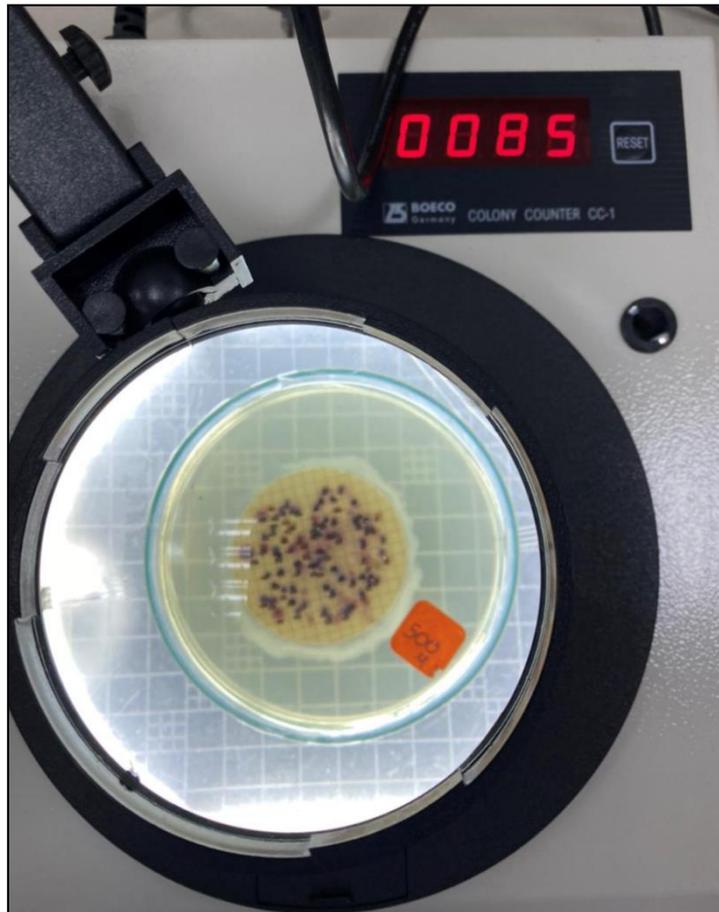


Imagen 6. Conteo de colonias formadas en medio de cultivo.



Imagen 7. Autoclave de instrumentos de laboratorio.



Imagen 8. Muestras de agua expuestas en el reactor UV, dentro de la cámara de flujo.



Imagen 9. Cultivo de agua tratada por el reactor, dentro de la cámara de flujo.

Imagen 10. Sistema de Filtración.

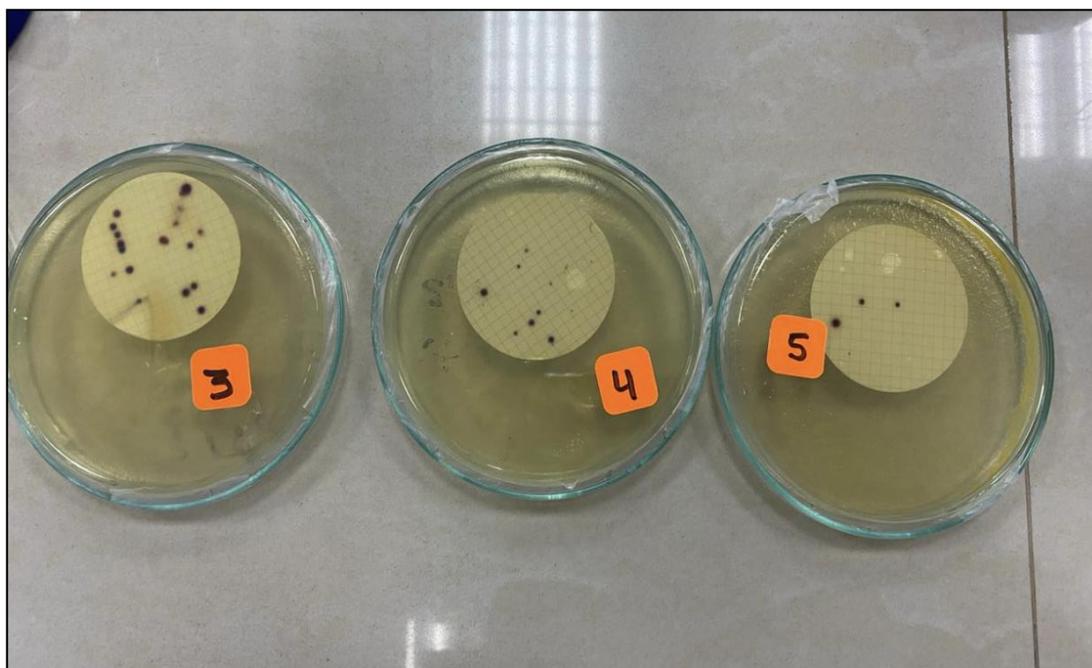


Imagen 11. Crecimiento de bacteria *Enterococcus sp.*, naturales.

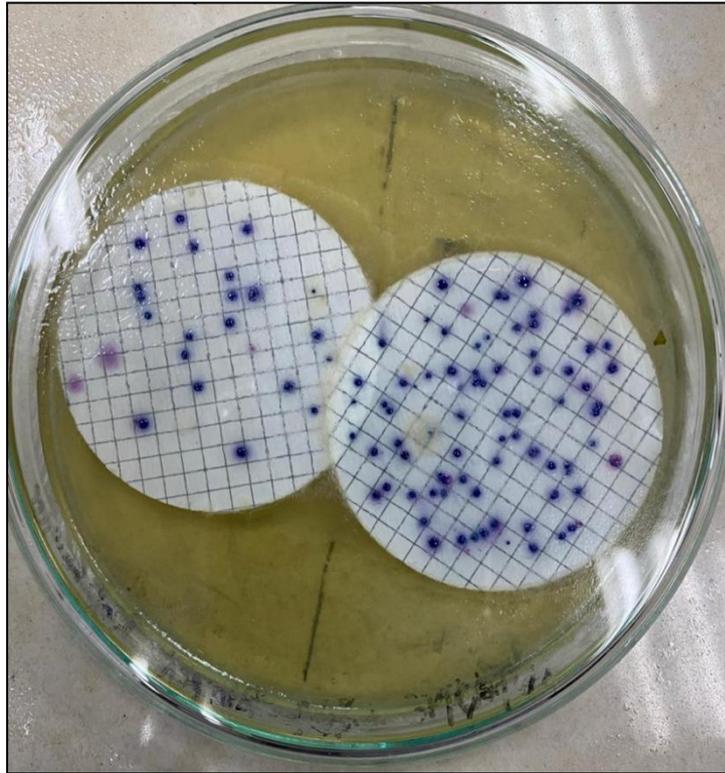


Imagen 12. Crecimiento de bacteria *Escherichia coli*, naturales.



Imagen 14. Recubrimiento de las muestras de agua que fueron expuestas a condiciones de luz y oscuridad.

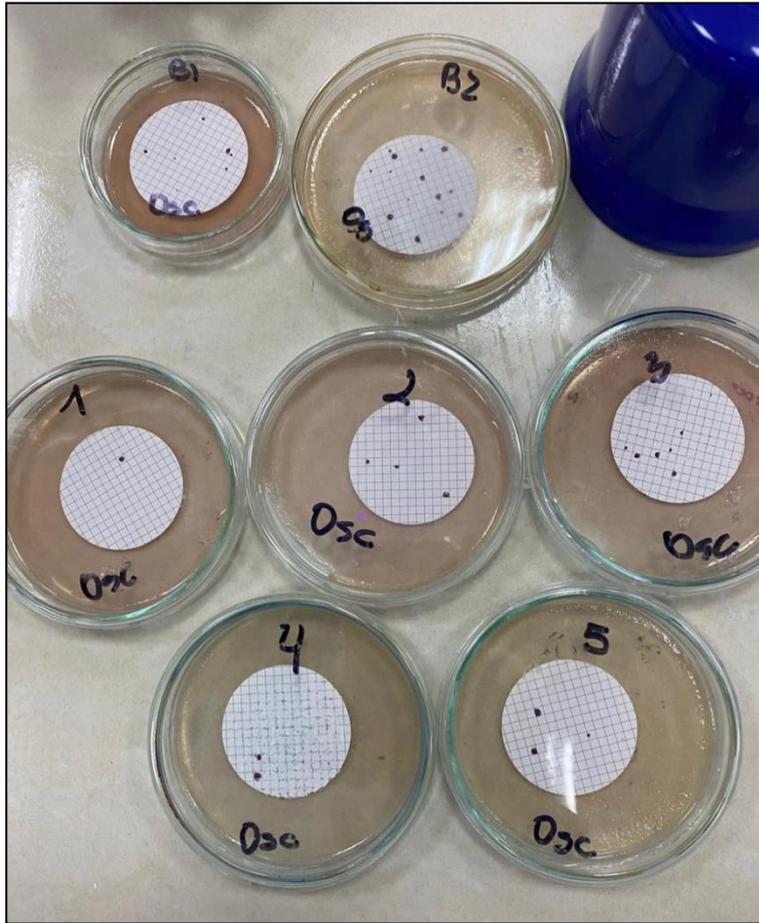


Imagen 15. Resultados de foto reactivación de bacteria *Enterococcus sp.*, naturales, crecida en condiciones de oscuridad.

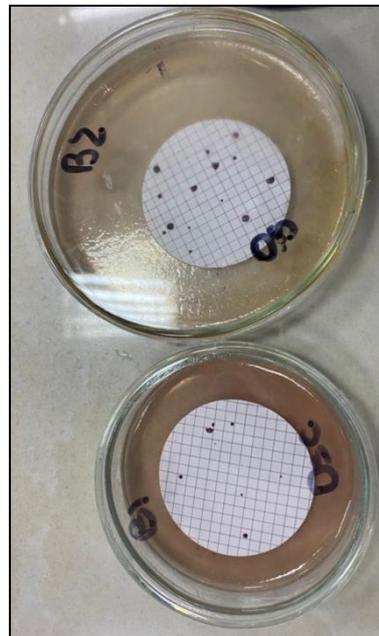
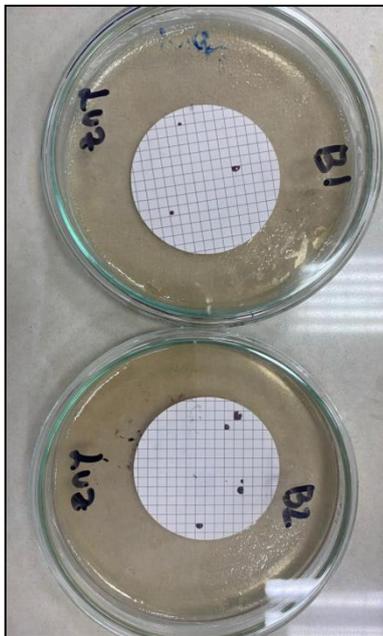


Imagen 16, 17. Resultados de foto reactivación de bacteria *Escherichia coli*, naturales, crecida en condiciones de luz y oscuridad.